

令和 4 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02103

研究課題名(和文)色素構造認識ペプチドの進化的創成による有用分子ツールの開発

研究課題名(英文)Directed evolution of peptides that recognize dye structures and its application for research tools

研究代表者

寺井 琢也(Terai, Takuya)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任准教授

研究者番号：00508145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では「有機小分子の合理設計」と「生体高分子の配列改変」の2つのアプローチを有機的に統合することで、小分子・ペプチド複合体に基づく新規分子ツールの開発を目的とした。中でも有機色素分子の構造を認識するペプチドおよびタンパク質を進化分子工学的手法により取得することで、様々なケミカルバイオロジーへの応用を目指した。研究の結果、cDNA display法によって「色素分子の構造変化を可逆的に認識するポリペプチド」の探索に成功したほか、カルシウム濃度に応じてタンパク質の立体構造が変化する事で、そこに化学修飾された色素の蛍光強度が変わるセンサー分子の開発を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代の生物学研究では蛍光イメージングや光遺伝学的摂動、タンパク質精製などで様々な分子ツールが使われているが、そのほとんどは有機合成低分子あるいは生体高分子のいずれかであり、両方を活用した分子ツールは極めて稀である。そもそも化学において有機低分子と生体高分子は歴史的、学問分野的に独立して研究されており、これらを融合させようとする試み(chemi-genetics)は最近になってようやく注目されつつある。本研究では、特に有機合成色素とタンパク質(ポリペプチド)との複合化に着目し、両者の相互作用があって初めて機能を発揮する新たな分子ツールの開発を行った。

研究成果の概要(英文)：In this study we aimed to develop novel molecular tools based on small molecule-peptide complexes by integrating two approaches: "rational design of small organic molecules" and "modification of biological macromolecules using directed evolution". Specifically, we aimed to obtain peptides and proteins that recognize the structure of organic dye molecules by evolutionary molecular engineering, which would be useful for various chemical biology applications. As a result of the research, we succeeded in identification of "polypeptides that reversibly recognize conformational changes of dye molecules" by cDNA display method, and also developed a sensor molecule where the fluorescence intensity of labelled organic dyes is changed as a result of the conformation change of the protein in response to calcium concentration.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：有機色素 ペプチド 細胞イメージング タンパク質精製 進化分子工学

1. 研究開始当初の背景

「化学」を活用して生命現象の理解や制御を目指すケミカルバイオロジーでは様々な分子ツールが使われる。光を利用するツールは特に有用であり、小分子色素またはタンパク質を基盤とした蛍光イメージングプローブ、光増感剤、光異性化分子などが盛んに応用されている。また、高い機能を持つ分子ツールの開発自体も本分野における重要な研究目標である。例えば、低分子の蛍光イメージングプローブとして Ca^{2+} (*Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 38740–38777; *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 14157–14159) やプロテアーゼ (*J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135, 409–414; *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 6938–6946) 活性酸素種 (*J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 10629–10637; *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 5680–5682) を標的としたものが、タンパク質を基盤とした蛍光イメージングプローブ(バイオセンサー)として Ca^{2+} (*Nature*, **2013**, 499, 295–300; *Nat. Methods*, **2019**, 16, 171–174) や膜電位 (*BMC Biol.*, **2019**, 17, article number 71) 細胞周期 (*Cell*, **2008**, 132, 487–498) などを可視化する分子が多数報告されている。

ここで小分子色素を用いる場合、遺伝子操作が不要であるため試料を選ばない点や自由かつ合理的な誘導体設計が可能である点がメリットである一方、分子単独では特異性や細胞内局在の制御が難しい場合が多い。一方、緑色蛍光タンパク質(GFP)等のタンパク質を改変する場合には、分子サイズが大きくなる上に機能性(蛍光量子収率、光安定性、増感能など)に限界があるとされる。そこで注目されているのが、機能性小分子と生体高分子を複合化して高度な機能を実現する手法(化学遺伝学、chemi-geneticsとも呼ばれる)である。例えば、研究代表者らは以前、細胞内の主要な陽イオンとして様々な生命現象に關与する K^{+} に対する低分子蛍光プローブを HaloTag タンパク質 (*ACS Chem. Biol.*, **2008**, 3, 373–382) に結合させることで細胞膜の表面選択的に集積させ、薬剤刺激に伴い細胞質からイオンチャネルを通じて細胞外へと流出する K^{+} イオンを、細胞内の多量の K^{+} に妨害されることなく検出できることを示している (*Anal. Chem.*, **2016**, 88, 2693–2700)。また、もう一つの主要な金属イオンである Na^{+} についても同様の設計で細胞小器官選択的なセンサー開発に成功している (*Sensor Actuat. B - Chem.*, **2018**, 265, 575–581)。

