

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06574

研究課題名(和文) スピン脱塩カラムと二次元NMRによる変性蛋白質残存構造の解析

研究課題名(英文) Residual Structures of Denatured Proteins Studied by Two-Dimensional NMR Using a Spin-Desalting Column

研究代表者

桑島 邦博 (Kuwajima, Kunihiro)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・名誉教授

研究者番号：70091444

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)：高濃度変性剤中の蛋白質の残存構造解析は、蛋白質のフォールディング研究にとって重要である。本研究では、ユビキチンとBDPA(黄ブ菌Protein AのBドメイン)を対象として、6 M GdmCl(塩化グアニジニウム)中におけるペプチドNH基の水素/重水素(H/D)交換反応を、スピン脱塩カラムと二次元NMR法を用いて解析した。その結果、いずれの蛋白質においても、6 M GdmCl中で構造はランダムコイル状ではなく、水素結合を伴った残存構造の存在することがわかった。残存構造は、天然構造中で安定な二次構造領域に存在し、蛋白質フォールディング反応の初期構造形成に重要な役割を果たしていると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

蛋白質フォールディング機構の研究は、蛋白質の間違ったフォールディングによって引き起こされる、ヒトの様々なフォールディング病(アルツハイマー病、白内障、クロイツフェルト・ヤコブ病、パーキンソン病、II型糖尿病など多数)などの原因解明や治療法の構築の応用研究に役立つと期待される、基盤的な研究である。最近の研究では、高濃度変性剤中では蛋白質は完全なランダムコイル状態ではなく残存構造のあることを示唆する例がいくつか報告されているが、残存構造をアミノ酸残基レベルで詳細に明らかにして例はない。本研究の結果、残存構造の詳細が明らかとなり、蛋白質フォールディング機構の解明に大きく寄与すると期待される。

研究成果の概要(英文)：Analysis of residual structures of proteins in high concentrations of a denaturant is an important issue for protein folding studies. In this study, the hydrogen/deuterium (H/D) exchange reactions of peptide NH groups in 6 M GdmCl (guanidinium chloride) were analyzed for ubiquitin and BDPA (the B domain of staphylococcal protein A) using spin desalting columns and two-dimensional NMR techniques. The results showed that in 6 M GdmCl, the structures of both proteins were not randomly coiled, but there were residual structures with hydrogen bonds. The residual structure is present in the stable secondary structure region in the native structures, and hence they are expected to play an important role in the initial structure formation in the protein folding reaction.

研究分野：生物物理学

キーワード：蛋白質フォールディング 水素/重水素交換 二次元NMR 変性状態 残存構造

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 蛋白質のフォールディング問題は、人工蛋白質の *de novo* 設計やアルツハイマー病などのフォールディング病治療法開発にも関係した生物物理学における基本的な問題である。

(2) 6 M GdmCl や 8 M 尿素などの高濃度変性剤中では、球状蛋白質は天然立体構造の痕跡を失い、ランダムコイル状態にあると考えられてきた[3, 4]。これは、Anfinsen の熱力学仮説[5] や Levinthal のパラドックス[6]などにおいて示されるように、蛋白質フォールディング研究の大前提であった。

(3) より最近の研究では、高濃度変性剤中でアンフォールディングした蛋白質中に残存構造の存在を示す例が報告されているが、残存構造の詳細について、アミノ酸残基レベルで網羅的に調べた例は報告されていない。

(4) われわれが開発したスピン脱塩カラム利用 DMSO (ジメチルスルホキシド) 停止 H/D 交換 2D NMR 法は[7]、高濃度変性剤中でアンフォールディングした蛋白質の H/D 交換反応解析に特に有効であると考えられるので、本研究を実施することとなった。

