

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 17日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22310127

研究課題名(和文) 無細胞プロテインアレイを用いたカスパーゼ依存シグナル伝達経路の網羅的同定

研究課題名(英文) Comprehensive identification of caspase-dependent signal transduction pathway using cell-free protein array

研究代表者

澤崎 達也 (SAWASAKI TATSUYA)

愛媛大学・無細胞生命科学工学研究センター・教授

研究者番号：50314969

研究成果の概要(和文)：コムギ無細胞タンパク質合成システムにより構築した無細胞プロテインアレイを用いて、カスパーゼ3に切断されるプロテインキナーゼの網羅的なスクリーニングを行い、新規に30種類の基質プロテインキナーゼを見出した。切断部位の多くは、N末もしくはC末側のタンパク質の調節領域に位置していた。実際、いくつかの基質の個別解析により、カスパーゼ3の切断はタンパク質機能を調整していることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Using a cell-free protein array constructed by a wheat cell-free protein synthesis system, comprehensive screening of caspase-3-cleaved protein kinases was carried out. Newly 30 protein kinases were found as substrates of caspase-3. Almost of cleavage sites were located on N- or C-terminal region flanking with regulatory domain. Actually protein function of some substrates was regulated by the cleavage of caspase-3.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2011年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2012年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
総計	15,700,000	4,710,000	20,410,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・システムゲノム科学

キーワード：蛋白質ネットワーク

### 1. 研究開始当初の背景

細胞死は、高等生物個体の生命活動を支える重要な機構である。細胞は、デスシグナルなどの細胞死シグナルを受け取った後、様々なシグナル伝達経路を活性化し、数時間から数日の間に死を迎える。細胞死の代表であるアポトーシスは、カスパーゼと呼ばれるシステインプロテアーゼにより、細胞内タンパク質が切断され、様々なシグナル伝達経路が活性化することにより引き起こされる(図1)と考えられているが、その全体像は未解明のままである。近年、そのような状況を打破するために、細胞内カスパーゼ基質の網羅的な

同定に向けて、質量分析装置を用いたプロテオーム解析が精力的に行われているが、シグナル伝達経路に関するタンパク質は細胞内で微量であるため解析が容易ではなく、実際、精力的な試みにも関わらず、数種類のプロテインカイネースが同定されたのみである。そのため、シグナル伝達経路関連タンパク質分子を対象とした新たな方法論が必要である。

### 2. 研究の目的

カスパーゼは細胞内の基質タンパク質分子を切断することにより、アポトーシスに必要な様々なシグナル伝達経路を活性化する

と考えられているが、その全体像は未解明である。本研究では、プロテインカイネースを中心とした1,000種類からなるシグナル伝達経路プロテインアレイを作成し、カスパーゼ3とカスパーゼ8により切断される基質分子の同定を行い、カスパーゼにより惹起されるシグナル伝達経路の総体を明らかにする。同時に、本研究を通じて、プロテアーゼの基質同定に適したプロテインアレイの技術開発を行う。

### 3. 研究の方法

#### (1) シグナル伝達経路のビオチン化プロテインアレイの作製

我々が既に保有している1万5千種類のヒト完全長cDNAライブラリーおよび3年間費やしてクローニングした200種類のcDNAクローンをを用いて、シグナル伝達関連クローンのデータベース

(<http://www.biochemweb.org/signaling.shtml>) から予測される約1,000種類のシグナル伝達経路遺伝子のcDNAクローンを選択する。それらから、N末端にFlagタグ、C末端にビオチン化した組換えプロテインアレイを合成し、超低温フリーザーに保存した。

#### (2) アルファスクリーン法による赤血球レセプター分子の同定

上記(1)で作成したFlag-ビオチン化シグナル伝達経路プロテインアレイを、コムギ無細胞系で合成・精製したカスパーゼ3もしくはカスパーゼ8で切断される分子のスクリーニングを行った。その切断検出方法には、アルファスクリーン法を利用した。その原理は、384穴プレート中で、上記2種類、カスパーゼとシグナル伝達経路タンパク質を反応させて、その後ドナービーズとアクセプタービーズを加えて反応させる。もし、切断反応が起こらなければ、抗Flag抗体を介して双方のビーズが近接する。このような状態でドナービーズを励起すると、このエネルギーが近接したアクセプタービーズと反応し蛍光を発する。しかし、カスパーゼがシグナル伝達経路タンパク質を切断すれば、双方のビーズが近接できず、蛍光を発することができない。これにより、高感度に切断反応を検出できる。