上記は主に有機合成色素側に着目した研究であったが、機能性小分子と生体高分子の複合化においては、生体高分子側の探索、改変、最適化もまた必要である。これに関連して研究代表者は、リボソーム内で翻訳中の新生ペプチド鎖と共有結合する化合物である puromycin を活用して cDNA と対応するペプチドとを 1 分子レベルで連結する技術である cDNA display 法 (*Nucl. Acids Res.*, **2009**, 37, e108) の改良と応用に取り組んできた (*Chem. Commun.*, **2017**, 53, 3458–3461; *Biophys. Physicobiol.*, **2017**, 14, 23–28)。このような進化分子工学的手法を用いれば、 10^{12-13} に及ぶ膨大なペプチドライブラリーの中から標的分子に結合する配列を探索する事が可能である。また大腸菌を用いた進化分子工学も、古典的ではあるがタンパク質の指向性進化においては非常に有用である。

2. 研究の目的

上述の背景を踏まえ、本研究では「有機小分子の合理設計」と「生体高分子の配列改変」の 2 つのアプローチを統合することで、「小分子・ペプチド複合体に基づく新規分子ツールの開発」を目指した。中でも小分子認識ペプチド、特に『色素分子の構造(およびその変化)を認識するポリペプチド』を進化分子工学的手法により取得することで、様々なケミカルバイオロジーへの応用を目指した。具体的には、以下の 3 項目に取り組んだ。

(1) pH 感受性色素(フェノールフタレイン誘導体)と特定の pH 環境で結合するペプチドを取得し、pH 変化により穏和かつ traceless に溶出可能なアフィニティー精製システムを作る。

(2) 分子内回転が存在する有機色素に結合することでその蛍光を増強するペプチドを cDNA display により取得する。

(3) 特定の環境下でタンパク質の立体構造変化が起こることで、そこに修飾した蛍光分子の分子内スピロ環化平衡が変化して蛍光強度が変化する chemi-genetic センサーを開発する。

3. 研究の方法

(1) pH 依存的にフェノールフタレインとの結合が変化するペプチドの探索

タンパク質精製においては、固相上に担持された何らかの化学物質と特定の条件下でのみ親和性を持つポリペプチド(アフィニティータグ)が汎用される。例えばヒスチジン連続配列である His タグは Ni-NTA レジンに結合し、イミダゾールによって競合的に溶出される。本研究では pH 変化により既存の系より穏和かつ traceless に溶出可能な新規アフィニティー精製システムの開発を目指した。まず pH 変化に応じて立体構造が変化する有機色素としてフェノールフタレインに着目し、その誘導体である PhP リガンドを合成して固相担体に提示した。続いて既報に従い 8 残基のランダムペプチドを提示する cDNA display 分子のライブラリーを作製し、上記固相担体に対して合成 7 ラウンドの in vitro selection を行った。その際、結合反応は中性で、解離反応は塩基性で行うことによりリガンドの構造変化を誘起した。最終的に絞り込まれたライブ

ライリーを DNA シークエンス解析して結合ペプチド配列の情報を得た。続いて候補となるペプチドについて、puromycin が結合した状態での固相との結合・解離の様子をアクリルアミド電気泳動を用いて評価した。

さらに上記ペプチドについて、その特性の改良を目指した研究を行った。具体的には親和性の改善に向け、PhP リガンドとの相互作用に有利と考えられるトリプトファン残基を予め複数導入した 15 残基のペプチドライブラリーを設計した。この新しいペプチドライブラリーを cDNA display へと変換し、リガンドを固定した担体と中性条件でインキュベーション、塩基性条件で解離反応を行った。この操作を複数回繰り返した後、絞り込まれたライブラリーの DNA を次世代シークエンスによって解析した。上位配列をクローン化して結合評価を行った。