### 2. 研究の目的

(1) 立体構造クラス異なる二つの蛋白質、ヒト・ユビキチン(76 残基の  $\alpha+\beta$  型蛋白質)と BDPA (60 残基の全  $\alpha$  型蛋白質)、を対象として、6 M GdmCl 中における各蛋白質の残存構造をスピン脱塩カラム利用 DMSO 停止 H/D 交換 2D NMR 法を用いて調べる。

(3) 以上より、アンフォールディングした状態の残存構造とフォールディング反応の初期構造との関係を明らかにし、蛋白質フォールディングの分子機構解明に寄与する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料

D<sub>2</sub>O, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 重水素化ジクロロ酢酸 (DCA-*d*<sub>2</sub>), その他の化学試薬は全て市販品を用いた。ユビキチンと BDPA, および、これらの <sup>15</sup>N 標識体と <sup>13</sup>C/<sup>15</sup>N 二重標識体は大腸菌 BL21(DE3)株中に発現し、先行研究[7]に従って抽出精製した。

#### (2) DMSO 停止 H/D 交換法

6 M GdmCl 中の 3 mM の <sup>15</sup>N 標識蛋白質を 6 M 重水素化 GdmCl の重水溶液中に 10 倍希釈して H/D 交換反応を開始した。反応液の温度は 15.0°C, pH\* は 3.3-3.4 に調整した (pH\* は pH メータの読みを示す)。所定の交換時間 (*t*) 時に H/D 交換反応液 1.0 mL を分取し、液体窒素中で反応停止させた。凍結反応停止液は NMR 測定まで -80°C のフリーザー中に保存した。NMR 測定に当たっては、まず凍結反応液を 7°C の恒温槽中で融解後、スピン脱塩カラム (Zeba Spin Desalting Column 89891) と 20°C に設定された遠心機を用いて、蛋白質溶液の溶媒 (6 M GdmCl-90% D<sub>2</sub>O/10% H<sub>2</sub>O) を DMSO 反応停止液 (94.5% DMSO-*d*<sub>6</sub>/0.5% DCA-*d*<sub>2</sub>/5% D<sub>2</sub>O, pH\* 5.4) に交換し、蛋白質の H/D 交換反応の進行を抑えた。DMSO 反応停止液中の蛋白質の 2D 異核単量子相関 (HSQC) NMR スペクトルを測定し、各 NH 基のクロスピークの強度より、各 NH 基の H/D 交換反応曲線を得ることができる[7, 8]。このようにして、H/D 交換反応時間 *t* の関数として得られた反応曲線 *Y(t)* は、次式のように単一指数関数で表すことができた。

$$Y(t) = \Delta Y \cdot e^{-k_{\text{obs}}t} + Y(\infty) \quad (1)$$

ここで、 $\Delta Y$  は速度論的振幅、 $k_{\text{obs}}$  は観測された H/D 交換反応速度定数、 $Y(\infty)$  はピーク強度の最終値を示す。

#### (3) NMR 測定

NMR スペクトルの測定は、自然科学研究機構・生命創成探究センターに所蔵の Bruker AVANCE-800NMR 分光器を用いて行った。

#### (5) 蛋白質の H/D 交換反応機構と保護因子 (*P*)

蛋白質中の NH 基の H/D 交換反応速度は、その NH 基の構造開口 (structural opening) 反応と、NH 基固有の化学交換速度定数  $k_{\text{int}}$  によって決定され、次式で表される[9]。



$k_{\text{int}}$  は蛋白質のアミノ酸配列から求めることができる[10]。ここで、 $\text{NH}_{\text{cl}}$  と  $\text{NH}_{\text{op}}$  は NH 基の閉じた (closed) 状態と開いた (open) 状態を示しており、ND は H/D 交換後のペプチド・アミド基を示す。また、 $k_{\text{op}}$  と  $k_{\text{cl}}$  は開口 (opening) と閉環 (closing) の速度定数である。従って、定常状態が成立する場合には、観測される H/D 交換速度定数  $k_{\text{obs}}$  は次式で与えられる。

$$k_{\text{obs}} = \left( \frac{k_{\text{op}}}{k_{\text{op}} + k_{\text{cl}} + k_{\text{int}}} \right) \cdot k_{\text{int}} \quad (3)$$