#### (3) 切断断片の方向性の確認

上記(2)で同定されたヒトシグナル伝達経路分子のcDNAから、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて組換えタンパク質を合成し、その反応液にカスパーゼを添加し、図2のようにスクリーニングされた分子の切断を、イムノブロット法を用いた確認した。

#### (4) 切断部位の同定

目的の分子はC末端がビオチン化されてお

り、ビオチンがストレプトアビジンと強力に結合するという性質を利用し、ストレプトアビジンビーズを用いて、切断されたC末側断片を回収し、アミノ酸シーケンサーにより分析することにより、切断部位の同定を行った。さらに、切断部位をアミノ酸置換した変異体を作成した。

#### (5) アポトーシス誘導細胞における新規分子の細胞内切断確認

同定されたヒトシグナル伝達経路分子のcDNAから、動物細胞発現用ベクターに組み込み、培養細胞に遺伝子導入後、TNF $\alpha$ やFas、もしくは小胞体ストレスなどのアポトーシス誘導条件下で、上述の分子の細胞内での切断確認を行った。また、上記で解析された切断部位にアミノ酸置換した変異体を用いて、アポトーシス誘導細胞において切断されないかどうか確認した。

#### (6) カスパーゼ切断型新規分子の導入による下流シグナル分子の解析

新規分子の切断型の細胞への影響を調べるため、決定した切断部位情報を基に、カスパーゼ切断型新規分子を構築し、細胞に導入し、下流のシグナル分子のリン酸化や安定性を解析した。

#### (7) 新規分子のアポトーシスへの影響

見出されたカスパーゼで切断される新規シグナル伝達経路分子のアポトーシスへの影響を調べるために、野生型、カスパーゼ切断型、アミノ酸置換変異遺伝子をそれぞれ構築し、培養細胞へ導入し、アポトーシス誘導下における細胞死の割合を測定した。

### 4. 研究成果

コムギ無細胞タンパク質合成システムにより構築した無細胞プロテインアレイを用いて、カスパーゼ3に切断されるプロテインキナーゼの網羅的なスクリーニングを行い、新規に30種類の基質プロテインキナーゼを見出した。切断部位の多くは、N末もしくはC末側のタンパク質の調節領域に位置していた。カスパーゼ3で切断される基質であるTRB3およびNEK5の個別解析を行った。その結果、TRB3はカスパーゼ3切断により、カスパーゼ活性が高いときは細胞死誘導を引き起こし、カスパーゼ活性が低いERストレス化ではカスパーゼを核に回避させることが分かった。NEK5の切断は細胞死を誘導するだけでなく、筋分化を促進することが分かった。

