

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：34204

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350971

研究課題名(和文) タンパク質に隠された新しい生理活性ペプチド「クリプトイド」の探索と生理機能の解明

研究課題名(英文) Cryptides: Identification of novel cryptides and elucidation of their physiological roles

研究代表者

向井 秀仁 (Mukai, Hidehito)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・准教授

研究者番号：20251027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：1)ミトコンドリアタンパク質由来の新規好中球活性化ペプチド15種を新たに同定した。
2) Mitocryptide-1 (MCT-1)、-2 (MCT-2)ならびに新たに同定したmitocryptide-3 (MCT-3)がそれらの受容体を活性化するために必要で十分な構造単位を明らかにするとともに、MCT-2およびMCT-3に対する拮抗阻害ペプチドを創製した。
3) MCT-1、MCT-2ならびにMCT-3の生理機能を解析する上で重要なツールとなる、それぞれに対する特異的中和抗体取得に成功するとともに、さらにMCT-1およびMCT-2が低濃度において好中球のマウス腹腔への浸潤を惹起することが示された。

研究成果の概要(英文)：Recently, we have purified and identified novel neutrophil-activating cryptides, including mitocryptide-1 (MCT-1) and mitocryptide-2 (MCT-2), which were derived from mitochondrial cytochrome c oxidase subunit VIII and cytochrome b, respectively, from healthy porcine hearts. We also found the presence of many neutrophil-activating peptides produced from various mitochondrial proteins. However, physiological roles of those mitocryptides and their involvements in various diseases associated with the neutrophilic functions have not been elucidated yet. Here, we identified 15 novel neutrophil-activating peptides derived from various mitochondrial proteins. We also developed competitive antagonists against MCT-2 and MCT-3 and specific neutralizing antibodies against the functions induced by MCT-1 and MCT-2. Moreover, it was indicated that these neutrophil-activating peptides including MCT-1 and MCT-2 involve neutrophil infiltration in vivo.

研究分野：ペプチド科学

キーワード：生理活性ペプチド クリプトイド マイトクリプトイド Gタンパク質共役受容体 好中球 自然免疫
中和抗体 拮抗阻害ペプチド

1. 研究開始当初の背景

生体は、多くの化学物質を用いて構成する組織や細胞間で情報のやりとりを行うことで活動し、その「いのち」を維持している。このような生体内での情報伝達を媒介する物質の中に、インスリンやグルカゴン、サブスタンスPをはじめとした生理活性ペプチドがある。我々はこれまで、新たな生理活性ペプチドを同定することを目的にして、生体からそれらの単離・精製を試みてきた。その結果、好中球を活性化する3種類の新しい生理活性ペプチド、mitocryptide-1 (MCT-1)、mitocryptide-2 (MCT-2)および mitocryptide-CYC を精製・同定し、それらはミトコンドリアタンパク質が分解・代謝される過程で生成される断片化ペプチドであることを明らかにしている。また我々は、それら以外にもミトコンドリアタンパク質由来の多くの断片化ペプチドが好中球を活性化することを明らかにし、ミトコンドリア由来断片化ペプチドが新たな生体防御機構を形成している可能性が高いことを示した。

このように生体には、未だその役割が同定されていない生理活性ペプチド、特にタンパク質の生合成や代謝・分解の過程で産生される生理活性ペプチドが多数存在し、様々な生体調節機構に関わっていることは間違いない。このため、それら未知の生理活性ペプチドを効率的に同定することが重要である。しかし、タンパク質が生合成や代謝・分解を受けて産生される活性ペプチドを同定するには、現在網羅的な機能タンパク質同定に広く用いられている分子生物学的手法を適用することは難しい。なぜなら生理活性ペプチドは、まず活性を持たない前駆体タンパク質として遺伝子から翻訳され、その後プロテアーゼによって切断され、はじめて活性を持つ成熟体となるためである。このため生理活性ペプチドは、現在でも専らその活性を指標にして生体から精製し、その化学構造を決定することにより同定されているのが現状で、困難を極めているのが現状である。

