

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02522

研究課題名(和文)機能性タンパク質ナノブロック複合体創製の基盤的プロセス技術開発と応用展開

研究課題名(英文)Development of Functional Protein Nanobuilding Block Complexes and their Applications

研究代表者

新井 亮一 (ARAI, Ryoichi)

信州大学・学術研究院繊維学系・准教授

研究者番号：50344023

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)：人工タンパク質ナノブロックへの機能性の付与や応用展開を目指し、機能性タンパク質ナノブロック複合体を創製する基盤的プロセス技術を開発することを目的として研究を行った。まず、クライオ電子顕微鏡を用いて、人工タンパク質ナノ粒子複合体TIP60の立体構造を解明した。また、金属イオン誘導複合体形成mTIP60の開発や、糖鎖結合タンパク質のレクチンと融合したレクチンナノブロック複合体の開発にも成功した。さらに、ペプチド転移酵素Sortase AやSpyTag/SpyCatcherシステムを利用してタンパク質ナノブロックの機能ドメインを結合することにも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したレクチンナノブロック複合体は、今後、糖鎖のかかわる生命現象を解明するための有用なツールとなるばかりでなく、癌や炎症などに伴う糖鎖変化や各種病気の診断、さらには糖鎖標的薬開発等に向けた応用展開も期待される。また、金属イオンにより形成が誘導される人工タンパク質ナノ粒子は、内部にDNAや低分子などを取り込むことが可能であり、ナノバイオカプセルやドラッグデリバリーシステム等への応用が期待される。以上のように、機能性タンパク質ナノブロック複合体を設計創製する基盤的プロセス技術の開発により、タンパク質工学分野等の学術的意義のみならず、将来的に波及効果の高い社会的意義を持つ成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：Aiming to functionalize to artificial protein nanoblocks and develop their application, we conducted research to develop fundamental process technology to create functional protein nanoblock complexes. First, the three-dimensional structure of the artificial protein nanoparticle complex TIP60 was solved using cryo-electron microscopy. We also succeeded in designing and developing mTIP60 (metal ion induced complex) and lectin nanoblock complexes fused with lectins (glycan-binding proteins). Furthermore, we conjugated functional domains to protein nanoblocks by using peptidyltransferase Sortase A and/or SpyTag/SpyCatcher system.

研究分野：タンパク質工学

キーワード：タンパク質ナノブロック 人工タンパク質デザイン タンパク質複合体 立体構造解析 自己組織化  
タンパク質修飾 融合タンパク質 レクチンナノブロック

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、複雑で洗練されたナノスケールの超分子複合体を形成することで非常に高度な機能を発揮する機能性生体高分子である。このタンパク質複合体を人工的にデザインし、望みの機能を自在に実現することができるになれば、医薬品開発やナノテクノロジー、生物学や合成生物学分野の研究発展に大きく貢献できると考えられる。これまで、独自の人工タンパク質によるタンパク質ナノブロックの開発によって、多様な超分子複合体やナノ構造の創製に成功し、先駆的な成果を上げてきたものの、応用展開につながるような機能性を創出することが課題であった。

### 2. 研究の目的

本研究では、機能性タンパク質ナノブロック複合体創製の基盤的プロセス技術開発と応用展開を目的とした。

### 3. 研究の方法

各研究分担者と緊密に共同研究を進めながら、主に、(1)タンパク質ナノブロック複合体の立体構造解析、(2)新型タンパク質ナノブロックの設計開発、(3)機能性タンパク質ナノブロック複合体作製技術の開発、(4)レクチンナノブロックの創製・応用展開などに取り組んだ。

