

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19380172
 研究課題名（和文） プリオン蛋白質構造の原子間力顕微鏡と磁気共鳴法を用いた新たな分子イメージング
 研究課題名（英文） Molecular imaging of prion protein by atomic force microscopy and a novel electro-spin-resonance techniques
 研究代表者
 稲波 修（INANAMI OSAMU）
 北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
 研究者番号：10193559

研究成果の概要：

本研究はプリオン病の原因であるプリオンタンパク質の凝集体変化を新しい方法を用いて明らかにし、今後のプリオン病の病態解明や治療薬の評価方法を開発することを目的とした。このプリオン凝集体への変化を起こすには細胞内低 pH 器官であるエンドソームで起きることから、pH の低下が必須であると考えられていることから pH7.0 の生理条件から pH4.0 に変化させたときの構造変化を明らかにした。電子スピン共鳴法、ならびに原子間力顕微鏡を用いて家族性プリオン病でよく見られる変異体プリオン D177N は pH4.0、変性下に置くことで変異を持っていない野生型よりも効率よく線維状の凝集体が起きることが示された。凝集の引き金となる領域がタンパク中心部の β シート付近にあることが明らかとなった。今回の結果はプリオン病の原因タンパク質の構造変化を明らかにしただけでなく、今回用いた新たな方法はプリオン関連病の治療薬の評価系に用いることが可能であると考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	10,400,000	3,120,000	13,520,000
2008 年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
年度			
年度			
年度			
総計	15,700,000	4,710,000	20,410,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・応用獣医学

キーワード：(1) 人畜共通感染症 (2) プリオン (3) 電子スピン共鳴(ESR) (4) AFM

1. 研究開始当初の背景

プリオンにおける pH 低下による構造変化は、正常型プリオン蛋白質 Pr^{Pr^c} からスクレーピー型プリオン蛋白質 Pr^{Pr^{Sc}} への構造変化において必須であると考えられている。これは、細胞内のエンドソーム等の酸性オルガネラ内で

起きると考えられている。国内外で行われているプリオン蛋白質の異常型へのメカニズム研究の多くは、NMR を用いた研究と、コンピュータ計算によるモレキュラーダイナミクスの研究がメインである。NMR はタンパク質が一定の構造を取る部分しか取り扱うことが

できず、解析できる分子のサイズにも限界がある。NMRの核オーバーハウザーによる距離情報も5 Åまでに限られる。したがって、現在まで明らかになっている構造情報は全長231アミノ酸残基の120塩基以降のC末端を中心に構造と一部の構造変化にすぎない。また、プリオン蛋白質は尿素や塩酸グアニジンなどの変性剤存在下で異常型プリオン蛋白質に類似したβシートリッチの重合体を形成することがゲル濾過法や光散乱法などで明らかになっているが、現在までの所、NMRによる異常型プリオンの高次構造研究はその方法論的限界から全く報告されていない。したがって、プリオン蛋白質の異常型への変異過程を明らかにするためには、より長距離間の情報が得られ、全長のプリオン蛋白質を対象とすることができる方法論が必要となる。また、モレキュラーダイナミクスでは家族性プリオン病の突然変異プリオン蛋白質を対象に変異型へのモレキュラーダイナミクスシミュレーション(MD)が報告されている(DeMarco and Gaget, PNAS 101: 2293 (2004))。この研究によれば低pHによりS2領域の伸張とN末端領域の新たな二つのβシートの形成により、βシートリッチ構造をとることが報告されている。現在まで、MDによる研究ではS2の伸張のメカニズムとしてD177はR163と塩橋を形成とY127との水素結合に関与とH186とE195との塩橋形成の低pHによるプロトン化による破壊が原因であると類推されている。しかしながらその実験的証明はまったくなされていない。

