

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00841

研究課題名(和文) 部分疎水化が創発する両親媒性の理解を通じた新たなタンパク質機能の開拓

研究課題名(英文) Exploring the novel properties of proteins by controlling the partial hydrophobicity

研究代表者

神谷 典穂 (Kamiya, Noriho)

九州大学・工学研究院・教授

研究者番号：50302766

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,900,000円

研究成果の概要(和文)：水と油の双方に馴染む両親媒性を有する脂質は、細胞を形づくる二分子膜構造を自発的に形成することで生命活動の維持に寄与している。本研究では、天然タンパク質が脂質修飾を施されることで、脂質二重膜上で様々な性質を示す点に注目した。即ち、目的タンパク質への部分的な疎水性の導入を通じた両親媒化により発現する、新たなタンパク質機能の開拓を目指した。異種生体分子の架橋を触媒する酵素のタンパク質工学、脂質修飾タンパク質の脂質二重膜上での挙動の評価、酵素と脂質の複合化による抗真菌機能の創出について、生化学・生物物理・生物工学的視点から基礎研究を行うと共に、社会実装に向けた検討も併せて実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体膜に存在するタンパク質は、細胞内外の情報やエネルギーのやり取りを通して、その生命活動の一翼を担っている。脂質二分子膜とタンパク質の間に働く弱い相互作用に注目し、これを人工的に制御することで、両親媒性タンパク質を基材とする新たな生理機能を示す生体分子の創出に繋がることが期待される。また、既に上市されている脂質ベースの薬物キャリア(リポソームや脂質ナノ粒子等)と組み合わせることで、既往製剤のアップグレードが可能になる。本研究で得られた成果は、何れの場合においても有用な指針を与えるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：The amphiphilic nature of lipids is critical to form cellular compartments for the maintenance of biological activities by spontaneously building up lipid bilayers. In this study, we focused on the involvement of natural proteins in various biological events on lipid-bilayer membranes by acquiring partial hydrophobicity by the lipid modification. To explore the potential of partial hydrophobicity introduced through artificial lipid modification, we conducted basic research from biochemical, biophysical and bioengineering viewpoints such as protein engineering of enzymes that catalyze cross-linking of heterologous biomolecules, behavior of lipid-modified proteins on lipid bilayers and biomolecular engineering of antifungal enzymes. We also explored potential application of artificial lipid-modified proteins to lipid-based drug delivery systems.

研究分野：生体分子工学

キーワード：両親媒性 脂質修飾 バイオ界面 架橋酵素 翻訳後修飾 タンパク質 リポソーム 抗真菌活性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水と油の双方に馴染む両親媒性を有する脂質は、細胞を形づくる二分子膜構造を自発的に形成することで生命活動の維持に寄与している。天然タンパク質への脂質修飾は、タンパク質の翻訳後修飾の一つであり、脂肪酸やステロール、糖脂質といった多様な脂質分子が、対象タンパク質の特定部位へ付加される。脂質分子の導入により付与された部分的な疎水性により、脂質修飾を施されたタンパク質は、細胞膜近傍あるいは細胞膜を介した生理機能に寄与することが可能になる。即ち、脂質の種類に応じて細胞膜に局在することにより、シグナル伝達に寄与するタンパク質の活性化や、細胞内へのタンパク質の輸送等、生物機能の調節に重要な役割を果たす。

脂質修飾タンパク質は、脂質の種類や修飾位置、修飾分子数や結合様式に依存して、細胞膜界面での生理機能の制御に重要な役割を演じているが、その機能解析に基づく応用展開は容易ではない。その一つの原因として、天然の脂質修飾タンパク質を、生細胞を用いた汎用的な手法で大量に得ることが困難な点が挙げられる。脂質修飾タンパク質を人工的に得るための技術開発は進んでいたが、疎水性の脂質分子と親水性のタンパク質分子を同じ反応場で共存させる必要があることから、タンパク質の変性を促す添加剤（界面活性剤や有機溶媒）が反応効率の向上に必要なというジレンマを抱えていた。従って、試験管内で脂質修飾過程を再現できれば、脂質修飾タンパク質の調製が容易になると共に、新たな機能を発現する生体分子の創出に繋がる可能性があった。同時に、人工的に脂質が修飾されたタンパク質の汎用的な調製法の確立は、脂質を基材とする薬物送達システム (Drug Delivery System, DDS) との相乗効果が期待された。

2. 研究の目的

本研究では、酵素反応を用いた新たな脂質修飾タンパク質の調製法を確立し、既往の課題を解決すると共に、タンパク質への部位特異的な人工脂質分子の導入（部分疎水化）がタンパク質機能に与える影響を包括的に理解することを目的とした。生化学・生物物理・生物工学的視点からの基礎研究を通して、両親媒性の付与による新たなタンパク質機能の創出とその工学的価値を追求した。コロナ禍での実験時間の制約の下、最大限の成果が上がるよう試行錯誤をしつつ、以下の3つの課題を設定して研究を進めた（図1）。

