

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06596

研究課題名(和文) ストレス依存的な細胞内外小胞の新規形態様式

研究課題名(英文) A novel morphological pattern of stress-dependent intracellular and extracellular vesicles

研究代表者

紺野 宏記 (Konno, Hiroki)

金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授

研究者番号：80419267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、抗酸化酵素ペルオキシレドキン2(Prx2)が負電荷リン脂質と会合して小胞を形成することから、Prx2の細胞内(外)小胞輸送プロセスに対する役割を生化学的、細胞生物学的手法を用いて探索した。Prx2と細胞内外小胞の細胞内局在性を検討した結果、Prx2は、その負電荷リン脂質結合能によって細胞内外小胞の形成や局在に積極的に関与している可能性を明らかにすることができた。さらに、高速原子間力顕微鏡観察により、Prx2は、Prx2上の正電荷アミノ酸と負電荷リン脂質による静電的な相互作用だけでなく、脂質膜の曲率も認識して互いに相互作用することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、Prx2が細胞内外小胞輸送という生命現象に必須の細胞内プロセスに積極的に関与している可能性を示す点において関連分野に非常に大きなインパクトを与えた。さらに、Prx2は癌、脳梗塞、アルツハイマー病などの疾患に関与していることが知られているが、これらの疾患とPrx2の因果関係の詳細は未だ明らかではない。Prx2の細胞内外小胞輸送プロセスへの役割、変性タンパク質に対するシャペロン(抗凝集)活性、或いは、Prx2を含んだ小胞の輸送を介した変性タンパク質の排出(或いは除去)がこれらの疾患に密接に関係している可能性もあるため、本研究成果は将来的に医療へも貢献する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Since the antioxidant enzyme peroxiredoxin 2 (Prx2) associates with negatively charged phospholipids to form vesicles, the principal investigator examined the role of Prx2 in the intracellular (outer) vesicular transport process by using of biochemical and cell biological methods. We investigated that the cellular localization relationship of Prx2 and intracellular and extracellular vesicles. According to the results, we revealed the possibility that Prx2 is actively involved in the formation and localization of intracellular and extracellular vesicles through its negatively charged phospholipid binding ability. Furthermore, high-speed atomic force microscopy observation revealed that Prx2 interacts with lipids by recognizing not only electrostatic interactions between positively charged amino acids on Prx2 and negatively charged phospholipids, but also the curvature of the lipid membrane.

研究分野：生化学

キーワード：ペルオキシレドキシシン 高速原子間力顕微鏡 小胞輸送 抗酸化ストレス 構造機能相関

## 1. 研究開始当初の背景

ペルオキシレドキシニン 2 (Prx2) は、すべての生物種、細胞種に普遍的に存在する抗酸化ストレスタンパク質で、細胞内の過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) をはじめとするさまざまな活性酸素種の除去 (ペルオキシダーゼ活性) を介して細胞保護に寄与している。Prx2 は過剰の  $H_2O_2$  や高温などのストレス条件下において、20~30 kDa のモノマー、或いはダイマーが会合し 1,000 kDa 以上の高分子量複合体を形成する。興味深いことに、この高分子量複合体は本来の機能である  $H_2O_2$  の分解活性を失い、その代わりに変性タンパク質の凝集体化を防ぐ分子シャペロンとして機能することが報告された (Jang et al., Cell 2004)。すなわち、2 つの全く異なる機能の変換をタンパク質のモノマー (ダイマー) 化、オリゴマー化により実現している。これまで、Prx2 は過酸化されると、脂質を含んでいないタンパク質分子のみから成る球状の高分子量複合体が形成され、これがペルオキシダーゼから分子シャペロンへ機能変換する実体であると言われてきた (Jang et al., Cell 2004)。それ以降、Prx2 の構造・機能転換の謎解明に向けた研究が活発に行われるようになってきたが、矛盾する報告もあり、転換メカニズムの理解は進んでいない。例えば、過酸化ではなく、ATP の添加だけで植物由来の Prx2 が構造・機能転換するという報告もある (Aran et al., FEBS J. 2008)。また、これまでこの分子の 2 量体、および、高分子量複合体構造の観察は電子顕微鏡によるものであり、高分子量複合体形成過程をリアルタイムで観察しているわけではなく、その形成メカニズムは不明のままであった。そこで、タンパク質の動態を高解像の動画として直接観察できる高速原子間力顕微鏡 (高速 AFM) を活用して、Prx2 の高分子量複合体形成メカニズムの解明に着手した。その結果、