2. 研究の目的

電子スピン磁気共鳴を用いた方法は極めて感度よく、NMRやX線回折では捉えきれない全長のプリオン構造を、ニトロオキシドプローブの局所環境を反映した運動性情報として捉えることが可能であることが明らかとなった。また、パルスESR法によりS2にスピンプローブを導入することにより、pH低下による凝集に伴う、20~50 Å程度の分子間の距離計測が可能であることをプレリミナリーな結果を得ている。また、原子間力顕微鏡(Atomic Force Microscopy:AFM)を会合状態のたんぱく質の解析において有用性を早くから着目されている。

本研究ではこの「磁気共鳴法の距離情報をベースとした原子間力顕微鏡による分子イメージング法」を発展させ、プリオン蛋白質のpHによる変性過程、さらには異常型プリオンとの反応時の変化を捉え、実験事実に基づいた病原性プリオン凝集体形成モデルを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)パルスESR法による分子マッピング:

本法での距離計測はプリオンの任意の場所にメタンスルフォネート系ニトロオキシドのプローブ(MTSSL)を導入した。そのために部位特異的変異法を用いてシステイン残基をプリオン蛋白質に生成させた。pHや変性剤などで凝集させたときの分子間距離をパルスESR法で得られるスピネコーシグナルを解析することで計算した。そのためパルスシーケンスはJeshkeら(Biophys. J., 89:1328(2005))の開発した4パルス系列を用いた。

(2)原子間力顕微鏡による分子イメージング;原子間力顕微鏡(AFM)の原理は先端が鋭利な探針(プローブ)で試料表面を走査し、その際に試料から受ける斥力をコンピュータ上に集積することで画像化する。試料は雲母板に設置したピエゾ素子の上に置き、プローブは、カンチレバーに取り付けられており、このカンチレバーの先端にレーザー光を照射し、その位置変化で、カンチレバーの上下を感知した。探針を走査するモードには1)コンタクトモード、2)ノンコンタクトモード、3)タッピングモードがある。本研究では損傷が少なく、高解像度を期待できるタッピングモードを用いた。探針はシリコン性探針の先端にカーボンナノチューブを取り付けたものを用いた。このようにして、野生型の組み換えプリオン蛋白質を作成し、低pH(<4.0)あるいは1M塩酸グアニジン処理により病原プリオン蛋白質類似凝集体を形成することが知られているので、この試料を用いて、pHの程度、低pHでの処理時間、蛋白質の濃度などのAFMの観察条件を検討した。

4. 研究成果

(1)DEER法による低pH誘導プリオン凝集体の分子間距離の測定

背景で述べたようにプリオンタンパク質の自己会合によるシミュレーションによる解析はあるが、実験的な構造解析は未だ報告がない。そこで本研究ではプリオンの代表的なドメインに存在するアミノ酸をシステイン残基に変え、スピンプローブ(R1)を導入した。N96R1、D143R1、Y151R1ならびにT189R1の4つのスピンプローブを持った組換えプリオンタンパク質を作出した。αヘリックス構造が大きく変化していないことは円二色性分光法(CD)により確かめられた。プリオンタンパク質の病態凝集体の形成の引き金にはエンドソーム等の酸性器官で低pHに暴露されることが必要であることからpHの低下の影響を評価した。図1にpH7.5とpH4.0の時のスピネコーの変調カーブを示す。

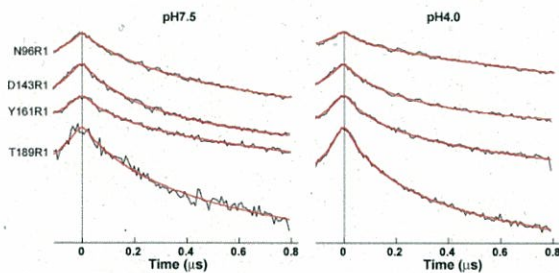


図1 N96R1、D143R1、Y161R1ならびにT189R1の pH7.5とpH4.0の時のスピネコーの変調カーブ

この変調カーブ($I(t)$)は $I(t) = \int [\omega AB(\tau - t) \sin \theta \Delta \theta]$ で表され、 $\omega AB = [2\pi \gamma A \gamma B^2 / (g_e^2 h)] (3 \cos \theta - 1) / r^3$ で ωAB は距離の関数であるから、このカーブから分子間距離を計算した。その結果を図2に示す。