課題1：異種生体分子の架橋を触媒する酵素のタンパク質工学

人工脂質修飾タンパク質の調製には、当グループで基礎検討を重ねてきたタンパク質架橋酵素である微生物由来トランスグルタミナーゼ (Microbial transglutaminase, MTG) を用いた。研究協力者（九州大学 南畑孝介博士）の協力の下、大腸菌を宿主とするMTGの大量発現系を構築した。MTGが触媒する異種生体分子間の架橋反応の基礎的な理解のため、合成高分子を用いて細胞質内環境を模倣した分子クラウディング条件下における架橋反応挙動を評価した。また、研究分担者（九州大学 若林里衣准教授）の連携の下、MTG基質配列を有する両親媒性ペプチド集合系の応用研究を実施した。

課題2：抗真菌酵素と脂質の複合化による抗真菌システムの構築

人工脂質修飾による新たなタンパク質機能の創出に向け、抗真菌酵素の生化学と機能評価に精通した研究分担者（琉球大学 平良東紀教授）の協力の下、天然には存在しない人工脂質が修飾された組換え酵素の創製と、これが組み込まれた新たな抗真菌システムの構築を試みた。抗真菌活性を有するキチナーゼ (ChiA) は、キチン結合ドメインと触媒ドメインからなることから、それぞれのドメインに対して脂質修飾を施すことで、抗真菌活性の発現機構の理解を目指した。また、脂質や人工二分子膜(リポソーム)により可溶化された抗真菌薬剤と組み合わせることで、既存抗真菌薬との相乗効果の発現の可能性を探った。

課題3：人工脂質修飾タンパク質の脂質二分子膜上での挙動解析

研究の進展に伴い、脂質修飾タンパク質の二分子膜上での振る舞いの分子論的解釈のために、生物学ならびに生物物理の視点を導入する必要性を強く感じた。そこで2年次より、生体膜のダイナミクスに造詣の深い北陸先端科学技術大学院大学の高木昌宏教授、下川直史准教授との共同研究を開始した。主に飽和脂質とコレステロールからなる細胞膜上のナノサイズの相分離ドメインとして知られるラフトを模倣した相分離人工脂質二分子膜と、生細胞を用いた検討を並行して行うことで、人工脂質修飾タンパク質の細胞膜上での挙動の理解を試みた。

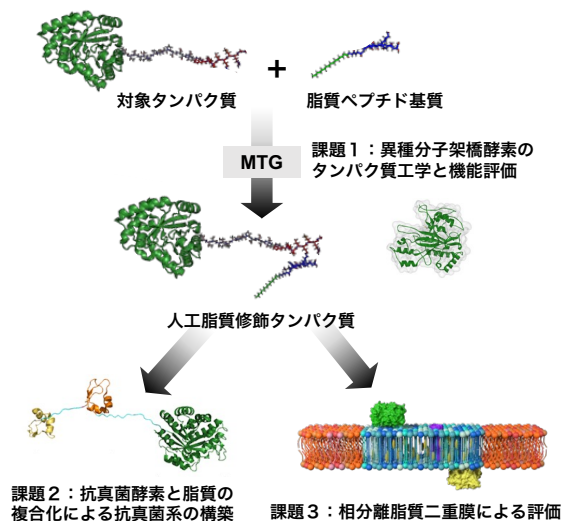


図1 本研究の3つの課題の概要

3. 研究の方法

(3-1) 異種生体分子架橋酵素のタンパク質工学と機能評価

MTGは活性部位がプロペプチドにより覆われた前駆体の形で生合成され、プロテアーゼによる限定消化を受けて活性型となる。一方、汎用宿主である大腸菌を用いた成熟型MTGの発現は困難である一方、不活性な前駆体MTGの大量発現は可能である。そこでタンパク質工学に精通した南畑博士との連携により、大腸菌細胞質内で、MTGの前駆体を成熟型に変換する仕組みを導入した。また、両親媒性ペプチドの有機合成に精通した若林准教授との連携により、新たなDDS基材の創出に向け、MTGの基質配列を構成要素とする両親媒性ペプチド集合系の構築について検討した。

(3-2) 抗真菌活性を有する酵素の部分疎水化による新たな抗真菌システムの創製

人工脂質修飾による新たなタンパク質機能の創出に向け、平良教授より提供された抗真菌キチナーゼ ChiA の生体分子工学的改変を実施した。MTG が触媒する架橋反応を用いて飽和脂肪酸を脂質部位に有する人工脂質化酵素を調製し、抗真菌活性の発現に与える影響を評価した。また、脂質修飾キチナーゼ(ドメイン)が組み込まれた新たな抗真菌システムの構築に向け、既存の抗菌剤 Amphotericin B (AMB) との併用による抗真菌活性の相乗効果の発現についての検討を実施した。具体的には、AMB が界面活性剤であるデオキシコロール酸 (Fungizone™) や、リポソーム (AmBisome™) により可溶化された製剤を用いて、モデル真菌 *Tricoderma viride* に対する抗真菌活性を評価した (図2)。

