

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01213

研究課題名(和文)人工代謝経路を内包するナノ空間「複合触媒コンパートメント」の創出

研究課題名(英文) Encapsulating metabolic enzymes spatially organized on a nanoscaffold in an artificial compartment

研究代表者

森井 孝 (MORII, TAKASHI)

京都大学・エネルギー理工学研究所・教授

研究者番号：90222348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,700,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内で特定の代謝経路に関与する酵素群は、決められた小器官中の区画(コンパートメント)で空間的に近接した酵素組織体を形成して、多段階反応を効率よく進行させる機構が知られている。本研究では、平面状DNAナノ構造体を使って構築した2D分子コンビナート、3次元DNAナノ構造体を利用した3D分子コンビナート、そして分子コンビナートをナノリボソームに内包した複合触媒コンパートメントを構築した。これらを利用して、細胞外での多段階反応を効率的に進行させるための問題点であった酵素反応効率の空間配置依存性、DNAナノ構造体の化学的特性による酵素反応効率向上の機構を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内代謝反応では、数多くの化学反応が同時に、副反応を限りなく抑えて進行する。このような多段階の反応が並行、かつ選択的に進行する物質変換法は、現在の有機合成化学でもまだ開拓されていない。細胞内代謝経路に関与する酵素群は、決められた小器官中の区画(コンパートメント)で空間的に近接した酵素組織体を形成して、多段階反応を効率よく進行させる。この細胞内物質変換系を細胞の外で実現できれば、高効率に多段階の物質変換をおこなう「分子コンビナート」、さらにナノ空間に分子コンビナートを内包した「複合触媒コンパートメント」が実現し、持続可能社会での環境負荷の少ない工業プロセスに貢献できる。

研究成果の概要(英文)：The efficient transfer of intermediates from one enzyme to the other by spatial organization of enzyme molecules, as found in the compartments, is believed to be the key feature for well-organized flow of metabolites. The protein assembly on DNA scaffold is an ideal system to study the reaction of enzymes in various arrangements. We have developed a modular adaptor to locate an enzyme of interest at the specific position of DNA scaffold. By taking advantages of the highly orthogonal reaction of our modular adaptors, enzymes were successfully located in defined spatial arrangements on 2D or 3D DNA nanoscaffolds to construct artificial metabolic pathways. Such artificial systems enabled us to discover a novel mechanism to enhance the catalytic activity of enzyme. The artificial metabolic pathway on DNA nanoscaffold was encapsulated in nanoliposome. such a new system accelerates further applications of spatially well-defined enzyme assemblies in bioenergy systems and diagnostics.

研究分野：生物機能化学

キーワード：人工代謝経路 DNAナノ構造体 人工コンパートメント 分子コンビナート ナノリボソーム

1. 研究開始当初の背景

生体内代謝反応では、数多くの化学反応が同時に、副反応を限りなく抑えて進行する。このような多段階の反応が並行、かつ選択的に進行する物質変換法は、現在の有機合成化学でもまだ開拓されていない。代謝に関わる個々の酵素の化学特性は明らかにされたが、生体内で多種類の酵素から効率的な多段階反応「代謝経路」が構築される原理は不明である。代謝経路の原理を細胞外で応用できれば、低エネルギー・低環境負荷社会に理想的な物質変換法となる。

細胞内で特定の代謝経路に関与する酵素群は、決められた小器官中の区画(コンパートメント)で空間的に近接した酵素組織体を形成して、多段階反応を効率よく進行させる機構が知られている。例えば、藻類などのカルビン回路における炭酸固定の鍵酵素リブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (RubisCO) は、カルボニックアンヒドラーゼ (CA) とともに、80~140 nm 大きさの多面体構造体カルボキシソームと呼ばれるコンパートメントを形成する。カルボキシソーム内に集積化された RubisCO は、CA によって重炭酸イオンから生成した二酸化炭素を利用して、D-リブローズ 1,5 ビスリン酸からホスホグリセリン酸を合成する。