Prx2 の高分子量複合体は、脂質を含んだ球状複合体 (小胞) であることを世界にさきがけて明らかにした (Haruyama et al., J. Mol. Biol. 2018) (図 1)。また、Prx2 が脂質を含む小胞を形成する事実から、Prx2 は細胞内 (外) での小胞輸送に積極的に参与している可能性を考え、本研究の着想に至った。実際、Prx2 がリン脂質と会合して形成する直径 30~80 nm の小胞 (以後、Prx2-MV と記す) に必須な脂質はホスファチジルセリンなどの負電荷リン脂質に限定されており (Haruyama et al., J. Mol. Biol. 2018)、細胞外小胞であるエクソソームの脂質組成と合致する。上記の Prx2-MV に関する我々の

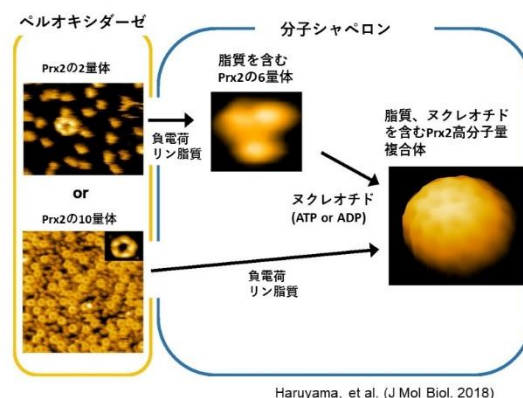


図1. Prx2の脂質、ヌクレオチド依存的な機能変換メカニズム

の意外な発見は、Prx2 高分子量複合体の新規形成メカニズムを提唱するだけでなく、Prx2 が細胞内(外)小胞輸送という生命現象に必須の細胞内プロセスに積極的に参与している可能性を示す点においても関連分野に非常に大きなインパクトを与えた。さらに、Prx2 は癌、脳梗塞、アルツハイマー病、パーキンソン病などの疾患に参与していることが知られているが、これらの疾患との因果関係は明らかではない。Prx2 が持つ  $H_2O_2$  分解活性の低下とそれに伴う細胞内活性酸素種 (ROS) の増加が要因と示唆されているが、細胞内にはカタラーゼなど他種の  $H_2O_2$  分解活性酵素も多数存在するため、単純に細胞内 ROS 量の変動だけで Prx2 とこれらの疾患との関連を説明できていない。Prx2 の細胞内 (外) 小胞輸送への役割、変性タンパク質に対するシャペロン (抗凝集) 活性、或いは、小胞輸送を介した変性タンパク質の排出 (或いは除去) がこれらの疾患に密接に関係している可能性もあるため、本提案研究が将来的に医療へも貢献する可能性がある。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は Prx2 を含んだ小胞に関する基盤的知見の確立にある。Prx2 と脂質の相互作用に加え、Prx2 とヌクレオチドの結合或いは Prx2 の過酸化により、エンドソームやエクソソームに強く関連すると思われる球状高分子量複合体 (Prx2-MV) が形成されることを発見したのは世界で我々が最初で唯一である。この発見の発表は 2018 年であるため、この発見に基づく研究は現在のところ我々しか推進していない。研究代表者らは、Prx2 がエクソソームを含む細胞内外小胞の一形態であることを提案し、その機能や細胞内 (外) における動態を生化学的、細胞生物学的手法を用いて探索する研究計画を遂行する。さらに、蛋白質改変技術と高速原子間力顕微鏡観察技術を駆使して、Prx2 を含んだ小胞の形成メカニズムをナノスケールで明らかにする取り組みも行う。本研究課題で進める Prx2-MV の形成メカニズムの解明、Prx2-MV の細胞内動態の研究、Prx2-MV とエクソソーム、エンドソームとの関係探索、Prx2-MV の分泌を制御する因子の探索などは、どれも我々独自の独創性の高い研究である。また、Prx2 が様々な小胞の形

