

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26410177

研究課題名(和文) 膜蛋白質の機能分子としての利用を指向した新規ゲル化手法の開発とナノ材料創成

研究課題名(英文) Development of novel method to make gelatin of membrane proteins suitable to utilize as functional molecules and construction of nano-materials

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)・准教授

研究者番号：90345950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：膜蛋白質を、機能を失わせることなくゲル媒体中に固定化できる新規の技術開発として、化学反応性の膜蛋白質可溶化試薬の開発と、これを用いた膜蛋白質固定化3次元構造化ゲルの構築を検討した。化学反応性の膜蛋白質可溶化試薬には、以前に我々が開発したDKDKC12Kをベースに、アルキン基を1つあるいは2つ持つAlk-DKDKC12K、Bis-Alk-DKDKC12Kを開発した。上記アルキン化可溶化試薬で膜蛋白質を可溶化したままBisアジド誘導体で付加環化反応で架橋することで、膜蛋白質の変性を抑えたゲル化、さらに3Dプリンタと組み合わせることで3次元構造化した膜蛋白質ゲルの構築に成功した。

研究成果の概要(英文)：In order to establish novel method that can immobilize membrane proteins into gel materials without protein denaturation, we studied development of novel chemically reactive-solubilization surfactants for membrane proteins and construction of 3D gels encapsulating membrane protein by using the above reactive-solubilization surfactants. The reactive-solubilization surfactants were designed from DKDKC12K; the mono-alkyne-modified DKDKC12K, Alk-DKDKC12K, and the bis-modified Bis-Alk-DKDKC12K were prepared, respectively. By an in situ cross-linking reaction of Bis-azide-PEG derivatives with Alk-DKDKC12K or Bis-Alk-DKDKC12K on binding to membrane integral domain of membrane proteins in an aqueous buffer, we succeeded in making gelation of membrane proteins without protein denaturation. By applying the above gelation process to 3D printing techniques, we also succeeded in construction of 3D-structured gels encapsulating membrane proteins.

研究分野：Biofunctional chemistry

キーワード：Membrane protein Surfactant Bioorthogonal reaction Gelation 3D gel

1. 研究開始当初の背景

現在膜蛋白質を機能分子として利用する研究が進められている。これは、光エネルギー変換機能を持つ光合成関連膜蛋白質、ホルモンなどに対するレセプター膜蛋白質、イオンチャンネルやポンプなどの膜蛋白質の高次機能を活かした膜蛋白質デバイス構築へと興味が広がっているためと考えられる。通常生体膜内に収まっている膜蛋白質を機能分子として利用するためには、某かの担体材料へとどめることが望ましい。これは操作性の向上と共に、担体への固定化により膜蛋白質の安定性向上、機能向上も期待されるためである。これまでに報告されている膜蛋白質デバイス構築系の問題点として、多くの系が固体担体の「表面への固定化」を利用している点が挙げられる。この方法は、固定化された膜蛋白質が常に外的環境に晒され続けざるを得ないため、本質的に膜蛋白質の長期安定性、実用的利用は期待できない。また、元々生体膜に存在する状況を意識し単分子膜で固定化することに固執するあまり、例えばセンサーデバイス構築の際に必須となる、「十分な検出感度を得るために必要な分子数」が、「表面への固定化」では稼げないなどの本質的矛盾もある。我々はこれに対する解決策として、担体の「表面」ではなく「内部」に固定化する手法を検討したい。これは、担体内部に固定化することで上記2点の問題点を解決できると期待されるためである。

2. 研究の目的

膜蛋白質を、機能を失わせることなくゲル媒体中に固定化できる技術開発を行う。これにより、ゲルという「材料の内部」に固定化することで膜蛋白質が外的環境に常に曝されることから保護しつつ、膜蛋白質の機能を発揮させることを可能な方法論確立を目指したい。我々はこの技術開発の切り口として、化学反応性の官能基導入が容易な新規の膜蛋白質可溶化試薬の利用を考えた。膜蛋白質可溶化試薬とは、疎水性の膜貫通領域に結合することで膜蛋白質を水中に可溶化できる界面活性剤であるが、見方を変えると膜蛋白質を変性させることなく『膜貫通領域に選択的に結合する分子』と見なすことも可能である。従って、これらの試薬に化学反応性の官能基を導入し、それらの間、あるいはそれらとのみ選択的に反応する試薬により、*in situ*で化学反応を介し架橋させることで、膜蛋白質の変性を抑えたゲル化が可能と期待した。また、さらに種々のナノ組織化技術(ナノチューブやナノシートの作製)と組み合わせることで、ゲルの外部にある、バルク溶液中に溶けている低分子化合物の拡散も充分確保できるため、材料内部に留めて膜蛋白質の変性を抑えつつ、その機能を発現できるシステム構築が期待された。