### 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 24 件)

- ① Iwasaki T, Katayama T, Kohama K, Endo Y, Sawasaki T. Myosin phosphatase is inactivated by caspase-3 cleavage and phosphorylation of myosin phosphatase targeting subunit 1 during apoptosis. **Mol. Biol. Cell** 24:748-56. (2013) [査読有]
- ② Mizutani Y, Matsuoka K, Takeda H, Shiogama K, Inada KI, Hayakawa K, Yamada H, Miyazaki T, Sawasaki T, Endo Y, Tsutsumi Y. Novel approach to identifying autoantibodies in rheumatoid synovitis with a biotinylated human autoantigen library and the enzyme-labeled antigen method. **J Immunol Methods**. 387:57-70. (2013) [査読有]
- ③ Miyakawa K, Sawasaki T, Matsunaga S, Tokarev A, Quinn G, Kimura H, Nomaguchi M, Adachi A, Yamamoto N, Guatelli J, Ryo A. Interferon-Induced SCYL2 Limits Release of HIV-1 by Triggering PP2A-Mediated Dephosphorylation of the Viral Protein Vpu. **Sci Signal**. 5:ra73. (2012) [査読有]
- ④ Shimizu K, Takahama S, Endo Y, Sawasaki T. Stress-Inducible Caspase Substrate TRB3 Promotes Nuclear Translocation of Pro-caspase-3. **PLoS One**. 7:e42721. (2012) [査読有]
- ⑤ Takahashi H, Ozawa A, Nemoto K, Nozawa A, Seki M, Shinozaki K, Takeda H, Endo Y, Sawasaki T. Genome-wide biochemical analysis of Arabidopsis protein phosphatase using a wheat cell-free system. **FEBS Lett**. 586:3134-3141. (2012) [査読有]
- ⑥ Kominami K, Nakabayashi J, Nagai T, Tsujimura Y, Chiba K, Kimura H, Miyawaki A, Sawasaki T, Yokota H, Manabe N, Sakamaki K. The molecular mechanism of apoptosis upon caspase-8 activation: Quantitative experimental validation of a mathematical model. **Biochim Biophys Acta**. 1823:1825-1840. (2012) [査読有]
- ⑦ Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. **J Proteomics**. 75:4863-4873. (2012) [査読有]
- ⑧ Kiba A, Nakano M, Vincent-Pope P, Takahashi H, Sawasaki T, Endo Y, Ohnishi K, Yoshioka H, Hikichi Y. A novel Sec14 phospholipid transfer protein from *Nicotiana benthamiana* is up-regulated in response to *Ralstonia solanacearum* infection, pathogen associated molecular patterns and effector molecules and involved in plant immunity. **J Plant Physiol**. 169:1017-1022. (2012) [査読有]
- ⑨ Nozawa A, Ogasawara T, Matsunaga S, Iwasaki T, Sawasaki T, Endo Y. Production and partial purification of membrane proteins using a liposome-supplemented wheat cell-free translation system. **BMC Biotechnol**. 11:35. (2011) [査読有]
- ⑩ Akagi T, Shimizu K, Takahama S, Iwasaki T, Sakamaki K, Endo Y, Sawasaki T. Caspase-8 cleavage of the interleukin-21 (IL-21) receptor is a negative feedback regulator of IL-21 signaling. **FEBS Lett**. 585:1835-1840. (2011) [査読有]
- ⑪ Nemoto K, Seto T, Takahashi H, Nozawa A, Seki M, Shinozaki K, Endo Y, Sawasaki T. Autophosphorylation profiling of Arabidopsis protein kinases using the cell-free system. **Phytochemistry**. 72:1136-1144 (2011) [査読有]
- ⑫ Tsuge S, Mizutani Y, Matsuoka K, Sawasaki T, Endo Y, Naruishi K, Maeda H, Takashiba S, Shiogama K, Inada KI, Tsutsumi Y. Specific In Situ Visualization of Plasma Cells Producing Antibodies Against Porphyromonas Gingivalis in Gingival Radicular Cyst: Application of the Enzyme-Labeled Antigen Method. **J Histochem Cytochem**. 59:673-689 (2011) [査読有]
- ⑬ Makino S, Sawasaki T, Endo Y, Takai K. Use of domain enzymes from wheat RNA ligase for in vitro preparation of RNA molecules. **Biochem Biophys Res Commun**. 404:1050-1054. (2011) [査読有]
- ⑭ Tadokoro D, Takahama S, Shimizu K, Hayashi S, Endo Y, Sawasaki T. Characterization of a caspase-3-substrate kinome using an N- and C-terminally tagged protein kinase library produced by a cell-free system. **Cell death & Dis**. 1:e89. (2010) [査読有]
- ⑮ Matsuoka K, Komori H, Nose M, Endo Y, Sawasaki T. Simple screening method for autoantigen proteins using the N-terminal biotinylated protein library produced by wheat cell-free synthesis. **J Proteome Res**. 9:4264-4273. (2010) [査読有]
- ⑯ Makino S, Sawasaki T, Endo Y, Takai K. In vitro dissection revealed that the kinase domain of wheat RNA ligase is physically

isolatable from the flanking domains as a non-overlapping domain enzyme.