### 4. 研究成果

#### (1)タンパク質ナノブロック複合体の立体構造解析

近年、研究分担者の川上らを中心に、海洋メタゲノム由来の LSm 類似 5 量体タンパク質 (PDB: 3BY7) と、ヒト由来 myosin X の逆平行コイルドコイル 2 量体化ドメイン MyoX-coil (PDB: 2LW9) とを連結した融合タンパク質から自己組織的に形成されるサッカーボール型 (切頂二十面体型) の 60 量体人工タンパク質ナノ粒子複合体 TIP60 (truncated icosahedral protein composed of 60-mer fusion proteins) が設計開発された (Kawakami N, *et al.*: *Angew Chem Int Ed.* 2018)。TIP60 は様々な応用展開が期待されるが、さらなる改良のためには、詳細な立体構造の解明が必要である。そこで、TIP60 のクライオ電子顕微鏡単粒子解析による立体構造決定を行った。TIP60 の全体構造は、正二十面体型中空球状構造 (外径約 22 nm、内径約 15 nm) の 60 量体であることを解明した (図 1) (PDB ID: 7EQ9) (Obata J, *et al.*: *Chem Commun.* 2021)。5 量体ドメインと 2 量体ドメインは、それぞれ正二十面体の頂点と辺に相当し、TIP60 ナノ粒子の表面には、長い  $\alpha$  ヘリックスの辺 (約 4 nm) からなる正三角形の穴が 20 個空いていた (図 1)。また、TIP60 の N 末端および C 末端領域は外部に露出しているため、今後、抗体断片やレクチンなどの機能性タンパク質ドメインを TIP60 に遺伝子的に融合し、細胞等を標的としたナノ粒子開発への応用展開も期待される。

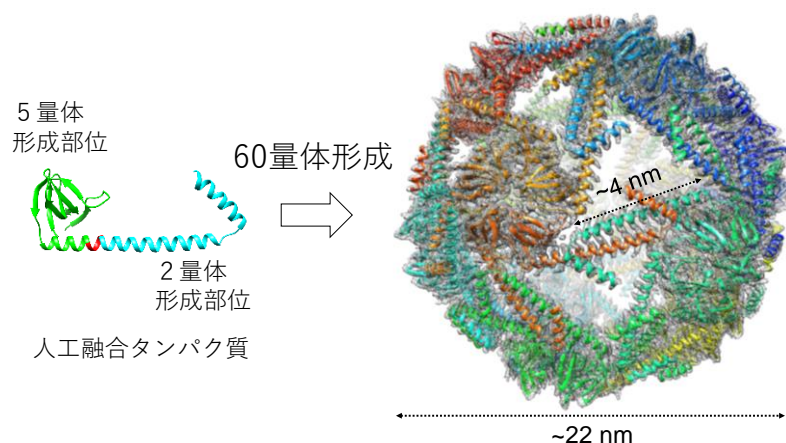


図 1. クライオ電子顕微鏡単粒子解析により解明したタンパク質ナノ粒子 TIP60 の立体構造

5 量体形成部位と 2 量体形成部位を結合した人工融合タンパク質 (左) が自発的に 60 個集合して、直径約 22 nm のタンパク質ナノ粒子 TIP60 (右) を形成している。(Obata J, *et al.*: *Chem Commun.* 2021)

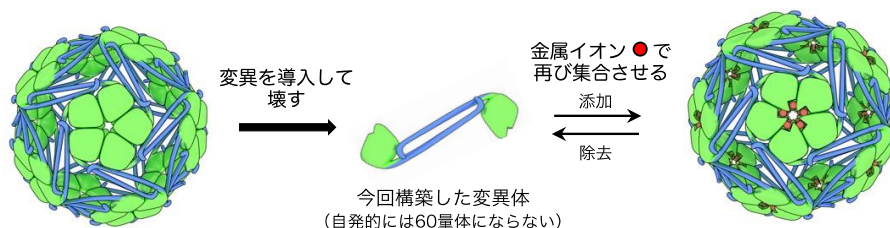
#### (2) 新型タンパク質ナノブロックの設計開発

前項目で解明した TIP60 の正二十面体型の中空多孔質立体構造を基盤として、さらなる改変により、有用な人工タンパク質ナノ粒子の設計開発を試みた。特に、研究分担者の川上らを中心として、TIP60 の立体構造に着目し、5 量体間の相互作用を壊せば複合体が解離するのではないかと考え、相互作用を妨害する変異体の設計構築を行ったところ、変異体は 60 量体を形成せず、