成とダイナミクスに關与している場合には、本研究で期待される成果は広範な分野に影響を与え得る。また技術面では、詳細な表面構造情報を取得後に探針から試料に強い力を作用させて構造を破壊した結果をイメージングすることにより、タンパク質を含む個々の膜小胞の内部構造や形状で判別可能な組成に関する情報を得ることは我々の高速 AFM 技術でしかできない。

### 3. 研究の方法

#### Prx2 と脂質との相互作用のリアルタイム観察

Prx2 の 2 量体とリン脂質 (PS) リポソームとの相互作用で一旦形成される部分複合体 (6 量体) が Prx-MV 上に観察される格子状構造の構成単位であることは高速 AFM 観察により明らかであるが(図 1)、6 量体形成の分子プロセスの詳細は不明である。そこで、Prx2 の 2 量体と脂質が相互作用する過程を高速 AFM によりリアルタイムで観察する。しかし、基板に平面状に展開した脂質二重層に Prx2 が結合しないことはすでに確認済みである。この事実から、ストレス依存的な細胞膜の曲率変化が相互作用の引き金となり、Prx2 が膜からリン脂質を引き抜くことで、脂質を含んだ 6 量体を形成すると考えられる。そこで、研究協力者ある金沢大学・古寺哲幸教授らが開発した凸ないしは凹の形状を有する基板を用いて、脂質二重層膜に曲率を持たせて AFM 観察を行う。曲率を保持している状態においても、脂質二重層と基板との相互作用のために Prx2 が脂質分子を引き抜けない状況も考えられる。その場合は、基板をカーボンコートすることで脂質リポソームが基板上で展開できないようにして、脂質リポソームと Prx2 の相互作用過程を AFM 観察する。これらの観察を通して、Prx2 と脂質の相互作用の初期過程の詳細を明らかにする。次に、PS と結合した 6 量体を調製し、AFM 観察中にヌクレオチドを加え、どのような過程を経て Prx2-MV の形成に至るかを詳細な表面構造と共に明らかにする。Prx2-MV 形成は比較的遅いプロセスなので、試験管中で反応しているものを時間毎に取り出して観察することもできる。

#### 脂質やヌクレオチドとの相互作用に重要な Prx2 上のアミノ酸残基の同定

負電荷リン脂質だけが Prx2-MV を形成することから、Prx2 上のリジンやアルギニン残基などの正電荷アミノ酸残基が負電荷リン脂質との結合に重要であることが示唆される。予備実験では、Prx2 上に 24 個存在するリジン、アルギニンの内の 7 個に部位特異的なアミノ酸置換を導入すると、Prx2 は脂質と相互作用できないことをすでに確認した。上述の 7 個のリジン、アルギニンの内、脂質との結合に必要な残基をさらに絞り込んでいく。Prx2 上にあるヌクレオチド結合部位の同定については、はじめに、UV 照射により近接しているアミノ酸に強固に結合する性質を持つフェニルアジド基を付加したヌクレオチドを使用して、Prx2 とヌクレオチドを分子間架橋させる。つぎに、ヌクレオチドが Prx2 上のどのアミノ酸と架橋しているかを質量分析法により解析する。