保護因子  $P$  は  $k_{\text{int}}$  と  $k_{\text{obs}}$  の比として次式で与えられ、H/D 交換に対する NH 基保護の程度を表す。

$$P = \frac{k_{\text{int}}}{k_{\text{obs}}} \quad (4)$$

完全に溶媒に露出している NH 基に対しては  $P = 1$  である ( $k_{\text{op}} \gg k_{\text{cl}} + k_{\text{int}}$ )。天然条件下にある多くの球状蛋白質では、分子内部で安定に保護されている NH 基の H/D 交換反応は、蛋白質分子全体のアンフォールディングによってもたらされ、このとき、 $P$  値は  $10^6$ – $10^9$  にも及ぶことが多い。

#### 4. 研究成果

##### (1) ユビキチン

ユビキチンは 76 残基の  $\alpha+\beta$  型蛋白質であり、平行逆平行混合  $\beta$  シートが一本の  $\alpha$  ヘリックスを包んで疎水性コアを形成している (図 1)。ユビキチンは蛋白質フォールディング研究の典型的なモデル蛋白質であり、そのフォールディング反応は様々な生物物理学的手法を用いて調べられている[11-15]。これらの研究結果を本研究の成果と比較することにより、ユビキチンのフォールディング機構に関して有用な情報が得られると期待される。

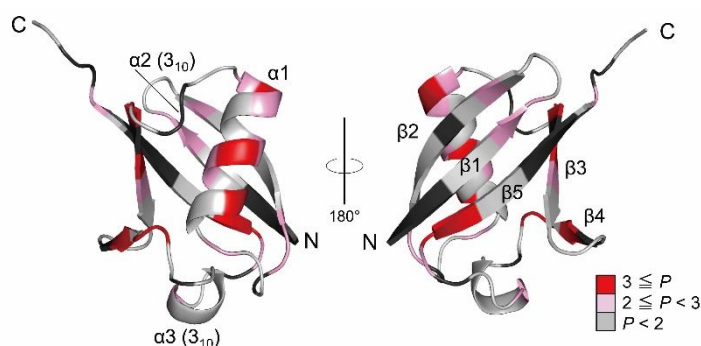


図 1：天然状態ユビキチンの 3D 構造 (PDB コード：1UBQ)。各残基は 6 M GdmCl 中の各 NH 基の  $P$  値に従って色づけしてある。三個のプロリン残基と  $P$  値が求められなかった残基は黒で示されている (文献[1]より引用)。

H/D 交換速度過程に関わる個々の NH 基を同定するために、DMSO 溶液中のユビキチンの NMR シグナルの帰属を行った、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$  二重標識ユビキチンの 3D スペクトルの組み合わせにより、 $^{15}\text{N}$  標識蛋白質の HSQC スペクトルの全てのペプチド NH 基シグナルを同定することができた [1]。 $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  HSQC スペクトルの主鎖 NH シグナル帰属をもとに、個々の NH 基の H/D 交換速度過程を調べた。72 個ある NH 基の内、60 個の NH 基の H/D 交換反応曲線を得ることができた。これら全ての NH 基に対して交換反応曲線は単一指数関数 (式(1)) で表すことができ、式(4)に従って各残基の  $P$  値を求めた。このようにして得られた  $P$  値のプロフィールが図 2 に示されており、 $P$  値がユビキチンの残基番号に対してプロットされている。

