

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：13903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23750187

研究課題名(和文)ポリチオフェンナノ粒子-蛋白質複合体の創製とその利用

研究課題名(英文)Preparation and Application of polythiophene/protein conjugate

研究代表者

水野 稔久(MIZUNO, TOSHIHISA)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90345950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：光学的、電気化学的に種々の応用が期待される共役性高分子をその対象に選び、これを蛋白質共存下で合成、複合化する事により、共役性高分子/蛋白質複合体の調製を行った。変性剤により部分的に変性した蛋白質を3,4-ジオキシエチレンチオフェン(EDOT)の乳化剤として利用しそのまま酸化重合を水中で行うことで、直径50 nm程度の均一な粒子径を持ったポリ3,4-ジオキシエチレンチオフェン(PEDOT)/Proteinナノ粒子の調製に成功した。このナノ粒子は水中で可溶であり、FITCを表面修飾した場合にはPEDOT部位が酸化状態、還元状態と変化することでFITCからの蛍光発色挙動が変化することがわかった。

研究成果の概要(英文)：Preparations of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/protein (PEDOT/protein) nanoparticle, consisting of the oligomeric PEDOTs and natural proteins were achieved by an oxidative polymerization of 3,4-ethylenedioxythiophene (EDOT) in the presence of partially denatured proteins in an aqueous solution containing 3 M Gdm HCl. From the dynamic light scattering (DLS) and the transmission electron microscope (TEM) observations, the hydrodynamic diameters of obtained nanoparticles were homogeneous by ~ 50 nm. We evaluated the redox potentials of PEDOT/protein nanoparticles using the cyclic voltammetric analyses and the observed redox potentials have a dependence on the choice of natural proteins. The current method to prepare the PEDOT/protein nanoparticle should be applicable to construct various kinds of the PEDOT/biomolecule nanoparticles, leading to the construction of redox-active sensor conjugates enable to use in vitro and in vivo.

研究分野：複合化学

科研費の分科・細目：生体関連化学

キーワード：導電性高分子 蛋白質 ナノ粒子 蛍光プローブ

1. 研究開始当初の背景

近年一般的な溶媒に対して難溶性でありながら優れた光学的、電気化学的な特性が期待される、金属や半導体ナノ粒子、カーボンナノチューブ(SWNT)、フラーレン等に対して、天然蛋白質や合成ペプチドなどをナノオーダーの被覆剤(蛋白質ケージ)として利用する事により、水中で可溶化させる検討が盛んに行われている。蛋白質表面には様々な官能基、タグ配列の導入も可能と成るため、蛋白質工学的な変異手法を組み合わせる事により、鑄型となる蛋白質の高次な配列化を介して、これらの2次元、3次元配列化も可能で興味深い。格子状の金属錯体結晶、シリカナノ結晶、細孔を有するメンブレン空孔、界面活性剤の形成するナノ会合体表面等を、数nm~数100nmオーダーの鑄型反応場とし、種々の有機反応へ展開する研究が材料化学的な観点から先行しているが、新たにこれらの概念を*in vivo*環境で使用可能な材料設計へと考えた場合には、やはり蛋白質を中心とした生体高分子を鑄型とする手法に、一長の利があるのは明らかであろう。本研究では、光学的、電気化学的に種々の応用が期待される共役性高分子をその対象に選び、これを特異な立体構造を持つ蛋白質表面あるいは内部で合成し複合化する事により、従来報告例の少なかったような、高度に構造規制された共役性高分子の合成を試みる。さらに、合成過程で鑄型として用いる蛋白質と複合化されるため、蛋白質の持つ様々な機能の付加も同時に可能となり、例えばこちらも報告例の限られてきている、共役性高分子の*in vivo*環境での利用に関する新たな研究領域の開拓も期待される。