#### Prx2 と細胞内(外)小胞との共局在性の検証

Prx2 の小胞輸送における役割を理解するために、初期エンドソーム (EE)、リサイクルエンドソーム (RE)、後期エンドソーム (LE) およびエクソソームとの共局在性を検討する。そこで、SW480 結腸癌細胞を用いて、GFP-Prx2-WT を安定発現する細胞株を樹立し、この細胞株をさらに、各細胞内小胞マーカータンパク質と蛍光タンパク質と融合させたプラスミド DNA でトランスフェクションした二重安定発現細胞株を作成する。これらの細胞株を用いて、Prx2 と各細胞内外小胞マーカータンパク質との細胞局在の関係性を明らかにする。

### 4. 研究成果

#### Prx2 と脂質との相互作用のリアルタイム観察

Prx2 の 2 量体と負電荷リン脂質 (PS) リポソームとの相互作用で一旦形成される部分複合体 (6 量体) が Prx2-MV 上に観察される格子状構造の構成単位であることは高速 AFM 観察により明らかであるが、6 量体形成の分子プロセスの詳細は不明である。そこで、Prx2 量体と脂質が相互作用する過程を高速 AFM によりリアルタイムで観察することを試みた。しかし、基板に平面状に展開した脂質二重層に Prx2 が結合しないことはすでに確認済みである。この事実から、ストレス依存的な細胞膜の曲率変化が相互作用の引き金となり、Prx2 が膜からリン脂質を引き抜くことで、脂質を含んだ 6 量体を形成すると考えられる。そこで、凸ないしは凹の形状を有する基板を用いて、脂質二重層膜に曲率を持たせて AFM 観察を行った。最初にビーズを利用して作成した凸基板においては、曲率が小さいためか、Prx2 が凸基板に相互作用する過程は観察できなかった。そこで、低分子化合物のアミノシランを基板にあらかじめ固定させてから負電荷リン脂質を展開させることで、これまでよりも脂質膜の曲率が大きい基板を作成した。この基板を用いて Prx2 と負電荷リン脂質の相互作用を観察したところ、基板に展開された負電荷リン脂質膜の面積が Prx2 との相互作用によって顕著に減少する様子が観察された(図 2)。この結果から、Prx2 は脂質の曲率を認識して脂質と相互作用することが明らかとなった。細胞内においても、曲率が比較的大きい負電荷リン脂質二重層に選択的に Prx2 が相互作用することが示唆された。

## 脂質やヌクレオチドとの相互作用に重要な Prx2 上のアミノ酸残基の同定

上述のように、Prx2 上に存在する 24 個のリジン、アルギニン残基のうちの 7 つに変異を導入した Prx2 変異体 (Prx2-KR7A) は負電荷リン脂質依存的なオリゴマー形成を示さない (図 3B)。この結果から、これらの 7 つのリジン、アルギニンが負電荷リン脂質の結合部位の候補として挙げることができたが、申請者らはそれらの 7 つのリジン、アルギニンから結合に必須のアミノ酸をさらに絞り込むために複数の Prx2 変異体を作成し、その脂質結合能を調べた。その結果、7 つのリジン、アルギニンのうち 66 番目のアルギニンだけ