2. 研究の目的

このような研究背景を踏まえ本研究では、1) 上述したタンパク質配列に隠された新しい生理活性ペプチド、クリプタイドを系統的に同定すること、2) それらクリプタイドの受容体および情報伝達機構を解明すること、さらに、3) クリプタイドの生理的存在意義や様々な疾病発症における役割を明らかにすることで、リウマチや虚血性心疾患など、好中球が関与する難病に対する革新的な治療法を提供すること、を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 活性ペプチドの予測・同定

本研究では、我々の先行研究により好中球活性化能を持つクリプタイドを同定しているミトコンドリアタンパク質由来ペプチド

について、その生合成から代謝・分解過程で産生されるペプチドをさらに予測・同定することを試みた。すなわち、我々が得ているGタンパク質活性化ペプチド(Gタンパク質アクチベーター)の構造情報を整理、解析することで、タンパク質の配列よりGタンパク質アクチベーターとなりうるクリプタイドを予測した。(担当:研究分担者・木曾)

また我々が同定した高い好中球活性化能を持つミトコンドリアタンパク質由来の一群の新規生理活性ペプチド、mitocryptides (MCTs)のうち、ミトコンドリアDNA(mtDNA)にコードされたタンパク質であるcytochrome *b*のN末端由来ホルミルペプチド、MCT-2は、好中球に発現しているGタンパク質共役型受容体であるformyl-peptide receptor-like 1のみに特異的に結合し活性化することで、好中球の遊走および貪食を惹起することが示されている。そして生体には、cytochrome *b*以外にも12種類のmtDNAにコードされたホルミルタンパク質が存在していることから、他にも内因性ホルミルペプチドが生体内で機能している可能性がある。そこで本研究では、cytochrome *b*以外のmtDNAにコードされた12種類のタンパク質から産生されるホルミルペプチドを、トリプシンやキモトリプシンによる切断点情報をもとに予測した。

そして、このような好中球に対し活性を持つと予測されたペプチドを化学合成し、それらが実際に活性を持つかどうかを評価した。活性評価はa)好中球細胞からのβ-ヘキソサミニダーゼ分泌能、b)好中球細胞遊走能を指標に、ヒト前骨髄球性白血病細胞であるHL-60をジブチリックcAMPで好中球様に分化した細胞で評価した。

(2) 同定した活性ペプチドの受容体の解析

本研究では、MCTsに対する受容体分子を同定するため、アビジン-ビオチン法を用いた化学架橋法により同定を試みた。すなわち、MCTsの中でも活性の高いmitocryptide3(MCT-3)にタグとしてビオチンを結合した誘導体を化学合成、これを細胞に存在する受容体と架橋、その後細胞を可溶化し、ストレプトアビジンビーズを用いて受容体を精製した。つづいて、それらを電気泳動し、目的とするタンパク質のバンドを質量分析計を用いて構造解析を行い、同定を試みた。

(3) 同定したMCTsの構造活性相関の検討

MCTsを認識する受容体を同定するためのプローブペプチドをデザインするには、MCTsの最小活性部位や受容体との結合部位に関する情報を得ることが有益である。そこで本研究では、一群のMCTsの中で、MCT-1、MCT-2ならびにMCT-3について、それに対する受容体のリガンド認識機構を明らかにするため、好中球様細胞の活性化における構造活性相関を検討した。すなわち、MCTsお

よび様々な MCTs 誘導体を化学合成し、それらの活性を上記した好中球様に分化した HL-60 細胞における貪食活性の指標である β -ヘキソサミニダーゼの分泌量を定量することによって評価した。

(4) MCTs に対する様々なモノクローナル抗体の取得と MCTs の生理的存在意義の検討

これまで我々は、MCTs の機能解析を、好中球様に分化した HL-60 細胞や、生体から単離した好中球を用いて細胞レベルにおいて詳細に解析してきたが、さらに、それらの生理的存在意義や病態との関わりを個体レベルで検討する必要がある。一般的に個体レベルで生理活性ペプチドの機能を解析する場合、それらをコードする遺伝子をノックアウトした動物を作出し解析する手法が有効である。しかし一群の MCTs の場合、その親タンパク質である cytochrome *c* oxidase をはじめとしたミトコンドリアタンパク質は、生体エネルギーの産生にとって必須であるものが多く、それらの遺伝子をノックアウトすることは難しい。このため、MCTs の生理的および病態的機能を解明するためには、それらに対する特異的中和抗体や拮抗阻害薬を開発し、それらを用いて解析することが有効であると考えられる。そこで我々は、これら MCTs の生理機能を解明するために、MCTs を特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し、そのモノクローナル抗体を用いて MCTs の機能解析を行うことを試みた。すなわち、抗原性を高めるためにキャリアタンパク質として thyroglobulin を用い、その表面にリンカーを介して Cys 残基を導入した MCT-1、MCT-2 ならびに MCT-3 を架橋させ、この複合体を抗原としてマウスに免疫し、それらに対するモノクローナル抗体の獲得を試みた。

