

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15694

研究課題名（和文）A オリゴマー選択的プロテアーゼの開発に基づく神経変性機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of neurodegenerative mechanisms based on the development of beta amyloid oligomer-selective proteases

研究代表者

塚越 かおり（Tsukakoshi, Kaori）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：20708474

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）：本研究課題では、アルツハイマー病の創薬標的であるアミロイド（A）オリゴマー選択性を付与したプロテアーゼの開発を行った。プロテアーゼとしてはネプリライシンを選択し、結果、酵素活性を保持したAオリゴマー結合ペプチド融合ネプリライシンの組み換え生産に成功した。またペプチドとAオリゴマーの結合には多価効果が重要であることを見出した。今後、タンパク質分解によって局所的Aオリゴマーを下げた細胞・組織の解析を実施することで、細胞死のトリガーとなる作用を見出すことができると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Aオリゴマーを標的とした二つの抗体医薬が上市され、認知機能低下を抑制する薬効が報告されている。しかし、今なおAオリゴマーがどのように神経細胞を障害するのか、そのメカニズムは明らかでない。本研究課題の成果を基盤としそのメカニズムを解明することができれば、新しい創薬ターゲットの発見や高価な抗体医薬に変わる新薬の開発につながると期待できるため、その学術的・社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：In this research project, a protease with amyloid- (A) oligomer selectivity, a drug target for Alzheimer's disease, was developed. Neprilysin was selected as the protease to degrade A oligomer. As a result, recombinant production of A oligomer-binding peptide-fused neprilysin with retained enzyme activity was successfully achieved. It was also found that the multivalency effect is important for the binding of peptides to A oligomers. Future analysis of cells and tissues in which local A oligomers are lowered by proteolysis is expected to reveal the action that triggers cell death.

研究分野：生物工学

キーワード：アミロイド アルツハイマー病 プロテアーゼ

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) は最も患者数の多い認知症の原因疾患である。AD の発症原因の 1 つとして、アミロイドβ (Aβ) の凝集体・Aβ オリゴマーが注目されている。Aβ オリゴマーは Aβ モノマーが凝集することで形成する。そして、Aβ モノマー・Aβ アミロイド線維と比べ高い細胞障害性が見出されている。さらにその評価の中で、Aβ オリゴマーは細胞間質液・細胞膜上・リソソーム内と、様々な部位に局在していることがわかってきた。しかし、Aβ オリゴマーの局在部位に応じて、異なった細胞障害性を発揮するメカニズムと神経変性に与える影響が報告されており

(注)、今なお「Aβ オリゴマーにより細胞のどの部位が障害されることが神経変性の原因になるのか？」という重要な問いが未解明のまま存在している。これは、Aβ オリゴマーの神経変性メカニズムの解析を阻む以下の二つの課題によるためである。

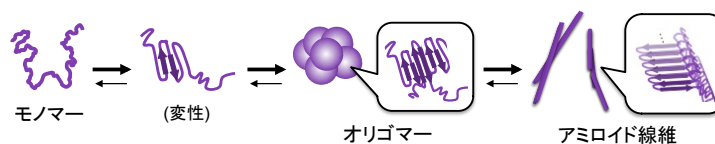


図 1. Aβ 凝集過程の模式図

(注) Aβオリゴマーの局在とその細胞障害性
 細胞間質液¹⁾: 産生されたAβモノマーは細胞外へ分泌されるので、凝集するとAβオリゴマーができる。神経伝達を攪乱する。
 細胞膜上²⁾: 細胞膜に膜孔を形成することで異常なCa²⁺の流入を引き起こし、シグナル伝達を攪乱する。
 リソソーム内³⁻⁴⁾: エンドサイトーシスで細胞内に取り込まれ、リソソーム内に局在する。Aβオリゴマーを多く含むリソソームは壊れやすくなる。

- ① Aβオリゴマー特異的な解析に関する課題: AβオリゴマーはAβモノマーの凝集により生じるため、定法である遺伝子ノックダウン法ではAβオリゴマー特異的な解析ができない。
- ② 部位特異的な解析に関する課題: Aβオリゴマーは細胞の様々な部位に局在する。Aβオリゴマーを添加しアデティブな効果を観察する実験では、どの部位に由来する効果か同定できない。

