

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14391

研究課題名(和文)人工アミノ酸代謝関連酵素の全配列設計を目指した新規配列データマイニング法の開発

研究課題名(英文)Development of protein sequence data mining method to design total sequence of artificial amino acid metabolism enzymes

研究代表者

中野 祥吾 (Nakano, Shogo)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教

研究者番号：80748541

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文): 本研究では高機能な人工酵素配列設計の成功確率を上げる、新規アミノ酸配列選抜手法の開発と応用を目指した研究を実施した。本手法をL-アミノ酸酸化酵素ファミリーに属する2つの酵素(L-アルギニン酸化酵素 [AROD] とL-アミノ酸酸化酵素 [LAAO]) に適用し、祖先型設計法を用いて人工酵素配列を設計することで、各種酵素機能(耐熱性、可溶性及び反応性)の向上が達成できることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

データベースに登録されるアミノ酸配列データは今後も際限なく拡大していくと予測されている。本手法は拡大を続ける配列データベースから必要な情報を選抜し、高機能化した人工酵素配列の設計を可能にするなど、配列データベースの持つ潜在能力を引き出すことができる。また本研究で得られた人工酵素群の機能は、自然界のものより優れており、産業応用への展開が期待できるものも多かった。本成果は人工酵素は自然界由来の酵素より機能が劣るといふ、一般論を覆すものであると考えている。

研究成果の概要(英文): In this study, we try to develop a method to curate protein sequence data and increase succession rate for the design of highly functional artificial enzymes. By applying the method to the design of two enzymes belonging to L-amino acid oxidase family (L-arginine oxidase and L-amino acid oxidase), we can generate artificial enzymes bearing high stability, solubility and reactivity with ancestral sequence reconstruction.

研究分野: タンパク質工学

キーワード: L-アミノ酸酸化酵素 祖先型設計 D-アミノ酸 光学分割 基質特異性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酵素は環境に優しい触媒として、医薬品合成及び化合物合成などへの応用が期待されている。一方で自然界に存在する酵素は不安定（低耐熱性や耐久性）かつ基質選択性が狭いものが多く、そのままの状態では産業応用できるものは少ない。これら酵素機能を各種タンパク質工学的手法により高機能化することは、酵素の産業応用を進める上で避けては通れない課題の一つである。近年、データベース上に登録された膨大な配列データを利用し、多数の変異を自然界由来の酵素に導入することで高機能化を達成した、人工酵素配列設計に関する成功例が、国内外で広く報告されるようになった。同時に高機能化した人工酵素配列設計の成功確率を上げるためには、データベース上の全ての配列データを用いるのではなく、設計に適した配列データのみを選抜し、設計に利用する必要がある。しかし人工酵素配列の設計に適した配列選抜手法に関する報告は少なく、各研究者の独自の知見に基づいて配列を選抜しているのが現状である。

2. 研究の目的

そこで本研究ではデータベース上に登録された酵素のアミノ酸配列データから設計に利用する配列を選別し、高機能化（酵素機能の変換含む）した人工酵素配列の設計を高い精度で可能とする手法開発を目的とした。アミノ酸代謝関連酵素に本手法を広く適用し、その酵素機能を評価することで開発した手法の精度・有効性の確認と改良を行った。まずは本手法を L-アルギニン酸化酵素（AROD）に適用し、L-Arg 以外のアミノ酸に対して基質特異性が拡大した人工 AROD のアミノ酸配列の全設計を試みた。設計した配列の酵素機能解析と系統解析の結果から、AROD の分子進化に関する考察を行った（課題 a）。第二に人工 AROD 配列を用いて配列データベース探索を行い、広い基質選択性を有する新規 L-アミノ酸酸化酵素（LAAO）の取得と、D-アミノ酸誘導体の光学分割への応用を実施した（課題 b）。