代謝反応において、特定の区画内に形成される酵素高次構造体の特徴として、

(1) 異なる種類の酵素が近接して存在する

(2) 酵素がいくつか集まった高次構造体が、秩序だったコンパートメントを形成する

ことがあげられる。基質はコンパートメント内で、これらの酵素によって次々と化学変換されて最終産物へと変換される。この細胞内物質変換システムを試験管内で再現することができれば、高効率に多段階の物質変換をおこなう「分子コンビナート」、さらにナノ空間に分子コンビナートを内包した「複合触媒コンパートメント」が実現する。

これまでにも、リポソーム内や界面などを反応場として利用した研究例は数多く報告されている(*Chem. Rev.* 2005, 105, 1445)が、細胞内コンパートメントのような酵素の分子数や空間的配置・配向の制御は実現できていない。その原因は、多種類の酵素を1分子ずつナノメートルの精度で狙った場所に配置する方法論がこれまで存在しなかったことにある。

【申請者らのこれまでの研究からわかったこと】DNA オリガミ(*Nature* 2006, 440, 297)に代表される DNA ナノ構造体は、多様な2次元、3次元構造体を形成するだけでなく、高い精度で分子を配置できる「足場」として注目されている。これまでにも DNA ナノ構造体に酵素を配置した機能性複合体は作製されてきたが(*Nature Nanotech.* 2009, 4, 249; *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 5516, 総説 *Nanomaterials* 2016, 6, 139 など)、複数種の酵素を活性を保ったまま、定量的に DNA ナノ構造体上に配置する方法論が欠如していた。

申請者らは、DNA 結合タンパク質をアダプターとして用い、アダプターに融合した目的タンパク質を DNA ナノ構造体上の特定の場所に1分子ずつ配置する一般的方法論を確立した(*Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 2421; *Methods* 2014, 67, 142; *Chem. Commun.* 2015, 51, 1016)。その方法を利用して、一辺 100 nm 程度の2次元 DNA ナノ構造体上に、キシロース還元酵素とキシリトール脱水素酵素を特定の距離で配置した「分子コンビナート」は、細胞外でキシロースからキシリトールを経てキシロースを合成する人工代謝経路として機能した(*J. Am. Chem. Soc.* 2016, 138, 3012)。2次元平面上に構築した「分子コンビナート」には、中間体の輸送効率を高めるなどにより、さらに機能を向上できる余地がある。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに平面状 DNA ナノ構造体を使って構築した「2D 分子コンビナート」で得た人工代謝経路に関する知見をもとにして、3次元 DNA ナノ構造体を利用した「3D 分子コンビナート」、そして「分子コンビナート」をナノリポソームに内包した「複合触媒コンパートメント」を構築する。これらを利用して、細胞外での多段階反応を効率的に進行させるための問題点：

(1) 3D 分子コンビナートでは、どのような酵素の空間配置が効果的か

(2) 「分子コンビナート」で人工代謝経路の効率を向上させる要素は何か

(3) 「分子コンビナート」をリポソームに内包すると多段階反応の反応効率は向上するか

(4) ナノリポソームに膜輸送タンパク質を特定配向で導入し、基質を取り込んで反応する「複合触媒コンパートメント」が構築できるか

を解明するための研究を実施し、DNA ナノ構造体を鋳型として、酵素および受容体を1分子ずつ特定の位置・様式に配置した反応場を使って、高効率な多段階物質変換反応を設計するうえでの重要な原理を発見する。

3. 研究の方法

申請者らが開発した2次元 DNA ナノ構造体への酵素1分子配置技術を拡張し、「2D 分子コン

ビナート」で得た人工代謝経路に関する知見をもとにして、3次元 DNA ナノ構造体を利用した「3D 分子コンビナート」を構築した。2D 分子コンビナートを利用して、酵素間距離、酵素の密接配置などの空間配置が人工代謝経路の効率を支配する原理を追求した。また、分子コンビナートの物質生産システムの効率向上を目指して、ナノリポソームに内包した「複合触媒コンパートメント」を構築し、ナノリアクターとしてのコンパートメント機能を追求した。