上記の課題を解決するためには、Aβオリゴマーが細胞内外で与える細胞障害性の効果をそれぞれに区別して評価するモデル系の開発が急務である。そこで申請者は、細胞間質液・細胞膜上・リソソーム内に局在するプロテアーゼがAβを分解することに注目した。プロテアーゼがその局在部位でAβオリゴマーを選択的に分解できれば、AβモノマーはそのままにAβオリゴマーのみを部位特異的に減少させる“Aβオリゴマーノックダウン”ができ、これにより二つの特異性に関する課題を解決して神経変性機序の解析ができる。しかしプロテアーゼはAβオリゴマーだけでなくAβモノマーも分解するので、プロテアーゼの過剰発現系ではAβオリゴマー特異的な変化を解析することができない。

これまでの研究において申請者は、Aβオリゴマーに結合するプリオン (Lauren et al., *Nature* 2009) から結合に重要な部分のみを抜き出したAβオリゴマー結合ペプチド (Oligomer-Binding Peptide; OBP) を開発し、バイオセンシングに有用な酵素・アルカリホスファターゼ (ALP) との融合酵素 (OBP-ALP) を開発している (Tsukakoshi et al., *Int J Mol Sci* 2022)。OBP-ALPは融合後も60 U/mgと高い酵素活性を保持した上、Aβオリゴマーに対して特異的に結合することが確認された。そこで本研究ではこの研究成果に基づき、Aβを分解するプロテアーゼにOBPをタンパク質工学的に直接融合することで、Aβオリゴマーを選択的に分解するOBP融合プロテアーゼを開発する。これを発現した細胞を評価することで、“細胞内外の特定の部位に注目した”“Aβオリゴマー選択的”な細胞障害性の解析ができると考えた。

注内の参考文献: 1) Hong et al., *Acta Neuropathol* 2018 136(1):19-40, 2) Bode et al., *J Biol Chem* 2017 292(4):1404-1413, 3) Chafekar et al., *Biochim Biophys Acta* 2008 1782(9):523-31, 4) Umeda et al., *J Neurosci Res* 2011 89(7):1031-42

2. 研究の目的

本研究では、Aβオリゴマーを選択的に分解するプロテアーゼに、Aβオリゴマー選択性を付与するための分子認識素子であるAβオリゴマー結合ペプチド (Oligomer-Binding Peptide; OBP) を融合させたOBP融合プロテアーゼを開発することを目的とした。

3. 研究の方法

1) OBP融合プロテアーゼの開発

細胞間質液・細胞膜上・リソソーム内でのAβオリゴマー分解を期待し、ネプリライシン・カテプシンB・MMP9のプロテアーゼをOBP融合の候補とする (各酵素は既にAβを切断することが報告されている)。コドン最適化したプロテアーゼの合成遺伝子と申請者が所有するOBP

の合成遺伝子を用いて、遺伝子工学的に2つのタンパク質を融合する。

2) OBP 融合プロテアーゼの機能評価

OBP と融合した酵素を適切なホストを用いて組換え生産し、精製する。その後、酵素活性・A β オリゴマー結合性と A β オリゴマー分解の特異性を *in vitro* の実験で評価する。

4. 研究成果

1) OBP 融合プロテアーゼの開発

ネプリライシン・カテプシン B・MMP9 のプロテアーゼの遺伝子を組み換え生産のためのホストのコドンに最適化した上で委託合成した。その後、A β オリゴマーを標的とした抗体医薬の薬効報告を参考にし、細胞外で A β オリゴマーを分解しうるプロテアーゼであるネプリライシンの分解効果を観察することを目指し、OBP 融合ネプリライシンの遺伝子構築を実施した。ネプリライシンの立体構造が既に解析されていたことから、その構造情報を参考に OBP を N 末端、精製用のヒスチジンタグを C 末端に導入した構造遺伝子を構築した。そして、Exp1293F をホストとした組み換え生産、並びにヒスチジンタグを利用したアフィニティークロマトグラフィー精製の結果、OBP 融合ネプリライシンを得ることに成功した。