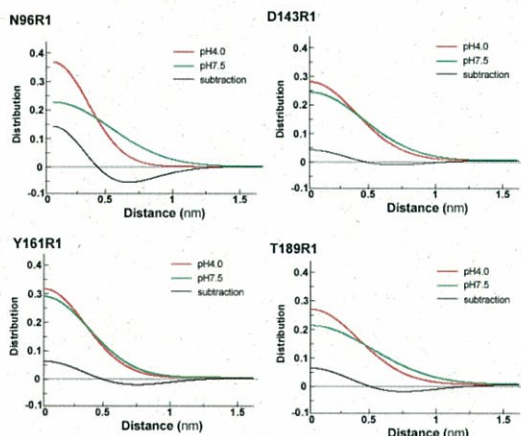


図2 N96R1、D143R1、Y161R1ならびにT189R1スピネコーの変調カーブから得られた距離分布：緑がpH7.5の場合、赤がpH4.0の場合、黒線はpH4.0からpH7.5の距離分布を差し引いたもの

図2から明らかなように、pH低下に伴ってどの部位でも距離が近くなっていることが明らかになった。特に距離が近接する場所はN96R1であり、この場所はタンパク分子のちょうど真ん中のランダムコイルのN末端領域からC末端側の立体構造を持っている構造体へのループに当たるところである。2番目に近接するのはY161R1であり、これはβシートの1番目(β1)領域であり、DeMarcoらのシミュレーション実験では多分子化のインターフェースになる場所であると考えられている。また、αhelixの1番目(H1)に存在するD143R1やαhelixの2番目(H2)に存在するT189R1ではその変化は小さいものであった。

以上のことからシミュレーションで考えられているY161R1に加えて、N96R1も凝集体の形成において重要であると結論づけられた

(2) 蛍光光度計とAFMを用いたプリオン凝集体の観察

次に、凝集体を定量的に扱うために各プリオンタンパク質を中性と酸性で変性下で振盪し、凝集体形成の程度を、凝集体はβシートが豊富になることからそれと反応性のあるThioflavine Tと反応させ蛍光強度を測定した。用いた変異体は上記のスピネローブを導入する前の組換えタンパク質N96C、D143C、Y161C、T189Cに加えて、遺伝的なプリオン病が知られているD177Nと野生型wild-typeとG57Cである。図3にその結果を示す。図から明らかなようにwild-type、N96C、D143C、Y161C、T189CならびにG57Cでは全くpHに対しては変化を示さなかったが、D177Nで強い蛍光強度を示した。

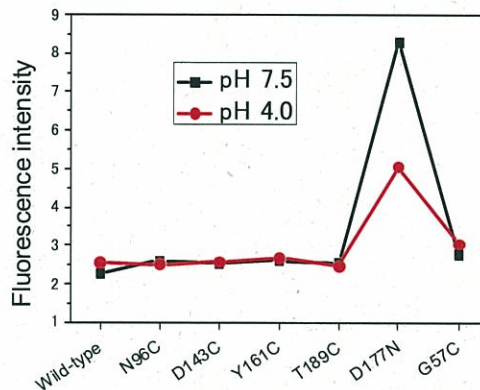


図3 wild-type、N96C、D143C、Y161C、T189C、D177NならびにG57Cを2MGdHCl下で72時間振盪した後に得られた試料にThioflavine Tを反応させ490nmのピークをプロットしたもの。タンパク質濃度は50 μM

さらに形態的観察を行うためにAFMによる観察を行った。pHが中性のwild-type、N96C、D143C、Y161C、T189CならびにG57Cでは何も観察されなかった。しかし、pHを低下させると短いロッド状の構造が観察された。野生型wild-typeの例を図4の下段に示