2. 研究の目的

本研究では、光学的、電気化学的に種々の応用が期待される共役性高分子をその対象に選び、これを特異な立体構造を持つ蛋白質表面で合成し複合化する事により、複合化を試みる。用いる共役性高分子には、ポリ3,4-ジオキシエチレンチオフェン(PEDOT)を中心的に検討する。なお、蛋白質との複合化に関する一般的な合成方法はこれまでに報告例がなかったため、はじめにその方法に関して詳細な検討を行う。さらにPEDOTとの複合化に適した蛋白質のアミノ酸配列の要件なども調べる。次に、生成されるPEDOT/蛋白質複合体(PEDOT/Protein)に関して、基本的な物性評価を行う。PEDOTの持つ酸化還元挙動が、蛋白質と複合化することでどのように影響をうけるのか検討を行っていく。最後に、*in vivo*での利用を想定した誘導体化の検討も行う。

3. 研究の方法

①ポリチオフェンナノ粒子-蛋白質複合体の調製方法の検討

ポリチオフェン誘導体は優れた酸化還元応答を示す材料であることから、これまでは主に、有機導電性材料あるいは半導体材料としての検討がなされてきた。一方でこのような性質は、生体内での酸化還元反応に関連する生命現象の分子プローブとしての利用に興味を持たれる。しかしながら、

ポリチオフェン誘導体を生体内で利用するためには、まずはポリチオフェン誘導体が水に不溶であることの解決が必須となる。そこでここでは、蛋白質との複合化によりポリチオフェン誘導体を水中へ可溶化できる手法の検討を行う。PEDOTを水に可溶化し利用できる材料として、PEDOT/PSSが知られている。PEDOT/PSSは、PEDOTのモノマーとなる3,4-ジオキシエチレンチオフェン(EDOT)の酸化重合を、ポリスチレンスルホン酸(PSS)共存下の水溶液中で行うことで作成される高分子複合体であるが、この方法を参考に蛋白質共存下でのEDOTの酸化重合を介して、PEDOTと蛋白質の複合化による可溶化を行う。なお生成されるPEDOT/Proteinは、ナノ粒子化されることを推測している。この際に、生成されるPEDOT/ProteinのPEDOT部位の形態やサイズに関して、PEDOTが生成される前のEDOTと蛋白質の相互作用状況が大きく影響を及ぼすと考えられる。そこで、酸化重合前のEDOTと蛋白質間の相互作用に関して、種々の測定法を利用した検討を行う。また、蛋白質とPEDOTの複合化において、蛋白質側のアミノ酸配列に必要な条件が存在するかの検討も行う。

②作成されたポリチオフェンナノ粒子-蛋白質複合体のキャラクタリゼーション

作成されるPEDOT/Proteinは、酸化還元応答を示すと予測される。また、*in vivo*での酸化還元プローブとしての応用を考えた場合、応答する酸化還元電位の調節が可能であることが望ましい。そこで、用いる蛋白質の種類、あるいは酸化重合条件の変化により、得られるPEDOT/Proteinナノ粒子の酸化還元電位を調節可能か検討したい。酸化還元電位の評価は、化学的に表面修飾を金電極上にキャストしサイクリックボルタムメトリーにより行う。また、PEDOT部位が酸化状態と還元状態の間で変化した際には、共役状態の電子状態が変わることが予測されるので、酸化状態と還元状態における吸収スペクトルの評価も行いたい。

③蛍光応答性の酸化還元プローブとしての検討

酸化還元活性なPEDOT/Proteinナノ粒子の表面に適当な蛍光色素を修飾することで、蛍光性の酸化還元プローブの作製が可能と期待される。そこで、この検討を行っていく。また、このような蛍光色素修飾PEDOT/Proteinナノ粒子の、細胞内での応用に向けて、真核細胞への導入に関する検討を行っていく。

4. 研究成果

①ポリチオフェンナノ粒子-蛋白質複合体の調製方法の検討

どのような分子量や形態を持った蛋白質が、PSSを用いた場合と同様に、PEDOTと複合化し、水中に可溶化できるかわからなかったため、まずは分子量やアミノ酸配列の異なる様々な天然蛋白質を利用してPEDOT/Proteinの作成を試みた。リボヌクレアーゼA(13.7kDa)、 γ -グロブリン(150kDa)、キモトリプシン(25.3kDa)、リゾチーム(14.1kDa)、牛血清アルブミン(68kDa)が10mg/ml程度存在する中性緩衝水溶液(pH 7.5)中で、EDOT 0.5