3. 研究の方法

以下の4つの研究計画の実施を通して、膜蛋白質を機能分子として利用できる新たなゲル化手法の確立を図った。

- ①生体直交反応が可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬の設計合成
- ②生体直交反応が可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬を利用した、膜蛋白質ゲル化手法の検討
- ③生体直交反応可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬及を利用し作製した膜蛋白質ゲルからのナノ構造体の作製
- ④ナノ構造体内に閉じ込められた膜蛋白質の機能評価

4. 研究成果

①生体直交反応が可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬の設計合成

これまでに我々がオリジナルに開発に成功したPG-surfactantベースの膜蛋白質可溶化試薬(DKDKC₁₂K)のN-末端側に、Huisgen環化反応を可能とするアジド基/アルキンペアの内の、アルキン部位を1つ導入した誘導体(Alk-DKDKC₁₂K)、N-末端側、C、末端側ともにアルキン部位を1つずつ導入した誘導体(Bis-Alk-DKDKC₁₂K)の設計合成を行った(図1、表1)。

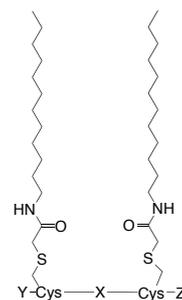


図1 PG-surfactant の構造

表1 評価を行ったペプチドジェミニ界面活性剤 (PG-surfactant) の一覧

	X部のペプチド配列	Y部のペプチド配列	Z部のペプチド配列
DKDKC₁₂K		Ac-Lys	-NH ₂
Alk-DKDKC₁₂K			-NH ₂
Bis-Alk-DKDKC₁₂K	-Asp-Lys -Asp-Lys-		

アルキン部位を導入したPG-surfactantが、元々の膜蛋白質可溶化試薬としての機能を失っていないことの確認が必要である。そこで臨界凝集濃度(cac)、溶液中での会合形態、膜蛋白質を変性させることなく可溶化が可能か、などについて順番に検討を行っていった。アルキン部位を持つPG-surfactant Alk-DKDKC₁₂K、Bis-Alk-DKDKC₁₂Kのcac値の算出は、環境応答性の蛍光色素であるANSを用いて行った(表2)。アルキニル基未

修飾の PG-surfactant **DKDKC₁₂K** と比べ、**Alk-DKDKC₁₂K**、**Bis-Alk-DKDKC₁₂K** ともに cac 値は約 3 倍大きな値が観測されたが大きな機能低下は見られなかった。

表 2 各 PG-surfactant の cac 値

Surfactant	cac/mM
Alk-DKDKC₁₂K	0.0263
Bis-Alk-DKDKC₁₂K	0.0225
DKDKC₁₂K	0.0083

動的光散乱 (DLS) 測定による粒径評価からもミセル形成挙動の検討を行ったところ、**Alk-DKDKC₁₂K**、**Bis-Alk-DKDKC₁₂K** 共に、算出された cac 値以上の濃度では、約 7-8 nm 程度のサイズの会合体、すなわちミセル構造のみを選択的に形成することが確認された。

そこで次にこれらアルキン化 PG-surfactant を実際に膜蛋白質可溶化し、膜蛋白質にどのような影響をあたえるか検討した。代表的な膜蛋白質としてシアノバクテリア由来の光化学系 I (PSI) を用いた。