図 2 より、NH 基の多くは  $0.8 < P < 2$  の  $P$  値を持っており、これらの NH 基は、6 M GdmCl 中では、ほぼ完全に溶媒に露出していることがわかる、これは、6 M GdmCl 中では、ユビキチンはほぼ完全にアンフォールディングしているとする過去の報告と一致する[12]。しかし、Asn25, Ala28, Lys33, Gln40, Arg42, Gln49, Glu51, Asp52, Glu64, Ser65 の 10 個の NH 基は  $P$  値が 3 よりも大きく、また、Lys6, Thr7, Lys11, Val17, Glu18, Thr22, Lys27, Lys29, Asp32, Glu34, Leu43, Tyr59, Lys63, Arg72 の 14 残基の  $P$  値は 2 と 3 の間にある。これらの結果は、明らかにユビキチンの残存構造の存在を示している。蛋白質は 6 M GdmCl 中でアンフォールディングしているので、これらの残基の  $P$  値は NH 基とその受容体となる基との間の水素結合形成によってもたらされたと考えられる。

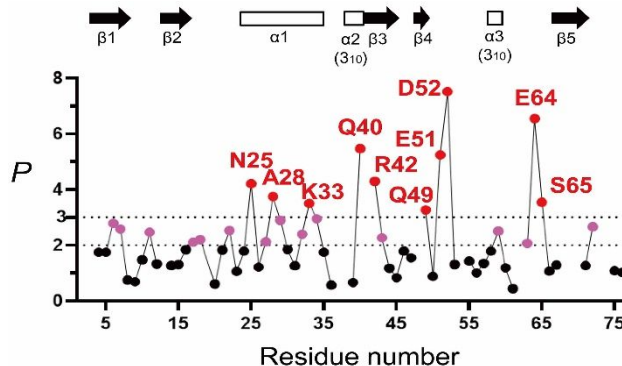


図2：6 M GdmCl 中でアンフォールディングしたユビキチンの H/D 交換  $P$  値プロフィール (pH\* 3.3, 15.0°C)。破線は  $P$  値 2 と 3 を示す。 $P$  値が 2 より大きな残基はマゼンタ、3 より大きな残基は赤で示し、それ以外の残基は黒で示してある。天然構造中の二次構造の位置が、矢印 ( ストランド) と白四角 (ヘリックス) で示されている。大部分の NH 基の  $k_{\text{obs}}$  は独立な三回の H/D 交換実験に求められ、 $k_{\text{obs}}$  の標準誤差は 8% 程度と推定される (文献[1]より引用)。

もし H/D 交換からの保護が NH 基と特定の受容体基との間の水素結合形成によりもたらされたとするならば、そのようにして保護された NH 基の水素結合形成の割合 ( $f_{\text{Hbond}}$ ) を推定することができる。水素結合を形成していない NH 基のみが H/D 交換可能なので、 $(1 - f_{\text{Hbond}})$  は  $k_{\text{obs}}/k_{\text{int}}$  ( $= 1/P$ ) に等しいことになる。従って、次式が得られる。

$$f_{\text{Hbond}} = 1 - \frac{1}{P} \quad (5)$$

式(7)より、 $P$  値が 3 以上ならば  $f_{\text{Hbond}}$  は 0.67 以上、 $P$  値が 2 以上ならば  $f_{\text{Hbond}}$  は 0.50 以上となる。このような水素結合の破壊に必要な自由エネルギーは、わずか 0.41 kcal/mol と見積もられるので、これは、天然条件下での蛋白質のアンフォールディングに必要な自由エネルギー (ユビキチンに対しては 7.5 kcal/mol) に比べると無視できるほど小さい。しかし、 $f_{\text{Hbond}}$  が 0.5 より大きいということは、フォールディングの速度過程を考えたときに無視することはできない。これらの弱く保護された残基は、GdmCl によりアンフォールディングした状態 (U 状態) からの巻戻り初期過程でフォールディング開始部位を形成する重要な役割を果たしていると考えられる。