μL (4.68 μmol)、過硫酸アンモニウム (APS) 28 mg (12 mmol)、助触媒として FeCl₃ 2 μmol を添加し、43 °C で3時間振盪撹拌を行った。EDOT の重合とともに、溶液の色は濃青色に変化していったが、いずれの蛋白質を用いた場合でも、遠心分離後は生成される PEDOT は全て水に不溶な沈殿物となり、蛋白質との複合化による可溶化は見られなかった。この原因に関して、蛋白質の乳化作用に着目して考察を行った。通常の球状水溶性蛋白質であれば、直接疎水性分子と接触することが可能な蛋白質の疎水表面は大部分が蛋白質内部に閉じ込められているため、疎水性の分子を水に可溶化する乳化作用は見られない。一方で、変性剤などで部分的に蛋白質の立体構造を壊した場合には、蛋白質の疎水領域が表面に露出するため、疎水分子（ここでは、EDOT）が乳化できるのではないかと考えた。そこで、さきほどの蛋白質共存下で EDOT の酸化重合を行う反応溶液に、蛋白質の変性剤である Gdm HCl を添加する条件の検討を行った。円偏光二色性 (CD) 分光光度計を用いた評価から、今回用いる天然蛋白質 (リボヌクレアーゼ A (RNaseA、13.7 kDa)、γ-グロブリン (150 kDa)、キモトリプシン (Chym、25.3 kDa)、リゾチーム (Lys、14.1 kDa)、牛血清アルブミン (BSA、68 kDa)) の43 °C における変性濃度は、2~3 M 程度であることが

表1 各蛋白質の変性濃度

Natural protein	[Gdm HCl] _{1/2}	
	at 25 °C	at 43 °C
RNase A	2.9	2.2
Chymotrypsin	2.2	2.0
Lysozyme	4.2	3.4
BSA	2.1	2.1
H6	2.3	2.3

分かったため、いずれの蛋白質も程々に変性がみられた3 M Gdm HCl の条件下、あるいはそれより濃い6 M の Gdm HCl を添加した条件下で、比較を行った。その結果、3 M の Gdm HCl を添加した場合において、いずれの蛋白質を用いた場合にも生成される PEDOT の蛋白質との複合化による可溶化が見られた (図1)。一方で、6 M Gdm HCl を添加した条件下では、可溶化される PEDOT の量は、大きく減少した。

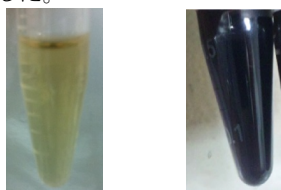


図1 天然蛋白質 RNaseA との複合化により水中に可溶化された PEDOT : (左) RNaseA 非存在下で重合され可溶化されなかった場合、(右) RNaseA 存在下で重合され可溶化された場合

次に、PEDOT との複合化に必要な、蛋白質側のアミノ酸配列の必要要件に関して検討を行った。酸化重合条件下では、特に酸化反応に過敏なチロシン残基が、生成される PEDOT と直接化学結合を形成することが考えられた。このような直接的な結合が、PEDOT と蛋白質の相互作用安定化に寄与

するのかの検討を行った。天然蛋白質ではチロシン残基の数を制限して利用することは難しかったため、ここでは、N-末端側にチロシン残基を1つ含む5本鎖コイルドコイル蛋白質 (H6) と同様の配列でチロシン残基を含まない蛋白質 (H6-nonY) を用いて検討を行った (図2)。その結果、チロシン残基を持つ H6 では PEDOT との複合化に伴う可溶化が見られたが、チロシン残基を持たない H6-nonY では PEDOT の可溶化が見られなかった。このことから PEDOT との複合化に必要な蛋白質の要件として、配列中にチロシン残基を含む必要があるとわかった。