**Biochem Biophys Res Commun.** 397:762-726. (2010) [査読有]

- ⑰ Matsunaga S, Matsuoka K, Shimizu K, Endo Y, Sawasaki T. Biotinylated-sortase self-cleavage purification (BISOP) method for cell-free produced proteins. **BMC Biotechnol.** 10:42. (2010) [査読有]
- ⑱ Takai K, Sawasaki T, Endo Y. Practical cell-free protein synthesis system using purified wheat embryos. **Nat Protoc.** 5:227-238. (2010) [査読有]
- ⑲ Tanaka Y, Komori H, Mori S, Soga Y, Tsubaki T, Terada M, Miyazaki T, Fujino T, Nakamura S, Kanno H, Sawasaki T, Endo Y, Nose M. Evaluating the role of rheumatoid factors for the development of rheumatoid arthritis in a mouse model with a newly established ELISA system. **Tohoku J Exp Med.** 220:199-206. (2010) [査読有]
- ⑳ Madono M, Sawasaki T, Morishita R, Endo Y. Wheat germ cell-free protein production system for post-genomic research. **N Biotechnol.** 28:211-217. (2010) [査読無]
- 21 Takai K, Sawasaki T, Endo Y. The Wheat-Germ Cell-Free Expression System. **Curr Pharm Biotechnol.** 11: 272-278. (2010) [査読有]
- 22 Sawasaki T, Endo Y. Cell-free-based protein microarray technology using agarose/DNA microplate. **Methods Mol Biol.** 607:63-72. (2010) [査読無]
- 23 Tsuboi T, Takeo S, Sawasaki T, Torii M, Endo Y. An efficient approach to the production of vaccines against the malaria parasite. **Methods Mol Biol.** 607:73-83. (2010) [査読無]
- 24 Watanabe M, Miyazono K, Tanokura M, Sawasaki T, Endo Y, Kobayashi I. Cell-free protein synthesis for structure determination by X-ray crystallography. **Methods Mol Biol.** 607:149-160. (2010) [査読無]

[学会発表] (計 99 件)

- ① 岩崎 隆宏, 遠藤 弥重太, 澤崎 達也, アポトーシス時におけるミオシンホスファターゼ活性調節機構、第 62 回日本細胞生物学会大会、2010 年 5 月 19-21 日、大阪国際会議場
- ② 清水 康平, 高濱 正吉, 遠藤 弥重太, 澤崎 達也, TRB3 が caspase-3 に切断されるかどうかは細胞生存と細胞死のターニングポイントの一つである、第

62 回日本細胞生物学会大会、2010 年 5 月 19-21 日、大阪国際会議場

- ③ 澤崎 達也, 松岡和弘, 遠藤 弥重太, タンパク質ライフ ラリーを用いた自己抗体プロファイリング、日本ヒトプロテオーム機構第 8 回大会、2010 年 7 月 26-27 日、東京ベイホテル東急
- ④ Mamoru Takahashi, Saki Miyajima, Tomio Ogasawara, Yaeta Endo, Tatsuya Sawasaki, Development of cell-free based proteoliposome technology for delivering membrane proteins to cells, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑤ Saki Yasuoka, Yaeta Endo, Tatsuya Sawasaki, Screening of cancer-related E3 ubiquitin ligases by wheat cell-free system, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑥ Keiichirou Nemoto, Takuya Seto, Motoaki Seki, Kazuo Shinozaki, Yaeta Endo and Tatsuya Sawasaki, Autophosphorylation profiling of Arabidopsis protein kinases using the cell-free system, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑦ K Takahiro Iwasaki, Yaeta Endo and Tatsuya Sawasaki, Downregulation of myosin phosphatase targeting subunit 1 during apoptosis, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑧ Shouta Hayashi, Kouhei imizu, Toshiaki Hashimoto, Ushio Kikkawa, Shinji Kamada, Yaeta Endo and Tatsuya Sawasaki, Biochemical comparison among of Caspase-3, 6, 7-cleaved protein kinases, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑨ Kouhei Shimizu, Shoukichi Takahama, Yaeta Endo and Tatsuya Sawasaki, Caspase-3 cleavage of stress-responsible TRB3 reduces Akt activity and increases caspase-3 activity, プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2010、2010 年 9 月 28 日、松山全日空ホテル
- ⑩ 高橋守, 宮島早紀, 小笠原富夫, 遠藤 弥重太, 澤崎 達也, 無細胞基盤プロテオリポソームを用いた細胞への膜タンパク質導入技術の開発、第 5 回無細胞生命科学研究会、2010 年 9 月 29 日、岡山大学創立五十周年記念館