に変異を導入した変異体 (Prx2-KR1A) は、Prx2 野生型 (Prx2-WT) と同様に、脂質依存的なオリゴマー形成を示したことから、66 番目のアルギニンは脂質結合に重要ではないことがわかった (図 3C)、それ以外のリジン、アルギニンに変異を導入したすべての Prx2 変異体においては、負電荷リン脂質との結合で生じるオリゴマー形成を示さなかった。すなわち、Prx2 上の脂質結合部位は特定の 1 つの正電荷アミノ酸だけではなく、複数の正電荷アミノ酸によって構成されていることがわかった。Prx2 は脂質との相互作用によりオリゴマーを形成し、そのオリゴマーはヌクレオチドと相互作用することで球状の高分子量複合体 (脂質ベジクル) を形成する。そこで、Prx2 上のヌクレオチド結合部位の同定に関する実験計画を遂行した。Prx2 上にあるヌクレオチド結合部位の同定は、当初、フェニルアジド基を付加したヌクレオチドを使用して Prx2 とヌクレオチドを分子間架橋させ、架橋部位を質量分析法により同定する手法を用いた。しかし、この方法では Prx2 上のヌクレオチド結合を同定することはできなかった。そこで、タンパク質のヌクレオチド結合部位を予測する web サイト (ATP bind) を利用して、ヌクレオチド結合部位候補となるアミノ酸残基を 2 つに絞り込んだ (図 4A)。候補に挙げた 2 つのアミノ酸がヌクレオチド結合に重要かどうかについて、アミノ酸の部位特異的変異導入法により調べた (図 4B)。その結果、Prx2 変異体は脂質およびヌクレオチド依存的な高分子量複合体 (HMW) の形成効率が著しく低下することが明らかとなった (図 4B)。このことより Prx2 上に存在するヌクレオチド結合部位を明らかにすることができた。

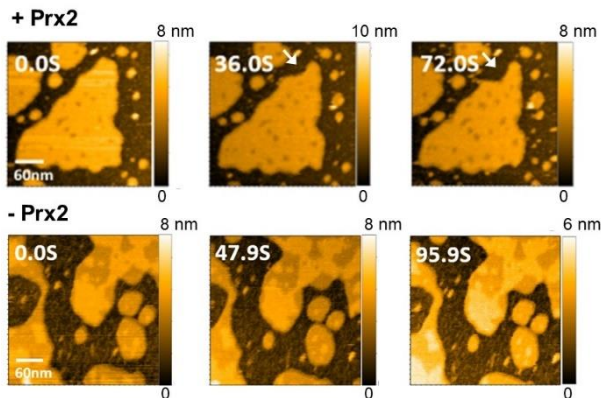


図2. 曲率を持つ負電荷リン脂質膜と Prx2 の相互作用による脂質膜面積の減少  
白矢印は、Prx2 の添加により脂質膜面積が減少している箇所を示している

に変異を導入した変異体 (Prx2-KR1A) は、Prx2 野生型 (Prx2-WT) と同様に、脂質依存的なオリゴマー形成を示したことから、66 番目のアルギニンは脂質結合に重要ではないことがわかった (図 3C)、それ以外のリジン、アルギニンに変異を導入したすべての Prx2 変異体においては、負電荷リン脂質との結合で生じるオリゴマー形成を示さなかった。すなわち、Prx2 上の脂質結合部位は特定の 1 つの正電荷アミノ酸だけではなく、複数の正電荷アミノ酸によって構成されていることがわかった。Prx2 は脂質との相互作用によりオリゴマーを形成し、そのオリゴマーはヌクレオチドと相互作用することで球状の高分子量複合体 (脂質ベジクル) を形成する。そこで、Prx2 上のヌクレオチド結合部位の同定に関する実験計画を遂行した。Prx2 上にあるヌクレオチド結合部位の同定は、当初、フェニルアジド基を付加したヌクレオチドを使用して Prx2 とヌクレオチドを分子間架橋させ、架橋部位を質量分析法により同定する手法を用いた。しかし、この方法では Prx2 上のヌクレオチド結合を同定することはできなかった。そこで、タンパク質のヌクレオチド結合部位を予測する web サイト (ATP bind) を利用して、ヌクレオチド結合部位候補となるアミノ酸残基を 2 つに絞り込んだ (図 4A)。候補に挙げた 2 つのアミノ酸がヌクレオチド結合に重要かどうかについて、アミノ酸の部位特異的変異導入法により調べた (図 4B)。その結果、Prx2 変異体は脂質およびヌクレオチド依存的な高分子量複合体 (HMW) の形成効率が著しく低下することが明らかとなった (図 4B)。このことより Prx2 上に存在するヌクレオチド結合部位を明らかにすることができた。