また、MCTs が好中球をはじめとする様々な免疫細胞の挙動にどのような影響を及ぼすかを個体レベルで検討するため、獲得した中和抗体を用いて解析した。まず、マウスの腹腔に MCT-1 あるいは MCT-2 を投与した後、経時的に浸出液を回収、細胞染色することでどのような細胞が浸潤してくるかを観察した。また、走化性を示した細胞について、その浸潤の程度を fluorescence activated cell sorting (FACS) を用いて、経時的かつ定量的に解析するとともに、中和抗体を予め投与した場合と比較することで、直接惹起する細胞浸潤を検討した。

4. 研究成果

上述したように、我々は最近、ミトコンドリアタンパク質由来の好中球を活性化する 3 種類の新しい生理活性ペプチド、MCT-1、MCT-2 および mitocryptide-CYC を生体組織より単離・精製することで同定している。さらに、ミトコンドリアタンパク質配列の中に、未同定の新規好中球活性化ペプチドが多数存在していることも見出している。そこで本

研究は、さらにタンパク質、特にミトコンドリアタンパク質に隠された新しい内因性生理活性ペプチド、「mitocryptides」を系統的、網羅的に同定するとともに、それらの情報伝達機構および生理的存在意義と病態との関わりを個体レベルで解明することを目的としている。そして本科学研究費補助金を得て研究を遂行した結果、以下に示す成果が得られた。

(1) 活性ペプチドの予測・同定

好中球を活性化するペプチドを予測するため、まず G タンパク質活性化ペプチドの構造情報を整理、解析することで、ミトコンドリアタンパク質の配列より、G タンパク質を活性化する異なる配列を持つペプチド (クリプタイド) を予測、化学合成し好中球活性化能を検討した。その結果、選択した活性クリプタイドを予測するための物理学的パラメーターを満たす 10 種が新たに好中球活性化ペプチドであることが示された。

また cytochrome *b* 以外の mtDNA にコードされた 12 種類のタンパク質について、トリプシンおよびキモトリプシンによる切断点より、生体内で産生される可能性のあるペプチドを予測、それらを化学合成し好中球様に分化した HL-60 細胞からの β -ヘキソサミニダーゼ分泌を指標に活性を評価した。その結果、これらのうち、cytochrome *c* oxidase subunit I、(COX1)ならびに NADH dehydrogenase subunit 4、5 および 6 (ND4、ND5、ND6)、に由来する COX-1(1-13)、ND4 (1-20)、ND5(1-28)ならびに ND6(1-6)は、MCT-2 とほぼ同等、あるいはそれ以上の高い好中球活性化能を持つことが示された。

(2) 同定した活性ペプチドに対する受容体および情報伝達機構の解析

まず、新たに同定した MCTs により好中球様細胞で惹起される細胞内情報伝達機構の解析を行った結果、全てのペプチドによる細胞内情報伝達機構に G_{12} タイプ G タンパク質が関わっていることが明らかとなった。

次に、同定した MCTs に対する受容体分子を同定するため、まず MCTs の中でも活性の高い MCT-3 にタグとしてビオチンを結合した誘導体を化学合成、これを細胞に存在する受容体と架橋、架橋後細胞を可溶化し、ストレプトアビジンビーズを用いて受容体を精製した。そして、それらを電気泳動し、目的とするタンパク質の構造解析を行い、同定を試みた。その結果、HSP-70 を含む MCT-3 と結合する複数のタンパク質の存在が示された。現在残りのタンパク質についても構造解析を進めるとともに、HSP-70 については、MCT-3 により惹起される細胞内情報伝達との関連を解析しているところである。