2量体を形成した。変異を導入した部位付近に、カルシウムやバリウムなどのアルカリ土類金属と親和性が高い酸素原子が複数存在したことから、カルシウムイオンやバリウムイオンなどを添加すれば再び60量体ナノ粒子複合体に会合するのではないかと考え、添加実験をしたところ、金属イオン依存的に60量体ナノ粒子複合体(mTIP60)を形成することを明らかにした(Ohara N, *et al.*: *J Am Chem Soc.* 2023)。また、クライオ電子顕微鏡単粒子解析による60量体ナノ粒子複合体の立体構造解析にも成功し、5量体ドメインの間に金属が結合したサブユニット会合構造を明らかにした(PDB ID: 7XM1)。さらに、この再会合の仕組みを利用して、金属イオンと同時にDNAを添加すると、TIP60の内部空間にDNAを内包することも明らかにした(Ohara N, *et al.*: *J Am Chem Soc.* 2023)。

今後はTIP60の化学修飾法等と組み合わせ有用物質の導入や内包することで、薬剤送達カプセル分子としての応用や、可逆的な分子の解離と会合メカニズムを利用した新しい素材の開発なども期待される。

#### “壊して戻せるTIP60”の開発



#### クライオ電子顕微鏡による立体構造解析

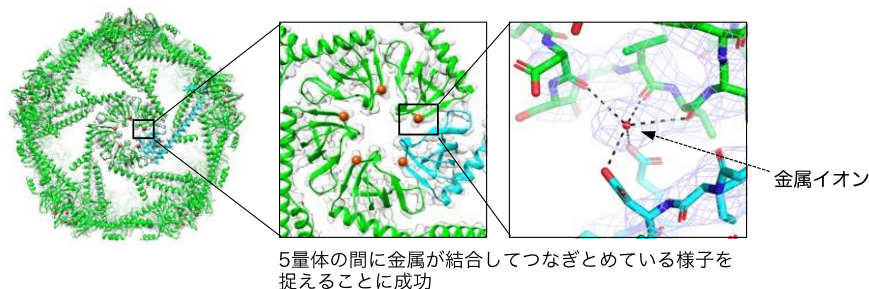


図 2. TIP60 の解離・会合の制御に向けた設計の概略 (上段) と、金属添加により会合した TIP60 の立体構造 (下段) (Ohara N, *et al.*: *J Am Chem Soc.* 2023)

#### (3) 機能性タンパク質ナノブロック複合体作製技術の開発

抗体は、病気の診断や治療、タンパク質検出などにも広く応用されており、親和性を向上させることで性能の向上が期待される。多量体化タンパク質ナノブロックを足場とした多価抗体複合体を構築することで、多価結合効果による親和性(avidity)の向上が期待される。そこで、タンパク質ナノブロックと抗体を連結した多価抗体複合体の開発を試みた。

タンパク質ナノブロックと抗体の連結のため、イソペプチド結合によるタグ連結システムである SpyCatcher/SpyTag を利用した。WA20-foldon-SrtTag の N 末端に SpyCatcher を付加したタンパク質ナノブロック SpyCatcher-WA20-foldon-SrtTag を構築し、大腸菌の可溶性画分に発現させた。その後、このタンパク質を精製し、サイズ排除クロマトグラフィー・多角度光散乱(SEC-MALS)や小角 X 線散乱(SAXS)解析により、会合状態や溶液構造を解析したところ、SpyCatcher-WA20-foldon-SrtTag は 6, 12, 18 量体の 6 の倍数量体の複合体形成が示唆された。次に、SpyCatcher-WA20-foldon-SrtTag と SpyTag 付加 VHH 抗体断片の連結を試みたところ、両者の効率的な連結が確認された。SEC-MALS や SAXS 解析の結果、6 量体を形成した SpyCatcher-WA20-foldon-SrtTag に SpyTag 付き抗体断片が 6 個連結した複合体の形成が示唆された。さらに、ソルターゼ酵素反応により SrtTag に蛍光タンパク質を付加した蛍光標識多価抗体複合体の構築にも成功し、今後さらなる応用展開が期待される。