(2) cDNA display 法による色素蛍光増強ペプチドの探索

一般に、有機色素の構造中に自由回転可能な単結合が含まれる場合、励起状態での分子内回転によって励起エネルギーが失活するため色素の蛍光が消光するとされる。このような無蛍光色素の例として本研究では QSY9 を選択し、本化合物に結合して内部の結合回転を抑制することでその蛍光強度を上昇させるペプチドの探索を試みた。具体的には関連する先行研究 (*Chem. Biol.*, 2004, 11, 347–356) を参考に、中心のペプチドがループ構造を取りやすいとされる SKVILFE 配列を組み込んだペプチドライブラリーを設計し、cDNA display へと変換した後に QSY9 を固定化した磁気ビーズに対して *in vitro* selection を行った。濃縮されたライブラリーを次世代シークエンスで配列解析し、上位の候補配列に関して個別に作成した cDNA display と QSY9 との結合を評価した。また、酵母表面にペプチドを発現させて QSY9 を添加し、細胞から蛍光が観察されるか否かも検証した。

(3) 分子内スピロ環平衡に基づく chemi-genetic 蛍光センサーの開発

従来の chemi-genetic 蛍光センサーの多くは、前述のように低分子蛍光センサーをタグタンパク質に化学修飾して細胞内局在の制御を目指すものであったが、本研究の開始後に、タグタンパク質部分に加えて標的認識部位もポリペプチドである新たなタイプのセンサーもいくつか報告された (*Nat. Chem. Biol.*, 2021, 17, 718–723; *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59, 21880–21884)。これらのセンサーにおいては、いわゆる環境感受性蛍光色素をタグタンパク質に選択的に化学修飾することで、標的物質がポリペプチドと結合して立体構造変化を起こすと色素の周辺微小環境が変わって蛍光が変化するメカニズムとなっている。ただ、これまでの報告ではタンパク質工学的な最適化が十分行われていない上、標的物質も極めて限定されており汎用性に疑問がある。そこで本研究では、分子内スピロ環平衡によって大きく蛍光強度が変化する近赤外ローダミン系色素である JF635 (*Nat. Methods*, 2017, 14, 987–994) に着目し、これを HaloTag 結合部位であるクロロアルカンに修飾したりガンドを合成した。続いてこのリガンドを HaloTag タンパク質とカルシウム結合ペプチドとの融合タンパク質 (数十種類を作製) に共有結合させた。この複合体に Ca^{2+} を添加し、色素・タンパク質複合体の蛍光強度を測定した。また、カルシウムキレターである BAPTA の添加によってこの蛍光変化が可逆的であるかを確認した。

4. 研究成果

(1) pH 依存的にフェノールフタレインとの結合が変化するペプチドの探索

8 残基のランダムペプチドライブラリーのセレクションにより、PhP リガンドに対して pH 依存的に親和性を示すペプチド LV59 (= LVFLIWWM) が見つかった (図 1)。本ペプチドを構成するアミノ酸側鎖はいずれも pH 感受性を持たないため、ペプチドはリガンド側の構造変化を認識して結合していると考えられる。一方、LV59 に含まれる芳香族アミノ酸を除いた場合にはほとんど結合を示さなかったことから、フェノールフタレインとの スタッキングが重要である可能性がある。このペプチドは複数のモデルタンパク質に融合させて cDNA display とした場合にも上記の pH 依存的結合・解離を示したため、少なくとも試験管内分子淘汰実験におけるタンパク質精製には有用であると考えられる (*ACS Omega*, 2019, 4, 7378–7384)。