(3) MCTs の構造と活性の相関

我々が同定した MCTs の個体レベルにおけ

情報伝達機構や生理的存在意義、さらには病態との関わりを検討するには、それらに対する受容体を同定することが重要である。そして受容体を同定するためには、受容体との架橋に用いるプローブペプチドが必要となるが、それをデザインするためには、MCTsの最小活性部位や受容体との結合部位に関する情報を得ることが有益である。そこで本研究では、一群のMCTsの中で、MCT-1、MCT-2ならびにMCT-3について、それに対する受容体のリガンド認識機構を明らかにするため、好中球様に分化したHL-60細胞の活性化における構造活性相関を検討した。その結果、MCT-1、MCT-2ならびにMCT-3について、そのN末端アミノ酸が受容体の活性化に必須であること、またMCT-2については、N末端のホルミル基も必須であることが示された。さらにそれぞれのペプチドが受容体を活性化する最小構造はMCT-1(1-6)、MCT-2(1-4)、MCT-3(1-9)であること、それぞれのC末端側配列は受容体の活性化には必ずしも必要ではないが、受容体との親和性の維持に貢献していることが明らかとなった。そして、これら構造活性相関で得られた情報をもとにMCT-3受容体同定に用いるビオチン化プローブペプチドをデザインするとともに、MCT-2およびMCT-3に対する拮抗阻害誘導体の創製にも成功した。

(4) MCTs に対する様々なモノクローナル抗体の取得とMCTsの生理的存在意義の検討

我々は、MCTsの機能解析を、好中球様に分化したHL-60細胞や、生体から単離した好中球を用いた細胞レベルにおいて詳細に解析してきた。本研究では、さらに、それらの生理的存在意義や病態との関わりを個体レベルで解明するために、MCTsを特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し、そのモノクローナル抗体を用いてMCTsの機能解析を行うことを試みた。その結果、MCT-1による好中球活性化、すなわちβ-ヘキソサミニダーゼ分泌および遊走活性を特異的に阻害するモノクローナル抗体NM1B1の取得に成功した(図1)。また、MCT-2およびMCT-3に対しても、それらの中和抗体を取得するとともに、MCT-2の親タンパク質であるcytochrome bを認識しない、ペプチド特異的抗体の取得にも成功した。

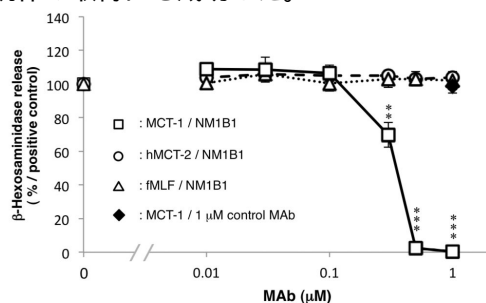


図1 . MCT-1 によるβ-ヘキソサミニダーゼ分泌を阻害する中和抗体 NM1B1 の阻害特異性

また、MCT-1 および MCT-2 をマウス腹腔に投与し、浸潤してくる細胞を染色・同定するとともに、FACS を用いて定量的に解析した。その結果、MCT-1 および MCT-2 が低濃度において好中球の腹腔への浸潤を惹起すること、MCT-1 は好中球の浸潤を惹起する濃度より高い濃度において、肥満細胞を活性化することが初めて示された。現在、得られた中和抗体ならびに拮抗阻害ペプチドを用いて、様々な内因性炎症とMCTsの関わりを解析しているところである。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計17件)

Marutani, T., Hattori, T., Tsutsumi, K., Koike, Y., Harada, A., Noguchi, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Mitochondrial protein-derived cryptides: are endogenous N-formylated peptides including mitocryptide-2 components of mitochondrial damage-associated molecular patterns?, *Biopolymers (Pep. Sci.)*, 査読有、in press, (2016). DOI: 10.1002/bip.22788

Hattori, T., Morikawa, H., Marutani, T., Tsutsumi, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Effects of mitocryptide-1 on inflammatory cells in mice, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2015, 253–254, (2016). <https://www.prf.or.jp/>

Marutani, T., Nakashima, K., Tsutsumi, K., Hattori, T., Nishino, K., Shimizu, T., Kiso, Y., and Mukai, H., Mitocryptide-3: characterization of its receptor molecules, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2015, pp. 251–252, (2016). <https://www.prf.or.jp/>

Hattori, T., Araki, R., Watanabe, K., Marutani, T., Nakashima, K., Nishi, Y., Kiso, Y., and Mukai, H., Functional analysis of mitocryptides with their neutralizing monoclonal antibodies, *Peptides*, 査読有、Vol. 2014, pp. 360–361, (2015).