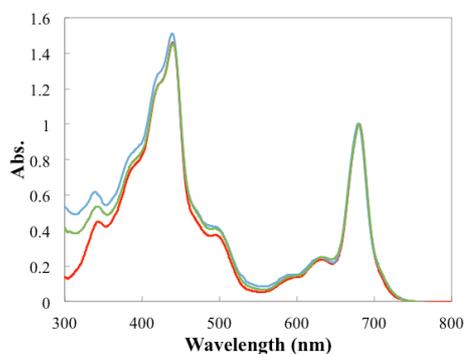


図 2 β -DDM(青)、**Alk-DKDKC₁₂K**(赤)、**Bis-Alk-DKDKC₁₂K**(緑)で可溶化を行った PSI の吸収スペクトル

PSI はクロロフィル a やカロテノイドなどの多くの色素成分を含むことから、種々の分光学的性質が native 状態のものと一致していることは、蛋白質が適切な立体構造を維持していることの大きな証明の一つとなる。なお PSI は、0.1% β -DDM を含むバッファー溶液に溶解した状態が native 状態のコントロールとなる。そこで 0.1% β -DDM を含むバッファー溶液中における PSI の吸収スペクトルを、各アルキン化 PG-surfactant で可溶化したサンプルと比較を行った (図 2)。その結果、ともに 0.1% β -DDM を含むバッファー溶液中のスペクトルと一致が見られ、色素の脱離なく可溶化できていることがわかった。

さらに PSI の膜外ドメインへの影響を詳細に評価するために、PSI のスペシャルペア P700 の光励起後の、過渡吸収スペクトル測定を行った。P700 は光励起後電荷分離を起こし P700⁺が生成するが、逆電子移動により元の P700 へ戻る速度 (この逆数が、P700⁺の寿命) を解析することで、膜外ドメインの変性割合の評価が可能となる。3 成分の寿命を仮定し

た非線形カーブフィッティングにより、得られた結果について、表 3 にまとめた。その結果、いずれのアルキン化 PG-surfactant を含むバッファーで可溶化した場合でも、膜外ドメインの変性に対応する 1 ms の寿命成分が見られず、膜外ドメインに変性をきたしていないことを意味した。

表 3 各界面活性剤で可溶化された PSI の P700⁺の寿命

	Lifetime of P700 ⁺ (ms) (各寿命成分の比)
β -DDM	1 (0), 30 (0.45), 447 (0.55)
Alk-DKDKC₁₂K	1 (0), 30 (0.17), 306 (0.83)
Bis-Alk-DKDKC₁₂K	1 (0), 30 (0.47), 846 (0.53)

②生体直交反応が可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬を利用した、膜蛋白質のゲル化手法の検討

ここでは Hüisgen 環化付加反応を介した、ゲル化を目指すため、両末端にアジド基を持つ PEG 誘導体となる Polyoxyethylene bis(azide) (Bis-Azide-PEG) を用いアルキン化 PG-surfactant 同士を、PEG 鎖を介して架橋することで、PSI のゲル化を試みた。可溶化を行った PSI 溶液 (2.5 wt% **Alk-DKDKC₁₂K** と 2.5 wt% **Bis-Alk-DKDKC₁₂K** を共に含む緩衝液で可溶化した) に Bis-azide-PEG₂₀₀₀ 溶液を添加し、その後塩化銅(II)二水和物、アスコルビン酸ナトリウムを加えることで PSI のゲル化を行った。

ゲル化された PSI を種々の分光学的手法により評価を行うため、透明なガラス板 (EAGLE XG、コーニング社製) にゲルを塗布し、そのサンプルを用いて検討をおこなった (図 3)。

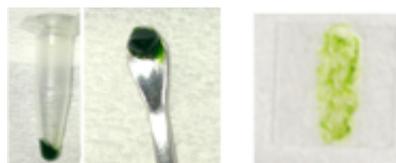


図 3 アルキン化 PG-surfactant により可溶化された PSI を Bis-Azide-PEG₂₀₀₀ との Hüisgen 環化付加反応でゲル化したもの(左)、得られたゲルをガラス板に塗布したもの(右)

ガラス板に塗布した PSI ゲルのサンプルについて、ゲル化により PSI が変性を起こしていないか、反応前後の吸収スペクトル測定を行い、この比較を行った。膜蛋白質からアンテナクロロフィル色素の脱離がみられる場合 680nm の吸収バンドがブルーシフトしたり、吸光度が低下したりすることが知られている。しかし、両スペクトルを比較した際に各ピーク波長の一致と共に、吸光度の維持が見られたことから、Hüisgen 環化付加反応後に PSI が変性することはないことがわかった。