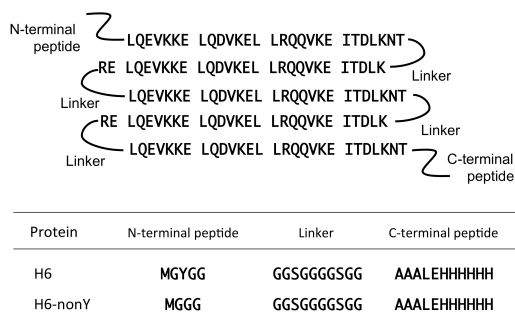


図2 チロシン残基を N-末端側を含む人工蛋白質 H6 と、チロシン残基を含まない人工蛋白質 H6-nonY のアミノ酸配列

② 作製されたポリチオフェンナノ粒子-蛋白質複合体のキャラクタリゼーション

はじめに、PEDOT と蛋白質の複合体 (PEDOT/Protein) がどのような形態をとっているのか調べるため、透過型顕微鏡 (TEM) による測定を行った。ポパールコートした Cu メッシュ上に RNaseA を用いて作成した PEDOT/Protein ナノ粒子をキャストし、加速電圧 200 keV で測定を行った結果を図3に示す。こちらから、ナノ粒子同士の凝集物も若干見られるが、50 nm 程度の粒子径もったナノ粒子として生成していることが明らかとなった。こちらは、他の蛋白質を用いた場合にも、いずれもナノ粒子化されていることが確認された。

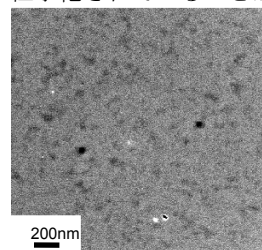


図3 PEDOT/RNaseA の TEM による形態評価

そこで次に、この PEDOT/Protein ナノ粒子の単離精製を試みた。上記合成法で PEDOT/Protein ナノ粒子を作成した場合には、PEDOT/Protein ナノ粒子に含まれる蛋白質と、関与しないフリーの蛋白質が溶液中に混在すると予測され、これらは水和半径の違いにより分離できると考えた。トヨパール HW-40 を担体を用いたゲルろ過クロマトグラフィーにより分離を行ったところ、PEDOT 由来の着色の見られるバンドは大きく拡散されずにそのまま溶出され、得られた各フラクション (図4) について SDS-PAGE による分析を行った。①での検証からナノ粒子化している PEDOT と蛋白質は化学結合しているため、SDS 存在下でも PEDOT/Protein

ナノ粒子からの蛋白質の離脱は起こらないと予測された。実際に SDS-PAGE 分析した結果、PEDOT 由来の着色が見られるフラクション 6 に関して、フリーの蛋白質が確認されなかったことから、PEDOT/Protein ナノ粒子と、フリーの蛋白質の分離に成功したことがわかった。

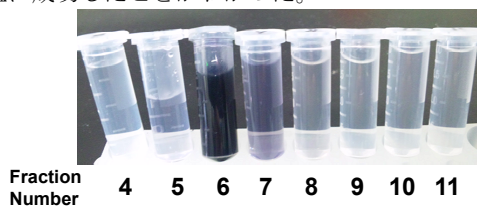


図4 ゲルろ過後の各フラクション写真

そこで次に、この得られた PEDOT/Protein ナノ粒子の DLS による粒径評価を行った。RNaseA を用いて作成した PEDOT/Protein ナノ粒子の測定結果を図 5 に示した。こちらより、直径約 50 nm に相当する単一の DLS ピークが観測され、我々が確立した調製手法により、均一なサイズの PEDOT/Protein ナノ粒子が作成できることがわかってきた。