2) OBP 融合プロテアーゼの機能評価

2-1) 酵素活性評価

ペプチド基質を用いた酵素活性測定の結果、15 mU/mg の活性を確認した。1 nmol のペプチドを 1 分間に切る酵素活性を 1 ユニットと定義するので、今回開発した OBP 融合ネプリライシンは 1 mg あたり 15 pmol の A β オリゴマーを 1 分間で切る活性をもつことが示された。A β の脳組織内での総量が多くとも数百 pmol/ g tissue 程度であり、オリゴマー形成しているものはその一部であることを踏まえると、OBP 融合ネプリライシンは A β オリゴマー分解に十分な酵素活性を有すると考えられた。

2-2) A β オリゴマー結合能評価

これまでに開発した OBP 融合酵素である OBP 融合アルカリホスファターゼを用いた A β オリゴマー結合アッセイの実験条件と揃え、OBP 融合ネプリライシンの A β オリゴマーに対する結合試験を実施した。しかし、OBP 融合ネプリライシンの結合を確認することはできなかった。OBP 融合ネプリライシンが A β オリゴマーに結合したとしても、A β オリゴマーを分解してしまっており、結果 OBP 融合ネプリライシンが解離してしまうのではないかと考えられた。

そこで、ネプリライシンの選択的阻害剤であるチオルファン存在下で結合アッセイを再度実施した。しかし、やはり A β オリゴマーへの結合は観察できなかった。申請者は、本研究の開始以前に OBP 融合アルカリホスファターゼを開発している。そこで、OBP 融合アルカリホスファターゼの結合解離定数を OBP 単独のものと比較したところ、OBP 融合アルカリホスファターゼの方が A β オリゴマーへの強い結合能を示した (Tsukakoshi et al., *Int J Mol Sci* 2022)。A β オリゴマー結合が観察された融合酵素のアルカリホスファターゼはホモダイマー酵素であり、活性を示すフォールディングを取る際、2つの OBP が酵素上に提示される。一方ネプリライシンはモノマーで活性を示す酵素である。この結果から、OBP は酵素上で二価になることで十分な結合活性を示すようになる可能性が考えられた。そのため、ネプリライシンの N 末端だけでなく C 末端にも OBP を融合することで、A β オリゴマー結合性を示す可能性が示唆された。