また、研究分担者の迫野らは、ペプチド転移酵素のトランスグルタミナーゼやソルターゼを利用して、アミロイド線維複合体に酵素等の機能分子を簡便に導入する手法の開発にも成功した(Sakono M, *et al.*: *J Biosci Bioeng.* 2023; Nakamura M, *et al.*: *Chem Lett.* 2023)。

#### (4) レクチンナノブロックの創製・応用展開

糖鎖は細胞の状態を反映する細胞の顔とも呼ばれ、創薬や細胞品質管理技術等の開発の標的分子になり得る。生体内でこれらの多様な糖鎖構造を見分けているのはレクチンと呼ばれる糖結合タンパク質群であり、その分子構造の基本骨格は多彩な立体構造が報告されており、構造生物学やタンパク質工学の対象としても大変興味深い。自然界に存在するレクチンは、糖鎖認識ドメイン(carbohydrate recognition domain: CRD)を持つサブユニットが複数連結会合した複合体を

形成し、タンパク質 1 分子あたりの CRD を増加させた多価性を有していることも多く、複雑な糖鎖構造の認識や結合親和性を向上させている。

そこで、レクチンの多価性を人工的に改良することで、さらに機能を向上させたレクチン超分子複合体を創出できる可能性があると考え（入間川伸, 新井亮一: *医学のあゆみ*. 2019）、新規人工タンパク質 WA20 を糖鎖結合タンパク質であるレクチンと融合することにより、糖鎖に対する結合力を増強した高機能人工タンパク質ナノブロックとして、レクチンナノブロック複合体を設計開発した（図 3）（Irumagawa S, *et al.*: *Int J Mol Sci*. 2022）。具体的には、WA20 と  $\beta$ -ガラクトシド糖鎖を認識するヤナギマツタケ由来二量体ガレクチン *Agrocybe cylindracea* galectin (ACG) を様々なペプチドリンカー(Arai R: *Methods Enzymol*. 2021)により連結したレクチンナノブロック WA20-ACG を開発した。サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱 (SEC-MALS) や SAXS の結果から、WA20-ACG は 2 の倍数量体の複合体を形成し、リンカーの長さを短くすることによって 4 量体以上の複合体の形成が促進された。また、WA20-ACG の糖鎖に対する特異性や親和性を糖鎖マイクロレイや赤血球凝集試験、標的糖鎖を発現する細胞の蛍光染色試験等により評価したところ、WA20-ACG は、ACG と同様の標的糖鎖に結合し、親和性は ACG と比較して顕著に向上していることが示唆された。さらに、表面プラズモン共鳴 (SPR) の結果から、WA20-ACG 複合体は会合数が多い複合体ほど多価結合効果によって糖鎖に対する結合力 (avidity) が向上し、ACG と比較して最大で約 80 倍程度、見かけの解離定数が改善された(Irumagawa S, *et al.*: *Int J Mol Sci*. 2022)。以上の結果より、レクチンナノブロックによる多価複合体化は、レクチンの糖鎖結合能を高める有効な戦略であると考えられる。