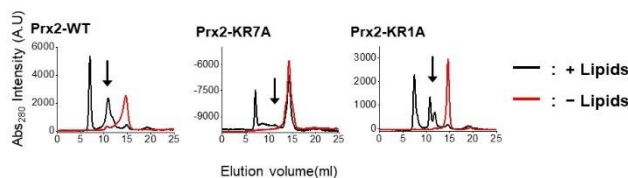


図3. 負電荷リン脂質依存的な Prx2 オリゴマー形成の確認  
黒矢印：脂質依存的に形成される Prx2 オリゴマーの溶出位置

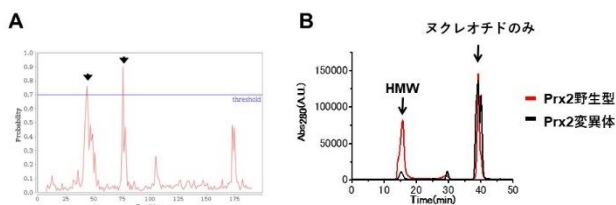


図4. Prx2 上のヌクレオチド結合部位予測および変異 Prx2 における脂質、ヌクレオチド依存的な高分子量複合体の確認

A. Prx2 上のヌクレオチド結合部位予測サイトの予測結果  
黒矢印：ヌクレオチド結合部位として予測された位置を示している。  
B. 変異 Prx2 における脂質、ヌクレオチド依存的な高分子量複合体形成の確認

## Prx2 と細胞内(外)小胞との共局在性の検証

Prx2 の小胞輸送における役割を理解するために、初期エンドソーム (EE)、リサイクルエンドソーム (RE)、後期エンドソーム (LE) およびエクソソームとの共局在性を検討した。エクソソームデータベース (ExoCarta) によると、Prx2 は大腸がん細胞由来のエクソソームに存在することが判明した。そこで、SW480 結腸癌細胞を用いて、GFP-Prx2-WT を安定発現する細胞株を樹立した (ただし、内在性 Prx2 はノックアウトしていない)。この細胞株をさらに、EE を同定するために RFP 融合エンドソーム/エクソソームマーカータンパク質 EEA1、LE/MVB を同定するために Rab7 またはエクソソームの同定のために CD81 と mCherry 融合した遺伝子をコードするプラスミド DNA でトランスフェクションした。また、脂質結合能を失った Prx2 変異体 (Prx2-MT) を安定発現する細胞株も同時に作成し、Prx2 の脂質結合が各細胞内小胞との共局在性に重要であるかも検証した。はじめに、GFP-Prx2-WT と EEA1 の細胞内局在を調べた。GFP-Prx2-WT は少数のクラスターの存在とともに、細胞質に一樣に発現していた。EEA1 も細胞質に一樣に発現していた。GFP-Prx2-WT と EEA1 の共局在性は、Mander のオーバーラップ係数を用いて解析し、その程度をヒートマップで示した (図 5)。その結果、EEA1 は GFP-Prx2-WT に強く共局在してい

