

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：12701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03641

研究課題名(和文) 高分子量蛋白質のための全自動NMR構造解析システムの開発

研究課題名(英文) Development of fully-automated system for NMR structural analysis of higher molecular weight proteins

研究代表者

児嶋 長次郎 (KOJIMA, Chojiro)

横浜国立大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号：50333563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、世界最高感度のNMR装置群と大阪大学蛋白質研究所で独自開発された自動構造計算ソフトを駆使し、高分子量蛋白質のNMR構造を決定するシステムを開発した。具体的には、全自動NMR構造解析プラットフォームMagROと独自のアミノ酸選択標識技術、既存のメチル基選択的軽水素標識等を駆使し、蛋白質複合体や蛋白質薬剤複合体の構造解析を可能にする技術の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NMRによる蛋白質の立体構造決定は専門性が高く、今まで専門家以外の研究者が利用することが難しかった。本研究では、大阪大学蛋白質研究所で整備されている世界最高感度のNMR装置、小林直宏博士(現理化学研究所)が開発した全自動NMR自動構造計算ソフト、独自開発の安定同位体標識技術などを用いることで、高分子量蛋白質にNMR構造解析が適用可能であることを示した。今後は蛋白質のNMR構造解析の汎用化が進むと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this research, we have developed a system for determining the NMR structure of higher molecular weight proteins by making use of 950 MHz NMR equipment and fully automated structure calculation software. Specifically, the utilization of fully automated NMR structural determination system MagRO, amino acid selective labeling technology, and methyl group-selective deuterium labeling has enabled the structural analysis of protein-protein and protein-drug complexes.

研究分野：構造生命科学

キーワード：NMR 蛋白質 立体構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

NMR 構造解析の実質的な分子量上限は、この 20 年間、変わっていない

NMR による構造決定の分子量限界を克服するために、過去に TROSY 法や SAIL 法など様々な工夫がなされてきた。高分解能 NMR 構造が決定された最大の蛋白質は、SAIL 法による分子量 4 万のマルトース結合蛋白質であり(参考文献[1])、低分解能 NMR 構造解析がなされた最大の蛋白質は分子量 8 万のリンゴ酸シンターゼ(参考文献[2])である。しかし、試料調製やスペクトル解析の技術的専門性の高さがネックとなり、その後これらを追隨する解析例はほとんど報告がない。結果として、この 20 年間の実質的な分子量上限は分子量 2~3 万に留まっている。

NMR 構造解析の自動化・高速化では化学シフト帰属がボトルネックである

溶液 NMR による蛋白質の立体構造決定には、化学シフト帰属・NOE 帰属・構造計算の 3 ステップが必要である。NOE 帰属と構造計算では約 15 年前に自動化・高速化が大幅に進んだ(参考文献[3])。残された唯一の主要課題である化学シフト帰属の自動化・高速化には世界中の多くの研究グループが挑戦しているが、中でも最近 Güntert 教授(ゲーテ大)によって開発されたプログラム FLYA は固体 NMR のような信号重複の激しい系においても 8 割近い帰属精度を示すなど類似プログラムと比較して顕著に優れている(参考文献[4])。しかし、化学シフト帰属が正しいかどうかを客観的に評価する手法が無いことが致命的で、NMR 構造解析の自動化・高速化に至っていない。

独自開発の MagRO プラットフォームはボトルネックを解消し、全自動 NMR 構造解析を実現する

世界中で立体構造から化学シフト値を計算する手法が開発されているが(参考文献[5]など)事前に立体構造が決定されている必要があり、その計算精度も低いことから、評価手法としては適切でない。そこで、申請者らは化学シフト帰属が正しいかどうかを直接評価せず、決定された立体構造の精度から間接的に評価することでボトルネックを解消する。申請者らは国際共同研究チームを組んで全自動 NMR 構造解析プラットフォーム MagRO (Magnetic Resonance Ontology) の開発を進めているが、すでに Güntert 教授の助力を得て自動帰属ソフト FLYA の組み込みに成功するだけでなく、最初のピークピックの段階から完全に自動化し、化学シフト帰属・NOE 帰属・構造計算の 3 つのステップを同時に進める一体的な帰属最適化を達成している。