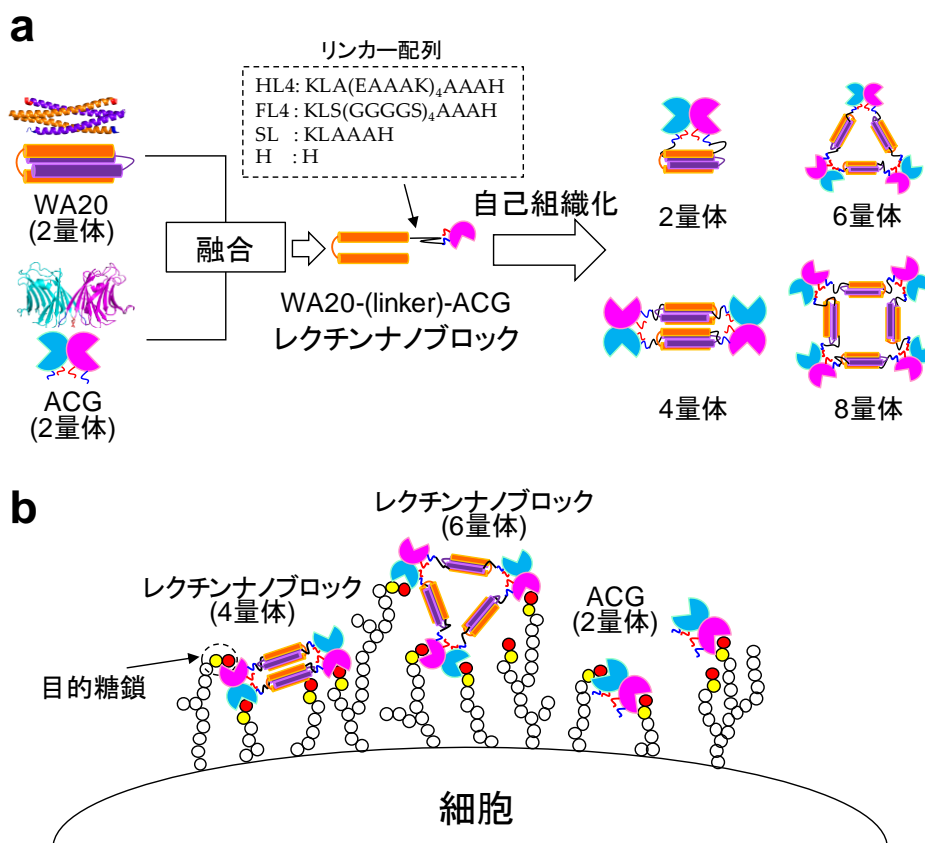


図 3. レクチンナノブロック WA20-ACG 複合体の設計開発

(a)レクチンナノブロック WA20-ACG の設計(Irumagawa S, *et al.*: *Int J Mol Sci*. 2022)。WA20 (PDB ID: 3VJF)と ACG (PDB ID: 1WW7)は双方ともに 2 量体を形成するため、ペプチドリンカーで連結された WA20-ACG は、2 の倍数量体 (2 量体、4 量体、6 量体、8 量体など) の複合体を自己組織的に形成することが期待される。(b) 多価結合効果による標的糖鎖に対する親和性向上の概念図(Irumagawa S, *et al.*: *Int J Mol Sci*. 2022)。WA20-ACG レクチンナノブロック複合体は、2 量体を形成する ACG よりも 1 分子あたりの糖鎖結合ドメインの数がさらに増加するため、多価結合効果により標的糖鎖を介して細胞表面に強く結合することが期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Irumagawa Shin, Kobayashi Kaito, Saito Yutaka, Miyata Takeshi, Umetsu Mitsuo, Kameda Tomoshi, Arai Ryoichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Rational thermostabilisation of four-helix bundle dimeric de novo proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7526
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-86952-2	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 -
1. 著者名 Obata Junya, Kawakami Norifumi, Tsutsumi Akihisa, Nasu Erika, Miyamoto Kenji, Kikkawa Masahide, Arai Ryoichi	4. 巻 57
2. 論文標題 Icosahedral 60-meric porous structure of designed supramolecular protein nanoparticle TIP60	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 10226 ~ 10229
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D1CC03114G	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 Irumagawa Shin, Hiemori Keiko, Saito Sayoko, Tateno Hiroaki, Arai Ryoichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Self-Assembling Lectin Nano-Block Oligomers Enhance Binding Avidity to Glycans	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 676
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23020676	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 Sakono Masafumi, Oshima Tatsuki, Iwakawa Takako, Arai Ryoichi	4. 巻 194
2. 論文標題 Production of pentaglycine-fused proteins using Escherichia coli expression system without in vitro peptidase treatment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Protein Expression and Purification	6. 最初と最後の頁 106068 ~ 106068
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pep.2022.106068	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 Ohara Naoya, Kawakami Norifumi, Arai Ryoichi, Adachi Naruhiko, Moriya Toshio, Kawasaki Masato, Miyamoto Kenji	4. 巻 145
2. 論文標題 Reversible Assembly of an Artificial Protein Nanocage Using Alkaline Earth Metal Ions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 216 ~ 223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c09537	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 Sakono Masafumi, Nakamura Mitsuki, Ohshima Tatsuki, Miyakoshi Ayano, Arai Ryoichi, Minamihata Kosuke, Kamiya Noriho	4. 巻 -
2. 論文標題 One-pot synthesis of fibrillar-shaped functional nanomaterial using microbial transglutaminase	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	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) 10.1016/j.jbiosc.2023.03.015	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 Mitsuki Nakamura, Ryoichi Arai, Noriho Kamiya, Masafumi Sakono	4. 巻 -
2. 論文標題 Enzymatic fabrication of multifunctional amyloid-based protein assembly	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	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) 10.1246/cl.230156	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 Arai Ryoichi	4. 巻 647
2. 論文標題 Design of helical linkers for fusion proteins and protein-based nanostructures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods in Enzymology	6. 最初と最後の頁 209 ~ 230