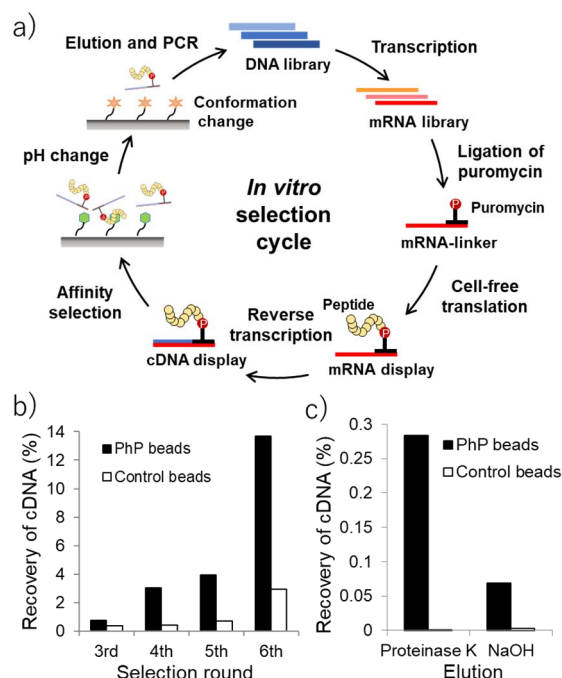


図 1. cDNA display による PhP 結合ペプチドの探索

a) セレクションの模式図 b) 淘汰の進行状況 c) pH 依存性の確認

しかし LV59 はペプチド鎖が短く親和性（精製効率）に課題があったため、続いて 15 残基のライブラリーを新たに作製して再度セクションを実施した。その結果、PhP に対して同様に pH 依存的な結合・解離特性を持つ FW15-3 配列が得られた。LV59 配列と比較して、FW15-3 はリガンド固定化担体に対して約 8 倍の結合効率を示した。この効率は、一般にタンパク質精製に用いられる His₆ タグと比較しても遜色ない結果であった。

(2) cDNA display 法による色素蛍光増強ペプチドの探索

QSY9 に対する *in vitro* selection の結果、一定の親和性を持つ複数のペプチド配列の取得に成功した。しかしその結合は μM オーダーと弱く、結合に伴う色素の蛍光強度の変化も最大 2 倍程度であったため、当初の期待と比べれば十分とは言えなかった。ただ、そのようなペプチドであっても酵母表面に発現させた際には QSY9 由来の赤色蛍光がペプチド配列依存的に観察されたことから、実際の細胞系においてはペプチドの凝集や色素自体の集積もイメージング結果に反映されることが示唆された。今後はペプチド配列の最適化によって、より蛍光増強能の高い配列の取得を目指したい。

(3) 分子内スピロ環平衡に戻づく chemi-genetic 蛍光センサーの開発

JF635 リガンドの合成、および HaloTag・カルシウム結合ペプチド融合タンパク質との共有結合は概ね問題なく進行した。HaloTag としての活性が保たれていた 19 種類の融合タンパク質について、蛍光リガンドとの反応の後で Ca^{2+} を添加して蛍光強度を測定したところ、18 種類においては蛍光強度の現象が、1 種類においては蛍光強度の上昇が観察された（図 2）。特にアミノ酸番号 165-166 の挿入位置においては蛍光変化幅が約 20 倍と非常に大きく、これまでの報告を上回る性能を有するセンサーの開発に成功した。また、いずれにおいても BAPTA の添加によってこの変化が可逆的であることが確認できた。今後は他の標的へと本分子設計法を拡張すると共に、タンパク質の配列改変（directed evolution）を取り入れる事で有用な chemi-genetic 蛍光センサー開発を行ってきたい。