<得られた成果の位置付け、今後の展望>

A β オリゴマーの細胞障害メカニズムの解明は、新しい創薬ターゲットの発見や高価な抗体医薬に変わる新薬の開発につながると期待できるため、国内外における学術的・社会的インパクトは大きい。本研究で開発されたプロテアーゼは酵素活性を保持していたことから、A β オリゴマー結合性を改良することができればタンパク質分解によって局所的 A β オリゴマーを下げた細胞・組織の解析ができるので、未知の細胞障害性メカニズムの解明に貢献できると考えられる。今後、本研究で得られた知見に基づき、OBP 融合ネプリライシンを改良するとともに、他の OBP 融合プロテアーゼを開発する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 5件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Tomoaki Murakami, Toshisuke Kaku, Kaori Tsukakoshi, Susumu Iwaide, Yoshiyuki Itoh, Miki Hisada, Kohji Nomura, Rikako Kubo, Kazunori Ikebukuro, Yukiko Sassa-O' Brien, Fuyuki Kametani	4. 巻 60 (2)
2. 論文標題 Identification of novel amyloidosis in dogs: -S1-casein acquires amyloidogenicity in mammary tumor by overexpression and N-terminal truncation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Vet Pathol	6. 最初と最後の頁 203-213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/03009858221148511	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 Anh Thi Tram Tu, Kazuaki Hoshi, Yue Ma, Taiji Oyama, Satoko Suzuki, Kaori Tsukakoshi, Kazuo Nagasawa, Kazunori Ikebukuro, Tomohiko Yamazaki	4. 巻 17 (7)
2. 論文標題 Effects of G-Quadruplex Ligands on the Topology, Stability, and Immunostimulatory Properties of G-Quadruplex-Based CpG Oligodeoxynucleotides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chem Biol	6. 最初と最後の頁 1703-1713
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.1c00904	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 Kaori Tsukakoshi, Rikako Kubo, Kazunori Ikebukuro	4. 巻 23 (23)
2. 論文標題 Development of Alkaline Phosphatase-Fused Mouse Prion Protein and Its Application in Toxic A Oligomer Detection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 14588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232314588	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 Kyoko Fujita, Takuya Honda, Kaori Tsukakoshi, Hiroyuki Ohno, Kazunori Ikebukuro	4. 巻 366
2. 論文標題 The state of water molecules induces changes in the topologies and interactions of G-quadruplex DNA aptamers in hydrated ionic liquid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Liquids	6. 最初と最後の頁 120175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molliq.2022.120175.	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 Daiki Oshikawa, Shintaro Inaba, Yudai Kitagawa, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro	4. 巻 23 (12)
2. 論文標題 CpG Methylation Altered the Stability and Structure of the i-Motifs Located in the CpG Islands	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 6467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23126467	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 Renzo A Fenati, Zifei Chen, Yasuko Yamagishi, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro, Anjay Manian, Salvy P Russo, Tomohiko Yamazaki, Amanda V Ellis	4. 巻 10 (43)
2. 論文標題 Enhancement of DNazymatic activity using iterative in silico maturation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Mater Chem B	6. 最初と最後の頁 8960-8969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2tb01638a	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 Kenichiro TODOROKI, Ryota ISOBE, Tomohiro YAMADA, Taro SAITO, Yutaka SHIMIZU, Kaori TSUKAKOSHI, Eiji SUGIYAMA, Hajime MIZUNO, Hideki HAYASHI, Kazunori IKEBUKURO	4. 巻 43 (2)
2. 論文標題 Development of a Lateral Flow Assay for Bevacizumab Using an Anti-Idiotypic DNA Aptamer as a Capture Molecule	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chromatography	6. 最初と最後の頁 73-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2022.008	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 *Saito, T., *Shimizu, Y., *Tsukakoshi, K. (*co-first author), Abe, K., Lee, J., Ueno, K., Asano, R., Jones, B.V., Yamada, T., Nakano, T., Tong, J., Hishiki, A., Hara, K., Hashimoto, H., Sode, K., Toyo'oka, T., Todoroki, K. & Ikebukuro, K.	4. 巻 203
2. 論文標題 Development of a DNA aptamer that binds to the complementarity-determining region of therapeutic monoclonal antibody and affinity improvement induced by pH-change for sensitive detection.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biosens Bioelectron	6. 最初と最後の頁 114027
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2022.114027	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 *Kaku, T., *Tsukakoshi, K. (*co-first author and corresponding author) & Ikebukuro, K.	4. 巻 22(23)
2. 論文標題 Cytotoxic Abeta Protofilaments Are Generated in the Process of Abeta Fibril Disaggregation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 12780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222312780.	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 Hasegawa, H., Sasaki, I., Tsukakoshi, K., Ma, Y., Nagasawa, K., Numata, S., Inoue, Y., Kim, Y. & Ikebukuro, K.	4. 巻 22(23)