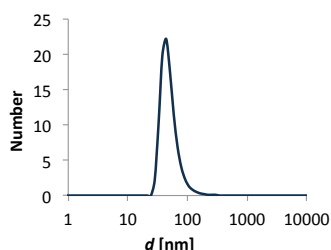


図5 DLS による PEDOT/RNaseA ナノ粒子の粒径評価

以上のことから、我々が確立した調製手法により、比較的簡便に粒径を制御した PEDOT/Protein ナノ粒子が調製可能であることがわかってきたが、一方で、意図する粒径を持ったナノ粒子を調製できる手法まで確立することができれば、その後のアプリケーションにおいて助けになると考えた。そこでナノ粒子の生成メカニズムに関して、さらに考察を加えることにした。今回確立された調製スキームでは、蛋白質の溶けた水溶液 (10 mg/ml) に疎水性の EDOT を添加するが、この際に溶液に超音波照射をすることで、EDOT は溶液中に分散される。またこの際に、蛋白質の変性剤である Gdm HCl を 3 M の濃度になるよう添加しなければ、生成する PEDOT と蛋白質の複合化はできなかった。すなわちここでの蛋白質の役割が、EDOT の乳化であるならば、酸化重合前の溶液で生成する、変性タンパク質の付着により安定化された EDOT ナノ液滴の粒径と、こちらを酸化重合することにより得られる PEDOT/Protein ナノ粒子のサイズには、相関が見られるはずだと考えた。そこで、蛋白質の溶けた水溶液 (10 mg/ml) に疎水性の EDOT を添加し、超音波照射後の溶液の DLS 測定を行い、生成するエマルジョンの粒径と、この安定性の評価を行った。

蛋白質として RNaseA を用いた場合の結果を図 6 に示した。まず、蛋白質非存在下においては、超音波照射後直ぐに観測される 200 nm 程度の粒径の EDOT ナノ液滴は、時間の経過とともに直ちに 1000

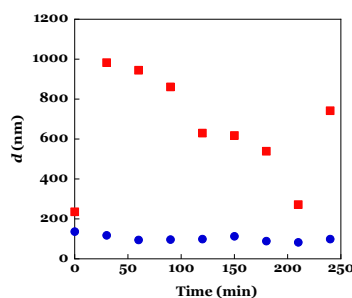


図6 蛋白質 (RNaseA) 非存在下 (■)、存在下 (●) における EDOT ナノ液滴の粒子径の経時変化

nm 以上の大きな液滴に融合してしまうことがわかった (その後は相分離して測定用のレーザーの視野から離れてしまうため、DLS シグナルは一定しなくなった)。一方で、3 M の Gdm HCl を添加した蛋白質存在下では、はじめに生成される 100 nm 程度のサイズの EDOT ナノ液滴は 3 時間以上の期間に渡り安定化され、液滴同士の融合は見られなかった。Gdm HCl を添加しない蛋白質存在下では、蛋白質非存在下と同様に直ちに融合が見られたことから、やはり 3 M の Gdm HCl により変性させた蛋白質が、EDOT ナノ液滴を安定化する効果があることがわかった。また、その粒径も、酸化重合後に得られる PEDOT/Protein ナノ粒子のサイズと相関が見られたことから、反応溶液中に添加する蛋白質の濃度と EDOT の液量を調節することで、得られる PEDOT/Protein ナノ粒子のサイズを調節可能であることが示唆された。

次に、EDOT/Protein ナノ粒子の酸化還元挙動に関してサイクリックボルタムメトリーを用いて測定を行った。と電位測定から、いずれの蛋白質を用いて作成された PEDOT/Protein ナノ粒子も表面電位は負であったため、6-アミノヘキサチオール自己組織化単分子膜で修飾した金基板上にキャストし測定を行った。その結果、用いる蛋白質によって PEDOT 部位の酸化還元電位が異なり、 γ -グロブリンで -90 mV、RNaseA では -190 mV (vs. SHE)、H6 では 40 mV (vs. SHE) と異なる酸化還元電位を示すことが分かった。これは、用いる蛋白質ごとに PEDOT 部位の重合度に変化が生じたためと、現在のところは考察を行っている。