4. 研究成果

(1) 「複合触媒コンパートメント」を構築するためのモジュール型アダプターの拡張

申請者らが開発した C2H2 型亜鉛フィンガーを用いたモジュール型アダプター-zif-SNAP は、共有結合を介して、アダプターに融合したタンパク質・酵素を、短時間で定量的かつ安定に、DNA ナノ構造体上の狙った位置に配置することができる(*Chem. Commun.* **2015**, *51*, 1016)。この手法を発展させて、同時に異なる場所に酵素を配置するためのアダプターを開発し、以下の成果を得た。

① 多種類のタンパク質・酵素を同時に DNA ナノ構造体に配置するために、単量体酵素を配置する zif-SNAP に加えて、ロイシンジッパータンパク質 GCN4 に共有結合を形成するタグタンパク質 SNAP タグ、CLIP タグ、Halo タグを組み合わせて、二量体タンパク質・酵素を配置するモジュール型アダプターを作製した。それぞれのモジュール型アダプターは、目的の塩基配列上に配置した基質と 90%以上の収率で共有結合を形成した。

② CLIP タグを用いた高選択的モジュール型アダプターの構築

CLIP タグに DNA 結合タンパク質として 2 種類の C2H2 型亜鉛フィンガーを融合したモジュール型アダプター-zif-CLIP と AZP-CLIP は、共有結合を介して、アダプターに融合した酵素を、短時間で定量的かつ安定に、DNA ナノ構造体上の狙った位置に配置することができた。その際に、ほぼ完璧に DNA 結合タンパク質の塩基配列選択性に依存した、DNA 上の CLIP-タグ基質との共有結合形成が可能であった。

③ SNAP タグを用いた高選択的モジュール型アダプターの構築

SNAP タグとその一般的な基質であるベンジルグアニンを用いた場合には、SNAP に DNA 結合タンパク質として 2 種類の C2H2 型亜鉛フィンガーを融合したモジュール型アダプター-zif-SNAP と AZP-SNAP は、同じ塩基配列においてベンジルグアニンと共有結合を形成してしまう。モジュール型アダプターとタグ基質を修飾した DNA との反応速度を解析し、DNA 結合タンパク質による塩基配列選択性に依存したモジュール型アダプターと DNA 上の SNAP タグ基質との共有結合形成を可能にする基質ベンジルイノシンを設計・合成した。その結果、ほぼ完璧に DNA 結合タンパク質の塩基配列選択性に依存した、DNA 上の SNAP-タグ基質との共有結合形成が可能になった。

(2) キシロースからキシルロース 5-リン酸へと代謝する酵素カスケードの構築

申請者らが 2 次元 DNA ナノ構造体上にキシロース還元酵素 (XR) とキシリトール脱水素酵素 (XDH) を配置して構築した(*J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3012) 五炭糖を原料としたバイオエタノール生産に重要な、キシロースからキシリトールを経てキシルロースを生成する酵素カスケードを進展させ、以下の成果を得た。

① キシロースからキシルロース 5-リン酸へと代謝する酵素カスケードの構築

申請者らが 2 次元 DNA ナノ構造体上にキシロース還元酵素 (XR) とキシリトール脱水素酵素 (XDH) を配置して構築した (*J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3012) キシロースからキシリトールを経てキシルロースを生成する酵素カスケードをもとにして、キシルロースをキシルロース 5-リン酸に変換するキシルロースキナーゼ (XK) を含む酵素カスケードを 2 次元 DNA ナノ構造体上に構築した。