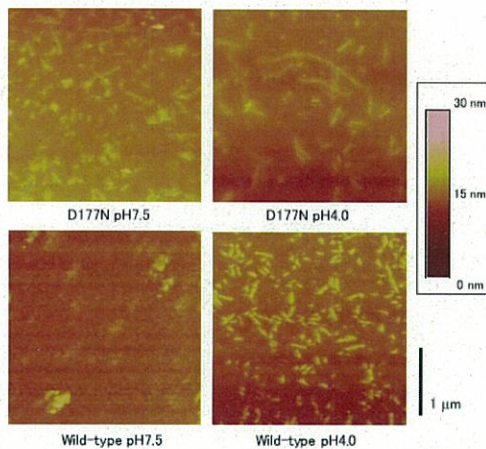


図4 D177Nと野生型wild-typeの各pHにおけるAFM像

す。また、D177NはpHが中性でも長いロッド状の構造が観察され、酸性にすると更に長い線維が観察された(図4の上段)。定量すると長さは約0.5~1.5 μm 太さ約20~50 nmであった。

以上の結果は、D177Nは極めて凝集し易く、pHの低下についても敏感であることが明らかとなった。また、Thioflavine Tによる定量はかなり長い繊維状の凝集体が形成されないと検出できず、AFMによる短い凝集体形成の観察がDEERの結果をよく説明するものであると考えられる。

(3) pHに感受性の持続波(CW)-ESR法による観察とD177N変異の解析

これまでの結果から $\beta 1$ 領域がpH低下による凝集のインターフェースになること、また、家族性プリオン病の遺伝的変異D177Nが変異を引き起こしやすいことが明らかとなったので、 $\beta 1$ のY161にニトロオキシドスピンプローブを導入し、同時にD177N変異を加えた組換えプリオンタンパク質を作出し、動的構造変化をCW-ESRを用いて解析した。まず、D177N変異を持たないY161R1について解析を行った。生理条件下(pH7.5)では非常にブロードなESRスペクトルが得られた。一方、酸性条件下(pH4.0)では、Y161R1のスペクトルは線幅が狭まり、シャープなスペクトルへと変化した(図5A)。スピンプローブの運動性の指標として、中央

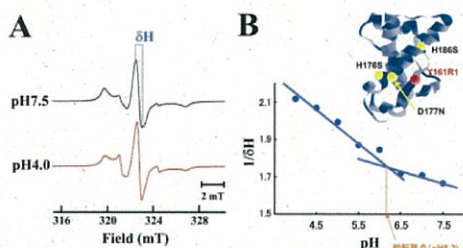


図5 Y161ラベル体のpH依存性構造変化の相転移点

A: S2上のY161ラベル体のスペクトルに対するpHの影響
B: Y161ラベル体分子の局所運動性(1/δH)のpHによる変化

のコンポーネント($M_I=0$)の線幅の逆数(1/δH)を各pH条件で解析した。その結果、得られた1/δHは、pH7.5から6.5までのほとんど運動性の変化しない相と、pH6.5から4.0までのpH低下に比例して急激に運動性が高まるという二つの相の存在が示された。このような相転移を起こし始めるのはpH6.3付近であった(図5B)。

次にD177に加えて、塩橋を形成するH176ならびにH186のpH依存性構造変化への関与を明らかにするため、Y161R1、Y161R1/D177N、Y161R1/H176SならびにY161R1/H186S変異体を作成し、pH7.5から

pH4.0へ低下させたときのESRスペクトルの変化を調べた。その結果、Y161R1ならびにY161R1/H186Sにおいて、pH7.5(黒線)では極めて運動が抑制されたブロードなスペクトルが得られた。一方、Y161R1/D177NならびにY161R1/H176Sはシャープな、より柔軟な構造を反映するスペクトルが得られた。また、Y161R1ならびにY161R1/H186SはpH7.5からpH4.0(赤線)に低下させることによって、柔軟な構造への変化が見られたが、Y161R1/D177NならびにY161R1/H176SではpHさせても全くスペクトルの変化を引き起こさなかった(図6)。