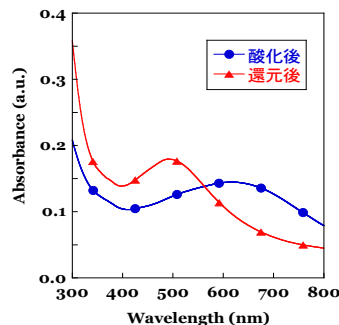


図7 PEDOT/RNaseA ナノ粒子の酸化還元に応じた可逆的な吸収スペクトル変化

酸化状態と還元状態を変化させることで、PEDOT 由来の吸収帯において、スペクトルピークの可逆的な移動が起こるか、次に検討を行った。酸化剤には、フェリシアン化カリを用い、還元剤にはジチオスレイトール (DTT) を用いた (なお特に、フ

ェリシアン化カリで酸化反応を行った後は、透析操作により試薬を除いてから吸収スペクトルの測定を行った)。RNaseA を用いて作成した PEDOT/Protein ナノ粒子の結果を、図7に示した。PEDOT に由来する吸収バンドの λ_{\max} が、酸化状態では 625 nm、還元状態では 495 nm にシフトが見られた。通常の PEDOT/膜では、酸化状態と還元でより大きなスペクトルシフトが観測されることが知られているため、このような吸収スペクトル変化の挙動は、ナノ粒子化したことにより発現してきた性質であるかもしれない。しかし、現在のところ詳細な理解は得られていない。

③ 蛍光応答性の酸化還元プローブとしての検討

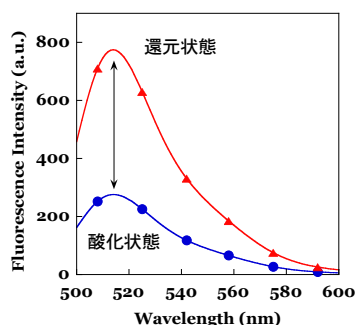


図8 FITC 修飾した PEDOT/Protein ナノ粒子の酸化状態、還元状態における蛍光強度の変化

今回作成を行った PEDOT/Protein ナノ粒子の中で、再クリックボルタンメトリーによる検討から、最も電流応答の大きかった RNaseA を用いて作成した PEDOT/Protein ナノ粒子に関して、蛍光色素 FITC の表面修飾を行った。これにより、電子移動型の酸化還元応答蛍光プローブの開発を期待した。酸化状態、還元状態で FITC 修飾 PEDOT/Protein ナノ粒子の、FITC 由来の 518 nm の蛍光強度の比較を行ったところ、酸化状態から還元されることにより、蛍光強度が約 2.5 倍上昇することが確認された (図8)。すなわち、PEDOT 部位の酸化状態に応じて蛍光強度の異なるプローブの開発に成功したといえる。

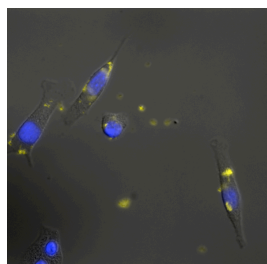


図9 がん細胞である A549 細胞への FITC 修飾 PEDOT/Protein ナノ粒子の導入と、蛍光顕微鏡測定を用いた細胞質への導入の確認(細胞核は DAPI により染色 (青色) した。FITC 由来の蛍光は、黄色で示した)

また、この FITC 修飾した EDOT/Protein ナノ粒子は、金属ナノ粒子や蛋白質などの細胞内への導入で一般に用いられる市販の導入試薬を用いることで、真核細胞内への導入が可能であった。実際に、TransIT transfection reagent (タカラバイオ) と混合し、がん細胞である A549 細胞に振りかけて導入を試みたところ (1~5 時間程度培地に

添加しながら培養を行った)、FITC 由来の蛍光シグナルが、細胞質部位から観測された。今回の研究期間内では、残念ながらこちらを用いて細胞内での酸化還元挙動のモニターリングまでは検討ができなかったが、実際に *in vivo* での利用に向けた基礎的なデータは取得することができた。