② 酵素カスケード設計における酵素間距離の影響を評価

キシルロースをキシルロース 5-リン酸に変換するキシルロースキナーゼ (XK) を含む酵素カスケードを 3 次元 DNA ナノ構造体上に構築した。このカスケード反応を評価し、2 段階目の酵素のミカエリス定数によっては、酵素間距離が逐次反応効率に及ぼす影響が小さいことを証明した。

(3) 分子コンビナート」による高効率化学反応

2 次元もしくは 3 次元 DNA ナノ構造体を用いて構築した酵素カスケードを高効率化するための要因を検証し、以下の成果を得た。

① 酵素 XR、XDH、XK のモジュール型アダプター融合体を 3 次元 DNA ナノ構造体上に配置した 3D 分子コンビナートを構築し、それぞれの酵素の分子数と空間配置が人工キシロース代謝経路の効率に及ぼす影響を評価し、それぞれの酵素のミカエリス定数と代謝回転数にもとづい

て酵素の分子数を規定する人工代謝経路設計原理を実証した。

② 2次元空間と3次元空間に配置された酵素の反応を比較するために、2次元形状から3次元六角柱 DNA ナノ構造体への構造変化が可能な DNA ナノ構造体を構築し、酵素を配置する足場として利用した。XR、XDH とともに、単独で構造体に配置した場合でも、溶液中の酵素に比べて約4倍の代謝回転数を示した。これまでの DNA ナノ構造体上の酵素反応において、構造体が負電荷を帯びているために表面の pH が変化し、それに伴い酵素の活性も変化する仮説が提唱されてきたが、この3次元 DNA ナノ構造体表面の局所 pH を計測した結果、この仮説は、この3次元 DNA ナノ構造体および2次元 DNA ナノ構造体には当てはまらないことが明らかになった。

③ 酵素密集環境における反応性の向上

リブローズ 2 リン酸カルボキシル基転移酵素/酸素添加酵素 (RuBisCO) とともにカルボキシソームを形成するカーボニックアンヒドラーゼ (CA) を、モジュール型アダプターと融合することによって DNA ナノ構造体上にあらかじめ設計した位置で共有結合を形成させ、約 1 nm 間隔の密接状態もしくは約 23 nm 間隔の離散状態に配置した。最低でも 2 分子の CA が密接した配置にある場合に、その配向に寄らず CA のエステル加水分解反応が加速されることが明らかになった。反応の詳細を解析し、密接状態にある酵素の方が離散状態にある酵素よりも見かけ上活性が高くなることを、水のエントロピー効果で説明する理論モデルを提唱した。

④ RuBisCO を用いた分子コンビナート

RuBisCO を配置するために、アダプターとして二量体 DNA 結合タンパク質を RuBisCO に融合して DNA ナノ構造体上に配置した。また (1) で開発したモジュール型アダプターを利用して CA を RuBisCO と共に DNA ナノ構造体上に配置した。これらの酵素集合体のリブローズ 2 リン酸への二酸化炭素の付加反応を検証したところ、CA の添加によって RuBisCO 集合体の反応が加速されることはなく、CA が RuBisCO の近傍に配置された場合には反応速度がわずかに遅くなった。これらの結果から、カルボキシソーム中の RuBisCO による二酸化炭素の付加反応速度は、単に CA と RuBisCO との距離に依存するものではないことを結論づけた。

⑤ 3D 分子コンビナートによる高効率化学反応

キシロースからキシリトールを経てキシルロース、さらにキシルロース 5-リン酸を生成する酵素カスケード反応を検証した。酵素 XR、XDH、XK のモジュール型アダプター融合体を、3次元 DNA ナノ構造体上に配置した 3D 分子コンビナートを構築し、それぞれの酵素の分子数と空間配置が人工キシロース代謝経路の効率に及ぼす影響を評価した。(3) -②で作製した六角柱 3D DNA オリガミを用いて、酵素を配置した平面状 2D 分子コンビナートを六角柱 3D 分子コンビナートへと構造変換し、3次元 DNA ナノ構造体の形状が酵素カスケード反応の収率と補酵素の再生に及ぼす影響についても評価した。その結果、六角柱 3D 分子コンビナートでの XR と XDH からなる人工代謝経路効率は、同じ酵素間距離でも 2D 分子コンビナートでの効率よりも高いことが明なになった。