Hüisgen 環化反応を介してゲル化した PSI について、膜外ドメインの脱離に伴う変性が

起こっていないか確認をするため、過渡吸収スペクトル測定による P700* の寿命評価を行った (表 4)。その結果、ゲル内に内包していても膜外ドメインの脱離に伴う変性を示唆する 1 ms の寿命成分が全く観測されなかったことから、Huisgen 環化反応を介してゲル化された PSI については、膜外ドメインである PsaC の脱離に伴う変性も起こっていないことがわかった。

表 4 ゲル内に内包された PSI の P700* の寿命

	Lifetime of P700* (ms) (各寿命成分の割合)
PSI ゲル	1 (0), 30 (0.17), 306 (0.18), 4235 (0.66)

③生体直交反応可能な官能基を修飾した新規の膜蛋白質可溶化試薬及を利用し作製した膜蛋白質ゲルからのナノ構造体の作製

前項までの検討から、Alk-DKDKC₁₂K や Bis-Alk-DKDKC₁₂K といったアルキル化 PG-surfactant 溶液と bis-azide-PEG₂₀₀₀ からなるアジド化合物の溶液を、数 μL ずつと少量の体積同士で混合することで、非常に素早く Huisgen 環化付加反応を介したゲル化が可能と分かってきた。そこで、この反応を押出形の 3D プリンターに適応し、それぞれの溶液を混合直後に 3D プリンターのノズルから射出できる系を構築することを考えた。溶液①として [2.5 wt% Alk-DKDKC₁₂K、2.5wt% Bis-Alk-DKDKC₁₂K、8 wt% bis-azide-PEG₂₀₀₀ (アルキニル基に対してアジド基が 2 等量)、125 mM アスコルビン酸ナトリウムを混合した溶液]、溶液②として [2.5 wt% Alk-DKDKC₁₂K、2.5wt% Bis-Alk-DKDKC₁₂K、8 wt% bis-azide-PEG₂₀₀₀、25 mM 塩化銅(II)水和物を混合した溶液]をそれぞれ準備し、これらをキャピラリーのコネクターを介して混合することで、Huisgen 環化付加反応が進行する。さらにこれら 2 つを、シリンジポンプで押し出すことで、ゲルが瞬時に固まりながら、任意のパターン構築が可能と期待された (図 4)。

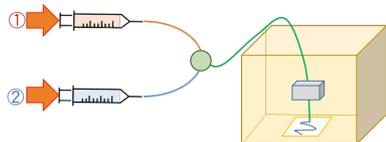


図 4 3D プリンターをマイクロキャピラリー流路を組み合わせた装置の概略図

はじめに、連続的な矩形のパターンにゲルを押し出し、それを積層していくことで格子状の立体格子を積み上げる検討を行った。しかし、残念ながら形成されるゲルの硬度が足りないために、1 段目のパターンはうまく構築可能であるが、2 段目以降のパターンを積み上げていく際に、1 段目のゲルと融合してしまい、それ以降の積み上げが不可能であった。そこで 1 段目ごとのパターンを構築する

たびに二次架橋を行い、ゲルの強度を増す方法をとった。1 段目を構築したのちにグルタルアルデヒド溶液 (0.56 M、1 回につき 1 mL) にゲルを室温で 10 分間浸け、その後グルタルアルデヒド溶液を取り除いた後で再び、2 段目を積み上げた。グルタルアルデヒドは、Alk-DKDKC₁₂K、Bis-Alk-DKDKC₁₂K に含まれる Lys 側鎖のアミノ基同士を架橋させると期待され、この 2 次架橋により強固なゲルになることで、計 6 段目までの積層体の構築を行った。また、PSI を固定化したゲルについても、同様の方法をとることで、立体格子ゲルとして構築することに成功した (図 5)。

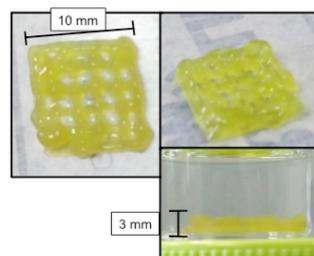


図 5 作成した立体格子ゲル (PSI あり)