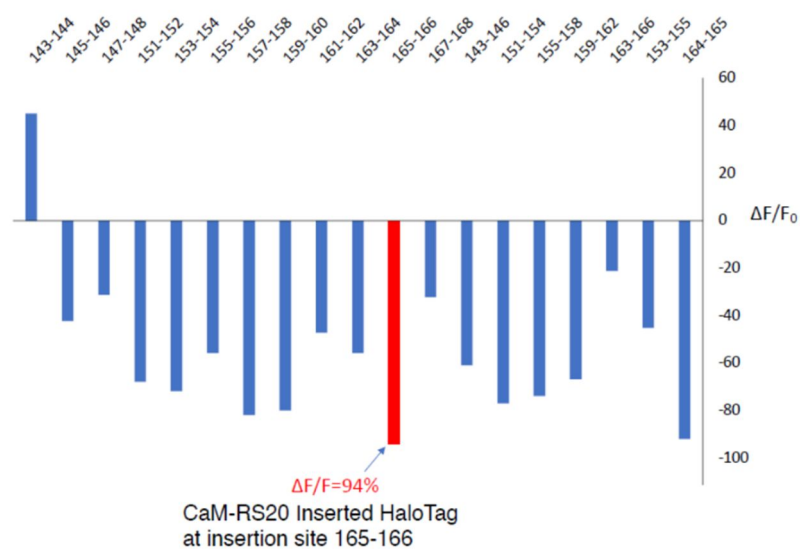


図 2. HaloTag-ペプチド・色素複合体の蛍光変化
横軸の数字はペプチドの挿入位置を示す。
縦軸は Ca^{2+} 添加前後での蛍光強度変化を表す。

まとめると、本研究では「有機小分子の合理設計」と「生体高分子の配列改変」の 2 つのアプローチを統合することで、「小分子・ペプチド複合体に基づく新規分子ツールの開発」を達成した。これらの成果を更に発展させることにより、生物学上の課題解決に資する有用な分子ツールが創成できるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Yamamoto Yasuhide, Terai Takuya, Kumachi Shigefumi, Nemoto Naoto | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 In Vitro Construction of Large-scale DNA Libraries from Fragments Containing Random Regions using Deoxyinosine-containing Oligonucleotides and Endonuclease V | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 ACS Combinatorial Science | 6. 最初と最後の頁 165 ~ 171 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscombsci.9b00167 | 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 Terai Takuya, Koike Tomoyuki, Nemoto Naoto | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 Photocrosslinking of cDNA Display Molecules with Their Target Proteins as a New Strategy for Peptide Selection | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 1472 ~ 1472 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules25061472 | 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 - |
| 1. 著者名 Jayathilake Chathuni, Kumachi Shigefumi, Arai Hidenao, Motohashi Maiko, Terai Takuya, Murakami Akikazu, Nemoto Naoto | 4. 巻 589 |
| 2. 論文標題 In vitro selection of anti-gliadin single-domain antibodies from a naive library for cDNA-display mediated immuno-PCR | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 113490 ~ 113490 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.113490 | 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 Jayathilake Chathuni, Terai Takuya, Nemoto Naoto | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 cDNA Display Mediated Immuno-PCR (cD-IPCR): A Novel PCR-based Antigen Detection Method | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL | 6. 最初と最後の頁 e3457 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.3457 | 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 - |

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Anzai Hiroki, Terai Takuya, Jayathilake Chathuni, Suzuki Takeru, Nemoto Naoto | 4. 巻 578 |
| 2. 論文標題 A novel immuno-PCR method using cDNA display | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 1~6 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2019.04.017 | 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 Terai Takuya, Anzai Hiroki, Nemoto Naoto | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Selection of Peptides that Associate with Dye-Conjugated Solid Surfaces in a pH-Dependent Manner Using cDNA Display | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Omega | 6. 最初と最後の頁 7378 ~ 7384 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b00631 | 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 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Hanaoka Kenjiro, Kagami Yu, Piao Wen, Myochin Takuya, Numasawa Koji, Kuriki Yugo, Ikeno Takayuki, Ueno Tasuku, Komatsu Toru, Terai Takuya, Nagano Tetsuo, Urano Yasuteru | 4. 巻 54 |
| 2. 論文標題 Synthesis of unsymmetrical Si-rhodamine fluorophores and application to a far-red to near-infrared fluorescence probe for hypoxia | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Chemical Communications | 6. 最初と最後の頁 6939 ~ 6942 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8cc02451k | 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 Takahashi Shodai, Kagami Yu, Hanaoka Kenjiro, Terai Takuya, Komatsu Toru, Ueno Tasuku, Uchiyama Masanobu, Koyama-Honda Ikuko, Mizushima Noboru, Taguchi Tomohiko, Arai Hiroyuki, Nagano Tetsuo, Urano Yasuteru | 4. 巻 140 |
| 2. 論文標題 Development of a Series of Practical Fluorescent Chemical Tools To Measure pH Values in Living Samples | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society | 6. 最初と最後の頁 5925 ~ 5933 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.8b00277 | 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 - |