2. 論文標題 Detection of CpG Methylation in G-Quadruplex Forming Sequences Using G-Quadruplex Ligands.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 13159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222313159.	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 Safitri, F., Tu, A., Hoshi, K., Shobo, M., Zhao, D., Witarto, A., Sumarsono, S., Giri-Rachman, E., Tsukakoshi, K., Ikebukuro, K., and Yamazaki, T.	4. 巻 11(11)
2. 論文標題 Enhancement of the Immunostimulatory Effect of Phosphodiester CpG Oligodeoxynucleotides by an Antiparal-1el Guanine-Quadruplex Structural Scaffold.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors (Basel)	6. 最初と最後の頁 1617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11111617.	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 *Tsukakoshi, K., *Yamagishi, Y. (*co-first author), Kanazashi, M., Nakama, K., Oshikawa, D., Savory, N., Matsugami, A., Hayashi, F., Lee, J., Saito, T., Sode, K., Khunathai, K., Kuno, H. & Ikebukuro, K.	4. 巻 49
2. 論文標題 G-quadruplex-forming aptamer enhances the peroxidase activity of myoglobin against luminol.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res	6. 最初と最後の頁 6069-6081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkab388.	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 Lee J, Teramoto K, Yokoyama T, Ueno K, Tsukakoshi K, Sode K, Ikebukuro K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Data on G-quadruplex topology, and binding ability of G-quadruplex forming sequences found in the promoter region of biomarker proteins and those relations to the presence of nuclear localization signal in the proteins.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Data Brief	6. 最初と最後の頁 107028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dib.2021.107028	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 Nishio M, Tsukakoshi K, Ikebukuro K	4. 巻 178
2. 論文標題 G-quadruplex: Flexible conformational changes by cations, pH, crowding and its applications to biosensing.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosens Bioelectron	6. 最初と最後の頁 113030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2021.113030	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 Shono C, Ariyanti D, Abe K, Sakai Y, Sakamoto I, Tsukakoshi K, Sode K, Ikebukuro K.	4. 巻 23(1)
2. 論文標題 A Green Light-Regulated T7 RNA Polymerase Gene Expression System for Cyanobacteria.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mar Biotechnol (NY)	6. 最初と最後の頁 31-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10126-020-09997-w	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 Lee J, Tatsumi A, Tsukakoshi K, Wilson ED, Abe K, Sode K, Ikebukuro K.	4. 巻 20(14)
2. 論文標題 Application of a Glucose Dehydrogenase-Fused with Zinc Finger Protein to Label DNA Aptamers for the Electrochemical Detection of VEGF	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors (Basel)	6. 最初と最後の頁 3878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s20143878	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 Tanifuji, Ryo; Tsukakoshi, Kaori; Ikebukuro, Kazunori; Oikawa, Hideaki; Oguri, Hiroki	4. 巻 29 (14)
2. 論文標題 Generation of C5-desoxy analogs of tetrahydroisoquinoline alkaloids exhibiting potent DNA alkylating ability	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & medicinal chemistry letters	6. 最初と最後の頁 1807-1811
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.05.009	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 Nozaki, Ryo; Ikuta, Takashi; Ueno, Kinuko; Tsukakoshi, Kaori; Ikebukuro, Kazunori; Maehashi, Kenzo	4. 巻 6
2. 論文標題 Ethanol Detection at the Parts per Billion Level with Single Stranded DNA Modified Graphene Field Effect Transistors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 physica status solidi (b)	6. 最初と最後の頁 1900376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pssb.201900376	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 Hoshi, Kazuaki; Yamazaki, Tomohiko; Sugiyama, Yuuki; Tsukakoshi, Kaori; Tsugawa, Wakako; Sode, Koji; Ikebukuro, Kazunori	4. 巻 29 (4)
2. 論文標題 G-Quadruplex Structure Improves the Immunostimulatory Effects of CpG Oligonucleotides	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nucleic acid therapeutics	6. 最初と最後の頁 224-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/nat.2018.0761	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38件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Daimei Miura, Wakana Hayashi, Kensuke Hirano, Ikkei Sasaki, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Koji Sode, Kazunori Ikebukuro, and Ryutaro Asano