## (2) BDPA

構造クラス異なる蛋白質においても、ユビキチンにおいて見られたと同様の U 状態における残存構造が観測されるのかを明らかにするため、全 型蛋白質 BDPA の 6 M GdmCl 中における残存構造を、先と同様に調べた。BDPA は、Protein A 内で直列に繋がった 5 個の免疫グロブリン結合ドメインの三番目であり、三重ヘリックス束構造を持つ (図 3) [16]。BDPA は蛋白質フォールディングのモデル蛋白質としても多くの研究がなされている。BDPA のフォールディングに関する、従来の多くの研究は、BDPA には安定なフォールディング中間体は存在せず、そのフォールディングは U 状態から直接 N 状態へと行く簡単な二状態転移で表されると考えられてきた [17-20]。しかし、より最近のレーザー誘起温度ジャンプを用いた研究では、ヘリックス構造を持ったフォールディング中間体が約 100 ns の時定数で形成されることが報告されている [21, 22]。

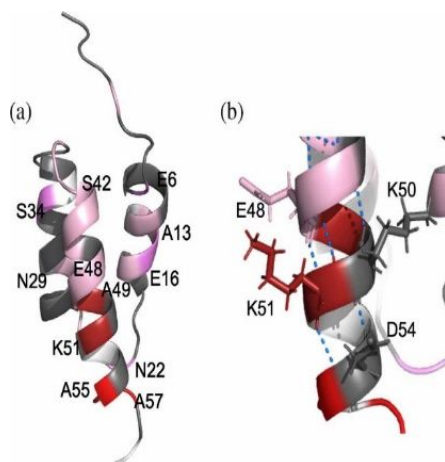


図3：BDPA の三次元構造 (PDB コード：1BDD)。残基の  $P$  値が構造上にマップされており、 $P$  値が 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 より大きい残基が、それぞれ、薄マゼンタ、マゼンタ、赤、濃赤で示されている。(a) BDPA の全体構造、(b) H3 ヘリックス領域の拡大図。水素結合は青破線で示されている (文献[2]より引用)。

BDPA の 59 個の NH 基の全てのシグナルを帰属し、その内 29 個の NH 基について、6 M GdmCl 中の H/D 交換反応を、DMSO 停止 H/D 交換 2D NMR により追跡することができた。観測された、全ての H/D 交換反応は単一指数関数 (式(1)) で表された。得られた  $k_{\text{obs}}$  から式(4)を用いて各 NH 基の保護因子  $P$  を求めた。このようにして得られた BDPA の保護因子プロフィールを得から、6.0 M GdmCl 中でアンフォールディングした BDPA はランダムコイル状ではなく、NH 基を H/D 交換から保護する残存構造を有し、特に H3 ヘリックスの残存構造は安定であることがわかった。

### (3) まとめ

本研究は、高濃度の変性剤 (GdmCl) 中でアンフォールディングした蛋白質中の残存構造をアミノ酸残基レベルの分解能で網羅的に調べた初めての例である。スピン脱塩カラムを利用した DMSO 停止 H/D 交換 2D NMR 法は、U 状態の残存構造を調べることのできる大変有効な実験手法である。本研究の結果より、高濃度変性剤中の U 状態はランダムコイル状ではなく天然構造形成に繋がる残存構造を有していることが明らかとなった。これは、蛋白質フォールディング研究の従来の大前提を覆す大きな成果である。特に、二状態蛋白質の代表と見なされてきた BDPA においても、同様の残存構造が存在することを示すことができたのは、特筆すべきである。現在、多くの蛋白質フォールディング研究者は、100 残基以下の小さな球状蛋白質は U と N 間の二状態転移を示すものが多く、フォールディング中間体は観測されないと考えている。これら二状態蛋白質と見なされている多くの蛋白質に対して、本研究と同様の手法で U 状態中の残存構造を見出すことができれば、蛋白質フォールディング機構に関する描像を大きく変えることになるかもしれない。