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2020.10.003	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 Nasu Erika, Kawakami Norifumi, Miyamoto Kenji	4. 巻 4
2. 論文標題 Nanopore-Controlled Dual-Surface Modifications on Artificial Protein Nanocages as Nanocarriers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Nano Materials	6. 最初と最後の頁 2434 ~ 2439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnm.0c02972	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 Kimura Hayato, Miura Daimei, Tsugawa Wakako, Ikebukuro Kazunori, Sode Koji, Asano Ryutaro	4. 巻 175
2. 論文標題 Rapid and homogeneous electrochemical detection by fabricating a high affinity bispecific antibody-enzyme complex using two Catcher/Tag systems	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 112885 ~ 112885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2020.112885	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 Kimura Naoya, Mochizuki Kenji, Umezawa Koji, Hecht Michael H., Arai Ryoichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Hyperstable De Novo Protein with a Dimeric Bisecting Topology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 254 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.9b00501	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 小林 直也、川上 了史、新井 亮一	4. 巻 91
2. 論文標題 人工タンパク質ナノブロック複合体の設計開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 255 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910255	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 入間川 伸, 新井 亮一	4. 巻 269
2. 論文標題 蛋白質ナノブロックによるレクチン超分子複合体の創出戦略	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 690 ~ 696
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 Kobayashi Naoya, Arai Ryoichi	4. 巻 2671
2. 論文標題 Protein Cages and Nanostructures Constructed from Protein Nanobuilding Blocks	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 79 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-3222-2_4	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36件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 入間川 伸, 館野 浩章, 新井 亮一
2. 発表標題 多価レクチンナノブロックWA20-ACG複合体の開発
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 貝川 はるか, 館野 浩章, 新井 亮一
2. 発表標題 三量体レクチンを用いた蛋白質ナノブロックの自己組織化超分子複合体の創製
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 大原 直也, 川上 了史, 新井 亮一, 宮本 憲二
2. 発表標題 Barium ion responsive reversible assembly of protein supramolecule TIP60
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新井 亮一
2. 発表標題 蛋白質ナノブロックによる機能性人工蛋白質複合体の創製に向けて
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoichi Arai, Norifumi Kawakami, Junya Obata, Akihisa Tsutsumi, Kenji Miyamoto, Masahide Kikkawa
2. 発表標題 Icosahedral 60-meric porous structure of designed protein nanoparticle TIP60
3. 学会等名 The Protein Society, the 36th Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shin Irumagawa, Hiroaki Tateno, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling lectin nano-building blocks enhance avidity to glycans through polyvalent effect
3. 学会等名 The Protein Society, the 36th Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruka Kaigawa, Hiroaki Tateno, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling functional complexes of protein nanobuilding blocks with a trimeric lectin