さらに、高濃度 ATP 存在下では、モジュール型アダプターと融合した XDH と XK を配置した六角柱 3D 分子コンビナートにおいて、キシルロース 5-リン酸の生成速度に顕著な酵素間距離依存性は観測されず、カスケード反応に関与する酵素の触媒反応特性によって、分子コンビナートを 3D 化場合にカスケード反応効率が向上する場合と、変化しない場合があることがわかった。

(4) 膜タンパク質を配置した物質輸送が可能なコンパートメント:大腸菌トランスポーターの導入

① 平面状 DNA ナノ構造体を利用したナノリポソーム形成

リポソームは、内包された親水性分子の自由拡散と外部からの親水性分子の流入を抑制するコンパートメントとして有用である。リポソームには、膜タンパク質を活性を保持した状態で配置できるが、その配向を制御することが難しいため、細胞膜で物質を輸送するトランスポーターを利用して方向性をもった物質輸送を達成することは困難であった。本研究では DNA ナノ構造体の空孔を形成する 2 本鎖 DNA に脂質分子を特定の配向で導入して、空孔に合わせた大きさのリポソームが形成する方法 (C. Lin, *et al.*, *Nature Chem.* 2016, 8, 476) を利用して、2D DNA ナノ構造体の空孔の大きさのナノリポソームを形成した。ナノリポソームの内部および外周に色素を導入し、溶液 pH への応答を計測することにより、ナノリポソーム形成を確認した。

(5) 分子コンビナートをナノリポソームに内包した複合触媒コンパートメント

コンパートメント内では、キシロースからの反応中間体の自由拡散が内部に抑制されるため、キシロース代謝がより高効率に進行すると考え、分子コンビナートを内包できるナノリポソームを作製し、以下の成果を得た。

① 2次元 DNA ナノ構造体を用いたナノリポソームの構築

脂質分子が導入された 2次元 DNA ナノ構造体を用いて、キシロース還元酵素 (XR) とキシリトール脱水素酵素 (XDH) を配置した。また、脂質分子が導入された 2次元 DNA ナノ構造体を

用いて、ナノリポソームが作製できることを確認し、その精製・単離条件を確立した。

② ナノリポソーム中への 3D 分子コンビナートの導入

酵素 XR、XDH、XK のモジュール型アダプター融合体が配置出来る 3 次元 DNA ナノ構造体を作製した。この 3 次元 DNA ナノ構造体をもとにして、その外側にナノリポソームが形成できることを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Eiji Nakata, Shun Nakano, Arivazhagan Rajendran, Takashi Morii	4. 巻 1
2. 論文標題 Covalent Bond Formation by Modular Adaptors to Locate Multiple Enzymes on a DNA Scaffold.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Kinetic Control in Synthesis and Self-Assembly	6. 最初と最後の頁 163-183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Nakano Shun, Shimizu Musashi, Dinh Huyen, Morii Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Highly selective dual sensing of ATP and ADP using fluorescent ribonucleopeptide sensors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 1611-1614
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8CC09934K	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 -
1. 著者名 Polat Onur K., Uno Masatoshi, Maruyama Terukazu, Tran Ha Nam, Imamura Kayo, Wong Chee Fah, Sakaguchi Reiko, Ariyoshi Mariko, Itsuki Kyohei, Ichikawa Jun, Morii Takashi, Shirakawa Masahiro, Inoue Ryuji, Asanuma Katsuhiko, Reiser Jochen, Tochio Hidehito, Mori Yasuo, Mori Masayuki X.	4. 巻 30
2. 論文標題 Contribution of Coiled-Coil Assembly to Ca ²⁺ /Calmodulin-Dependent Inactivation of TRPC6 Channel and its Impacts on FSGS-Associated Phenotypes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Society of Nephrology	6. 最初と最後の頁 1587-1603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1681/ASN.2018070756	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 -
1. 著者名 Nguyen Thang Minh, Nakata Eiji, Zhang Zhengxiao, Saimura Masayuki, Dinh Huyen, Morii Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Rational design of a DNA sequence-specific modular protein tag by tuning the alkylation kinetics	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 9315-9325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9SC02990G	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 Ngo Tien Anh, Dinh Huyen, Nguyen Thang Minh, Liew Fong Fong, Nakata Eiji, Morii Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Protein adaptors assemble functional proteins on DNA scaffolds	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 12428-12446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9CC04661E	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 -