- ⑪ 林祥太, 清水康平, 橋本季明, 吉川潮, 鎌田真司, 遠藤弥重太, 澤崎 達也, Caspase-3, 6, 7 により切断されるプロテインカイネーゼの比較、第5回無細胞生命科学研究会、2010年9月29日、岡山大学創立五十周年記念館
- ⑫ 根本圭一郎, 瀬藤拓也, 関原明, 篠崎一雄, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、植物 Protein Kinase ライブラリーを用いた Plant Protein Tyrosine Kinase の探索と同定、第5回無細胞生命科学研究会、2010年9月29日、岡山大学創立五十周年記念館
- ⑬ 安岡佐起, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、コムギ無細胞系を基盤としたがん化促進ユビキチン化 E3 リガーゼの探索、第5回無細胞生命科学研究会、2010年9月29日、岡山大学創立五十周年記念館
- ⑭ 有村源一郎, Chidananda Nagamangala Kanchiswam, 高橋宏隆, 吉岡博文, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、無細胞タンパク質合成系を用いた植物のカルシウム依存リン酸化制御機構の解明、第5回無細胞生命科学研究会、2010年9月29日、岡山大学創立五十周年記念館
- ⑮ 澤崎 達也, 遠藤 弥重太、無細胞系を用いた機能プロテオミクス技術とウイルス研究への応用、第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7-9日、あわぎんホール
- ⑯ 正岡 崇志, 杉浦 互, 澤崎 達也, 松永智子, 遠藤 弥重太, 巽 正志, Robert Shafer, 山本 直樹, 梁 明秀、酵素活性を指標とした HIV プロテアーゼ薬剤耐性新規検査法の開発、第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7-9日、あわぎんホール
- ⑰ 政木 隆博, 松永 智子, 高橋 宏隆, 加藤孝宣, 遠藤 弥重太, 澤崎 達也, 脇田 隆字, 鈴木 哲朗、HCV NS5A 蛋白のリン酸化に関与する新規セリン/ スレオニンプロテインキナーゼの同定と機能解析、第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7-9日、あわぎんホール
- ⑱ 高橋守, 宮島早紀, 小笠原富夫, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、無細胞基盤プロテオリポソームを用いた細胞への膜タンパク質導入技術の開発、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- ⑲ 岩崎隆宏, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、Regulation of Myosin Phosphatase during Apoptosis, BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- ⑳ 林祥太, 清水康平, 橋本季明, 吉川潮, 遠藤弥重太, 澤崎 達也, Caspase-3, 6, 7 により切断されるプロテインカイネーゼの比較、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- 21 清水康平, 高濱正吉, 遠藤弥重太, 澤崎 達也, Caspase-3 によるストレス応答性 TRB3 の切断は活性型 Akt を減衰し Caspase-3 を活性化する、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- 22 安岡左起, 佐々木敦朗, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、コムギ無細胞系を基盤としたがん化促進ユビキチン化 E3 リガーゼの探索、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- 23 酒巻和弘, 坂本尚久, 河村拓馬, 千場久美子, 澤崎 達也, 小山田耕二、細胞死に伴う小胞形成の時系列的変動の解析、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会)、2010年11月7-9日、神戸ポートアイランド
- 24 K. Nishimori, K Matsuoka, Y. Endo, T. Sawasaki, Development of a Cell-Free Based Screening Method to Identify Cancer Specific Autoantigen Proteins., the 50th annual meeting the american society for cell biology, 2010年12月10-15日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, Pennsylvania, USA)
- 25 S. Yasuoka, Y. Endo, T. Sawasaki, Screening of Cancer-Related E3 Ubiquitin Ligase by Wheat Cell-Free System, the 50th annual meeting the american society for cell biology, 2010年12月10-15日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, Pennsylvania, USA)
- 26 K. Miyakawa, T. Sawasaki, S. Matsunaga, N. Yamamoto, A. Ryo, Identification of a Host Factor Antagonizing Vpu-Mediated BST-2/Tetherin Down-Regulation, the 50th annual meeting the american society for cell biology, 2010年12月10-15日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, Pennsylvania, USA)
- 27 S. Matsunaga, Y. Kojima, R. Morishita, T. Sawasaki, A. Ryo, An In Vitro Cleavage Assay System for XMRV