<http://bulpepsoc.info/wp-content/uploads/2015/06/PEPTIDES-2014-electronic-version.pdf>

Marutani, T., Hattori, T., Koike, Y., Harada, A., Watanabe, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Mitocryptide-2: structure-activity relationships for the elucidation of ligand recognition mechanisms of formyl-peptide receptor like 1, *Peptides*, 査読有、Vol. 2014, 6–8, (2015).

<http://bulpepsoc.info/wp-content/uploads/2015/06/PEPTIDES-2014-electronic-version.pdf>

Tsutsumi, K., Marutani, T., Hattori, T., Kiso, Y., and Mukai, H., Investigation of ligand recognition mechanisms of receptors for mitocryptide-1, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2014, pp. 177-178, (2015). <https://www.prf.or.jp/>

Nakashima, K., Marutani, T., Hattori, T., Noguchi, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Structure-activity relationships of mitocryptide-3 on the activation of neutrophilic cells, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2014, pp. 175-176, (2015).

<https://www.prf.or.jp/>

Hattori, T., Nakashima, K., Marutani, T., Kiso, Y., Successful acquisition of a neutralizing monoclonal antibody against a novel neutrophil-activating peptide, mitocryptide-1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有、Vol. 463, pp. 54-59, (2015).

DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.05.016

服部竜弥、向井秀仁、クリプトイドタンパク質に隠された新しい生理活性ペプチド、*日本薬理学雑誌*、査読有、Vol. 144, pp. 234-238, (2014). DOI: org/10.1254/fpj.144.234

Kawashima, H., Sohma, Y., Nakanishi, T., Kitamura, H., Mukai, H., Yamashita, M., Akaji, K., and Kiso, Y., Aggregation inhibitor of amyloid- β peptide based on *O*-acyl isopeptide, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2013, pp. 101-104, (2014). <https://www.prf.or.jp/>

Marutani, T., Hattori, T., Koike, Y., Harada, A., Watanabe, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Endogenous *N*-formylated cryptides: Investigation of their biological functions, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2013, pp. 249-250, (2014). <https://www.prf.or.jp/>

Hattori, T., Araki, R., Nakashima, K., Marutani, T., Ogino, S., Koike, Y., Hirooka, Y., Miyake, N., Murata, K., Watanabe, K., Kiso, Y., Nishi, Y., and Mukai, H., Mitocryptides: Elucidation of their biological functions with their monoclonal antibodies, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2013, pp. 247-248, (2014).

<https://www.prf.or.jp/>

Mukai, H., Hokari, Y., Seki, T., Fukamizu, A., and Kiso, Y., Identification and structure-activity studies of novel cryptides hidden in mitochondrial proteins, *Peptides: Across the Pacific*, 査読有、Vol. 2013, pp. 314-315, (2013). http://www.5z.com/23APS/23APS_online.pdf

Kawashima, H., Sohma, Y., Nakanishi, T., Kitamura, H., Mukai, H., Yamashita, M., Akaji, K., and Kiso, Y., A new class of aggregation inhibitor of amyloid- β peptide based on an *O*-acyl isopeptide, *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有、Vol. 21, pp. 6323-6327, (2013).

DOI: org/10.1016/j.bmc.2013.08.062

Hattori, T., Shirota, S., Marutani, T., Kiso, Y., Nishi, Y., and Mukai, H., Functional analysis of mitocryptides with their monoclonal antibodies, *Peptide Science*, 査読有、Vol. 2012, pp. 277-278, (2013). <https://www.prf.or.jp/>

Sohma, Y., Yamazaki, M., Kawashima, H., Taniguchi, A., Yamashita, M., Akaji, K., Mukai, H., and Kiso, Y., Comparative properties of A β 1-42, A β 11-42, and [Pyr¹¹]A β 11-42 generated from *O*-acyl isopeptides, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 査読有、Vol. 23, pp. 1326-1329, (2013).