1. 著者名 A. Rajendran, E. Nakata, S. Nakano, T. Morii	4. 巻 18
2. 論文標題 Nucleic acids-templated enzyme cascades	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 696-716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201600703	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 -

1. 著者名 T. M. Nguyen, E. Nakata, M. Saimura, H. Dinh, T. Morii	4. 巻 129
2. 論文標題 Design of Modular Protein-Tags for the Orthogonal Covalent Bond Formation at Specific DNA Sequences	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 8487-8496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.7b01640	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 -

1. 著者名 T. Kurokawa, S. Kiyonaka, E. Nakata, M. Endo, S. Koyama, E. Mori, N.H. Tran, H. Dinh, Y. Suzuki, K. Hidaka, M. Kawata, C. Sato, H. Sugiyama, T. Morii, Y. Mori	4. 巻 130
2. 論文標題 DNA Origami Scaffolds as Templates for Functional Tetrameric Kir3 K+ Channels.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 2616-2621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ange.201709982	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 -

1. 著者名 Dinh Huyen, Nakata Eiji, Lin Peng, Saimura Masayuki, Ashida Hiroki, Morii Takashi	4. 巻 27
2. 論文標題 Reaction of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase assembled on a DNA scaffold	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 115120-115120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.115120	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 -

1. 著者名 Furubayashi Taku, Ishida Keita, Kashida Hiromu, Nakata Eiji, Morii Takashi, Matsushita Michio, Fujiyoshi Satoru	4. 巻 10
2. 論文標題 Nanometer Accuracy in Cryogenic Far-Field Localization Microscopy of Individual Molecules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 5841-5846
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.9b02184	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 -

1. 著者名 Dinh Huyen, Nakata Eiji, Mutsuda-Zapater Kaori, Saimura Masayuki, Kinoshita Masahiro, Morii Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Enhanced enzymatic activity exerted by a packed assembly of a single type of enzyme	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 9088-9100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0SC03498C	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 Nakata Eiji, Dinh Huyen, Nguyen Thang Minh, Morii Takashi	4. 巻 617
2. 論文標題 DNA binding adaptors to assemble proteins of interest on DNA scaffold	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Enzymol.	6. 最初と最後の頁 287-322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2018.12.014	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 -

1. 著者名 Tajima Shunsuke, Nakata Eiji, Sakaguchi Reiko, Saimura Masayuki, Mori Yasuo, Morii Takashi	4. 巻 28
2. 論文標題 Fluorescence detection of the nitric oxide-induced structural change at the putative nitric oxide sensing segment of TRPC5	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 115430-115430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2020.115430	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 -

1. 著者名 Nakano Shun, Konishi Hiroaki, Morii Takashi	4. 巻 641
2. 論文標題 Receptor-based fluorescent sensors constructed from ribonucleopeptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods Enzymol.	6. 最初と最後の頁 183-223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.mie.2020.04.041	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 -

1. 著者名 Furubayashi Taku, Ishida Keita, Nakata Eiji, Morii Takashi, Naruse Kanta, Matsushita Michio, Fujiyoshi Satoru	4. 巻 124
2. 論文標題 Cryogenic Far-Field Fluorescence Nanoscopy: Evaluation with DNA Origami	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 7525-7536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c04721	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 -