AROD は L-アルギニン（L-Arg）に高い特異性を有する FAD 依存型アミノ酸酸化酵素で、L-Arg の主鎖アミドの酸化反応を触媒する。AROD はその高い特異性から、定量用酵素としての応用が期待されるなど、その構造機能の解明が求められている。また LAAO は広く L-アミノ酸を基質として認識し、かつ主鎖のアミノ基を酸化してイミノ酸を生成することが可能な FAD 依存型アミノ酸酸化酵素である。AROD と LAAO は特定の L-アミノ酸の主鎖を酸化するという反応の面では共通しているが、認識できる基質が大きく異なること、基質選択性が大きく異なることが機能の違いとして挙げられる。本研究で扱った AROD と LAAO 間の配列相同性は 20%程度と低い。この配列の差異が、基質認識及び基質選択性の違いを生み出していることが示唆された。

3. 研究の方法

課題 a. AROD の高機能化を達成するため、図 1 に示した手法を用いて人工 AROD 配列を設計した。報告のある *Pseudomonas* sp. TPU7192 由来の AROD (PtAROD) 配列を鋳型配列とし、Blastp により計 306 個のホモログ配列を取得した（手順 1, 図 1）。次いで PtAROD と各ホモログ配列からなる配列ペアを作成し、ペアワイズアライメントを実施したのち（手順 2, 図 1）、15, 50, 332, 及び 580 位のアミノ酸残基が Gly, Ser, Trp 及び Thr で保存されているホモログ配列を選抜した（手順 3, 図 1）。最終的に 10 配列のホモログ配列を取得した（図 1）。取得した 10 配列について、MAFFT を用いたマルチプルシーケンスアライメント、MEGA により最尤法を用いて系統解析を実施したのち、得られたデータを FastML で解析することで、計 3 つの祖先型 AROD (AncARODn0, AncARODn1 および AncARODn2) を設計した。祖先型 AROD に関して人工遺伝子合成を行い、目的遺伝子を pET15b ベクターにサブクローニングしたのち、BL21 (DE3) 株に形質転換することでタンパク質発現系を構築し

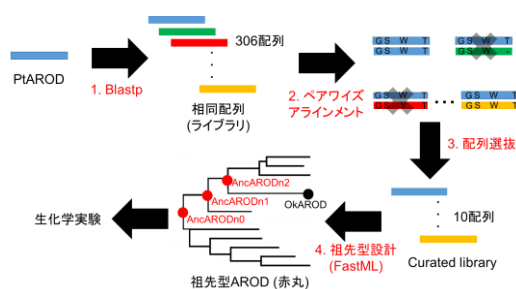


図 1. 祖先型 AROD の設計手法。設計は 1 から 4 の手順を経ることで実施した。最終的に 3 つの祖先型 AROD (AncARODn0, AncARODn1 および AncARODn2) を設計し、各種生化学実験を実施した。

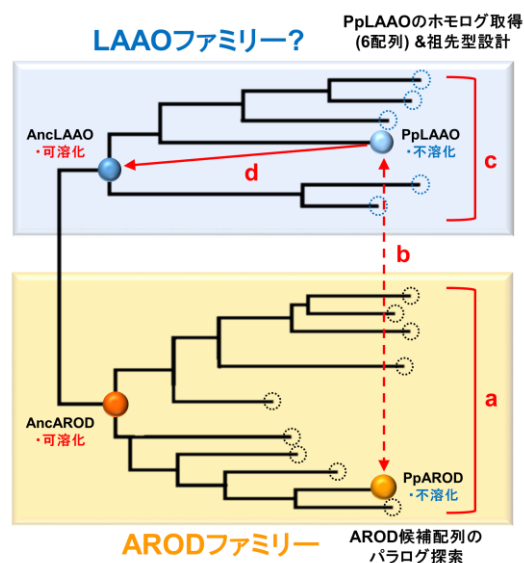


図 2. 祖先型 LAAO (AncLAAO) の設計手順の概略図。手順 a から d を実施することで、PpAROD 配列から AncLAAO を設計した。

た。得られた発現系を用いて祖先型 AROD を大量発現し、Ni-アフィニティクロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーを用いて精製した。精製した祖先型 AROD に関して各種生化学解析を実施した。

課題 b. 祖先型 AROD の設計に用いた 10 配列 (図 1) を参考に、新規 L-アミノ酸配列の取得を目的とした配列データベース探索を実施した (図 2)。まず AROD ファミリーに属する 10 配列に関して、Blastp によりパラログの探索を実施した (手順 a, 図 2)。結果、*Pseudoalteromonas piscicida* 由来 AROD (PpAROD) に関してのみ、約 20% のアミノ酸配列相同性を有する LAAO 候補配列 (PpLAAO) が存在することが判明した (手順 b, 図 2)。しかし PpLAAO は大腸菌発現系を用いて可溶性画分に得ることはできなかった。PpLAAO に代わる安定かつ可溶性の向上した LAAO 候補配列を得るため、祖先型設計を用いて PpLAAO の高機能化を試みた。まずは PpLAAO を鋳型配列とし、Blastp 解析などを用いて、6 つのホモログ配列を取得した (手順 c, 図 2)。取得したホモログ配列を用いて、祖先型 AROD 設計の際に使用したものと同様のソフトウェアを用いて、祖先型 LAAO (AncLAAO) 配列を設計した (手順 d, 図 2)。AncLAAO に関して人工遺伝子合成を行い、pET28a ベクターにサブクローニングしたのち、BL21 (DE3) 株に形質転換することでタンパク質発現系を構築した。発現系を用いて AncLAAO の大量発現・精製を行い、最終的に 50 mg/L 以上の精製 AncLAAO を得ることに成功した。

4. 研究成果

課題 a. 設計した 3 つの祖先型 AROD (AncARODn0, AncARODn1 および AncARODn2) に関して各種酵素生化学解析を実施した。まずは 20 種類の L-アミノ酸を用いて基質特異性に関する評価を実施した。結果、AncARODn1 と AncARODn2 については報告のある自然界由来 AROD (PtAROD 及び OkAROD) と同様、L-Arg と L-Lys に対して活性を有することが判明した。一方で AROD の共通祖先配列に最も近い AncARODn0 について、L-Arg と L-Lys だけでなく、L-His、L-Phe、L-Leu 及び L-Met にも弱い活性を有するなど、基質選択性が広がっていた。次に祖先型 AROD の耐熱性の評価を実施した。結果、AncARODn0 が最も耐熱性が高く ($T_{1/2} = 88^{\circ}\text{C}$)、AncARODn1 ($T_{1/2} = 78^{\circ}\text{C}$)、AncARODn2 ($T_{1/2} = 72^{\circ}\text{C}$) の順で低くなることが判明した。以上の結果から AncARODn0 は自然界由来 AROD と比べて高い耐熱性と広い基質選択性を有するなど、その他報告のある復元した祖先型酵素と類似した特徴を有することが判明した。

祖先型 AROD 群の酵素学的諸性質を更に詳細に検討するため、酵素反応速度論解析を実施した。10 から 40°C における異なる温度での反応速度パラメータをそれぞれ決定したのち、アレニウスの式から活性化エネルギーを決定した。結果、AncARODn0 の活性化エネルギー値が最も大きく (41.8 kJ/mol)、AncARODn1 (36.2 kJ/mol)、AncARODn2 (24.8 kJ/mol) の順で小さくなることが判明した。これら活性化エネルギーに影響を及ぼす変異の同定を試みたが、現在のところ同定には至っていない。

以上の生化学解析の結果をまとめ、系統樹上に反映したものを図 3 に示した。図示したように、祖先型 AROD の配列は共通祖先配列に近づくにつれて、段階的に耐熱性が向上し、かつ基質選択性が広がることが判明した。本解析の結果から L-Arg に対し高い特異性を有する自然界由来 AROD は、基質選択性の広い LAAO が分子進化することで発生したと予測した。本研究に関してはアメリカ微生物学会誌 *Applied Environmental and Microbiology* 誌に掲載済みである。

課題 b. 図 2 の手順を経て得られた AncLAAO に関して、酵素学的諸性質の検討を行った。20 種類の L-アミノ酸を用いて基質選択性に関する評価を行った結果、AncLAAO は 13 種類の L-アミノ酸に対して活性を有することが判明した。特に L-Gln、L-Met、L-Leu、L-Glu、L-Phe 及び L-Trp の 6 種類の L-アミノ酸に対して高い活性を有することが明らかとなった。次いで 6 種類の L-アミノ酸を用いて反応速度パラメータの決定を行った。結果、 k_{cat} 値は 6.4 から $22.0 / \text{sec}$ の範囲で、 $k_{\text{cat}}/K_{\text{m}}$ 値は 2.1 から $55.0 / (\text{sec} \cdot \text{mM})$ の範囲で分布するなど、高い活性を有することが判明した。以上の結果から、AncLAAO は基質選択性の広い LAAO であることが判明した。過去の研究では基質選択性の広い LAAO は大腸菌発現系で得ることが難しいと報告されていた。一方で AncLAAO は大腸菌発現系で 50 mg/L 以上の収量で得ることができると、LAAO が有していた弱点を克服できていた。

次に AncLAAO を用いて、ラセミ体アミノ酸誘導体から D-アミノ酸誘導体を光学分割できるか評価した。100mM リン酸カリウム緩衝液 (pH =

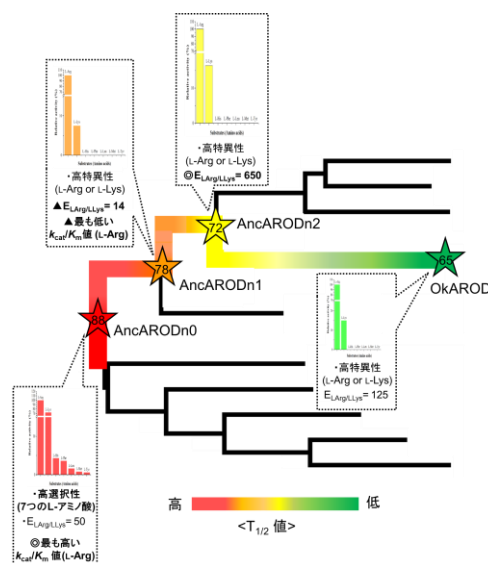


図 3, 祖先型 AROD の生化学解析結果を系統樹上に反映した概略図。耐熱性 ($T_{1/2}$) は段階的に緑 (低) から赤 (高) になるよう表示した。 $T_{1/2}$ の値は図の星の中に記載した。20 種類の L-アミノ酸に対する相対活性値を棒グラフで表示した。

7.0), ラセミ体アミノ酸誘導体 (図4に示した20種類), アンモニウム:ボラン錯塩 ($\text{NH}_3:\text{BH}_3$), AncLAAO からなる反応系を用いて光学分割を実施した。結果, HPLC スケールで16種類、分取スケール (100 mg の誘導体を使用) で4種類の誘導体に関して、高い光学純度 (>99% ee, D体) かつ収率 (69–85%) でD-アミノ酸誘導体を得ることに成功した (図4)。

本研究に関してアメリカ化学会の触媒化学専門誌 *ACS Catalysis* に掲載されている。また本論文は F1000Prime の推薦論文に選定されている。

その他共同研究を通して、下記引用文献に記載した成果を得た。

<引用文献>

- ① Mayu Kawasaki, Akira Kambe, Yuta Yamamoto, Sundaram Arulmozhiraja, Sohei Ito, Yoshimi Nakagawa, Hiroaki Tokiwa, Shogo Nakano* and Hitoshi Shimano*, (2020), Elucidation of Molecular Mechanism of a Selective PPAR α Modulator, Pemafibrate, through Combinational Approaches of X-ray Crystallography, Thermodynamic Analysis, and First-Principle Calculations, *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 361
- ② Shogo Nakano*, Yuki Minamino, Fumihito Hasebe, Sohei Ito*, (2019), Deracemization and Stereoconversion to Aromatic D-Amino Acid Derivatives with Ancestral L-Amino Acid Oxidase, *ACS Catalysis*, **9**, 10152–10158,
- ③ Shogo Nakano*, Masazumi Niwa, Yasuhisa Asano, and Sohei Ito, (2019), Following the Evolutionary Track of a Highly Specific L-Arginine Oxidase by Reconstruction and Biochemical Analysis of Ancestral and Native Enzymes, *Applied Environmental and Microbiology*, **85**, e00459–19,
- ④ Shoya Yamada, Mayu Kawasaki, Michiko Fujijara, Masaki Watanabe, Yuta Takamura, Maho Takioku, Hiromi Nishioka, Yasuo Takeuchi, Makoto Makishima, Tomoharu Motoyama, Sohei Ito, Hiroaki Tokiwa, Shogo Nakano* and Hiroki Kakuta*, (2019), Competitive Binding Assay with an Umbelliferone-Based Fluorescent Retinoid for Retinoid X Receptor Ligand Screening, *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 8809–8818,
- ⑤ Takaki Tokiwa¹, Shogo Nakano^{1*}, Yuta Yamamoto, Takeshi Ishikawa, Sohei Ito, Vladimir Sladek, Kaori Fukuzawa, Yuji Mochizuki, Hiroaki Tokiwa*, Fuminori Misaizu, and Yasuteru Shigeta*, (2019), Development of an Analysis Toolkit, AnalysisFMO, to Visualize Interaction Energies Generated by Fragment Molecular Orbital Calculations, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **59**, 25–30, 1. Equally contributed
- ⑥ Kyohei Muguruma, Konomi Fujita, Akane Fukuda, Satoshi Kishimoto, Soichiro Sakamoto, Risako Arima, Mayu Ito, Mayu Kawasaki, Shogo Nakano, Sohei Ito, Kanade Shimizu, Akihiro Taguchi, Kentaro Takayama, Atsuhiko Taniguchi, Yuji Ito, and Yoshio Hayashi, (2019), Kinetics-Based Structural Requirements of Human Immunoglobulin G Binding Peptides, *ACS Omega*, **4**, 14390–14397
- ⑦ Yurina Miyashita, Nobutaka Numoto, Sundaram Arulmozhiraja, Shogo Nakano, Naoya Matsuo, Kanade Shimizu, Osamu Shibahara, Michiko Fujihara, Hiroki Kakuta, Sohei Ito, Teikichi Ikura, Nobutoshi Ito and Hiroaki Tokiwa, (2019), Dual conformation of the ligand induces the partial agonistic activity of retinoid X receptor alpha (RXR α), *FEBS Letters*, **593**, 242–250
- ⑧ Yuko Shimamura, Mio Utsumi, Chikako Hirai, Shogo Nakano, Sohei Ito, Ai Tsuji, Takeshi Ishii, Takahiro Hosoya, Toshiyuki Kan, Norio Ohashi and Shuichi Masuda, (2019), Binding of Catechins to Staphylococcal Enterotoxin A, *Molecules*, **23**, DOI: 10.3390/molecules23051125
- ⑨ Koichi Saeki, Sumio Hayakawa, Shogo Nakano, Sohei Ito, Yumiko Oishi, Yasuo Suzuki and Mamoru Isemura, (2018), In Vitro and In Silico Studies of the Molecular Interactions of Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) with Proteins That Explain the Health Benefits

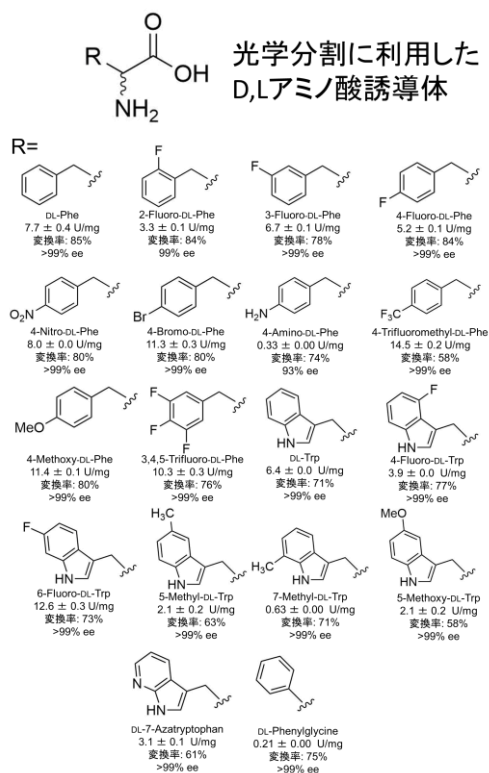


図4. 光学分割に利用した D,Lアミノ酸誘導体の一覧。誘導体の名称と比活性、変換率と ee 値を記載している。

of Green Tea, *Molecules*, **23**, DOI: 10.3390/molecules23061295

⑩ Shogo Nakano, Shin-ichi Meguro, Tadashi Hase, Takuji Suzuki, Mamoru Isemura*, Yoriyuki Nakamura and Sohei Ito. (2018), Computational Molecular Docking and X-ray Crystallographic Studies of Catechins in New Drug Design Strategies, *Molecules*, **23**, DOI: 10.3390/molecules23082020

⑪ Yuki Honda¹, Shogo Nakano¹, Sohei Ito, Mohammad Dadashipour, Zilian Zhang, Yutaka Kawarabayasi, (2018), Improvement of ST0452 N-Acetylglucosamine-1-Phosphate Uridyltransferase Activity by the Cooperative Effect of Two Single Mutations Identified through Structure-Based Protein Engineering, *Applied Environmental and Microbiology*, **84**, DOI: 10.1128/AEM.02213-18

(備考) 1. Equally contributed, *. Corresponding author.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 6件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakano Shogo, Niwa Masazumi, Asano Yasuhisa, Ito Sohei | 4. 巻 85 |
| 2. 論文標題 Following the Evolutionary Track of a Highly Specific L-Arginine Oxidase by Reconstruction and Biochemical Analysis of Ancestral and Native Enzymes | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology | 6. 最初と最後の頁 e00459-19 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.00459-19 | 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 Tokiwa Takaki, Nakano Shogo, Yamamoto Yuta, Ishikawa Takeshi, Ito Sohei, Sladek Vladimir, Fukuzawa Kaori, Mochizuki Yuji, Tokiwa Hiroaki, Misaizu Fuminori, Shigeta Yasuteru | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Development of an Analysis Toolkit, AnalysisFMO, to Visualize Interaction Energies Generated by Fragment Molecular Orbital Calculations | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Chemical Information and Modeling | 6. 最初と最後の頁 25 ~ 30 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jcim.8b00649 | 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 Miyashita Yurina, Numoto Nobutaka, Arulmozhiraja Sundaram, Nakano Shogo, Matsuo Naoya, Shimizu Kanade, Shibahara Osamu, Fujihara Michiko, Kakuta Hiroki, Ito Sohei, Ikura Teikichi, Ito Nobutoshi, Tokiwa Hiroaki | 4. 巻 593 |
| 2. 論文標題 Dual conformation of the ligand induces the partial agonistic activity of retinoid X receptor (RXR) | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 FEBS Letters | 6. 最初と最後の頁 242 ~ 250 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.13301 | 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 Honda Yuki, Nakano Shogo, Ito Sohei, Dadashipour Mohammad, Zhang Zilian, Kawarabayasi Yutaka | 4. 巻 84 |
| 2. 論文標題 Improvement of ST0452 N-Acetylglucosamine-1-Phosphate Uridyltransferase Activity by the Cooperative Effect of Two Single Mutations Identified through Structure-Based Protein Engineering | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Applied and Environmental Microbiology | 6. 最初と最後の頁 e02213-18 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/AEM.02213-18 | 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 Shogo Nakano, Shin-ichi Meguro, Tadashi Hase, Takuji Suzuki, Mamoru Isemura, Yoriyuki Nakamura and Sohei Ito | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Computational Molecular Docking and X-ray Crystallographic Studies of Catechins in New Drug Design Strategies. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 2020 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules23082020 | 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 Koichi Saeki, Sumio Hayakawa, Shogo Nakano, Sohei Ito, Yumiko Oishi, Yasuo Suzuki and Mamoru Isemura | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 In Vitro and In Silico Studies of the Molecular Interactions of Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) with Proteins That Explain the Health Benefits of Green Tea. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 1295 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules23061295 | 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 Yuko Shimamura, Mio Utsumi, Chikako Hirai, Shogo Nakano, Sohei Ito, Ai Tsuji, Takeshi Ishii, Takahiro Hosoya, Toshiyuki Kan, Norio Ohashi and Shuichi Masuda | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Binding of Catechins to Staphylococcal Enterotoxin A | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Molecules | 6. 最初と最後の頁 1125 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules23051125 | 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 Nakano Shogo, Motoyama Tomoharu, Miyashita Yurina, Ishizuka Yuki, Matsuo Naoya, Tokiwa Hiroaki, Shinoda Suguru, Asano Yasuhisa, Ito Sohei | 4. 巻 57 |
| 2. 論文標題 Benchmark Analysis of Native and Artificial NAD ⁺ -Dependent Enzymes Generated by a Sequence-Based Design Method with or without Phylogenetic Data | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Biochemistry | 6. 最初と最後の頁 3722 ~ 3732 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00339 | 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 中野 祥吾 | 4. 巻 96 |
| 2. 論文標題 新規アミノ酸配列解析手法の開発とタンパク質工学への応用 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 生物工学会誌 | 6. 最初と最後の頁 573-577 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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 松井 大亮, 中野 祥吾, Mohammad Dadashipour, 浅野 泰久 | 4. 巻 80 |
| 2. 論文標題 タンパク質の二次構造とアミノ酸の疎水性度に基づいた凝集に関連するホットスポットの合理的同定法 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 酵素工学ニュース | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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 Kawasaki Mayu, Kambe Akira, Yamamoto Yuta, Arulmozhiraja Sundaram, Ito Sohei, Nakagawa Yoshimi, Tokiwa Hiroaki, Nakano Shogo, Shimano Hitoshi | 4. 巻 21 |
| 2. 論文標題 Elucidation of Molecular Mechanism of a Selective PPAR Modulator, Pemafibrate, through Combinational Approaches of X-ray Crystallography, Thermodynamic Analysis, and First-Principle Calculations | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 361 ~ 361 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21010361 | 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 Yamada Shoya, Kawasaki Mayu, Fujihara Michiko, Watanabe Masaki, Takamura Yuta, Takioku Maho, Nishioka Hiromi, Takeuchi Yasuo, Makishima Makoto, Motoyama Tomoharu, Ito Sohei, Tokiwa Hiroaki, Nakano Shogo, Kakuta Hiroki | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Competitive Binding Assay with an Umbelliferone-Based Fluorescent Rexinoid for Retinoid X Receptor Ligand Screening | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry | 6. 最初と最後の頁 8809 ~ 8818 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.9b00995 | 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 Nakano Shogo, Minamino Yuki, Hasebe Fumihito, Ito Sohei | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Deracemization and Stereoinversion to Aromatic d-Amino Acid Derivatives with Ancestral l-Amino Acid Oxidase | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Catalysis | 6. 最初と最後の頁 10152 ~ 10158 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.9b03418 | 査読の有無 無 |
| 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 Muguruma Kyohei, Fujita Konomi, Fukuda Akane, Kishimoto Satoshi, Sakamoto Soichiro, Arima Risako, Ito Mayu, Kawasaki Mayu, Nakano Shogo, Ito Sohei, Shimizu Kanade, Taguchi Akihiro, Takayama Kentaro, Taniguchi Atsuhiko, Ito Yuji, Hayashi Yoshio | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 Kinetics-Based Structural Requirements of Human Immunoglobulin G Binding Peptides | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 ACS Omega | 6. 最初と最後の頁 14390 ~ 14397 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b01104 | 査読の有無 無 |
| 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4件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shogo Nakano |
| 2. 発表標題 Filling a gap between computational and experimental researches through sequence-based protein design |
| 3. 学会等名 The 4th International Conference on Pharma and Food (ICPF) 2018 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中野 祥吾 |
| 2. 発表標題 新規アミノ酸配列解析手法、INTMSAlign の開発と応用 |
| 3. 学会等名 第138回日本薬学会大会 (招待講演) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 中野 祥吾 |
| 2. 発表標題 In silicoでタンパク質を創る |
| 3. 学会等名 細胞を創る研究会12.0 (招待講演) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shogo Nakano |
| 2. 発表標題 Reconstruction of ancestral L-amino acid oxidase to broaden substrate selectivity |
| 3. 学会等名 Enzyme Engineering XXV (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|---------------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 糖鎖結合性一本鎖抗体およびその作製方法 | 発明者 隅田泰生、常盤広明、伊藤創平、中野祥吾、新地浩之 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、2019-091686 | 出願年 2019年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|