〔学会発表〕 計29件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 寺井 琢也、朱 文超、程 大洲、那須 雄介、CAMPBELL Robert |
| 2. 発表標題 指向性進化を活用した新規 chemi-geneticカルシウム蛍光センサーの開発 |
| 3. 学会等名 第15回 バイオ関連化学シンポジウム |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 門屋 颯人、那須 雄介、寺井 琢也、Campbell Robert |
| 2. 発表標題 Photoactive Yellow Protein タグを用いたchemi-genetic蛍光カルシウムイオンセンサーの開発 |
| 3. 学会等名 第15回 バイオ関連化学シンポジウム |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Dazhou Cheng, Wenchao Zhu, Takuya Terai, Yusuke Nasu, Robert E. Campbell |
| 2. 発表標題 Prototype Screening of HaloTag-based Chemigenetic Indicators |
| 3. 学会等名 第15回 バイオ関連化学シンポジウム |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Wenchao Zhu, Takuya Terai, Yusuke Nasu, Robert E. Campbell |
| 2. 発表標題 Development of a new type of chemi-genetic calcium ion indicator |
| 3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Takua Terai, Naoto Nemoto |
| 2. 発表標題 In vitro selection of polypeptides using cDNA display technology |
| 3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Takuya Terai, Tomoya Hirata, Ryo Taguchi, Wenchao Zhu, Yasuteru Urano, Robert Earl Campbell |
| 2. 発表標題 Chemi-genetic fluorescent probes for visualizing local dynamics of metal ions |
| 3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Issei Yamaguchi, Yusuke Nasu, Takuya Terai, Robert E Campbell |
| 2. 発表標題 Self-complementing split fluorescent protein-based biosensors for calcium ion |
| 3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 劉建和、寺井琢也、CAMPBELL Robert |
| 2. 発表標題 cDNA display法によるコピキチン化酵素(E3)基質配列のスクリーニング手法の開発研究 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 柳町拓海、Kelvin Tsao、Wenchao Zhu、寺井琢也、Robert E. Campbell |
| 2. 発表標題 ビペラジン誘導体と HaloTag-緑色蛍光タンパク質(GFP)融合タンパク質を用いた二酸化炭素検出蛍光バイオセンサーの開発 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Fu Chai, Karl Matthew Lin, Yusuke Nasu, Takuya Terai, Robert E. Campbell |
| 2. 発表標題 Rapid construction of L-lactate biosensor color variants by transposon-mediated insertion |
| 3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 竹内 志織、Wenchao Zhu、寺井 琢也、Robert Campbell |
| 2. 発表標題 細胞内ナトリウムイオンのイメージングを目指した蛍光タンパク質有機分子融合型センサーの開発 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 朱 文超、寺井 琢也、那須 雄介、Robert Campbell |
| 2. 発表標題 小分子キレーターと蛍光タンパク質を用いた化学遺伝学的Ca ²⁺ センサーの開発 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 寺井 琢也、藤谷 聡、根本 直人 |
| 2. 発表標題 cDNA display 技術を活用したプロテアーゼ蛍光プローブの開発 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Peter Wojnicki, Kelvin Tsao, Yusuke Nasu, Takuya Terai, Robert Earl Campbell |
| 2. 発表標題 Towards a chemigenetic calcium ion sensor based on an engineered calmodulin and an environmentally sensitive synthetic dye fluorophore |
| 3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 小池知幸、寺井琢也、根本直人 |
| 2. 発表標題 光架橋塩基を活用した新規ペプチドアダプター探索法の基盤開発 |
| 3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 寺井琢也、安齋宏紀、根本直人 |
| 2. 発表標題 分子夾雑系内淘汰によるIL-17A結合ペプチドの取得 |
| 3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第14回年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 寺井琢也、安齋宏紀、山田陸、根本直人 |
| 2. 発表標題 cDNA display法を用いたpH感受性色素結合ペプチドの探索とタンパク質精製への応用 |
| 3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤谷聡、寺井琢也、根本直人 |
| 2. 発表標題 cDNA display法によるプロテアーゼ基質ペプチドの網羅的スクリーニング |
| 3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム2019 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Takuya Terai, Shota Kobayashi, Yuki Yoshikawa, Yasuhito Utsugi, Naoto Nemoto |
| 2. 発表標題 Functionalization of liposomes using artificially evolved peptides against lipid membranes |
| 3. 学会等名 CBI学会2019年大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 寺井琢也、小池知幸、根本直人 |
| 2. 発表標題 cDNA displayの光架橋によるペプチドアプタマー探索の基盤研究 |
| 3. 学会等名 新学術領域「分子夾雑の生命化学」第2回関東地区シンポジウム |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Chathuni Jayathilate, Hiroki Anzai, Takuya Terai, Naoto Nemoto |
| 2. 発表標題 A cDNA display mediated novel immuno-PCR method |
| 3. 学会等名 Next Generation Protein Analysis and Detection (3rd ed.) (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 寺井琢也、藤谷聡、根本直人 |
| 2. 発表標題 cDNA display技術を活用した酵素基質ペプチドの網羅探索 |
| 3. 学会等名 日本化学会 第100春季年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 寺井琢也、小池知幸、根本直人 |
| 2. 発表標題 核酸光架橋を利用した新規ペプチドアプタマー探索法の開発 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第140年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山田 陸、安齋 宏紀、寺井 琢也、根本 直人 |
| 2. 発表標題 pH応答型タンパク質精製システムを目指した低分子結合ペプチドの探索研究 |
| 3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 藤谷 聡、寺井 琢也、根本 直人 |
| 2. 発表標題 cDNA display法を用いたプロテアーゼの基質探査法の開発 |
| 3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hiroyuki Anzai, Riku Yamada, Takuya Terai, Naoto Nemoto |
| 2. 発表標題 Development of Phenolphthalein Binding Peptide Aptamers Using cDNA Display |
| 3. 学会等名 10th International Peptide Symposium (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 安齋 宏紀、根本 直人、寺井 琢也 |
| 2. 発表標題 cDNA display法を用いた夾雑環境下での試験管内淘汰 |
| 3. 学会等名 日本化学会第99春季年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 寺井 琢也、安齋 宏紀、山田 陸、根本 直人 |
| 2. 発表標題 In vitro selection of peptide aptamers that recognize a specific conformation of an organic dye |
| 3. 学会等名 日本化学会第99春季年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 寺井 琢也、安齋 宏紀、山田 陸、根本 直人 |
| 2. 発表標題 進化分子工学による低分子認識ポリペプチドの開発 |
| 3. 学会等名 Future Trend in Polymer Science 2018 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