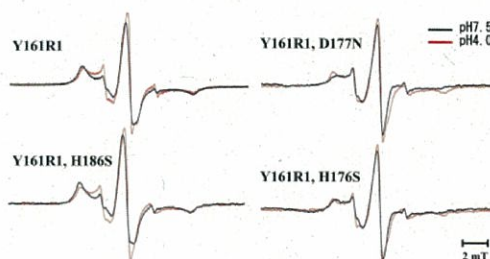


図6 D177N、H186SならびにH176S変異のpHによるスペクトル変化への影響

さらにこのことを確かめるために、 $M_I=+1$ コンポーネントのimmobileなシグナル強度とmobileなシグナル強度の比($I_{\text{im}}/I_{\text{m}}$)をpH7.5とpH4.0それぞれで算出したところ、pH7.5におけるY161R1やY161R1/H186Sの $I_{\text{im}}/I_{\text{m}}$ の値は、Y161R1/D177NやY161R1/H176Sと比較して著しく高いことが分かった。さらに、pH4.0になるとY161R1やY161R1/H186Sの $I_{\text{im}}/I_{\text{m}}$ 値が急激に減少するのに対して、Y161R1/D177NとY161R1/H176Sの $I_{\text{im}}/I_{\text{m}}$ 値はpHの低下に対して有意な変化を示さないことが明らかとなった(図7)。

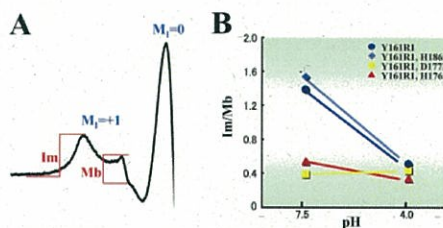


図7 $M_I=+1$ コンポーネントのimmobileシグナル強度とmobileシグナル強度の比

A: $M_I=+1$ コンポーネントのimmobileを示すシグナルおよびmobileを示すシグナル
B: pH7.4と4.0における、各変異タンパク質の $I_{\text{im}}/I_{\text{m}}$ 比の違い

以上の結果はD177が形成する塩橋やH176のプロトン化が、S2のpH依存性構造変化に影響を与えることを示唆している。このことから、D177Nといったアミノ酸の突然変異で発症する遺伝性CJDやFFIは、S2の構造変化が引き金となりPrP^{Sc}が形成される可能性が考えられる。

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 23 件)

1. Ogura A, Watanabe Y, Iizuka D, Yasui H, Amitani M, Kobayashi S, Kuwabara M, and Inanami O.

Radiation-induced apoptosis of tumor cells is facilitated by inhibition of the interaction between Survivin and Smac/DIABLO.

Cancer Lett. 259 71-81.2008 査読有

2. Yasui H, Ogura A, Asanuma T, Matsuda A, Kashiwakura I, Kuwabara M, Inanami O.

Inhibition of HIF-1 α by the anticancer drug TAS106 enhances X-ray-induced apoptosis in vitro and in vivo.

Br. J. Cancer 299. 1442-1452.2008 査読有

3. Asanuma T, Yasui H, Sato M, Inanami O, and Kuwabara M.

A BOLD-fMRI study of cerebral activation induced by injection of alginate chemical substances into the anesthetized rat forepaw.

Jpn. J. Vet. Res. 56. 99-107.2008 査読有

4. Kuwabara M, Asanuma T, Niwa K, and Inanami O.

Regulation of cell survival and death signals induced by oxidative stress.