3. 学会等名 The Protein Society, the 36th Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Junya Obata, Norifumi Kawakami, Akihisa Tsutsumi, Erika Nasu, Kenji Miyamoto, Masahide Kikkawa, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Icosahedral 60-meric porous structure of designed supramolecular protein nanoparticle TIP60
3. 学会等名 PDB 50th Anniversary Symposium in Asia (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 栗原航大, 梅澤公二, Ann E. Donnelly, Michael H. Hecht, 新井亮一
2. 発表標題 新規人工酵素Syn-F4エンテロバクチンエステラーゼのX線結晶構造解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋五月, 浅野竜太郎, 山本雷蔵, 迫野昌文, 新井亮一
2. 発表標題 イソペプチド結合タグを用いた多価抗体タンパク質ナノブロック複合体の開発
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shuma Yazaki, Misaki Komatsu, Jinhua Dong, Hiroshi Ueda, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Structural Basis for Quenchbody (Q-body): Crystal Structures of the Fab Fragment of Anti-osteocalcin Antibody KTM219
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shin Irumagawa, Kaito Kobayashi, Yutaka Saito, Takeshi Miyata, Mitsuo Umetsu, Tomoshi Kameda, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Rational Stabilization of Dimeric Four-Helix Bundle De Novo Proteins Using Molecular Dynamics Simulation
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Norifumi Kawakami, Maika Yamashita, Kenji Miyamoto
2. 発表標題 Incorporation of Hydrophobic Small Molecules in the Artificial Protein Nanoparticle TIP60
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoya Ohara, Norifumi Kawakami, Kenji Miyamoto
2. 発表標題 Metal Inducive Assembly of a Newly Designed Protein Cage TIP60
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Erika Nasu, Norifumi Kawakami, Kenji Miyamoto
2. 発表標題 Dual-Surface Functionalization of an Artificial Protein Nanocapsule Based on Molecular Sieving Effect of its Porous Surface
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Daimei Miura, Hayato Kimura, Wakako Tsugawa, Kazunori Ikebukuro, Koji Sode, Ryutaro Asano
2. 発表標題 Development of highly sensitive anti-human hemoglobin sensing elements using a universal fabrication technology for antibody-enzyme complex
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢崎 崇真, 岡島 崇文, 瀧 真清, 新井 亮一
2. 発表標題 分子標的蛍光インジケーターとグルタチオンS-トランスフェラーゼ複合体のX結晶構造解析
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 栗原 航大, 梅澤 公二, Sha Tao, Ann E Donnelly, Michael H Hecht, 新井 亮一
2. 発表標題 新規人工酵素Syn-F4エンテロバクチンエステラーゼのX線結晶構造解析
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飛田 悠花、木村 勇人、津川 若子、池袋 一典、早出 広司、浅野 竜太郎
2. 発表標題 グルコース脱水素酵素のスプリット化と電気化学センサー応用に向けた検討
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 入間川 伸、 舘野 浩章、新井 亮一
2. 発表標題 自己組織化レクチンナノブロックWA20-ACG複合体の開発
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小幡 隼也、川上 了史、包 明久、宮本 憲二、吉川 雅英、新井 亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノ粒子TIP60の正20面体型60量体多孔質構造
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 貝川 はるか、舘野 浩章、新井 亮一
2. 発表標題 三量体レクチンを用いたレクチンナノブロックの自己組織化タンパク質超分子複合体の創製
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川上 了史
2. 発表標題 形から入るタンパク質ナノ粒子の設計と機能化
3. 学会等名 SICE分子ロボティクス研究会 第1回オンライン定例研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 舞佳、川上 了史、宮本 恵二
2. 発表標題 中空タンパク質ナノ粒子TIP60の内部疎水化と疎水性小分子の内包
3. 学会等名 第22回生体触媒化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 舞佳、川上 了史、宮本 恵二
2. 発表標題 中空タンパク質ナノ粒子TIP60への疎水性光増感剤の内包
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 大原 直也、川上 了史、新井 亮一、宮本 恵二
2. 発表標題 人工タンパク質ナノ粒子TIP60の金属イオン応答性可逆的アSEMBル手法の構築
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 那須 英里圭、川上 了史、宮本 憲二
2. 発表標題 人工タンパク質ナノ粒子TIP60の表面孔の分子ふるい効果を利用した内外表面の機能化