2. 発表標題 Rapid and convenient viral detection based on sequential enzymatic reactions induced by antibody-enzyme complex and aptamer binding
3. 学会等名 Active Enzyme Molecule 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	Erika Komiya, Shouhei Takamatsu, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Koji Sode, Kazunori Ikebukuro, and Ryutaro Asano
2. 発表標題	Exploration and application of DNA binding proteins as versatile tool for fabrication of biosensing elements
3. 学会等名	Active Enzyme Molecule 2022 (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Hatsune Tanaka, Yusuke Kadoguchi, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題	Screening of aptamers specifically bind to various pollens
3. 学会等名	The 49th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Shintaro Inaba, Yudai Kitagawa, Kiwako Watanabe, Hijiri Hasegawa, Shusuke Numata, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題	Detection of CpG methylation based on structural change of G-quadruplex forming DNA oligonucleotide and its binding to heme protein
3. 学会等名	The 49th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Kaori Tsukakoshi, Jo Kamada, Toshiya Ibaraki, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題	Proximity ligation assay using amyloid oligomer-binding aptamer with antibody indicates A ₁₋₄₂ and A _{3pE-42} oligomer formation in brain
3. 学会等名	The 49th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 Kazunori Ikebukuro, Taro Saito, Yutaka Shimizu, Kaori Tsukakoshi, Ryutaro Asano, Tomohiro Yamada, Tatsuki Nakano, Kodai Hara, Hitoshi Hashimoto, Kenichiro Todoroki
2. 発表標題 Anti-idiotypic aptamer against Bevacizumab and its affinity change depending on pH
3. 学会等名 The 49th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤星, 塚越かおり, 池袋一典
2. 発表標題 ループ改変による シヌクレインオリゴマー結合アプタマーの改良
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塚越かおり, 茨木利哉, 鎌田晟, 池袋一典
2. 発表標題 アプタマー・抗体を用いたProximity ligation assayによる脳内A β オリゴマーの検出
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 塚越 かおり, 小林 俊一, 守屋 里紗, 仲 和奏, 池袋 一典
2. 発表標題 タンパク質機能を制御するDNAアプタマーの開発: 「アプタマー生物学」の創成へ
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Satoko Suzuki, Taiji Oyama, Akari Sato, Anh Thi Tram Tu, Yasuo Horiguchi, Koushi Nagamori, Tomohiko Yamazaki, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Development of functional oligonucleotides forming G-quadruplex structure by using topological structure evaluation based on CD spectrum analysis combined with principal component analysis
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第6回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山崎智彦, TU Thi Tram Anh, 星和明、Fika Ayu Safitri, 塚越かおり、池袋一典
2. 発表標題 グアニン四重鎖構造を用いたDNAアジュバントの開発
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第6回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayaka Sone, Hatsune Tanaka, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of the aptamer binding to the target molecule in the mist using quartz crystal units for detection of virus in the air
3. 学会等名 2021年電気化学秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinataro INABA, Yudai Kitagawa, Shiori Saito, Kaori Tsukakoshi, Wakako Tsugawa, Ryutaro Asano, Shunsuke Numata, Hijiri Hasegawa, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of the structural effects of CpG methylation on the dopamine receptor gene(DRD2)
3. 学会等名 2021年電気化学秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wakana HAYASHI, Kaori TSUKAKOSHI, Kazunori IKEBUKURO
2. 発表標題 Analysis of inosine introduced aptamer against SARS-CoV-2 S1 protein RBD
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 Yutaka Shimizu, Lisa Moriya, Taro Saito, Kaori Tsukakoshi, Koichi Abe, Jinhee Lee, Kinuko Ueno, Ryutaro Asano, Brian V. Jones, Tomohiro Yamada, Tatsuki Nakano, Jiaxing Tong, Asami Hishiki, Kodai Hara, Hiroshi Hashimoto, Koji Sode, Toshimasa Toyo'oka, Kenichiro Todoroki, and Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Specific detection of a therapeutic antibody using an anti-idiotypic DNA aptamer and drastic improvement of its affinity by pH optimization
3. 学会等名 BIOSENSORS 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Yasuko Yamagishi, Mana Kanazashi, Kenta Nakama, Daiki Oshikawa, Nasa Savory, Akimasa Matsugami, Fumiaki Hayashi, Jinhee Lee, Taiki Saito, Koji Sode, Kanjana Khunathai, Hitoshi Kuno, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Aptameric enzyme subunit enhances the peroxidase activity of myoglobin against luminol
3. 学会等名 ISNAC2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kinuko UENO, Kaori TSUKAKOSHI, Alessandro PORCHETTA, Francesco RICCI, Kazunori IKEBUKURO