ることが示唆された一方で、EEA1 と GFP-Prx2-MT の共局在性は非常に低かった。つぎに、Prx2 とリサイクルエンドソームマーカーである Rab11 の細胞内局在性を調べた。EEA1 の場合と同様に、Rab11 は GFP-Prx2-MT よりも GFP-Prx2-WT とより強く共局在していた (図 5)。これらの結果は、GFP-Prx2-WT は脂質結合能を有するため、陰イオン性リン脂質を含む小胞に共局在化することを示している。一方、GFP-Prx2-MT は GFP-Prx2-WT に比べ、後期エンドソームマーカーである Rab7 と強い共局在性を示した (図 5)。この結果は、GFP-Prx2-MT は脂質結合能を持たないため、細胞質に脂質と結合していない遊離の GFP-Prx2-MT が増加し、GFP-Prx2-MT が後期エンドソーム膜上ではなく後期エンドソーム内に取り込まれたために、GFP-Prx2-MT と Rab7 が共局在しているように観察されたためと考えられる。次に、Prx2 とエクソソームマーカー蛋白質 CD81 の局在関係を調べた。CD81 は GFP-Prx2-WT 細胞では細胞質だけでなく核にも局在していたが、GFP-Prx2-MT 細胞では細胞膜付近に集中的に局在していた。CD81 は GFP-Prx2-WT 細胞では GFP-Prx2-MT 細胞よりも強く共局在化し、GFP-Prx2-WT 細胞と GFP-Prx2-MT 細胞の局在関係の差は、観察されたすべての小胞の中で最も顕著だった (図 3)。これらの結果から、Prx2 は、その負電荷リン脂質結合能によって細胞内小胞に局在している可能性が示唆された。また、本研究計画の遂行の際、予想外の発見もあった (図 6)。PS 結合能が欠失した GFP-Prx2-MT 発現細胞株において、アポトーシスの進行に伴い生じる細胞の変形(ブレッキング)が観察されないことが明らかとなった (図 4)。Prx2 の PS 結合能がアポトーシスの進行ステップのどの段階に影響を与えているのか？また、いくつか知られている誘導経路(小胞体ストレス経路、ミトコンドリア経路、Fas シグナル経路)の中で、どの経路に影響を与えているか？など不明な点が多いが、Prx2 は、小胞輸送以外の膜ダイナミクス全般に大きく影響を与えている可能性が示唆された。