### 参考文献

1. Yagi-Utsumi, M., Chandak, M. S., Yanaka, S., Hiranyakorn, M., Nakamura, T., Kato, K. & Kuwajima, K. (2020). Residual structure of unfolded ubiquitin as revealed by hydrogen/deuterium-exchange 2D NMR. *Biophys. J.* **119**, 2029-2038. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2020.10.003>.
2. Yanaka, S., Yagi-Utsumi, M., Kato, K. & Kuwajima, K. (2023). The B domain of protein A retains residual structures in 6 M guanidinium chloride as revealed by hydrogen/deuterium-exchange NMR spectroscopy. *Protein Sci.* **32**, e4569. <https://doi.org/10.1002/pro.4569>.
3. Tanford, C. (1968). Protein denaturation. *Adv. Protein Chem.* **23**, 121-282.
4. Tanford, C. (1970). Protein denaturation. Part C. Theoretical models for the mechanism of denaturation. *Adv. Protein Chem.* **24**, 1-95.
5. Anfinsen, C. B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. *Science.* **181**, 223-230.
6. Levinthal, C. (1968). Are there pathways for protein folding? *J. Chim. Phys.* **65**, 44-45.
7. Chandak, M. S., Nakamura, T., Takenaka, T., Chaudhuri, T. K., Yagi-Utsumi, M., Chen, J., Kato, K. & Kuwajima, K. (2013). The use of spin desalting columns in DMSO-quenched H/D-exchange NMR experiments. *Protein Sci.* **22**, 486-491.
8. Kuwajima, K., Yagi-Utsumi, M., Yanaka, S. & Kato, K. (2022). DMSO-Quenched H/D-Exchange 2D NMR Spectroscopy and Its Applications in Protein Science. *Molecules.* **27**. <https://doi.org/10.3390/molecules27123748>.
9. Hvidt, A. & Nielsen, S. O. (1966). Hydrogen exchange in proteins. *Adv. Protein Chem.* **21**, 287-386. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60129-1](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60129-1).
10. Bai, Y., Milne, J. S., Mayne, L. & Englander, S. W. (1993). Primary structure effects on peptide group hydrogen exchange. *Proteins.* **17**, 75-86.
11. Briggs, M. S. & Roder, H. (1992). Early hydrogen-bonding events in the folding reaction of ubiquitin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**, 2017-2021.
12. Khorasanizadeh, S., Peters, I. D., Butt, T. R. & Roder, H. (1993). Folding and stability of a tryptophan-containing mutant of ubiquitin. *Biochemistry.* **32**, 7054-7063.
13. Khorasanizadeh, S., Peters, I. D. & Roder, H. (1996). Evidence for a three-state model of protein folding from kinetic analysis of ubiquitin variants with altered core residues. *Nat. Struct. Biol.* **3**, 193-205.
14. Went, H. M. & Jackson, S. E. (2005). Ubiquitin folds through a highly polarized transition state. *Protein Eng. Des. Sel.* **18**, 229-237.
15. Roder, H., Maki, K. & Cheng, H. (2006). Early events in protein folding explored by rapid mixing methods. *Chem. Rev.* **106**, 1836-1861.
16. Gouda, H., Torigoe, H., Saito, A., Sato, M., Arata, Y. & Shimada, I. (1992). Three-dimensional solution structure of the B domain of staphylococcal protein A: comparisons of the solution and crystal structures. *Biochemistry.* **31**, 9665-9672. <https://doi.org/10.1021/bi00155a020>.
17. Bai, Y., Karimi, A., Dyson, H. J. & Wright, P. E. (1997). Absence of a stable intermediate on the folding pathway of protein A. *Protein Sci.* **6**, 1449-1457. <https://doi.org/10.1002/pro.5560060709>.
18. Myers, J. K. & Oas, T. G. (2001). Preorganized secondary structure as an important determinant of fast protein folding. *Nat. Struct. Biol.* **8**, 552-558.
19. Sato, S., Religa, T. L., Daggett, V. & Fersht, A. R. (2004). Testing protein-folding simulations by experiment: B domain of protein A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 6952-6956.
20. Huang, F., Lerner, E., Sato, S., Amir, D., Haas, E. & Fersht, A. R. (2009). Time-resolved fluorescence resonance energy transfer study shows a compact denatured state of the B domain of protein A. *Biochemistry.* **48**, 3468-3476. <https://doi.org/10.1021/bi801890w>.
21. Vu, D. M., Myers, J. K., Oas, T. G. & Dyer, R. B. (2004). Probing the Folding and Unfolding Dynamics of Secondary and Tertiary Structures in a Three-Helix Bundle Protein. *Biochemistry.* **43**, 3582-3589.
22. Davis, C. M., Cooper, A. K. & Dyer, R. B. (2015). Fast helix formation in the B domain of protein A revealed by site-specific infrared probes. *Biochemistry.* **54**, 1758-1766. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.5b00037>.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Yanaka Saeko, Yagi Utsumi Maho, Kato Koichi, Kuwajima Kunihiro	4. 巻 32
2. 論文標題 The B domain of protein A retains residual structures in 6 M guanidinium chloride as revealed by hydrogen/deuterium exchange NMR spectroscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Protein Science	6. 最初と最後の頁 4569 (15 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.4569	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 Kuwajima Kunihiro, Yagi-Utsumi Maho, Yanaka Saeko, Kato Koichi	4. 巻 27
2. 論文標題 DMSO-Quenched H/D-Exchange 2D NMR Spectroscopy and Its Applications in Protein Science	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3748 (17 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27123748	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 Yagi-Utsumi Maho, Chandak Mahesh S., Yanaka Saeko, Hiranyakorn Methanee, Nakamura Takashi, Kato Koichi, Kuwajima Kunihiro	4. 巻 119
2. 論文標題 Residual Structure of Unfolded Ubiquitin as Revealed by Hydrogen/Deuterium-Exchange 2D NMR	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2029 ~ 2038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2020.10.003	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