2. 発表標題 Improvement of fluorescent aptamer focusing on its G-quadruplex and design of pH-sensitive Baby Spinach aptamer
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 Toshisuke Kaku, Rikako Kubo, Kaori Tsukakoshi, Tomoaki Murakami, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of structural features of κ -S1-casein detected from amyloid deposits in canine mammary tumor
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 塚越 かわり、久保 梨夏子、池袋 一典
2. 発表標題 病態生理学的知見に基づいた毒性アミロイド オリゴマー識別リガンドの開発
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 塚越 かわり、沼口 友理、清水 啓佑、川野 竜司、池袋 一典
2. 発表標題 チャンネル電流計測法を用いた脂質膜上におけるA β のポア構造形成過程の解析
3. 学会等名 第39回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 塚越 かわり、鎌田 晟、鈴木 仁子、堀口 靖夫、永森 浩司、池袋 一典
2. 発表標題 円二色性スペクトル解析に基づく シヌクレインオリゴマー結合アプタマーの構造活性評価
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 智亮, 郭 俊佑, 久保 梨夏子, 塚越 かわり, 佐々 悠木子, 亀谷 富由樹
2. 発表標題 イヌの乳腺腫瘍随伴アミロイドーシスにおける前駆タンパク同定の試み(続報)
3. 学会等名 第七回日本アミロイドーシス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚越 かわり, 鎌田 晟, 鈴木 仁子, 堀口 靖夫, 永森 浩司, 池袋 一典
2. 発表標題 円二色性スペクトル解析に基づく シヌクレインオリゴマー結合アプタマーの構造活性評価
3. 学会等名 日本核酸医薬学会第5回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 智亮, 郭 俊佑, 久保 梨夏子, 塚越 かわり, 佐々 悠木子, 亀谷 富由樹
2. 発表標題 イヌの乳腺腫瘍随伴アミロイドーシスにおける前駆タンパク同定の試み(続報)
3. 学会等名 第七回日本アミロイドーシス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中間健太, 山岸恭子, 金指真菜, 久野齊, 塚越かわり, 池袋一典
2. 発表標題 ミオグロビン結合アプタマーによる, ミオグロビンのペルオキシダーゼ活性の増強
3. 学会等名 2019年電気化学秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水裕, 齊藤太郎, 塚越かおり, 山田 朋宏, 轟木 堅一郎, 池袋 一典
2. 発表標題 DNAアプタマーを用いたBevacizumabの検出法の開発
3. 学会等名 2019年電気化学秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 押川 大起, 塚越 かおり, 池袋 一典
2. 発表標題 プロモーター領域に存在する i-motif の安定性に CpG のメチル化が与える効果
3. 学会等名 第13回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上野 絹子, 塚越 かおり, Porchetta Alessandro, Ricci Francesco, 池袋 一典
2. 発表標題 蛍光発光アプタマーに対する三重鎖形成配列の付加による蛍光強度の増強
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Yuri Ikuta, Kaoru Konda, Ikkei Sasaki, Kazuo Nagasawa, Yoshio Kato, Chikashi Nakamura, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Ligand-based functional improvement of G-quadruplex- forming DNA aptamers
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kinuko Ueno, Kaori Tsukakoshi, Alessandro Porchetta, Francesco Ricci, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Improvement and design of pH-sensitive Baby Spinach aptamer by fusing triplex forming sequence
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yutaka Shimizu, Kaori Tsukakoshi, Ryutaro Asano, Tatsuki Nakano, Jiaying Tong, Asami Hishiki, Kodai Hara, Hiroshi Hashimoto, Toshimasa Toyooka, Kenichiro Todoroki, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Improvement in binding property of the anti-idiotypic aptamer against bevacizumab based on structural information
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ikkei Sasaki, Maui Nishio, Kaori Tsukakoshi, Yue Ma, Kazuo Nagasawa, Ayana Yamagishi, Yoshio Kato, Chikashi Nakamura, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Effects of cation and G-quadruplex(G4) ligands on topology and binding ability of Cas9-binding aptamer
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kaori Tsukakoshi, Mana Kanazashi, Kenta Nakama, Akimasa Matsugami, Fumiaki Hayashi, Kanjana Khunathai, Hitoshi Kuno, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Enhancement of peroxidase activity of myoglobin by parallel G-quadruplex forming aptamer
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoko Suzuki, Kaori Tsukakoshi, Taiji Oyama, Yasuo Horiguchi, Koushi Nagamori, and Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Topological structure evaluation of G-quadruplexes using high-throughput CD system
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daiki Oshikawa, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Evaluation of the effect of CpG methylation on i-motif structure located in the CpG islands
3. 学会等名 ISNAC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 郭 俊佑, 塚越 かおり, 池袋 一典
2. 発表標題 A 線維の脱凝集によるA オリゴマー形成の検討
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久保 梨夏子, 塚越 かおり, 李 鎮熙, 早出 広司, 池袋 一典
2. 発表標題 A オリゴマーの検出に向けたアルカリホスファターゼ融合プリオンタンパク質の開発
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚越かおり, 鎌田晟, 細井千尋, 池袋一典
2. 発表標題 アプタマーを用いたA オリゴマーの組織染色法の検討
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 「核酸アプタマー、ヒト間葉系幹細胞吸着剤、ヒト間葉系幹細胞の分離方法、ヒト間葉系幹細胞の検出方法」	発明者 池袋一典、三村かおり(結婚のため改姓)、西尾真初	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2019-146751	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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------