分子量上限はメチル基の解析レベルで決まる

NMR 構造決定の実質的な分子量上限は、なぜ分子量 2~3 万なのか? リンゴ酸シンターゼ(参考文献[2])で示されたように、分子量 8 万であっても主鎖とメチル基が解析できれば立体構造決定は可能である。そこで申請者らがメチル基の解析を丁寧に見直したところ、メチル基間 NOE の約 9 割が利用されていないことが分かった。そこで、NMR 自動構造解析に加え、メチル基に特化したデータ取得と解析を行うことで、従来の分子量上限を超えることを着想した。具体的には、立体特異的なメチル基選択標識と多次元不均一データサンプリングによるメチル基に特化した NMR データ取得、対角ピークに由来するノイズなど NMR 信号の重なりを考慮した全自動 NMR 構造解析ルーチンの開発、および、それらの利用である。

2. 研究の目的

本研究では、独自の NMR 統合解析プラットフォーム MagRO を開発・発展させ、独自のアミノ酸選択標識技術や既存のメチル基選択的軽水素標識等と組み合わせ、分子量 5 万の花成ホルモン受容体の全自動 NMR 構造決定を達成する。この過程で、全く NMR 経験の無いユーザーでも専門家による構造解析の精度に到達できるシステムを構築する。

3. 研究の方法

研究項目: 基礎技術の開発項目として、(1)NMR 統合解析プラットフォーム MagRO の開発、(2)メチル基に特化した NMR データ取得法の確立、(3)メチル基に特化した全自動 NMR 構造解析ルーチンの開発、に取り組む。さらに、独自のアミノ酸選択標識技術等と組み合わせ、(4)花成ホルモン受容体の全自動 NMR 構造決定、(5)花成ホルモン受容体複合体と薬剤複合体の構造解析、を行う。

研究体制: ゲーテ大学にて Güntert 教授(海外共同研究者)がアルゴリズム開発を、大阪大学にて藤原・小林(連携研究者)がソフトウェア開発を、新家(博士研究員)・杉木・古板(連携研究者)が構造解析システムの開発と応用を、横浜国立大学にて中村(院生)・米山(技術員)が試料調製を、川村(連携研究者)・服部(徳島文理大学、共同研究者)が構造解析システムの開発と応用をそれぞれ分担し、児嶋(研究代表者)が総括する。

4. 研究成果

研究代表者らの国際共同研究チームは MagRO プラットフォームを利用し、150 残基程度の小さな蛋白質に適用可能な全自動 NMR 構造解析システムの開発に成功した (Bioinformatics, 2018)。全く NMR 経験の無い外部ユーザーがこのシステムを用いて決定したマラリア原虫の FKBP 蛋白質の構造は、専門家の構造解析精度 (RDC 相関係数 $R \approx 0.9$) と同レベル ($R=0.87$) であった (図 1)。



図 1. 全自動 NMR 構造解析システムで決定されたマラリア原虫の FKBP ホモログの NMR 構造 (ヒト FKBP との配列相同性 = 35%, RMSD = 0.45Å, RDC 相関係数 $R = 0.87$)

メチル基は他の領域と比較してピークが鋭く信号強度も強いいため、NMR データ取得時にノイズを生じやすい。そこで、メチル基選択的水素標識 (他の領域は重水素標識) を行うことで、ノイズを生じないメチル基に特化した NMR データ取得に成功した (図 2)。

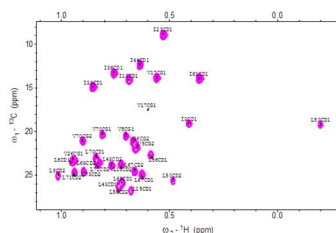


図 2. メチル基選択標識蛋白質の ^1H - ^{13}C HSQC スペクトル

花成ホルモン受容体は分子量 5 万であり、NMR 構造解析の適用が難しい高分子量蛋白質である。一般に、高分子量蛋白質など線幅の広い系では、アミノ酸選択標識が帰属に有効であることが知られているため、コールドショック大腸菌発現系を用いた独自開発のアミノ酸選択標識技術の花成ホルモン受容体に適用した。選択標識には比較的安価で立体構造情報の取得が容易な Leu, Ile, Val, Ala, Phe, Tyr, Thr, Met を用いた。これらの工夫により、花成ホルモン受容体の NMR 構造解析に成功した (図 3、Biochemistry, 2018)。