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7件)

1. S. Sakai, A. Sumino, A. Hiro, T. Mizuno, T. Dewa, T. Tanaka, H. Hashimoto, M. Nango, "Atomic force microscopy of the molecular assembly of the photosynthetic core antenna light harvesting (LH)1-type complex composed of the recombinant LH1- α peptide bearing the maltose-binding protein", *Chem. Lett.*, **40**, 1280-1282 (2011).
2. 「異なる機能を持った蛋白質ドメインの組み合わせによる刺激応答性蛋白質の合理的設計」, 水野稔久, *化学と教育*, **59**, 212-213 (2011).
3. S. Sakai, A. Hiro, M. Kondo, T. Mizuno, T. Tanaka, T. Dewa, M. Nango, "Overexpression of *Rhodobacter sphaeroides* PufX bearing maltose-binding protein and its effect on the stability of reconstituted light-harvesting core antenna complex", *Photosynthesis Research*, **111**(1-2), 63-69 (2012).
4. S. Sakai, T. Noji, M. Kondo, T. Mizuno, T. Dewa, T. Ochiai, H. Yamakawa, S. Itoh, H. Hashimoto, M. Nango, "Molecular Assembly of Chlorophyll Derivatives Using Recombinant Light-Harvesting Polypeptides with His-tag and Its Immobilization on a Gold Electrode", *Langmuir*, **29**, 5104-5109 (2013).
5. S. Koeda, K. Umezaki, T. Noji, A. Ikeda, K. Kawakami, M. Kondo, Y. Yamamoto, J. Shen, K. Taga, T. Dewa, M. Nango, T. Tanaka, T. Mizuno, "Applications of Peptide Gemini Surfactants as Solubilization Surfactants for Photosystems I and II of *Cyanobacteria*", *Langmuir*, **29**(37), 11667-11680 (2013).
6. N. Okiyama, E. Ota, A. Sumino, T. Noji, K. Yamamoto, J. Oku, T. Dewa, T. Tanaka, T. Mizuno, "Creation of fibrous nanotube of green fluorescent protein by conjugation with pH-responsive polymer, poly (2-vinylpyridine), and use of a microfluidic synthesis", *Chem. Lett.*, **42**(5), 495-497 (2013).
7. S. Koeda, K. Umezaki, A. Sumino, A. Ikeda, Y. Yamamoto, T. Dewa, K. Taga, M. Nango, T. Tanaka, T. Mizuno, "Creation of cross-linked bilayer membranes that can incorporate membrane proteins from oligo-Asp-based PG-surfactants", *Langmuir*, **29**(34), 11695-11704 (2013).

[学会発表] (計17件)

1. 右近卓也、水野稔久、出羽毅久、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「設計蛋白質を用いたポリチオフェンナノ粒子の調製と機能評価」, 第5回バイオ関連化学シンポジウム、つくば、平成23年9月12日
2. 右近卓也、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「設計蛋白質を用いたポリチオフェンナノ粒子の調製」, 第60回高分子討論会、岡山、平成23年9月30日