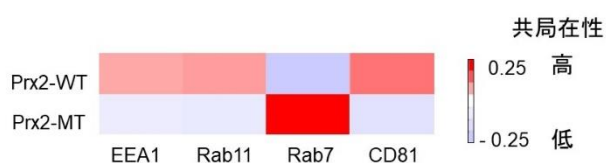


図5. Prx2および脂質結合能を欠失したPrx2変異体と各細胞内外小胞マーカータンパク質との共局在性の比較

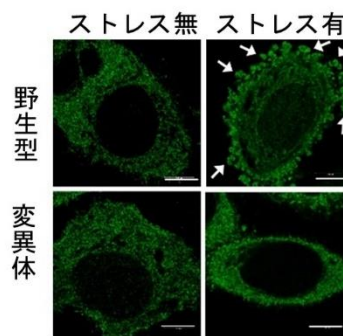


図6. アポトーシスにおけるPrx2の負電荷リン脂質結合能の役割

白矢印：野生型のみで観察されるアポトーシス時の細胞変形

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takahiro Watanabe-Nakayama, Maika Nawa, Hiroki Konno, Noriyuki Kodera, Toshio Ando, David B Teplow, Kenjiro Ono	4. 巻 14
2. 論文標題 Self- and Cross-Seeding on $\alpha$ -Synuclein Fibril Growth Kinetics and Structure Observed by High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 9979-9989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.0c03074	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 Konno H, Watanabe-Nakayama T, Uchihashi T, Okuda M, Zhu L, Kodera N, Kikuchi Y, Ando T, Taguchi H	4. 巻 117
2. 論文標題 Dynamics of oligomer and amyloid fibril formation by yeast prion Sup35 observed by high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U S A	6. 最初と最後の頁 7831-7836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1916452117	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 Tatebe H, Lim CT, Konno H, Shiozaki K, Shinohara A, Uchihashi T, Furukohri A	4. 巻 11
2. 論文標題 Rad50 zinc hook functions as a constitutive dimerization module interchangeable with SMC hinge	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14025-0	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 Kobayashi M, Muramatsu K, Haruyama T, Uesugi H, Kikuchi A, Konno H, Noguchi N, Saito Y	4. 巻 4
2. 論文標題 Polymerization of Oxidized DJ-1 via Noncovalent and Covalent Binding: Significance of Disulfide Bond Formation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 9603-9614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b00324	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14件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 紺野宏記
2. 発表標題 高速AFMによる抗ストレスタンパク質ペルオキシレドキシニン2 (Prx2) の脂質依存的な高分子量複合体形成過程の解明
3. 学会等名 第2回高速AFMオンラインシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 守田昂樹, 佐々木理乃, 神代真実, 紺野宏記
2. 発表標題 ペルオキシレドキシニンの脂質、ヌクレオチド依存的な複合体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田竜生, 古寺哲幸, 安藤敏夫, 紺野宏記
2. 発表標題 ペルオキシレドキシニンと負電荷脂質・ヌクレオチドによる球状高分子量複合体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第47回討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 紺野宏記, 羽澤勝治, 芳坂綾子, 佐々木理乃, 矢幡信成, 古寺哲幸, 安藤敏夫,
2. 発表標題 脂質およびヌクレオチド依存的なペルオキシレドキシニン高分子量複合体の形成過程の解明
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 室 郁哉, 中山-渡辺隆宏, 古寺哲幸, 安藤敏夫, 紺野宏記
2. 発表標題 高速AFMを用いたHECT型ユビキチンリガーゼの構造動態の観察
3. 学会等名 日本生体工ネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢幡信成, 羽澤勝治, 芳坂綾子, 紺野宏記
2. 発表標題 PRDX2の小胞形成における役割の解明
3. 学会等名 日本生体工ネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 守田昂樹, 佐々木理乃, 神代真実, 古寺哲幸, 安藤敏夫, 紺野宏記
2. 発表標題 ペルオキシレドキシンと脂質またはヌクレオチドによる高分子複合体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 日本生体工ネルギー研究会第46回討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 紺野宏記, 羽澤勝治, 芳坂綾子, 佐々木理乃, 矢幡信成, 古寺哲幸, 安藤敏夫
2. 発表標題 Prx高分子量複合体の形成過程およびその生理的意義の解明.
3. 学会等名 日本生体工ネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 佐々木理乃、神代真実、古寺哲幸、安藤敏夫、紺野宏記
2. 発表標題 ペルオキシレドキシンと脂質またはヌクレオチドによる高分子複合体形成メカニズムの解明
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 室郁弥、中山-渡辺隆宏、古寺哲幸、安藤敏夫、紺野宏記
2. 発表標題 高速AFMを用いたHECT型ユビキチンリガーゼのユビキチン化に伴う構造動態の観察
3. 学会等名 日本生体エネルギー研究会第45回討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Kitazawa, L. Sun, A. Housaka, T. Watanabe-Nakayama, H. Konno, S. Watanabe
2. 発表標題 Visualization of nanomechanical responses of living cell surface captured by high-speed ion conductance microscope
3. 学会等名 27th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Jindai, R. Sasaki, N. Kodera, T. Ando, H. Konno
2. 発表標題 Investigation of formation mechanism of Prx high molecular weight complexes.
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 I. Muro, T. Watanabe-Nakayama, N. Kodera, T. Ando, H. Konno
2. 発表標題 Observation of the dynamics associated with ubiquitination on Tamavidin 2D crystal using High speed AFM
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北澤怜子, L. Sun, 芳坂綾子, 中山隆宏, 紺野宏記, 柴田幹大, 渡辺信嗣
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡による生細胞表面の機械的性質のマッピング
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 紺野宏記	4. 発行年 2020年
2. 出版社 バイオサイエンスとインダストリー協会	5. 総ページ数 2
3. 書名 バイオサイエンスとインダストリー	

〔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
研究協力者	古寺 哲幸  (Kodera Noriyuki)  (40622460)		

6. 研究組織（つづき）

	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	羽澤 勝治  (Hazawa Masaharu)  (30584635)		

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