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 小幡 隼也、川上 了史、包 明久、宮本 憲二、吉川 雅英、新井 亮一
2. 発表標題 切頂二十面体型人工タンパク質ナノ粒子TIP60のクライオ電子顕微鏡解析
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原 航大、Michael H. Hecht、新井 亮一
2. 発表標題 新規人工酵素Syn-F4エンテロバクチンエステラーゼのX線結晶構造解析
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 Gordon Research Conference, Proteins (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nano-building Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 The Protein Society, 33rd Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 RosettaCON 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 Innovations in Imaging for the Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井 亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる自己組織化ナノ構造複合体の創製
3. 学会等名 第26回ペプチドフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-Assembling Supramolecular Nanostructures Constructed from Protein Nano-Building Blocks
3. 学会等名 IPNF 2019 (International Powder and Nanotechnology Forum) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Ohara, Norifumi Kawakami, Ryoichi Arai, Naruhiko Adachi, Toshio Moriya, Masato Kawasaki, Toshiya Senda, Kenji Miyamoto
2. 発表標題 Alkaline Earth Metal-Induced Assembly of an Artificial Protein Nanocage TIP60
3. 学会等名 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC10) (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 新井亮一, 川上了史, 小幡隼也, 包明久, 那須英里圭, 宮本憲二, 吉川雅英 (難波 啓一、加藤 貴之、牧野 文信 監修)	4. 発行年 2023年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 10
3. 書名 クライオ電子顕微鏡ハンドブック (第4章第6節 人工設計タンパク質ナノ粒子TIP60の立体構造解析)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>信州大学 新井亮一研究室  <a href="http://fiber.shinshu-u.ac.jp/arai/index.html">http://fiber.shinshu-u.ac.jp/arai/index.html</a>          応用生物科学科 新井 亮一 准教授の研究グループ、100 でも変性しない人工タンパク質を開発  <a href="http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2020/02/140471.html">http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2020/02/140471.html</a>          高温環境下でも変性しない超安定化人工タンパク質を開発  <a href="https://www.shinshu-u.ac.jp/institution/ibs/topics/cat15431/post-35.html">https://www.shinshu-u.ac.jp/institution/ibs/topics/cat15431/post-35.html</a>          SUWA: A hyperstable artificial protein  <a href="https://eurekalert.org/pub_releases/2020-02/su-sah022820.php">https://eurekalert.org/pub_releases/2020-02/su-sah022820.php</a>          人工設計タンパク質ナノ粒子TIP60の正20面体型60量体の立体構造を解明  <a href="https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2021/09/158134.html">https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2021/09/158134.html</a>          サッカーボール型タンパク質ナノ粒子TIP60を壊して戻す技術を開発  <a href="https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2022/12/171157.html">https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2022/12/171157.html</a></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
研究分担者	川上 了史  (KAWAKAMI Norifumi)  (60566800)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・講師    (32612)	
研究分担者	宮田 健  (MIYATA Takeshi)  (20448591)	鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・准教授    (17701)	
研究分担者	迫野 昌文  (SAKONO Masafumi)  (50391959)	富山大学・学術研究部工学系・准教授    (13201)	
研究分担者	館野 浩章  (TATENO Hiroaki)  (30450670)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究グループ長    (82626)	
研究分担者	浅野 竜太郎  (ASANO Ryutaro)  (80323103)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授    (12605)	

## 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		
米国	Princeton University	University of Washington	