BMRB Sequence Board																																												
Unassign	select res																							ALL	Reset	Row: 24	Close																	
M1	SZ	E3	E4	E5	N6	V7	V8	M9	A10	K11	L12	A13	E14	Q15	A16	E17	R18	Y19	E20	M21	V22	E23																						
V25	M26	E27	K28	V29	A30	K31	T32	V33	D34	V35	E36	E37	L38	T39	V40	E41	E42	R43	N44	L45	L46	S47	V48																					
A49	V50	K51	H52	V53	G54	G55	A56	R57	R58	A59	S60	S61	R62	R63	V64	S65	S66	R67	E68	O69	K70	E71	E72																					
G73	H74	G75	H76	E77	E78	H79	V80	T81	L82	R83	K84	E85	V86	R87	G88	K89	R90	E91	A92	E93	L94	S95	K96																					
R97	C98	D99	G100	I101	L102	K103	L104	L105	D106	S107	H108	L109	V110	S111	S112	S113	T114	A115	A116	E117	S118	K119	V120																					
F121	V122	L123	K124	M125	K126	G127	D128	V129	H130	H131	V132	L133	A134	L135	F136	K137	T138	G139	A140	E141	R142	K143	E144																					
A146	A148	E149	S148	T148	M150	V151	A152	V153	K154	A155	A156	G157	D158	V159	A160	A161	A162	D163	L164	A165	S166	T167	H168																					
I170	I171	L172	G173	L174	A175	L176	F177	F178	V179	H180	H181	Y182	V183	H184	H186	H187	S188	S189	D190	K191	A192																							
C193	H194	L195	A196	K197	G198	A199	F200	D201	E202	A203	D204	S205	E206	L207	D208	T209	L210	G211	E212	E213	S214	V215	K216																					
R217	S218	T219	L220	E221	M222	G223	L224	L225	R226	R227	N228	L229	T230	L231	W232	T233	S234	D235																										
Amino acid composition																																												
A25	C2	D12	E30	F5	G3	H4	I12	K18	L26	M7	N8	P4	Q5	R12	S17	T11	V14	W2	Y12																									
Assigned	Unassigned																																											

図 3. $^2\text{H}/^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 均一標識された花成ホルモン受容体の NMR 信号帰属

FBDD として知られる低分子化合物フラグメントを用いた創薬基盤技術では、結合の弱い蛋白質薬剤複合体の立体構造モデルの構築がネックである。結合の弱い蛋白質薬剤複合体では蛋白質側の構造は薬剤の結合で変化しないと考えられるため、上記の MagRO や結晶構造解析によって得られた蛋白質構造をそのまま用いることができる。そこで研究代表者らは 19F-NMR を用いて結合の弱い系でも得られる分子間距離情報をえる手法を開発し、蛋白質薬剤複合体の立体構造モデルの構築に成功した (図 4)。