| | | |
|--|---------------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 A novel immune-PCR method using cDNA display | 発明者 根本直人、安齋宏紀、鈴木武尊、熊地重文、寺井琢也 | 権利者 埼玉大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/007271 | 出願年 2020年 | 国内・外国の別 外国 |

| | | |
|--|------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 光架橋塩基を活用した、新規ペプチドアダプター探索用標的モジュール、新規ペプチドアダプター探索用リンカー及びそれらを用いる新規ペプチドアダプターの探索方法 | 発明者 根本直人、寺井琢也 | 権利者 埼玉大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/009915 | 出願年 2021年 | 国内・外国の別 外国 |

| | | |
|--|---------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 分子精製用リガンド、分子精製用タグペプチド及びこれらを用いた分子精製方法 | 発明者 根本直人、寺井琢也、安齋宏紀、山田陸 | 権利者 埼玉大学 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-162831 | 出願年 2018年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

| |
|---|
| <p>埼玉大学大学院理工学研究科根本研究室ホームページ http://park.saitama-u.ac.jp/~nemoto/ 東京大学大学院理学系研究科化学専攻生体分子化学研究室ホームページ https://www.chem.s.u-tokyo.ac.jp/campbell/</p> |
|---|

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 |
|-------|--|--|----|
| 研究協力者 | 根本 直人 (Nemoto Naoto) (60509727) | 埼玉大学・大学院理工学研究科・教授 (12401) | |
| 研究協力者 | キャンベル ロバート アール (Campbell Robert Earl) (40831318) | 東京大学・大学院理学系研究科・教授 (12601) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |