

平成 22 年 5 月 26 日現在

研究種目：基盤研究B

研究期間：平成 19 年度～平成 21 年度

課題番号：19380066

研究課題名（和文） 遺伝子変異体とゲノム配列を利用する小分子結合タンパク質・受容体決定法の研究

研究課題名（英文） The new method to identify small molecules binding proteins by using mutants and genome sequences

研究代表者 菅原 二三男

（東京理科大学 理工学部 教授）

研究者番号：30192123

研究成果の概要（和文）：本研究は、遺伝子変異キイロショウジョウバエを用いた新規薬剤感受性評価法の確立と、それを用いた CPT の新規生体内作用標的タンパク質の同定を目的とした。水晶発振子マイクロバランス（QCM）装置を用いた T7 フェージディスプレイ法を用いて、CPT-20-B 結合ペプチド（NSASRGGSQRGRGEH）が同定されている。このペプチド配列は、ヒト HshnRNP A1 と キイロショウジョウバエ DmHrb87F のそれぞれの配列と相同性を示した。HeLa 細胞可溶画分を用いたビーズプルダウン試験から、CPT と HshnRNP A1 が結合した。HshnRNP A1-GST 組み換えタンパク質を作製し、QCM 相互作用解析を行い、CPT が HshnRNP A1 と解離定数 82.7 nM で結合した。

遺伝子欠損キイロショウジョウバエによる薬剤感受性試験の結果、2 つの DmHrb87F 遺伝子変異体である Hrb87FKG02089 と Hrb87FBG02743 は、野生株と比較して CPT に対して高い感受性を示した。Topo I は、プラスミド DNA のスーパーコイルを解消する働きがある。このトポロジー変化を CPT そして HshnRNP A1 存在下で観察した。CPT は、報告される様に topo I 活性を阻害した。また、hnRNP A1 も同様に topo I 活性を阻害した。さらに、HshnRNP A1 は、CPT 共存在下で topo I 活性阻害を増進した。

以上の結果から、HshnRNP A1 または DmHrb87F は CPT と結合し、topo I 活性を調節している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The present study aimed at the identification of the action new and in vivo target protein of the establishment of the new medicine receptivity evaluation method that used gene mutation *Drosophila melanogaster* and CPT that used it.

CPT-20-B connecting peptide (NSASRGGSQRGRGEH) is identified by using the T7 phage display method with crystal departure pendulum microbalance (QCM) device. This peptide sequencing showed each array and the homology of human HshnRNP A1 and *Drosophila melanogaster* DmHrb87F. CPT united from the bead pull-down examination that used HeLa cell meltable picture with HshnRNP A1. CPT made HshnRNP A1-GST united changing protein, did the QCM interaction analysis, and was HshnRNP A1 and was dissociation constant 82.7 nM.

As a result of the microbial sensitivity test, by gene loss *Drosophila melanogaster*, two Hrb87FKG02089 and Hrb87FBG02743 that was the DmHrb87F gene mutant showed CPT high receptivity compared with the wild strain. Topo I has working that cancels a super-coil of plasmid DNA. This topology change was observed under CPT and the HshnRNP A1 existence. CPT obstructed the topo I revitalization as reported. Moreover, hnRNP A1 also similarly obstructed the topo I revitalization. In addition, CPT has improved the topo I active inhibition to HshnRNP A1 under both existence.

HshnRNP A1 or DmHrb87F united from the above-mentioned result with CPT, and the

possibility of adjusting the topo I revitalization was suggested.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	6,500,000	1,950,000	8,450,000
20年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
21年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	2,835,000	19,890,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学 6104

キーワード：(1)受容体 (2)結合タンパク質 (3) 遺伝子変異体 (4) ゲノム

(5) ファージディスプレイ (6) QCM (7) 結合アミノ酸配列

1. 研究開始当初の背景

医薬候補化合物がどのタンパク質とどのように生体内で結合するかを明らかにすることは、医薬品の開発には必須かつ極めて重要な情報である。本研究は、医薬候補化合物の固定化技術と、特定の医薬候補化合物と結合する標的タンパク質（標的分子）候補を迅速かつ高感度に同定する方法を利用し、標的タンパク質（標的分子）候補をコードする遺伝子欠損変異体の薬剤感受性を解析することで、医薬結合タンパク質および受容体を決定・評価する方法を研究することにより、以下の目的を達成する。

2. 研究の目的

目的1：標的タンパク質（標的分子）候補の迅速かつ高感度に選択的に同定する。

既知の医薬品化合物に本方法を適用して既知の標的タンパク質を決定することで、本方法の妥当性を証明することで、この目的を達成する。

目的2：遺伝子欠損変異体の薬剤感受性によって医薬結合タンパク質および受容体を決定・評価する。

標的タンパク質（標的分子）候補をコードする遺伝子欠損変異体として、市販の酵母・ショウジョウバエ・シロイヌナズナを使い薬剤に対する感受性を解析することで、この目的を達成する。

3. 研究の方法

医薬品化合物の標的タンパク質（標的分子）を同定するため、昨年度は化学合成 DNA36mer による 107 のライブラリを再設計して作製し、さらに QCM（水晶発振子マイクロバラン

ス）による標的クローンの選抜ファージディスプレイ法が有効であることを示した。さらに結合タンパク質の遺伝子欠損株および高発現株の酵母を使い、医薬に対する感受性の変化を調べた。

このような基本的な知見を得たので、今年度はより多くの事例（医薬化合物）を使用して検討することにする。さらに結合アミノ酸配列をバイオインフォマティクスサーバー RELIC で統計的な処理を加え、遺伝子変体を利用することによって得られたアミノ酸配列が結合部位になることを証明する。

・医薬品および医薬候補化合物の固定化のため、ビオチン化体のほかに自己組織化単分子膜あるいは光反応による方法を適用し、それぞれを使った場合の結果の違いを検証する。
・ファージディスプレイで提示された結合アミノ酸配列から、結合タンパク質あるいは受容体と考えられるタンパク質を選抜する。組み替え体を作成してタンパク質を発現・精製し、結合定数を決定する。

・ファージに組み込む DNA ライブラリとして、合成 DNA36mer のほか、各種がん細胞の cDNA を作成する。

・遺伝子の欠損株および高発現株を購入あるいは作成し、薬剤感受性を検定する。

5. 同様に、siRNA による遺伝子発現のノックダウンを行い、薬剤感受性を検証する。

・結合候補タンパク質の立体構造を作成し、RELIC バイオインフォマティクスサーバー結合部位を予測するとともに遺伝子変異体を作成することで結合部位を決定する。

4. 研究成果

水晶発振子マイクロバランス (QCM) 装置を用いた T7 ファージディスプレイ法を用いて、CPT-20-B 結合ペプチド (NSASRGGGSRGRGEH) が同定されている。このペプチド配列は、ヒト HshnRNP A1 とキイロシヨウジョウバエ DmHrb87F のそれぞれの配列と相同性を示した。HeLa 細胞可溶画分を用いたビーズプルダウン試験から、CPT と HshnRNP A1 が結合した。HshnRNP A1-GST 組み換えタンパク質を作製し、QCM 相互作用解析を行い、CPT が HshnRNP A1 と解離定数 82.7 nM で結合した。

遺伝子欠損キイロシヨウジョウバエによる薬剤感受性試験の結果、2 つの DmHrb87F 遺伝子変異体である Hrb87FKG02089 と Hrb87FBG02743 は、野生株と比較して CPT に対して高い感受性を示した。Topo I は、プラスミド DNA のスーパーコイルを解消する働きがある。このトポロジ変化を CPT そして HshnRNP A1 存在下で観察した。CPT は、報告される様に topo I 活性を阻害した。また、hnRNP A1 も同様に topo I 活性を阻害した。さらに、HshnRNP A1 は、CPT 共存下で topo I 活性阻害を増進した。

以上の結果から、HshnRNP A1 または DmHrb87F は CPT と結合し、topo I 活性を調節している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 40 件)

1. A sulfoglycolipid beta-sulfoquinovosyldiacylglycerol (betaSQDG) binds to Met1-Arg95 region of murine DNA polymerase lambda (Mmpol lambda) and inhibits its nuclear transit. Takakusagi K, Takakusagi Y, Ohta K, Aoki S, Sugawara F, Sakaguchi K. *Protein Eng Des Sel.* 2010 Feb;23(2):51-60.

2. 3-O-methylfunicone, a selective inhibitor of mammalian Y-family DNA polymerases from an Australian sea salt fungal strain. Mizushina Y, Motoshima H, Yamaguchi Y, Takeuchi T, Hirano K, Sugawara F, Yoshida H. *Mar Drugs.* 2009 Nov 23;7(4):624-39.

3. Antitumor antibiotic fostriecin covalently binds to cysteine-269 residue of protein phosphatase 2A catalytic subunit in mammalian cells. Takeuchi T, Takahashi N, Ishi K, Kusayanagi T, Kuramochi K, Sugawara F. *Bioorg Med Chem.* 2009 Dec 1;17(23):8113-22. 1;17(23):8113-22.

4. Synthesis and structure-activity relationships of dehydroaltenusin

derivatives as selective DNA polymerase alpha inhibitors. Kuramochi K, Fukudome K, Kuriyama I, Takeuchi T, Sato Y, Kamisuki S, Tsubaki K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem.* 2009 Oct 15;17(20):7227-38.

5. Structure and activity relationship of monogalactosyl diacylglycerols, which selectively inhibited in vitro mammalian replicative DNA polymerase activity and human cancer cell growth. Matsui Y, Hada T, Maeda N, Sato Y, Yamaguchi Y, Takeuchi T, Takemura M, Sugawara F, Sakaguchi K, Yoshida H, Mizushina Y. *Cancer Lett.* 2009 Sep 28;283(1):101-7.

6. Penicillliols A and B, novel inhibitors specific to mammalian Y-family DNA polymerases. Kimura T, Takeuchi T, Kumamoto-Yonezawa Y, Ohashi E, Ohmori H, Masutani C, Hanaoka F, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem.* 2009 Mar 1;17(5):1811-6.

7. Chlorogenic acid facilitates root hair formation in lettuce seedlings. Narukawa M, Kanbara K, Tominaga Y, Aitani Y, Fukuda K, Kodama T, Murayama N, Nara Y, Arai T, Konno M, Kamisuki S, Sugawara F, Iwai M, Inoue Y. *Plant Cell Physiol.* 2009 Mar;50(3):504-14

8. Identification of trimannoside-recognizing peptide sequences from a T7 phage display screen using a QCM device. Nishiyama K, Takakusagi Y, Kusayanagi T, Matsumoto Y, Habu S, Kuramochi K, Sugawara F, Sakaguchi K, Takahashi H, Natsugari H, Kobayashi S. *Bioorg Med Chem.* 2009 Jan 1;17(1):195-202.

9. The inhibitory action of kohamaic acid A derivatives on mammalian DNA polymerase beta. Mizushina Y, Manita D, Takeuchi T, Sugawara F, Kumamoto-Yonezawa Y, Matsui Y, Takemura M, Sasaki M, Yoshida H, Takikawa H. *Molecules.* 2008 Dec 29;14(1):102-21.

10. Effect of dehydroaltenusin-C12 derivative, a selective DNA polymerase alpha inhibitor, on DNA replication in cultured cells. Kuriyama I, Mizuno T, Fukudome K, Kuramochi K, Tsubaki K, Usui T, Imamoto N, Sakaguchi K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Molecules.* 2008 Dec 1;13(12):2948-61.

11. Synthesis and biological activities of neoechinulin A derivatives: new aspects of structure-activity relationships for neoechinulin A.

- Kuramochi K, Ohnishi K, Fujieda S, Nakajima M, Saitoh Y, Watanabe N, Takeuchi T, Nakazaki A, Sugawara F, Arai T, Kobayashi S. *Chem Pharm Bull* 2008 Dec;56(12):1738-43.
12. Identification of Small Molecule Binding Molecules by Affinity Purification Using a Specific Ligand Immobilized on PEGA Resin. Kuramochi K, Miyano Y, Enomoto Y, Takeuchi R, Ishi K, Takakusagi Y, Saitoh T, Fukudome K, Manita D, Takeda Y, Kobayashi S, Sakaguchi K, Sugawara F. *Bioconjug Chem*. 2008 Dec;19(12):2417-26.
13. Synthesis of Neoechinulin A and Derivatives. Kuramochi K, Aoki T, Nakazaki A, Kamisuki S, Takeno M, Ohnishi K, Kimoto K, Watanabe N, Kamakura T, Arai T, Sugawara F, Kobayashi K. *Synthesis* 2008 Nov;23:3810-18.
14. The specific inhibitory effect of demethoxydehydroaltenusin, a derivative of dehydroaltenusin, on mammalian DNA polymerase alpha. Kuriyama I, Fukudome K, Kamisuki S, Kuramochi K, Tsubaki K, Sakaguchi K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Int J Mol Med*. 2008 Dec;22(6):793-9.
15. Efficient one-cycle affinity selection of binding proteins or peptides specific for a small-molecule using a T7 phage display pool. Takakusagi Y, Kuramochi K, Takagi M, Kusayanagi T, Manita D, Ozawa H, Iwakiri K, Takakusagi K, Miyano Y, Nakazaki A, Kobayashi S, Sugawara F, Sakaguchi K. *Bioorg Med Chem*. 2008 Nov 15;16(22):9837-46.
16. Neoechinulin A protects PC12 cells against MPP+-induced cytotoxicity. Kajimura Y, Aoki T, Kuramochi K, Kobayashi S, Sugawara F, Watanabe N, Arai T. *J Antibiot (Tokyo)*. 2008 May;61(5):330-3.
17. Identification of a methotrexate-binding peptide from a T7 phage display screen using a QCM device. Takakusagi Y, Kuroiwa Y, Sugawara F, Sakaguchi K. *Bioorg Med Chem*. 2008 Sep;52(3):556-62.
18. Identification of macrolide antibiotic-binding Human_p8 protein. Morimura T, Hashiba M, Kameda H, Takami M, Takahama H, Ohshige M, Sugawara F. *J Antibiot (Tokyo)*. 2008 May;61(5):291-6.
19. Podophyllotoxin directly binds a hinge domain in E2 of HPV and inhibits an E2/E7 interaction in vitro. Saitoh T, Kuramochi K, Imai T, Takata KI, Takehara M, Kobayashi S, Sakaguchi K, Sugawara F. *Bioorg Med Chem*. 2008 Mar;16(10):5815-25.
20. A facile method to screen inhibitors of protein-protein interactions including MDM2-p53 displayed on T7 phage. Ishi K, Sugawara F. *Biochem Pharmacol*. 2008 May;75(9):1743-50.
21. Downregulation of Tie2 gene by a novel antitumor sulfolipid, 3'-sulfoquinovosyl-1'-monoacylglycerol, targeting angiogenesis. Mori Y, Sahara H, Matsumoto K, Takahashi N, Yamazaki T, Ohta K, Aoki S, Miura M, Sugawara F, Sakaguchi K, Sato N. *Cancer Sci*. 2008 May;99(5):1063-70.
22. Syntheses and applications of fluorescent and biotinylated epolactaene derivatives: Epolactaene and its derivative induce disulfide formation. Kuramochi K, Yukizawa S, Ikeda S, Sunoki T, Arai S, Matsui R, Morita A, Mizushina Y, Sakaguchi K, Sugawara F, Ikekita M, Kobayashi S. *Bioorg Med Chem*. 2008 May 1;16(9):5039-49.
23. Hymenoic acid, a novel specific inhibitor of human DNA polymerase lambda from a fungus of Hymenochaetaceae sp. Nishida M, Ida N, Horio M, Takeuchi T, Kamisuki S, Murata H, Kuramochi K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem*. 2008 May 1;16(9):5115-22.
24. The inhibitory action of SQDG (sulfoquinovosyl diacylglycerol) from spinach on Cdt1-geminin interaction. Mizushina Y, Takeuchi T, Hada T, Maeda N, Sugawara F, Yoshida H, Fujita M. *Biochimie*. 2008 Jun;90(6):947-56.
25. Novel azaphilones, kasanosins A and B, which are specific inhibitors of eukaryotic DNA polymerases beta and lambda from *Talaromyces* sp. Kimura T, Nishida M, Kuramochi K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem*. 2008 Apr 15;16(8):4594-9.
26. Inhibitory action of polyunsaturated fatty acids on Cdt1-geminin interaction. Mizushina Y, Takeuchi T, Takakusagi Y, Sugawara F, Sakaguchi K, Yoshida H, Fujita M. *Int J Mol Med*. 2008 Mar;21(3):281-90.
27. 1-Deoxyruberactone, a novel specific inhibitor of families X and Y of eukaryotic DNA polymerases from a fungal strain derived from sea algae. Naganuma M, Nishida M, Kuramochi K, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem*. 2008 Mar 15;16(6):2939-44.

28. Coenzyme Q(10) as a potent compound that inhibits Cdt1-geminin interaction. Mizushina Y, Takeuchi T, Takakusagi Y, Yonezawa Y, Mizuno T, Yanagi K, Imamoto N, Sugawara F, Sakaguchi K, Yoshida H, Fujita M. *Biochim Biophys Acta*. 2008 Feb;1780(2):203-13.
29. Chemical properties of fatty acid derivatives as inhibitors of DNA polymerases. Nakamura R, Takeuchi R, Kuramochi K, Mizushina Y, Ishimaru C, Takakusagi Y, Takemura M, Kobayashi S, Yoshida H, Sugawara F, Sakaguchi K. *Org Biomol Chem*. 2007 Dec 21;5(24):3912-21.
30. Screening of paclitaxel-binding molecules from a library of random peptides displayed on T7 phage particles using paclitaxel-photoimmobilized resin. Aoki S, Morohashi K, Sunoki T, Kuramochi K, Kobayashi S, Sugawara F. *Bioconjug Chem*. 2007 Nov-Dec;18(6):1981-6.
31. Structure-activity Relationships of Neoechinulin A Analogues with Cytoprotection against Peroxynitrite-induced PC12 Cell Death. Kimoto K, Aoki T, Shibata Y, Kamisuki S, Sugawara F, Kuramochi K, Nakazaki A, Kobayashi S, Kuroiwa K, Watanabe N, Arai T. *J Antibiot (Tokyo)*. 2007 Oct;60(10):614-21.
32. Identification of C10 biotinylated camptothecin (CPT-10-B) binding peptides using T7 phage display screen on a QCM device. Takakusagi Y, Takakusagi K, Kuramochi K, Kobayashi S, Sugawara F, Sakaguchi K. *Bioorg Med Chem*. 2007 Dec 15;15(24):7590-8.
33. Inhibitory effect of sulfoquinovosyl diacylglycerol on prokaryotic DNA polymerase I activity and cell growth of *Escherichia coli*. Furukawa T, Nishida M, Hada T, Kuramochi K, Sugawara F, Kobayashi S, Iijima H, Shimada H, Yoshida H, Mizushina Y. *J Oleo Sci*. 2006;56(1):43-7.
34. An approach to evaluate two-electron reduction of 9,10-phenanthraquinone and redox activity of the hydroquinone associated with oxidative stress. Taguchi K, Fujii S, Yamano S, Cho AK, Kamisuki S, Nakai Y, Sugawara F, Froines JR, Kumagai Y. *Free Radic Biol Med*. 2007 Sep 1;43(5):789-99.
35. Effects of a new immunosuppressive agent, beta-SQAG9, in swine kidney transplantation. Tanaka T, Kitamura H, Sahara H, Imai A, Itoh Y, Honma I, Sato E, Kobayashi K, Maeda T, Takenouchi M, Ohta K, Sugawara F, Sakaguchi K, Ando A, Inoko H, Sato N, Tsukamoto T. *Transpl Immunol*. 2007 Jul;18(1):67-71.
36. Inhibitory action of polyunsaturated fatty acids on IMP dehydrogenase. Mizushina Y, Dairaku I, Yanaka N, Takeuchi T, Ishimaru C, Sugawara F, Yoshida H, Kato N. *Biochimie*. 2007 May;89(5):581-90.
37. Nodulisporol and Nodulisporone, novel specific inhibitors of human DNA polymerase lambda from a fungus, *Nodulisporium* sp. Kamisuki S, Ishimaru C, Onoda K, Kuriyama I, Ida N, Sugawara F, Yoshida H, Mizushina Y. *Bioorg Med Chem*. 2007 May 1;15(9):3109-14.
38. Sulfoglycolipids as candidate antiangiogenic radiosensitizers. Miura M, Sakimoto I, Ohta K, Sugawara F, Sakaguchi K. *Anticancer Drugs*. 2007 Jan;18(1):1-5.
39. Structure-activity relationship of a glycolipid, sulfoquinovosyl diacylglycerol, with the DNA binding activity of p53. Iijima H, Kasai N, Chiku H, Takeuchi T, Kuramochi K, Hanashima S, Kobayashi S, Sugawara F, Sakaguchi K, Yoshida H, Mizushina Y. *Int J Mol Med*. 2007 Jan;19(1):41-8.
40. Anti-tumor effects of dehydroaltenusin, a specific inhibitor of mammalian DNA polymerase alpha. Maeda N, Kokai Y, Ohtani S, Sahara H, Kuriyama I, Kamisuki S, Takahashi S, Sakaguchi K, Sugawara F, Yoshida H, Sato N, Mizushina Y. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Jan 12;352(2):390-6.
- [学会発表] (計 69 件)
線虫ガレクチン LEC-6 による糖鎖認識機構解明のための分子プローブの合成及びその評価 日本薬学会 第 130 年会 西山和沙, 山田篤, 草柳友恵, 松本勇記, 高草木洋一, 菅原二三男, 坂口謙吾, 小林進, 武内智春, 笠井献一, 夏苺英昭, 高橋秀依
2010 3 28
エポラクタエン及び誘導体の化学と生物: 全合成から作用機構解析 第 4 回連携大学院セミナー京都「先端バイオイメージングと基盤技術」 倉持幸司, 椿 一典, 水品善之, 菅原二三男, 池北雅彦, 小林 進
2010 1 18
Y ファミリー DNA ポリメラーゼ選択的阻害剤: Penicilliol A, Penicilliol B 第 32 回日本分子生物学会 水品 善之, 木村 拓馬, 竹内 論文, 米澤 裕子, 大橋 英

治, 大森 治夫, 益谷 央豪, 花岡 文雄, 吉田 弘美, 菅原 二三男, 坂口 謙吾 2009
12 9

T7 PD 法による低分子化合物とタンパク質の相互作用の検出: QCM 装置と RELIC サーバーの利用がもたらす実用性と可能性 第 32 回日本分子生物学会 高草木 洋一, 高草木 香織, 菅原 二三男, 坂口 謙吾 2009 12 9

含硫糖脂質 SQAG の hVEGF165 結合領域の同定及び結合様式の解明 第 32 回日本分子生物学会 高草木 香織, 高草木 洋一, 松本 勇記, 鷹見 美穂子, 井田 紀子, 青木 仁子, 村田 寛, 太田 慶祐, 菅原 二三男, 坂口 謙吾 2009 12 9

T7 フェージディスプレイ法を用いて同定したアンジオモチンとロキシスロマイシンの相互作用の検証 第 32 回日本分子生物学会 鈴木 愛こ, 高草木 洋一, 渡辺 まどか, 松本 勇記, 戸井崎 絢, 鈴木 孝洋, 菅原 二三男, 小林 進, 坂口 謙吾 2009
12 9

エポラクタエン及び誘導体のチオール反応性 日本農芸化学会関西支部例会 倉持幸司, 椿一典, 水品善之, 菅原 二三男, 池北雅彦, 小林進 2009 12
5

カバノアナタケから同定された新規化合物 DDTCT の細胞増殖抑制効果 第 82 回 日本生化学会大会 望月万里, 森田明典, 羽染芳宗, 井田紀子, 村田寛, 船津修, 菅原二三男, 池北雅彦 2009 10 22

X-family DNA ポリメラーゼによる生物多様性の調節 第 11 回日本進化学会大会 小寺啓文, 武内亮, 半澤直人, 内山幸伸, 美和秀胤, 菅原二三男, 坂口謙吾 2009 9
2

Self-assembled monolayer (SAM) of small organic molecule for efficient random-peptide phage display selection using a cuvette type quartz-crystal microbalance (QCM) device ICCE-17

Takakusagi Y, Suzuki A, Sugawara F, Kobayashi S, Sakaguchi K 2009
7 26

Camptothecins : Inhibition of the E-prostanoid receptor subtype 1 (EP1) signaling pathways and its' mechanistic aspects The 50th Anniversary Meeting of the American Society of Pharmacognosy Takakusagi Y, Manita D, Okado M, Nakayama M, Takakusagi K, Sugawara F, Sakaguchi K 2009 6 27

QCM-phage display: Identification of doxorubicin-binding protein (part III) The 50th Anniversary Meeting of the American Society of Pharmacognosy

Kusayanagi T, Takakusagi Y, Takeuchi T, Sakaguchi K, Sugawara F 2009 6 27

海洋天然物 SQAG による DNA polymerase lambda の阻害様式の解明 日本ケミカルバイオロジー学会 第 4 回年会 高草木 香織, 太田慶祐, 高草木洋一, 青木仁子, 菅原二三男, 坂口謙吾 2009 5
18

ニガウリ由来の monoacylgalactosyl diacylglycerol (MGDG) の DNA ポリメラーゼ阻害活性とヒト癌増殖抑制活性 日本農芸化学会 2009 年度 (平成 21 年度) 大会 松井由樹, 羽田尚彦, 佐藤義大, 山口素弘, 竹内論文, 坂口謙吾, 菅原二三男, 水品義之, 吉田弘美 2009 3 27

浜辺に生息する苔に寄生する真菌 (Penicillium deleaе) ユリアの新規物質 peniciliol A および B の生理活性 日本農芸化学会 2009 年度 (平成 21 年度) 大会 水品義之, 木村拓馬, 竹内論文, 菅原二三男 2009 3 27

T7 フェージディスプレイ法を用いたタンパク質間相互作用阻害剤の探索法の改良 日本農芸化学会 2009 年度 (平成 21 年度) 大会 齊藤雄己, 真仁田大輔, 菅原二三男 2009 3 27

クルクミン誘導体の抗炎症作用 日本農芸化学会 2009 年度 (平成 21 年度) 大会 西田真之, 吉田優, 東健, 福留啓志, 清水恭平, 竹内論文, 大澤俊彦, 菅原二三男, 水品義之, 吉田弘美 2009 3 27

トリマンノース由来の分子プローブの合成と QCM-PD-SAM 法を用いた結合ペプチドの同定 日本薬学会第 129 年会 西山和沙, 高草木洋一, 草柳友恵, 松本勇記, 羽生紫織, 倉持幸司, 菅原二三男, 坂口謙吾, 高橋秀依, 夏莉英昭, 小林 進 2009 3
26

Antitumor Antibiotic Fostriecin Targets Cystein-269 of the Protein Phosphatase 2A Catalytic Subunit in Mammalian Cells with a Covalent Bond. 3rd Tokyo University of Science Interanational Collaboration Workshop Toshifumi Takeuchi, Fumio Sugawara 2009 3 16

Development of Phage Display with Quartz Crystal Microbalance Method. 3rd Tokyo University of Science Interanational Collaboration Workshop Tomoe Kusayanagi, Fumio Sugawara 2009 3 16

A Facile Method to inhibit Protein-Protein Interactions with Phage Display Method. 3rd Tokyo University of Science Interanational Collaboration Workshop Takeki Saitoh, Fumio Sugawara

2009 3 16
Isolation of Natural Products (2) 3rd
Tokyo University of Science
Interanational Collaboration Workshop
Yoshihiro Sato, Fumio Sugawara
2009 3 16
Synthesis of Natural Products (1): The
Radio Sensitizer SQ series. 3rd
Tokyo University of Science
Interanational Collaboration Workshop
Hiroshi Murata, Fumio Sugawara
2009 3 16
Synthesis of Natural Products (2):
Bioactive Compounds. 3rd Tokyo
University of Science Interanational
Collaboration Workshop Hiroaki Ishii,
Kyohei Shimizu, Satomi Shimura, Fumio
Sugawara 2009 3 16
New Screening Methods for Protein-Protein
Interaction Inhibitors Based on FRET and
Phage Display. 3rd Tokyo University of
Science Interanational Collaboration
Workshop Fumio Sugawara 2009 3
15
Isolation of Natural Products (1) 3rd
Tokyo University of Science
Interanational Collaboration Workshop
Takuma Kimura, Fumio Sugawara
2009 3 15
QCM T7 フェージディスプレイ法: 新規ドキ
ソルビシン結合タンパク質の探索 (第二報)
先端科学セミナー京都 ケミカル
バイオロジーシンポジウム 草柳友恵、倉持
幸司、高草木洋一、菅原二三男 2008
12 15
抗腫瘍活性物質カンプトテシンの新規作用
標的タンパク質の探索 先端科学セミナ
ー京都 ケミカルバイオロジーシンポジウ
ム 真仁田大輔、高草木洋一、倉持幸司、
菅原二三男 2008 12 15
固相合成用樹脂を利用した結合タンパク質
探索 先端科学セミナー京都 ケミカル
バイオロジーシンポジウム 榎本好宏、倉持
幸司、宮野友香、石一智、高草木洋一、齊藤
雄己、小林進、坂口謙吾、菅原二三男
2008 12 15
T7 フェージディスプレイ法を用いたリダイ
フェン B の新規標的タンパク質の探索
先端科学セミナー京都 ケミカル
バイオロジーシンポジウム 九十田千子、高
草木洋一、今井孝彦、椎名勇、坂口謙吾、池
北雅彦、菅原二三男 2008 12
15
カバノアナタケから同定された DDTCT の細胞
増殖抑制効果 第 31 回日本分子生物学会
年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会
望月万里、森田明典、羽染芳宗、井

田紀子、村田寛、船津修、菅原二三男、池北
雅彦 2008 12 10
クルクミンとその誘導体による炎症抑制効
果 第 31 回日本分子生物学会年会・第
81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008)
西田真之、吉田優、東健、福留啓志、竹内倫
文、倉持幸司、菅原二三男、坂口謙吾、吉田
弘美、水品善之 2008 12 9
T7 phage display 法を用いたロキシスロマ
イシン結合タンパク質の探索 第 31
回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生
化学会大会合同大会 (BMB2008) 鈴木愛
こ、高草木洋一、渡邊まどか、松本勇記、菅
原二三男、坂口謙吾 2008 12
9
T7 phage display 法を用いた PFOS 結合タ
ンパク質の探索 第 31 回日本分子生物学会
年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会
(BMB2008) 岡戸真実、宮野友香、崎元
一平、志村聡美、草柳友恵、武内亮、高草木
香織、松本勇記、中崎敦夫、竹内倫文、倉持
幸司、高草木洋一、太田慶祐、三浦雅彦、小
林進、菅原二三男、坂口謙吾 2008
12 9
QCM T7 フェージディスプレイ法: 新規ドキ
ソルビシン結合タンパク質の探索 (第一報)
第 31 回日本分子生物学会年会・第
81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008)
草柳友恵、真仁田大輔、岩切佳那子、倉持幸
司、高草木洋一、中崎敦夫、小林進、坂口謙
吾、菅原二三男 2008 12 9
CBP501 による G2 チェックポイント阻害作
用の詳細についての研究 第 31 回日本分子
生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合
同大会 (BMB2008) 松本勇記、高草
木洋一、新藤陽介、高草木香織、小谷野祐希、
佐藤仁志、河邊拓己、菅原二三男、坂口謙吾
2008 12 9
キイロショウジョウバエによる医薬標的分子
の評価 第 31 回日本分子生物学会年会・第
81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008)
真仁田大輔、高草木洋一、松本勇記、高田和
徳、坂口謙吾、菅原二三男 2008 12
9
糖鎖認識機能解明のための分子プローブの
合成 反応と合成の進歩シンポジウム
西山和沙、草柳友恵、松本勇記、高
草木洋一、倉持幸司、菅原二三男、坂口謙吾、
高橋秀依、夏苺英昭、小林進 2008
11 4
T7 フェージディスプレイ法を用いた
Brz-2001 とチトクロム P450 DWF4 の結合解析
日本ケミカルバイオロジー研究会
第 3 回年会 真仁田大輔、草柳友恵、高
草木洋一、倉持幸司、菅原二三男 2008
5 19
医薬小分子結合タンパク質の同定を目的と

したワンサイクル T7 ファージディスプレイ法の研究 日本ケミカルバイオロジー研究会 第3回年会 草柳友恵, 高木真奈美, 真仁田大輔, 岩切佳那子, 倉持幸司, 高草木洋一, 中崎敦夫, 小林進, 坂口謙吾, 菅原二三男 2008 5 19

糖認識機能解明のための分子プローブの合成 第55回有機合成化学協会関東支部シンポジウム 西山和沙, 草柳友恵, 高草木洋一, 倉持幸司, 菅原二三男, 坂口謙吾, 武内智春, 笠井献一, 高橋秀依, 夏莉英昭, 小林進 2008 5 9

トリマンノース由来の分子プローブの合成と QCM-PD 法による結合ペプチドの探索 日本薬学会 128 年会 西山和沙, 草柳友恵, 高草木洋一, 倉持幸司, 菅原二三男, 坂口謙吾, 高橋秀依, 夏莉英昭, 小林進 2008 3 27

ワンステップ T7 ファージディスプレイ法による医薬小分子の結合タンパク質の同定 日本農芸化学会 2008 年度大会 草柳友恵, 高木真奈美 1, 真仁田大輔, 岩切佳那子, 倉持幸司, 高草木洋一, 中崎敦夫, 小林進, 坂口謙吾, 菅原二三男 2008 3 26

クルクミン誘導体の抗炎症作用の解析 日本農芸化学会 2008 年度大会 西田真之, 吉田優, 東健, 大澤俊彦, 福留啓志, 竹内倫文, 倉持幸司, 菅原二三男, 水品善之, 吉田弘美 2008 3 26

T7 ファージディスプレイ法によるポドフィロトキシンの新規結合タンパク質の探索と同定 日本農芸化学会 2008 年度大会 齊藤雄己, 倉持幸司, 今井孝彦, 高田慶一, 菅原二三男 2008 3 26

T7 phage display 法による抗腫瘍性抗生物質 PD 113,271 結合タンパク質の探索 日本農芸化学会 2008 年度大会 今井孝彦, 竹内倫文, 石一智, 齊藤雄己, 倉持幸司, 菅原二三男 2008 3 26

T7 ファージディスプレイ法によるドキシロピシン標的タンパク質の探索および酵母を用いた生物活性評価法の研究 日本農芸化学会 2008 年度大会 真仁田大輔, 小柳邦生, 高橋徳行, 今井孝彦, 石一智, 倉持幸司, 菅原二三男 2008 3 26

多価不飽和脂肪酸は IMP デヒドロゲナーゼを阻害する 日本農芸化学会 2008 年度大会 水品善之, 矢中規之, Han, Yunkyung, 竹内倫文, 石丸千里, 菅原二三男, 吉田弘美, 加藤範久 2008 3 26

カバノアナタケから同定された新規アポト

ーシス誘導物質 DDTCT の作用機構 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 望月万里, 森田明典, 羽染芳宗, 井田紀子, 村田寛, 船津修, 菅原二三男, 池北雅彦 2007 12 14

ニンニク由来の含硫黄物質群の DNA ポリメラーゼ分子種選択的阻害活性とヒト癌細胞増殖抑制活性 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 西田真之, 羽田尚彦, 吉田英生, 木元貴士, 倉持幸司, 菅原二三男, 米澤裕子, 栗山磯子, 坂口謙吾, 吉田弘美, 水品善之 2007 12 11

低分子化合物の高性能な標的探索を可能とするファージディスプレイ法の確立 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 高草木洋一, 高木真奈美, 草柳友恵, 倉持幸司, 宮野友香, 高草木香織, 菅原二三男, 小林進, 坂口謙吾 2007 12 11

EFFECTS OF DNA POLYMERASE ALPHA POISON DEHYDROALTENUSIN ON THE FISSION YEAST SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 栗山磯子, 紙透伸治, 菅原二三男, 吉田弘美, 水品善之, 野口英史 2007 12 11

カバノアナタケから同定された新規アポトーシス誘導物質 DDTCT の作用機構 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 望月万里, 森田明典, 羽染芳宗, 井田紀子, 村田寛, 船津修, 菅原二三男, 池北雅彦 2007 12 11

カバノアナタケから同定された新規アポトーシス誘導物質 DDTCT の作用機構 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 望月万里, 森田明典, 羽染芳宗, 井田紀子, 村田寛, 船津修, 菅原二三男, 池北雅彦 2007 12 11

固相有機合成用樹脂を用いたアフィニティービーズの標的タンパク質探索への応用 BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会) 宮野友香, 倉持幸司, 武内亮, 榎本好宏, 草柳友恵, 高草木洋一, 中崎敦夫, 小林進, 菅原二三男, 坂口謙吾 2007 12 11

High-throughput and High-accuracy Drug-Target Identifications The 4th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaScience: On the Fronthiers of Chemical Biology Fumio Sugawara, Yoichi Takakusaghi, Kouji Kuramochi 2007

Down regulation of Tie-2 gene in vivo by novel anti-tumor agent SQAG targeting antiangiogenesis 第 66 回日本癌学会学術総会 Yoko Mori, Hiroeki Sahara, Kayo Matsumoto, Nobuaki Takahashi, Takayuki Yamazaki, Keisuke Ohta, Satoko Aoki, Masahiko Miura, Fumio Sugawara, Kengo Sakaguchi, Noriyuki Sato 2007 10

3

Identification of cyclosporin A binding protein CSBP that plays a critical role in hepatitis C virus genome replication

第 66 回日本癌学会学術総会

Hiroeki Sahara, Kengo Morohashi,

Koichi Watashi, Yoko Mori, Kazuki Iwabata, Wataru Tsutae, Hiroki Miyashita, Kokichi Kikuchi, Kunitada Shimotohno, Kengo Sakaguchi, Noriyuki Sato, Fumio Sugawara

2007 10 3

抗腫瘍抗生物質 fostriecin はプロテインフォスファターゼ 2A の Cys269-Lys283 領域と共有結合する 日本ケミカルバイオロジー研究会 竹内倫文、高橋徳行、石一智、倉持幸司、菅原二三男 2007 5 9

T7 ファージディスプレイ法を用いたポドフィロトキシン結合タンパク質の探索 日本ケミカルバイオロジー研究会 齊藤雄己、倉持幸司、高田慶一、菅原二三男 2007 5 9

5 9

ファージディスプレイ法を用いた neoechinulin A が活性作用を示す際のターゲットタンパク及び、neoechinulin A 生合成に関する遺伝子の探索 日本ケミカルバイオロジー研究会 堀内桃子、竹野正洋、倉持幸司、菅原二三男、鎌倉高志 2007 5

9

T7 ファージディスプレイ法によるカンプトテシンの新規分子標的 hEP1 受容体細胞内第 3 ループの同定 日本ケミカルバイオロジー研究会 高草木洋一、太田慶祐、倉持幸司、高草木香織、小林進、菅原二三男、坂口謙吾 2007 5 9

2007 5 9

T7 ファージディスプレイ法によるメトトレキサートの新規結合タンパク質の探索 日本ケミカルバイオロジー研究会 黒岩祐貴、高草木洋一、倉持幸司、今井孝彦、伊藤一明、吉田充輝、菅原二三男 2007 5 9

2007 5 9

T7 ファージディスプレイ法によるトラニラスト結合タンパク質の同定 日本ケミカルバイオロジー研究会 平山智子、高草木洋一、石一智、倉持幸司、竹内倫文、菅原二三男 2007 5 9

2007 5 9

有機合成用樹脂をアフィニティー担体として利用したファージディスプレイ法 日本農芸化学会 2007 年度大会 榎本好宏、倉持

幸司、石一智、新井威史、菅原二三男 2007 3 25

T7 ファージディスプレイ法によるポドフィロトキシンの新規結合タンパク質の探索 日本農芸化学会 2007 年度大会 齊藤雄己、高田慶一、倉持幸司、菅原二三男 2007 3 25

Aspergione A 及び B の提出構造式の訂正と、Pseudodeflectusin の生物活性 日本農芸化学会 2007 年度大会 倉持幸司、齊藤史代、中崎敦夫、高橋徳行、水品善之、小林進、菅原二三男 2007 3 25

T7 phage display 法を用いたインターフェロン- α 結合タンパク質の探索 日本農芸化学会 2007 年度大会 今井孝彦、齊藤雄己、石一智、倉持幸司、渡士幸一、佐原弘益、下遠野邦忠、菅原二三男 2007 3 25

〔図書〕(計 1 件)

田沼精一、菅原二三男他 丸善

書名: クラーク 分子生物学

発行年: 2008

総ページ数: 860

〔産業財産権〕

○出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 菅原二三男

(東京理科大学 教授)

研究者番号 : 30192123

(2) 研究分担者
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者
()

研究者番号 :