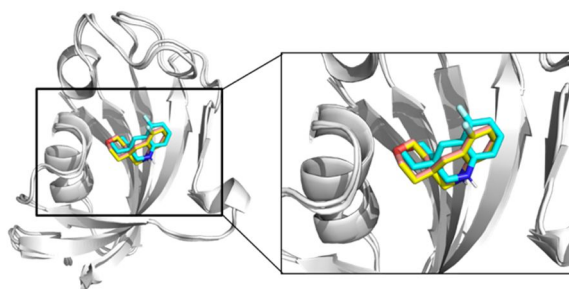


図 4. 19F-NMR を用いた蛋白質薬剤複合体の NMR 構造モデル

<参考文献>

- [1] Kainosho M, Torizawa T, Iwashita Y, Terauchi T, Mei Ono A, and Güntert P. Optimal isotope labelling for NMR protein structure determinations. *Nature*, 440, 52-57 (2006).
- [2] Tugarinov V, Choy WY, Orekhov VY, and Kay LE. Solution NMR-derived global fold of a monomeric 82-kDa enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 622-627 (2005).
- [3] Herrmann T, Güntert P, and Wüthrich K. Protein NMR structure determination with automated NOE assignment using the new software CANDID and the torsion angle dynamics algorithm DYANA. *J Mol Biol*, 319, 209-227 (2002).
- [4] Schmidt E and Güntert P. A new algorithm for reliable and general NMR resonance assignment. *J Am Chem Soc*, 134, 12817-12829 (2012).
- [5] Han B, Liu Y, Ginzinger SW, and Wishart DS. SHIFTX2: significantly improved protein chemical shift prediction. *J Biomol NMR*, 50, 43-57 (2011).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mio Muneyo, Sugiki Toshihiko, Matsuda Chie, Mitsuhashi Hiroaki, Kojima Chojiro, Chan Siu Yuen, Hayashi Yukiko K., Mio Kazuhiro	4. 巻 512
2. 論文標題 Structural instability of lamin A tail domain modulates its assembly and higher order function in Emery-Dreifuss muscular dystrophy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 22 ~ 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.02.138	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ihama Futoshi, Yamamoto Mami, Kojima Chojiro, Fujiwara Toshimichi, Matsuzaki Katsumi, Miyata Yoshihiko, Hoshino Masaru	4. 巻 1867
2. 論文標題 Structural characterization of the N-terminal kinase-interacting domain of an Hsp90-cochaperone Cdc37 by CD and solution NMR spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics	6. 最初と最後の頁 813 ~ 820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbapap.2019.06.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Bala Sigin, Shinya Shoko, Srivastava Arpita, Ishikawa Marie, Shimada Atsushi, Kobayashi Naohiro, Kojima Chojiro, Tama Florence, Miyashita Osamu, Kohda Daisuke	4. 巻 1864
2. 論文標題 Crystal contact-free conformation of an intrinsically flexible loop in protein crystal: Tim21 as the case study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129418 ~ 129418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.129418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sugiki Toshihiko, Yamaguchi Yoshihiro, Fujiwara Toshimichi, Inouye Masayori, Ito Yutaka, Kojima Chojiro	4. 巻 10
2. 論文標題 In-cell NMR as a sensitive tool to monitor physiological condition of Escherichia coli	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2466 ~ 2466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59076-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi Naohiro, Hattori Yoshikazu, Nagata Takashi, Shinya Shoko, Guentert Peter, Kojima Chojiro, Fujiwara Toshimichi	4. 巻 34
2. 論文標題 Noise peak filtering in multi-dimensional NMR spectra using convolutional neural networks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 4300 ~ 4301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bioinformatics/bty581	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hattori Yoshikazu, Yamanaka Daichi, Morioka Saori, Yamaguchi Taishi, Tomonari Honoka, Kojima Chojiro, Tanaka Yoshiyuki	4. 巻 37
2. 論文標題 NMR spectroscopic characterization of a model RNA duplex reflecting the core sequence of hammerhead ribozymes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 383 ~ 396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15257770.2018.1473877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugiki Toshihiko, Egawa Daichi, Kumagai Keigo, Kojima Chojiro, Fujiwara Toshimichi, Takeuchi Koh, Shimada Ichio, Hanada Kentaro, Takahashi Hideo	4. 巻 293
2. 論文標題 Phosphoinositide binding by the PH domain in ceramide transfer protein (CERT) is inhibited by hyperphosphorylation of an adjacent serine-repeat motif	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 11206 ~ 11217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.002465	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugiki Toshihiko, Furuita Kyoko, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 57
2. 論文標題 Amino Acid Selective ¹³ C Labeling and ¹³ C Scrambling Profile Analysis of Protein and Side-Chain Carbons in Escherichia coli Utilized for Protein Nuclear Magnetic Resonance	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 3576 ~ 3589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kojima Seiji, Takao Masato, Almira Gaby, Kawahara Ikumi, Sakuma Mayuko, Homma Michio, Kojima Chojiro, Imada Katsumi	4. 巻 26
2. 論文標題 The Helix Rearrangement in the Periplasmic Domain of the Flagellar Stator B Subunit Activates Peptidoglycan Binding and Ion Influx	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 590 ~ 598.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.02.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinya Shoko, Ghinet Mariana G., Brzezinski Ryszard, Furuita Kyoko, Kojima Chojiro, Shah Sneha, Kovrigin Evgenii L., Fukamizo Tamo	4. 巻 67
2. 論文標題 NMR line shape analysis of a multi-state ligand binding mechanism in chitosanase	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular NMR	6. 最初と最後の頁 309 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10858-017-0109-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sebera Jakub, Hattori Yoshikazu, Sato Daichi, Reha David, Nencka Radim, Kohno Takashi, Kojima Chojiro, Tanaka Yoshiyuki, Sychrovsky Vladimir	4. 巻 45
2. 論文標題 The mechanism of the glycosylase reaction with hOGG1 base-excision repair enzyme: concerted effect of Lys249 and Asp268 during excision of 8-oxoguanine	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 5231 ~ 5242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkx157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hattori Yoshikazu, Heidenreich David, Ono Yuki, Sugiki Toshihiko, Yokoyama Kei-ichi, Suzuki Ei-ichiro, Fujiwara Toshimichi, Kojima Chojiro	4. 巻 68
2. 論文標題 Protein 19F-labeling using transglutaminase for the NMR study of intermolecular interactions	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Biomolecular NMR	6. 最初と最後の頁 271 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10858-017-0125-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyanoiri Yohei, Hijikata Atsushi, Nishino Yuuki, Gohara Mizuki, Onoue Yasuhiro, Kojima Seiji, Kojima Chojiro, Shirai Tsuyoshi, Kainosho Masatsune, Homma Michio	4. 巻 25
2. 論文標題 Structural and Functional Analysis of the C-Terminal Region of FliG, an Essential Motor Component of Vibrio Na+-Driven Flagella	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 1540 ~ 1548.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2017.08.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukuda N, Noi K, Weng L, Kobashigawa Y, Miyazaki H, Wakeyama Y, Takaki M, Nakahara Y, Tatsuno Y, Uchida-Kamekura M, Suwa Y, Sato T, Ichikawa-Tomikawa N, Nomizu M, Fujiwara Y, Ohsaka F, Saitoh T, Maenaka K, Kumeta H, Shinya S, Kojima C, Ogura T, Morioka H	4. 巻 22
2. 論文標題 Production of Single-Chain Fv Antibodies Specific for GA-Pyridine, an Advanced Glycation End-Product (AGE), with Reduced Inter-Domain Motion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1695 ~ 1695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules22101695	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 19F-NMR for Fragment-Based Drug Discovery
3. 学会等名 8th Asia-Pacific NMR Symposium 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 児嶋長次郎
2. 発表標題 NMRで分子集団の構造を捉える
3. 学会等名 第20回若手NMR研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 19F-NMR for Drug Discovery
3. 学会等名 Chem-Bio Informatics Society (CBI) Annual Meeting 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 児嶋長次郎
2. 発表標題 創薬 NMR 技術の開発とその植物生理学分野への応用
3. 学会等名 日本蛋白質科学会第18回年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 NMR tools developed for protein-drug and protein-protein interaction studies
3. 学会等名 The 6th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 児嶋長次郎
2. 発表標題 植物構造生物学研究と創薬
3. 学会等名 植物科学シンポジウム 2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chojiro Kojima
2. 発表標題 Fully Automated NMR Structure Determination of Protein
3. 学会等名 2017 Taiwan-Japan Biomedical Symposium on Magnetic Resonance (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	藤原 敏道 (FUJIWARA Toshimichi) (20242381)	大阪大学・たんぱく質研究所・教授 (14401)	
連携研究者	川村 出 (KAWAMURA Izuru) (20452047)	横浜国立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授 (12701)	
連携研究者	小林 直宏 (KOBAYASHI Naohiro) (80272160)	大阪大学・たんぱく質研究所・特任准教授 (14401)	
連携研究者	杉木 俊彦 (SUGIKI Toshihiko) (70635698)	大阪大学・たんぱく質研究所・特任助教 (14401)	
連携研究者	古板 恭子 (FURUITA Kyoko) (30727665)	大阪大学・たんぱく質研究所・特任助教 (14401)	