DOI: org/10.1016/j.bmcl.2012.12.082

向井秀仁、木曾良明、クリプトイド：タンパク質に隠された新しい機能ペプチド、バイオサイエンスとインダストリー、査読有、

Vol. 71, pp. 18-22, (2013).

<http://www.jba.or.jp/pc/bi/>

〔学会発表〕(計34件)

向井秀仁、服部竜弥、丸谷飛之、堤光己、木曾良明、ミトクリプトイド：ミトコンドリアタンパク質配列に隠された一群の免疫調節因子、日本薬学会第136年会一般シンポジウム S46 新創薬資源を発掘する、マイクロプロテイン研究の新潮流、2016年3月29日、横浜、招待講演

Mukai, H. and Kiso, Y., Cryptides: endogenous bioactive peptides hidden in protein structures, The 8th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences, 2016年1月21日、吹田、招待講演

Hattori, T., Morikawa, H., Yamada, T., Marutani, T., Kiso, Y., and Mukai, H., Mitocryptides: candidate factors for neutrophil-activating peptides in mitochondrial DAMPs, The 8th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences, 2016年1月21日、吹田(若手発表賞受賞)

Marutani, T., Nakashima, K., Tsutsumi, K., Hattori, T., Nishino, K., Shimizu, T., Kiso, Y., and Mukai, H., Identification of receptor molecules for mitocryptides, a novel family of neutrophil-activating peptides derived from mitochondrial proteins, The 8th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences, 2016年1月21日、吹田

丸谷飛之、中島健太、堤光己、服部竜弥、西野弘大、清水稔弘、木曾良明、向井秀仁、新規好中球活性化ペプチド、mitocryptides-3に対する受容体の同定、第38回日本分子生物学会、第88回日本生化学会大会合同大会、2015年12月3日、神戸(若手発表賞受賞)

服部竜弥、森川広樹、丸谷飛之、堤光己、西義介、木曾良明、向井秀仁、ミトクリプトイドが免疫細胞に及ぼす影響の解析、第38回日本分子生物学会、第88回日本生化学会大会合同大会、2015年12月3日、神戸

向井秀仁、一群の新しい生理活性ペプチド、クリプトイド：からだをコントロールするシャドープレーヤー、日本ペプチド学会市民フォーラム 2015、2015年11月15日、平塚、招待講演

Mukai, H., Marutani, T., Tsutsumi, K., Nakashima, K., Hattori, T., and Kiso, Y., Mitocryptides: structure-activity relationships of a novel family of neutrophil-activating peptides, 5th Modern Solid Phase Peptide Synthesis and its Application Symposium, 2015年10月23日、Queensland, Australia, 招待講演

Mukai, H., Hattori, T., Marutani, T., Nakashima, K., Tsutsumi, K., and Kiso, Y., Mitocryptides: physiological and pathophysiological significance of a novel family of neutrophil-activating peptides, 14th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins,

2015年8月4日, Vienna, Austria, 招待講演
Mukai, H., Cryptides and their accumulative signaling mechanisms for novel therapeutic targets, 7th Annual AsiaTIDES, 2015年3月3日, 大阪, 招待講演

中島健太、丸谷飛之、服部竜弥、野口公輔、木曾良明、向井秀仁、マイトクリプタイド-3の好中球様細胞活性化における構造活性相関の検討、第51回ペプチド討論会、2014年10月22日、徳島市

中島健太、丸谷飛之、服部竜弥、青木慎一郎、梅田龍平、仁本義章、野口公輔、福井茜音、山中陽介、木曾良明、向井秀仁、一群の新規好中球活性化ペプチド、マイトクリプタイドに対する受容体のリガンド認識機構の解明、第87回日本生化学会大会、2014年10月16日、京都

丸谷飛之、堤光己、服部竜弥、小池祐介、原田明彦、渡辺建佑、野口公輔、山中陽介、木曾良明、向井秀仁、新規の内因性ホルミルペプチドによる好中球活性化機序、第87回日本生化学会大会、2014年10月16日、京都