④ナノ構造体内に閉じ込められた膜蛋白質の機能評価

PSI の光誘起電子移動活性を酸素電極により評価することで、ゲル内部に固定化された PSI の変性度合いの評価を行った。P700 の光励起に伴う溶存酸素濃度の減少速度を酸素電極により追跡することで、PSI 内部での電子移動速度を擬似的に見積もることが可能である。前項で作成した PSI 内包立体格子を酸素電極により光誘起電子移動活性の評価を行った。この酸素減少速度を表 6 にまとめた。

表 6 可溶化溶液と立体格子ゲル中での PSI の酸素減少速度

	酸素減少速度 ($\mu\text{M}\cdot\text{O}_2/\text{s}$)
1 wt% β -DDM 溶液中の PSI	4.38
立体格子ゲル中の PSI	1.53

1 wt% β -DDM 溶液中の PSI と比較して、格子ゲル内での酸素減少速度は 1/3 程度が維持されることがわかった。これまでの種々の分光学的な評価から、Huisgen 環化付加反応を介して作製された PSI ゲル中の PSI には、膜内ドメイン、膜外ドメインともに変性は見られていない。したがってここで観測された酸素減少速度の低下は、ゲル内部での物質拡散速度の低下によるものと考えられた。現状は、ゲル化条件の最適化がまだ不十分であるがゆえに、3D プリントのベストスペックとなる数 10 μm 径のゲルファイバーからなる積層構造の構築には成功していない。しかし、今

後より細いゲルファイバーを積層した立体格子ゲルの作製が可能となれば、ゲル内部に固定化しているのにも関わらず溶液中と大きく機能が低下しない、膜蛋白質のゲル構造体内部への新規の固定化法としての確立が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7件)

1. “Poly(γ -glutamic acid)-Silica Hybrids with Fibrous Structure: Effect of Cation and Silica Concentration on Molecular Structure, Degradation Rate and Tensile Properties”, A. Obata, S. Ito, N. Iwanaga, T. Mizuno, J. R. Jones, T. Kasuga, *RSC advances*, **4**, 52491-52499 (2014).

2. 「生理活性を保持した不織布の開発」、水野稔久、小幡亜希子、*Chemical Engineering*, **60**, 911-920 (2015)

3. “Light-induced hydrogen production by Photosystem I-Pt nanoparticle conjugates immobilized in porous glass plate nanopores”, T. Noji, T. Suzuki, M. Kondo, T. Jin, K. Kawakami, T. Mizuno, H. Oh-oka, M. Ikeuchi, M. Nango, Y. Amao, N. Kamiya, T. Dewa, *Res. Chem. Intermed.*, **42**, 7731-7742 (2016)

4. “Construction and Characterization of Protein-Encapsulated Electrospun Fibermats Prepared from a Silica/Poly(γ -glutamate) Hybrid”, S. Koeda, K. Ichiki, N. Iwanaga, K. Mizuno, M. Shibata, A. Obata, T. Kasuga, T. Mizuno, *Langmuir*, **32**(1), 221-229 (2016).

5. “Fabrication and *in vitro* Characterization of Electrospun Poly (γ -glutamic acid)-Silica Hybrid Scaffolds for Bone Regeneration”, C. Gao, S. Ito, A. Obata, T. Mizuno, J. R. Jones, T. Kasuga, *Polymer*, **91**, 106-117 (2016).

6. “Design of New Extraction Surfactants for Membrane Proteins from Peptide-Gemini Surfactants (PG-surfactants)”, M. Shibata, S. Koeda, T. Noji, K. Kawakami, Y. Ido, Y. Amano, N. Umezawa, T. Higuchi, T. Dewa, S. Itoh, N. Kamiya, T. Mizuno, *Bioconjugate Chemistry*, **27**, 2469-2479 (2016).

7. “Rational Design of Novel High-Molecular-Weight Solubilization Surfactants for Membrane Proteins from the peptide gemini surfactants (PG-surfactants)”, S. Koeda, T. Suzuki, T. Noji, K. Kawakami, Y. Ido, T. Dewa, S. Itoh, N. Kamiya, T. Mizuno, *Tetrahedron*, **72**, 6898-6908 (2016).