J. Clin. Biochem. Nutr. 43. 51-57.2008 査読有

5. Chiang Y.W, Otoshima Y, Watanabe Y, Inanami O, Shimoyama Y.

2008. Dynamics and local ordering of spin-labeled prion protein: an ESR simulation study of a highly PH-sensitive site.

J. Biomol. Struct Dyn. 26. 355-366.2008 査読有

6. Asanuma T, Doblas S, Tesiram Y.A, Saunders D, Cranford R, Yasui H, Inanami O, Smith N, Floyd R.A, Kotake Y. and Towner R.A.

Visualization of the protective ability of a free radical trapping compound against rat C6 and F98 gliomas with diffusion tensor fiber tractography.

J. Magn. Reson. Imaging 28. 574-587.2008 査読有

7. Asanuma T, Doblas S, Tesiram Y.A, Saunders D, Cranford R, Pearson J, Abbott A, Smith N. and Towner, R.A.

Diffusion tensor imaging and fiber tractography of C6 rat glioma.

J. Magn. Reson. Imaging 28. 566-573.2008 査読有

8. Iizuka D, Ogura A, Kuwabara M. and Inanami O.

Purvalanol A induces apoptosis and downregulation of antiapoptotic proteins through abrogation of phosphorylation of JAK2/STAT3 and RNA polymerase II.

Anticancer Drugs. 19. 565-572.2008 査読有

9. Yamada Y, Sato R, Kobayashi S, Hankanga C, Inanami O, Kuwabara M, Momota Y, Tomizawa

N. and Yasuda J.

The antiproliferative effect of bovine lactoferrin on canine mammary gland tumor cells.

J. Vet. Med. Sci. 70. 443-448.2008 査読有

10. Kobayashi S, Sato R, Aoki T, Omoe K, Inanami O, Hankanga C, Yamada Y, Tomizawa N, Yasuda J. and Sasaki J.

Effect of bovine lactoferrin on functions of activated feline peripheral blood mononuclear cells during chronic feline immunodeficiency virus infection.

J. Vet. Med. Sci. 70. 429-435.2008 査読有

11. Takahashi M, Yasui H, Ogura A, Asanuma T, Kubota N, Tsujitani M, Kuwabara M. and Inanami O.

X irradiation combined with TNF alpha-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) reduces hypoxic regions of human gastric adenocarcinoma xenografts in SCID mice.

J. Radiat. Res. 49. 153-161.2008 査読有

12. Kamikawa A, Ishii T, Shimada K, Makondo K, Inanami O, Sakane N, Yoshida T, Saito M. and Kimura K.

Proinsulin C-peptide abrogates type-1 diabetes-induced increase of renal endothelial nitric oxide synthase in rats.

Diabetes Metab. Res. Rev. 24. 331-338.2008 査読有

13. Oriya A, Takahashi K, Inanami O, Miura T, Abe Y, Kuwabara M, Kashiwakura I.

Individual differences in the radiosensitivity of hematopoietic progenitor cells detected in steady-state human peripheral blood.

J. Radiat. Res. 49. 113-121.2008 査読有

14. Watanabe Y, Hiraoka W, Shimoyama Y, Horiuchi M, Kuwabara M. and Inanami O.

Instability of familial spongiform encephalopathy-related prion mutants.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 366. 244-249.2008 査読有

15. Kosugi T, Kawahara K, Tanaka M, Watanabe Y. and Inanami O.

Neuron is the primary target of Ca²⁺ paradox-type insult-induced cell injury in neuron/astrocyte co-cultures.

Neurochem. Int. 52. 887-896.2008 査読有

16. Ahmed M, Kimura K, Soliman M, Yamaji D, Okamatsu-Ogura Y, Makondo K, Inanami O, Saito M.

Effects of leptin and tumor necrosis factor-alpha on degranulation and superoxide production of polymorphonuclear neutrophils from Holstein cows.