1. 著者名 Lin Peng, Dinh Huyen, Morita Yuki, Zhang Zhengxiao, Nakata Eiji, Kinoshita Masahiro, Morii Takashi	4. 巻 57
2. 論文標題 Evaluation of the role of the DNA surface for enhancing the activity of scaffolded enzymes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 3925-3928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc00276g	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 -

1. 著者名 Marongiu Laura, Sakaguchi Reiko, Morii Takashi, Granucci Francesca, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase B promotes Ca ²⁺ mobilization and the inflammatory activity of dendritic cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaaz2120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aaz2120	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 該当する

1. 著者名 Nakano Shun, Seko Taiki, Zhang Zhengxiao, Morii Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 RNA-Peptide Conjugation through an Efficient Covalent Bond Formation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 8920-8920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app10248920	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 -

〔学会発表〕 計30件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 張 正肖・中田 栄司・Thang Minh Nguyen・森井 孝
2. 発表標題 Design of sequence specific modular adaptors by tuning the reactivity of protein-tag substrate
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小西 宏明・DINH Huyen・中田 栄司・仲野 瞬・森井 孝
2. 発表標題 DNAナノ構造体を鋳型にしたリボソーム形成
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 A. Rajendran, S.-J. Park, E. Nakata, Y. Kwon, T. Morii
2. 発表標題 Integration of Topologically-Interlocked Functional Structures With a DNA Nanostructure
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Morii
2. 発表標題 Chemistry of spatially organized enzymes
3. 学会等名 The 5th SKL Symposium on Chemical Biology & Drug Discovery (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Morii
2. 発表標題 Chemistry of Enzymes Assembled on a DNA scaffold
3. 学会等名 Asia 3 Roundtable of Nucleic Acids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eiji Nakata, Thang Minh Nguyen, Zhengxiao Zhang, Huyen Dinh, Peng Lin, Masayuki Saimura, Takashi Morii
2. 発表標題 DNA Binding Adaptors for Locating Multiple Enzymes on DNA scaffold Scaffold
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Peng LIN, Huyen Dinh, Nguyen Minh Thang, Eiji Nakata, Takashi Morii
2. 発表標題 Assembling cascade enzymes on a 3D DNA nanostructure
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Konishi, Huyen Dinh, Tomohiko Wakisaka, Eiji Nakata, Shun Nakano, Takashi Morii
2. 発表標題 Nanoliposome enclosing proteins on DNA scaffold
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Arivazhagan Rajendran, Seo-jeong Park, Eiji Nakata, Youngjoo Kwon, Takashi Morii
2. 発表標題 DNA Catenane and Rotaxane Inside a DNA Origami Frame
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Zhengxiao Zhang, Eiji Nakata, Thang Minh Nguyen, Takashi Morii
2. 発表標題 Design of sequence specific modular adaptors by tuning the reactivity of protein-tag
3. 学会等名 The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 LIN, Peng; DINH, Huyen; THANG, Minh Nguyen; NAKATA, Eiji; MORII, Takashi
2. 発表標題 Reaction of enzyme cascades assembled in 3D DNA nanostructure
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ZHANG, Zhengxiao; NAKATA, Eiji; THANG, Nguyen Minh; MORII, Takashi
2. 発表標題 Tuning the reactivity of crosslink formation for sequence-selective DNA-protein conjugation
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小西宏明・DINH Huyen・脇坂智彦・中田栄司・仲野瞬・森井 孝
2. 発表標題 DNAオリガミを鋳型にしたリボソームの形成
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中田栄司, Nguyen Minh Thang, 才村正幸, Dinh Huyen, 森井 孝
2. 発表標題 直交性を有するモジュール型アダプターによる複数の酵素を配置した分子スイッチボード
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 H. Dinh, E. Nakata, T. Morii
2. 発表標題 Activity of the assembled enzyme on DNA scaffold