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 5件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kunihiro Kuwajima
2. 発表標題 The molecular mechanisms of protein folding: Analysis of PFDB
3. 学会等名 The 9th Korean-Polish Conference on Protein Folding (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Kunihiro Kuwajima
2. 発表標題 The DMSO-quenched H/D-Exchange 2D NMR Spectroscopy and Its Applications in Protein Science
3. 学会等名 The 8th Polish-Korean Conference on Protein Folding (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kunihiro Kuwajima
2. 発表標題 The molecular mechanisms of protein folding
3. 学会等名 The 21st KIAS Conference on Protein Structure and Function (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Saeko Yanaka, Maho Yagi-Utsumi, Koichi Kato, and Kunihiro Kuwajima
2. 発表標題 The B domain of Protein A Retains Residual Structures in 6 M Guanidium Chloride as Revealed by Hydrogen/Deuterium-Exchange NMR Spectroscopy
3. 学会等名 The 20th KIAS Conference on Protein Structure and Function (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kunihiro Kuwajima, Saeko Yanaka, Maho Yagi-Utsumi, and Koichi Kato
2. 発表標題 Residual structures in the unfolded state of a three-helix bundle protein in 6 M guanidinium chloride studied by H/D-exchange 2D NMR
3. 学会等名 第60回 日本生物物理学会年会 (函館)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桑島 邦博, 矢木-内海 真穂, 谷中 冴子, 加藤 晃一
2. 発表標題 The H/D-exchange kinetics of unfolded ubiquitin in 6 M GdmCl studied by the DMSO-quenched 2D NMR techniques
3. 学会等名 第58回 日本生物物理学会年会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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 分担 者	加藤 晃一  (Kato Koichi)	大学共同利用機関法人自然科学研究機構 (機構直轄研究施設)・生命創成探究センター・教授	2D NMRスペクトル測定と解析
	(20211849)	(82675)	

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