J Vet Med Sci. 69(2) 125-131.2007 査読有

17. Yasui H, Inanami O, Asanuma T, Iizuka D, Nakajima T, Kon Y, Matsuda A, Kuwabara M.

Treatment combining X-irradiation and a ribonucleoside anticancer drug, TAS106,

effectively suppresses the growth of tumor cells transplanted in mice.
Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1;68(1) 218-228.2007 査読有

18. Iizuka D, Inanami O, Kashiwakura I, Kuwabara M.

Purvalanol A enhances cell killing by inhibiting up-regulation of CDC2 kinase activity in tumor cells irradiated with high doses of X rays.
Radiat Res. 167(5) 563-571.2007 査読有

19. Yasui H, Asanuma T, Watanabe Y, Waki K, Inanami O, Kuwabara M.

Oral administration of Antioxidant Biofactor (AOBtrade mark) ameliorates ischemia/reperfusion-induced neuronal death in the gerbil.
Biofactors. 29(2-3) 113-121.2007 査読有

20. Asanuma T, Yasui H, Inanami O, Waki K, Takahashi M, Iizuka D, Uemura T, Durand G, Polidori A, Kon Y, Pucci B, Kuwabara M.

A new amphiphilic derivative, N-{[4-(lactobionamido)methyl]benzylidene}-1,1-dimethyl-2-(octylsulfanyl)ethylamine N-oxide, has a protective effect against copper-induced fulminant hepatitis in Long-Evans Cinnamon rats at an extremely low concentration compared with its original form alpha-phenyl-N-(tert-butyl) nitron.
Chem Biodivers. 4(9) 2253-2267.2007 査読有

21. Takahashi M, Inanami O, Kubota N, Tsujitani M, Yasui H, Ogura A, Kuwabara M.

Enhancement of cell death by TNF alpha-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in human lung carcinoma A549 cells exposed to x rays under hypoxia.
J Radiat Res (Tokyo). 48(6) 461-468.2007 査読有

22. Nagahata H, Higuchi H, Inanami O, Kuwabara M.

Costimulatory effects of complement receptor type 3 and Fc receptor for IgG (FcgammaR) on superoxide production and signal transduction in bovine neutrophils. J Vet Med Sci. 69(10) 993-997.2007 査読有

23. 飯塚大輔, 稲波修, 安井博宣, 小倉亜希 桑原幹典

G2 期チェックポイント阻害による放射線誘導細胞致死効果のメカニズム
放射線生物研究 42(4) 444-455.2007 査読有

[学会発表] (計 12 件)

1. 稲波修, 木野潤一, 浅沼武敏, 安井博

宣, 久保田信雄, 辻谷典彦, 桑原幹典
移植脳腫瘍モデルにおける新規低酸素性放射線増感剤 PR-350 (ドラニダゾール) の放射線増感効果
第11回癌治療増感研究シンポジウム
2009年2月14日~15日奈良市 猿沢荘

2. 武内亮, 安井博宣, 長崎幸夫, 大石基, 中村隆仁, 稲波修

金ナノ粒子存在下でのX線照射による細胞増殖死の増強作用
日本放射線影響学会 第51回大会
2008年11月19日~21日北九州国際会議場 (北九州市)

3. Osamu INANAMI, Yasuko WATANABE, Wakako HIROOKA, Yuhei SHIMOYAMA, Motohiro HORIUCHI and Mikinori KUWABARA

Characterization of Cu(II) binding site in C-terminal domain of mouse prion: Site-directed spin labeling study
EPR2008 (Biomedical Redox Navigation) September 28-30 2008
JAL Resort Sea Hawk Hotel Fukuoka, Kyushu Japan

4. Aki OGURA, Mikinori KUWABARA, Aki HIRAYAMA, Shigeru OOWADA and Osamu INANAMI

REDOX REGULATION OF RADIATION-INDUCED CYTOCHROME-C RELEASE FROM MITOCHONDRIA IN HUMAN LUNG CARCINOMA A549 CELLS
EPR2008 (Biomedical Redox Navigation) September 28-30 2008
JAL Resort Sea Hawk Hotel Fukuoka, Kyushu Japan