服部竜弥、荒木良太、福井茜音、中島健太、丸谷飛之、木曾良明、西義介、向井秀仁、好中球活性化ペプチド、マイトクリプタイド-1に対する中和抗体の取得とそれを用いた生理機能解析、第87回日本生化学会大会、2014年10月16日、京都

Mukai, H., Hattori, T., Marutani, T., Nakashima, K., Tsutsumi, K., and Kiso, Y., Mitocryptides: physiological significance of a novel family of neutrophil-activating peptides, The 15th Akabori Conference (German-Japanese Symposium on Peptide Science), 2014年9月8日, Boppard, Germany, 招待講演

Hattori, T., Araki, R., Watanabe, K., Marutani, T., Nakashima, K., Nishi, Y., Kiso, Y., and Mukai, H., Functional analysis of mitocryptides with their neutralizing monoclonal antibodies, 33rd European Peptide Symposium, 2014年9月3日, Sophia, Bulgaria

Marutani, T., Hattori, T., Koike, Y., Harada, A., Watanabe, K., Kiso, Y., and Mukai, H., Mitocryptide-2: structure-activity relationships for the elucidation of ligand recognition mechanisms of formyl-peptide receptor like 1, 33rd European Peptide Symposium, 2014年9月1日, Sophia, Bulgaria, 招待講演

Hattori, T., Araki, R., Nakashima, K., Marutani, T., Ogino, S., Koike, Y., Hirooka, Y., Miyake, N., Murata, K., Watanabe, K., Kiso, Y., Nishi, Y., and Mukai, H., Mitocryptides: Elucidation of their biological functions with their monoclonal antibodies, 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium, 2013年11月7日、吹田

Marutani, T., Hattori, T., Koike, Y., Harada, A., Watanabe, K., Kiso, Y., and *Mukai, H., Endogenous N-formylated cryptides: Investigation of their biological functions, 4th

Asia-Pacific International Peptide Symposium, 2013年11月7日、吹田

Mukai, H., Hattori, T., Araki, R., Nakashima, K., Marutani, T., and Kiso, Y., Systematic identification of neutrophil-activating cryptides utilizing multiple solid-phase peptide synthesis, 4th Modern Solid-Phase Peptide Synthesis and Its Application Symposium, 2013年11月3日、神戸

²¹ 向井秀仁、クリプタイドと創薬—タンパク質に隠された新しい生理活性ペプチド、クリプタイドの系統的探索および生体機能の解析と創薬への応用、生命分子機能研究会2013学術集会、2013年9月19日、滋賀県長浜、招待講演

²² 服部竜弥、荒木良太、丸谷飛之、荻野智史、小池祐介、廣岡祐一、木曾良明、西義介、向井秀仁、好中球活性化ペプチド、マイトクリプタイドに対するモノクローナル抗体の作製とそれを用いた生理機能解析、第86回日本生化学会大会、2013年9月12日、横浜

²³ 丸谷飛之、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁、ミトコンドリアタンパク質に由来する内因性ホルミルペプチドの生体機能解析、第86回日本生化学会大会、2013年9月12日、横浜

²⁴ Mukai, H., Hokari, Y., Seki, T., Fukamizu, A., and Kiso, Y., Identification and structure-activity studies of novel cryptides hidden in mitochondrial proteins, 6th International Peptide Symposium / 23rd American Peptide Symposium, 2013年6月24日, Hawaii, USA

²⁵ 向井秀仁、クリプタイド：その存在意義と産業的応用、新科学技術推進協会ライフサイエンス技術部会・材料分科会講演会、2013年4月10日、東京、招待講演
他 9件

〔図書〕(計1件)

向井秀仁、裳華房、ホルモンから見た生命現象と進化 第7巻4章 生理活性物質とミトコンドリア、2016、印刷中

〔その他〕

ホームページ等

・長浜バイオ大学ペプチド科学研究室：

http://b-lab.nagahama-i-bio.ac.jp/~h_mukai

6. 研究組織

(1) 研究代表者

向井 秀仁 (MUKAI Hidehito)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・准教授

研究者番号：20251027

(2) 研究分担者

木曾 良明 (KISO Yoshiaki)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・客員教授

研究者番号：40089107