〔学会発表〕(計 28件)

1. “Exploration of novel solubilization surfactants, having different solubilization efficiency for different membrane proteins”, M. Shibata, S. Koeda, T. Suzuki, T. Noji, K. Kawakami, T. Dewa, T. Tanaka, N. Kamiya, M. Nango, T. Mizuno, NIMS CONFERENCE 2014, 2014, 7, 2, つくば、ポスター

2. “Immobilization of photosystem I into silica/polymer hybrid gels”, S. Koeda, T. Mizuno, T. Noji, K. Kawakami, T. Dewa, T. Tanaka, M.

Nango, S. Itoh, NIMS CONFERENCE 2014, 2014, 7, 2, つくば、ポスター

3. 「新規膜蛋白質抽出試薬の設計」、柴田将英、小枝周平、鈴木智之、野地智康、川上恵典、出羽毅久、田中俊樹、神谷信夫、南後守、水野稔久、第8回バイオ関連化学シンポジウム、2014, 9, 12, 岡山、ポスター

4. 「反応性膜蛋白質可溶化試薬を用いた膜蛋白質のシリカ/ポリマーハイブリッドへの固定化」、小枝周平、水野稔久、野地智康、川上恵典、出羽毅久、田中俊樹、南後守、伊藤繁、第8回バイオ関連化学シンポジウム、2014, 9, 12, 岡山、ポスター

5. “Design and Application of the lipopeptide-based surfactants (PG-surfactants) for membrane protein researches”, T. Mizuno, Workshop on Artificial Photosynthesis: Engineering of Light-Harvesting Processes based on Peptide and Protein Science, Nagoya, 2014, 10, 6, 口頭招待講演

6. 「ペプチド配列を含む新規膜蛋白質可溶化試薬の開発と膜蛋白質研究への応用」、水野稔久、第4回CSJフェスタ2014、2014, 10, 15, 船橋、口頭招待講演

7. “Solubilization of membrane proteins using the polyethylene glycol-appended PG-surfactant”, T. Suzuki, S. Koeda, K. Kawakami, T. Noji, S. Itoh, T. Dewa, T. Tanaka, T. Mizuno, IPC2014, 2014, 12, 03, つくば、ポスター

8. 「アルキニル基を導入した新規膜蛋白質可溶化試薬を用いた、膜タンパク質 PSI 表面での *in situ* ヒュスゲン付加環化反応」、谷口明希、小枝周平、柴田将英、野路智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、水野稔久、日本化学会第95春季年会(2015)、千葉(船橋)、2017, 3, 27, ポスター

9. 「ポリエチレングリコール修飾多量化 PG-surfactant を用いた膜蛋白質の評価」、小枝周平、鈴木智之、野地智康、川上恵典、伊藤繁、出羽毅久、神谷信夫、水野稔久、日本化学会第95春季年会(2015)、千葉(船橋)、2017, 3, 28, 口頭

10. 「高分子ゲル中への膜蛋白質の導入の検討」、小枝周平、鈴木智之、伊藤繁、出羽毅久、野地智康、川上恵典、神谷信夫、水野稔久、第25回バイオ・高分子シンポジウム、東京、2015, 7, 23, ポスター

11. “Construction and Characterization of Protein-Encapsulated Electrospun Fibermats”, T. Mizuno, S. Koeda, K. Ichiki, A. Obata, T. Kasuga, ISAMR2015, Taipei, 2015, 8, 17, 口頭招待講演

12. 「Huisgen 環化反応を用いた膜蛋白質複合体の調製」、小枝周平、谷口明希、野地智康、川上恵典、伊藤繁、出羽毅久、神谷伸夫、水野稔久、第9回バイオ関連化学シンポジウム、熊本、2015, 9, 10, ポスター

1 3. 「合成高分子修飾 PG-surfactant の膜蛋白質可溶化試薬としての評価」、柴田将英、小枝周平、野地智康、川上恵典、伊藤繁、出羽毅久、神谷信夫、水野稔久、第 9 回バイオ関連化学シンポジウム、熊本、2015, 9, 10、ポスター

1 4. 「新規膜蛋白質抽出試薬を用いて可溶化した膜蛋白質の評価」、柴田将英、小枝周平、野地智康、川上恵典、伊藤繁、出羽毅久、神谷信夫、水野稔久、第 6 4 回高分子討論会、仙台、2015, 9, 15、ポスター