5. 小林沙織, 坂下豪, 永井恭子, 関隆志, 稲波修, 安田準, 佐々木重荘, 佐藤れえ子

Feline immunodeficiency virus (FIV) 感染初期におけるネコの好中球機能の評価ならびにウシラクトフェリン投与の影響
第146回日本獣医学会学術集会
2008年9月24日~26日宮崎大学

6. 木野潤一, 浅沼武敏, 安井博宣, 久保田信雄, 辻谷典彦, 桑原幹典, 稲波修

C6 担癌ラットを用いた新規低酸素性放射線増感剤 PR-350 (ドラニダゾール) の脳腫瘍に対する薬効評価
第146回日本獣医学会学術集会
2008年9月24日~26日宮崎大学

7. 伊藤望, 小倉亜希, 渡辺康子, 浅沼武敏, 稲波修

PBNによるPC12細胞に対する神経様突起誘導のメカニズムに関する検討
第146回日本獣医学会学術集会
2008年9月24日~26日宮崎大学

8. Watanabe Y, Inoue T, Horiuchi M, Kuwabara M, and Inanami O.

The Protective Effect of Mouse Prion Protein from Metal-Catalyzed Oxidative Stress
Free Radical Biology & Medicine (SFRBM's 14th Annual Meeting)
2007年11月14日～18日 Renaissance Hotel (Washington, D.C., USA)

9. Watanabe Y, Hiraoka W, Shimoyama Y, Horiuchi M, Kuwabara M, and Inanami O.
Analysis of pH-sensitivity and conformational stability in mouse prion protein by cysteine-scanning site-directed spin labeling
Society of Electron Spin Science and Technology (ISESS-SEST) 2007
2007年11月8日 Granship (Shizuoka, Japan)

10. Inanami O, Watanabe Y, Hiraoka W, Shimoyama Y, Horiuchi M, Inagaki F and Kuwabara M.
Identification of Cu(II) binding site in carboxy-terminal domain of mouse PrP^{Sc} Site-directed spin lab study
Society of Electron Spin Science and Technology (ISESS-SEST) 2007
2007年11月8日 Granship (Shizuoka, Japan)

11. 稲波修、渡辺康子、堀内基広、平岡和佳子、下山雄平、桑原幹典、
プリオンタンパク質C末端領域の新たな Cu²⁺ 結合構造の同定
第144回日本獣医学会学術集会
2007年9月2日 酪農学園大学 (江別市)

12. 渡辺康子、平岡和佳子、下山雄平、堀内基広、桑原幹典、稲波修
プリオンタンパク質の pH 感受性における塩橋とヒスチジン残基の役割
第144回日本獣医学会学術集会
2007年9月2日 酪農学園大学 (江別市)

〔図書〕(計1件)
小倉亜希、安井博宣、桑原幹典、稲波修
「放射線・紫外線と酸化ストレス」『酸化ストレスの医学』(診断と治療社)
175-182. 2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲波 修 (INANAMI OSAMU)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
研究者番号：10193559

(2) 研究分担者

稲葉 睦 (INABA MUTSUMI)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授

研究者番号：00183179

堀内 基広 (HORIUTCHI MOTOHIRO)
北海道大学・大学院獣医学研究科・教授
研究者番号：30219216

桑原 幹典 (KUWABARA MIKINORI)
北海道大学・大学院獣医学研究科・名誉教授
研究者番号：10002081

浅沼 武敏 (ASANUMA KATETOSHI)
北海道大学・大学院獣医学研究科・准教授
研究者番号：40332473

(3) 連携研究者

平岡和佳子 (HIRAOKA WAKAKO)
明治大学・理工学部・教授
研究者番号：00212168

下山 雄平 (SHIMOYAMA YUHEI)
室蘭工業大学・工学部・教授
研究者番号：50123948