- Protease by Wheat-Germ Cell Free Protein Production.、the 50th annual meeting the american society for cell biology、2010年12月10-15日、Pennsylvania Convention Center (Philadelphia, Pennsylvania, USA)
- 28 根本圭一郎, 関原明, 篠崎一雄, 遠藤弥重太, 澤崎 達也、コムギ無細胞タンパク質発現系を用いた植物チロシンキナーゼ (PTK) の網羅的探索・同定および機能解析、第52回日本植物生理学会年会、2011年3月20-22日、東北大学
- 29 Keiko Kawauchi, Tan Song Hui, Gao Rong, Guo Alvin, Katsuhiko Iwasaki, Ichiro Harada, Hirotaka Takahashi, Tatsuya Sawasaki, Yaeta Endo, Yasuhiro Sawada, Mechanical Regulation and Implication of Cancer: Oncogene-Induced Cell Transformation Involves Proteolysis of the Mechano-Sensing Protein p130Cas、第63回日本細胞生物学会大会、2011年6月27-29日、北海道大学
- 30 Kouhei Shimizu, Shoukichi Takahama, Tatsuya Sawasaki and Yaeta Endo, Caspase cleavage of ER stress-inducible TRB3 is a key switch from survival to cell death、第63回日本細胞生物学会大会、2011年6月27-29日、北海道大学
- 31 Yaeta Endo, Tatsuya Sawasaki, Lassale Michael W.、An attempt to prepare membrane proteins using the wheat cell-free protein production system、XXII International Congress and General Assembly of the IUCr、2011年8月20-28日、Municipal Conference Centre (Spain)
- 32 N. Takemori, A. Takemori, K. Matsuoka, N. Matsushita, T. Sawasaki, Y. Endo, S. Higashiyama、AN ABSOLUTE QUANTIFICATION METHOD OF MOUSE TRANSMEMBRANE PROTEOME USING A
- 33 COMBINATION OF WHEAT CELL-FREE SYNTHESIS AND MRM MASS SPECTROMETRY、HUPO 2011、2011年9月4-7日、Geneva Palexpo (Switzerland)
- 34 Tomohiro Kanuma, Ayumi Kudoh, Nao Jounai, Fumihiko Takeshita, Tatsuya Sawasaki, Akihide Ryo、IMMUNE EVASION BY HIV-1PROTEASE-MEDIATED CLEAVAGE OF TANK-BINDING KINASE 1、IUMS2011、2011年9月6-11日、札幌コンベンションセンター、札幌市産業振興センター
- 35 Atsushi Muroi, Tomio Ogasawara, Kyoko Shinya, Akiko Makino, Teridah E Ginting, Yaeta Endo, Tatsuya Sawasaki、
- I CONSTRUCTION OF INFLUENZA VIRUS-LIKE PARTICLES USING A LIPOSOME-SUPPLEMENTED WHEAT CELL-FREE TRANSLATION SYSTEM、IUMS2011、2011年9月6-11日、札幌コンベンションセンター、札幌市産業振興センター
- 36 Satoko Matsunaga, Ayako Furukawa, Yoshitsugu Kojima, Ryo Morishita, Tatsuya Sawasaki, Akifumi Takaori-Konda, Wataru Sugiura, Masato Katahira, Akihide Ryo, AN IN VITRO CLEAVAGE ASSAY SYSTEM FOR XMRV PROTEASE BY WHEAT-GERM CELL FREE PROTEIN PRODUCTION、IUMS2011、2011年9月6-11日、札幌コンベンションセンター、札幌市産業振興センター
- 37 Nobuaki Takemori, Ayako Takemori, Kazuhiro Matsuoka, Natsuki Matsushita, Hiroyuki Takeda, Tatsuya Sawasaki, Yaeta Endo and Shigeiki Higashiyama、Absolute quantitative analysis of mouse transmembrane proteome using a combination of wheat cell-free synthesis and MRM mass spectrometry、プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2011、2011年9月22日、松山全日空ホテル
- 38 Shoukichi Takahama, Masaru Arimoto, Saki Miyajima, Takahiro Masaki, Keiichirou Nemoto, Takanobu Kato, Takaji Wakita, Tetsuro Suzuki, Yaeta Endo and Tatsuya Sawasaki、Kinome-wide screening reveals Sgk495 as a novel HCV NS3 substrate、プロテインアイランド松山国際シンポジウム 2011、2011年9月22日、松山全日空ホテル
- 以下省略
- [その他]  
ホームページ等  
<http://www.pros.ehime-u.ac.jp/cell-free>
6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
澤崎 達也 (SAWASAKI TATSUYA)  
愛媛大学・無細胞生命科学工学研究センター・教授  
研究者番号 : 50314969
- (2) 研究分担者  
該当なし
- (3) 連携研究者  
該当なし