3. 右近卓也、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「両親媒性蛋白質を利用したポリチオフェンナノ粒子の作製」、日本化学会第92春期年会(2012)、横浜、平成24年3月27日
 - 4.
 5. 沖山直矢、水野稔久、酒井俊介、近藤政晴、出羽毅久、奥淳一、田中俊樹、「緑色蛍光蛋白質-ポリ(2-ビニルピリジン)複合体の調製と機能評価」、日本化学会第92春期年会(2012)、横浜、平成24年3月25日
 6. N. Okiyama, E. Ohta, J. Oku, T. Dewa, T. Mizuno, T. Tanaka, "Preparation and characterization of green fluorescent protein (GFP)-poly (2-vinylpyridine) conjugates", The 2nd Asian Chemical biology Conference, Itoman (Okinawa), 平成24年7月5日
 7. 沖山直矢、水野稔久、大田英理子、奥淳一、出羽毅久、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「pH応答性高分子の付加による GFP ナノファイバーの作製」、第61回高分子討論会、(名工大)名古屋、平成24年9月21日
 8. 沖山直矢、水野稔久、大田英理子、奥淳一、出羽毅久、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「緑色蛍光蛋白質-ポリ(2-ビニルピリジン)複合体の会合挙動評価」、第43回中部化学関係学協会支部連合秋季大会(名古屋)、名古屋、平成24年11月10日
 9. N. Okiyama, T. Mizuno, E. Ohta, J. Oku, T. Tanaka, T. Dewa, K. Sugiyasu, M. Takeuchi, "Creation of GFP Nanofiber by the Aid of pH-responsive Polymer Assembly", The 9th SPSJ International Polymer Conference (IPC2012)、神戸、平成24年12月14日
 10. 市来健太郎、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、「種々の蛋白質と PEDOT の複合化による PEDOT/Protein ナノ粒子の調製」、日本化学会第93春期年会、滋賀、平成25年3月22日
 11. 沖山直矢、水野稔久、大田英里子、角野歩、野地智康、出羽毅久、奥淳一、田中俊樹、杉安和憲、竹内正之、「機能性ペプチドをグラフト化した GFP ナノファイバーの調製と機能評価」、日本化学会第93春期年会、滋賀、平成25年3月24日
 12. 市来健太郎、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、「タンパク質と PEDOT の複合化による PEDOT/Protein ナノ粒子の調製」、第62回高分子学会年次大会、平成25年5月30日
 13. 市来健太郎、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、「PEDOT/Protein ナノ粒子の調製と機能評価」、第23回バイオ高分子シンポジウム、神奈川、平成25年7月31日
 14. Kentaro Ichiki, Takuya Ukon, Masaharu Kondo, Takehisa Dewa, Toshiki Tanaka, Toshihisa Mizuno, "Facile Preparation of Water-Soluble Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT)/Protein Nanoparticle", IGER International Symposium on Cell Surface Structures and Functions、Naogy、平成25年9月2日
 15. Naoya Okiyama, Tomoyau Noji, Jun-ichi Oku, Takehisa Dewa, Toshiki Tanaka, Toshihisa Mizuno, "Creation of Bilayer Nanotube of Green Fluorescent Protein by Conjugating with pH-responsive Polymer, Poly (2-vinylpyridine) and Use of Microfluidic Synthesis ", IGER International Symposium on Cell Surface Structures and Functions、Naogy、平成25年9月2日
 16. 市来健太郎、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、「PEDOT/Protein ナノ粒子の調製の最適化」、第7回バイオ関連化学シンポジウム、名古屋、平成25年9月27日
 17. 市来健太郎、水野稔久、近藤政晴、出羽毅久、田中俊樹、「PEDOT/Protein ナノ粒子の調製と生成機構の検討」、日本化学会第94春期年会、名古屋、平成25年3月29日
- [産業財産権]
- 出願状況(計3件)
- 名称：アミノ酸配列含有両親媒性化合物
 発明者：水野稔久、梅崎勝成、小枝周平
 権利者：名古屋工業大学長
 種類：コア出願
 番号：特願2011-175682
 出願年月日：平成23年8月11日
 国内外の別：国内
- 名称：膜タンパク質可溶化剤
 発明者：小枝周平、梅崎勝成、野地智康、出羽毅久、水野稔久
 権利者：名古屋工業大学長
 種類：コア出願
 番号：特願2012-237380
 出願年月日：平成24年10月29日
 国内外の別：国内
- 名称：膜タンパク質ゲル化剤
 発明者：小枝周平、水野稔久、野地智康、小幡亜希子、出羽毅久、春日敏宏
 権利者：名古屋工業大学長
 種類：コア出願
 番号：特願2013-157755
 出願年月日：平成25年7月30日
 国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 稔久 (MIZUNO TOSHIHISA)
 名古屋工業大学大学院工学研究科・助教
 研究者番号：90345950