1 5. "Solubilization of membrane proteins in an aqueous buffer using the polymer conjugated PG-surfactants", M. Shibata, S. Koeda, T. Noji, K. Kawakami, S. Ito, T. Dewa, N. Kamiya, T. Mizuno, International symposium on Frontiers in Materials Science, 東京, 2015, 11, 20、ポスター

1 6. "Evaluation of photo-induced electron-transfer activity of Photosystem I and II which solubilized with Peptide Gemini Surfactants", S. Koeda, T. Noji, K. Kawakami, T. Dewa, M. Nango, N. Kamiya, T. Mizuno, MRS Fall Meeting 2015, Boston, 2015, 12, 1、ポスター

1 7. "Construction and Characterization of Protein-Encapsulated Electrospun Fibermats", T. Mizuno, A. Obata, S. Koeda, M. Shimada, K. Mizuno, M. Iguchi, J. R. Jones, T. Kasuga ISNM2015, 三重, 2015, 12, 10、口頭招待講演

1 8. 「 β -tern foldamer を分子内に持つ新規 PG-surfactant の開発と膜蛋白質可溶化試薬としての機能評価」、井戸祐也、小枝周平、梅澤直樹、野地智康、川上恵介、出羽毅久、樋口恒彦、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、日本化学会第 96 春季年会(2016)、大阪、2016, 3, 26、ポスター

1 9. 「膜蛋白質可溶化における PG-surfactant の多量化効果」、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、日本化学会第 96 春季年会(2016)、大阪、2016, 3, 26、口頭

2 0. 「アルキニル基を導入した新規膜蛋白質可溶化試薬の開発とこれを用いた膜タンパク質 PSI のゲル化手法の検討」、谷口明希、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、日本化学会第 96 春季年会(2016)、大阪、2016, 3, 26、口頭

2 1. 「 β -ターン構造を含む PG-surfactant の設計合成と機能評価」、井戸祐也、柴田将英、小枝周平、野地智康、川上恵典、天野祐一、梅澤直樹、伊藤繁、樋口恒彦、神谷信夫、水野稔久、第 65 回高分子年次大会、神戸、2016, 5, 26、口頭

2 2. 「PG-surfactant を用いた高分子材料中での膜蛋白質の機能評価」、小枝周平、伊藤繁、出羽毅久、野地智康、川上恵典、神谷信夫、水野稔久、第 26 回バイオ・高分子シンポジウム、東京、2016, 7, 28、ポスター

2 3. 「反応性官能基を導入した膜蛋白質可溶化試薬の開発と膜蛋白質ゲル化の検討」、谷口明希、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、第 10 回バイオ関連化学シンポジウム、金沢、2016, 9, 8、ポスター

2 4. 「蛋白質ゲルの 3 次元構造化と機能評価」、水野稔久、谷口明希、井戸祐也、水野光二、小枝周平、野地智康、川上恵典、伊藤繁、神谷信夫、第 10 回バイオ関連化学シンポジウム、金沢、2016, 9, 9、口頭

2 5. 「高分子材料中での膜蛋白質機能への高分子量化 PG-surfactant の影響評価」、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、第 10 回バイオ関連化学シンポジウム、金沢、2016, 9, 8、ポスター

2 6. "Synthesis of Novel Peptide Gemini-Surfactants and Application to Membrane Protein Researches", T. Mizuno, ISNM2016, Tsukuba, 2016, 11, 26、招待講演

2 7. 「高分子材料中における PEG 修飾 PG-surfactant の膜タンパク質への効果」、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、日本化学会第 97 春季年会(2017)、横浜、2017, 3, 19、口頭

2 8. 「膜蛋白質を含む立体的ゲル構築に関する新手法の検討」、谷口明希、小枝周平、野地智康、川上恵典、出羽毅久、神谷信夫、伊藤繁、水野稔久、日本化学会第 97 春季年会(2017)、横浜、2017, 3, 19、口頭

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：膜タンパク質可溶化剤

発明者：柴田将英、小枝周平、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：物の発明

番号：特願 2014-110888

出願年月日：平成 26 年 5 月 29 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・准教授

研究者番号：90345950

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

川上恵典 (KAWAKAMI KEISUKE)

大阪市立大学複合先端研究機構・特任准教授

研究者番号：40619904

野地智康 (NOJI TOMOYASU)

大阪市立大学複合先端研究機構・特任准教授

研究者番号：40452205