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 A. Rajendran, S.-J. Park, E. Nakata, Y. Kwon, T. Morii
2. 発表標題 Assembly of DNA Rotaxane and Catenane Inside a DNA Origami Frame
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Morii
2. 発表標題 Chemistry of spatially organized biological molecules
3. 学会等名 Asian Chemical Biology Initiative (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Morii
2. 発表標題 Assembling Enzymes on a DNA scaffold by modular protein-tag
3. 学会等名 Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 T. M. Nguyen, E. Nakata, M. Saimura, H. Dinh, T. Morii
2 . 発表標題 Orthogonal Modular Adaptors to Locate Three Enzymes for Cascade Reaction on DNA Scaffold
3 . 学会等名 International Symposium on Nucleic Acids Chemistry /The 1st Annual Meeting of Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 H. Dinh, E. Nakata, T. Morii
2 . 発表標題 Reaction of enzymes in the ordered assembly states on DNA nanostructures
3 . 学会等名 International Symposium on Nucleic Acids Chemistry /The 1st Annual Meeting of Japan Society of Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 E. Nakata, T. Morii
2 . 発表標題 DNA Binding Adaptors to Locate Multiple Enzymes on DNA Scaffold
3 . 学会等名 The 2nd International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 T. M. Nguyen, E. Nakata, M. Saimura, H. Dinh, T. Morii
2 . 発表標題 Assembly of multiple enzymes on a DNA scaffold
3 . 学会等名 The 2nd International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 A. Rajendran, S-J. Park, E. Nakata, Y. Kwon, T. Morii
2 . 発表標題 DNA rotaxane and catenane inside a DNA nanostructure
3 . 学会等名 The 2nd International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2017) (国際学会)
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 P. Lin, T. Nguyen, H. Dinh, E. Nakata, T. Morii
2 . 発表標題 Efficiency of The Enzyme Cascade Reaction on a DNA Scaffold
3 . 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 H. Dinh, E. Nakata, M. Kinoshita, T. Morii
2 . 発表標題 Reaction of Carbonic Anhydrase assembled on DNA scaffold
3 . 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 A. Rajendran, S.J. Park, E. Nakata, Y. Kwon, T. Morii
2 . 発表標題 Supramolecular Assemblies of Mechanically Interlocked Components Inside a DNA Origami Frame
3 . 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 T. M. Nguyen, E. Nakata, M. Saimura, T. Morii
2. 発表標題 Sequence Specific Modular Adaptors for Orthogonal Location of Multiple Enzymes on a DNA scaffold
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小西宏明, Dinh Huyen, 中田栄司, 仲野 瞬, 森井孝
2. 発表標題 DNAナノ構造体を鋳型にしたナノリボソーム
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中田栄司, Dinh Huyen, 才村正幸, 森井 孝
2. 発表標題 多数のタンパク質を配置したDNAナノ構造体の構築
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森井 孝
2. 発表標題 Chemistry of Spatially Organized Enzymes
3. 学会等名 Asian Chemical Biology Initiative 2021 Online Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本核酸化学会、杉本 直己編、森井 孝、他著	4. 発行年 2020年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 576
3. 書名 核酸科学ハンドブック	

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都大学エネルギー理工学研究所 生物機能化学研究分野 ホームページ http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/material/index.html 京都大学エネルギー理工学研究所 生物機能化学研究分野 ホームページ http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/material/index.html 酵素を1分子ずつナノメートルの精度で狙い通りに並べる http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2017/170518_2.html DNAオリガミを足場にしたイオンチャネルの集積状態制御 http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/new-iae/NewsRelease/JP/2018/02/01-145056.html 酵素を1分子ずつナノメートルの精度で狙い通りに並べる技術を開発 http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/new-iae/NewsRelease/JP/2017/06/01-162221.html

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

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			
イタリア	University of Milano-Bicocca	Harvard Medical School	University of Liege	他8機関