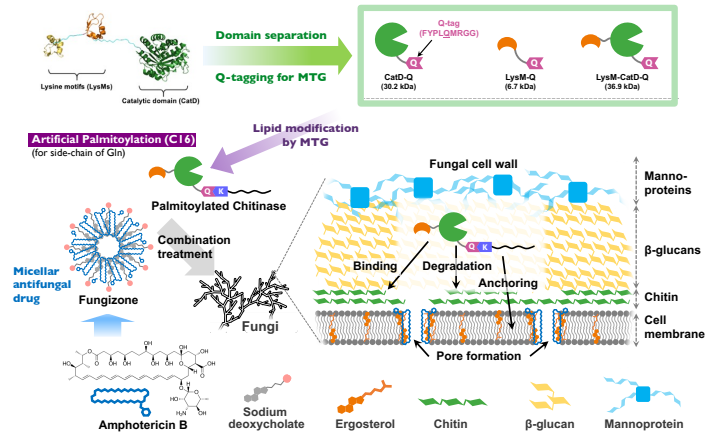


図2 脂質修飾ドメイン分割抗真菌キチナーゼとAMBを用いた抗真菌システムの概要図

(3-3) 人工脂質二重膜および細胞膜上での人工脂質修飾タンパク質の挙動の評価

天然タンパク質の S-パルミトイル化は、細胞の信号伝達や発がんにも寄与する重要な翻訳後修飾として位置付けられている。また、パルミトイル化タンパク質は、飽和脂質とコレステロールに富んだ細胞膜上の相分離ドメインであるラフトを介して、多様な細胞機能に摂動を与えることが示唆されている。MTG 触媒架橋反応により緑色蛍光タンパク質 (EGFP) の C 末端にパルミチン酸あるいはオレイン酸が導入された脂質修飾 EGFP (EGFP-Pal, EGFP-Ole) を調製し、生体模倣人工脂質二分子膜である Giant Unilamellar Vesicle (GUV) の脂質組成を変えることで得られる相分離 GUV を組み合わせ、脂質修飾が膜ドメインへの局在に与える影響を評価した。生細胞を用いた検討においては、ラフトが介在するエンドサイトーシスの観察が可能な Jurkat 細胞を用いて、人工脂質修飾タンパク質の細胞膜へのアンカリングと細胞内移行を評価した。

4. 研究成果

(4-1) 異種生体分子架橋酵素のタンパク質工学と機能評価

脂質修飾技術の汎用化を目指し、大腸菌発現系による組換え MTG 変異体の調製法を確立した。大腸菌細胞質で成熟型酵素が得られるよう、限定消化を実行するプロテアーゼを前駆体酵素と共発現することで、架橋活性を有する組換え MTG が直接得られる系を構築した。この際、プロペプチドへ導入するアミノ酸変異の種類により、成熟型 MTG の収率が変化することが明らかとなった。特に活性の高い MTG を発現する宿主は多くの場合発育障害を受けるため、細胞内で毒性を示すことが示唆された。

(4-2) 抗真菌酵素の部分疎水化による新たな抗真菌薬の創製

抗真菌活性を有するキチナーゼについて、脂質導入用ペプチドタグが導入された一連の組換え ChiA ドメインを調製し、パルミトイル基が修飾されたタンパク質群を得た。これらの抗真菌活性について、分担研究者の琉球大学平良教授の協力の下、カビの増殖

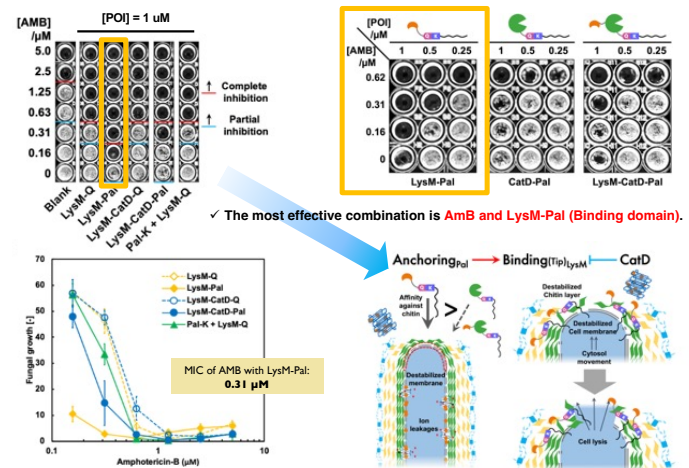


図3 脂質修飾キチン結合ドメインとAMBの相乗効果と真菌増殖抑制機構の概要図

抑制試験を実施した。その結果、脂質修飾キチナーゼとの併用により、AMBの最小生育阻止濃度を顕著に低下させることが可能であり、抗真菌薬の投与量の抑制に繋がることが示唆された。興味深いことに、パルミトイル基の導入効果は、触媒ドメイン (CatD-Pal) よりもキチン結合ドメイン (LysM-Pal) の方が高く、当初の想定と反する結果が得られた (図3)。蛍光ラベル化 LysM-Pal を用いた検討から、脂質修飾による真菌細胞壁への浸透性の向上が観察され、分子量が比較的小さな LysM (MW ca. 8700) がより効果的に細胞壁へ浸透し、キチン質の生合成を阻害することでより高い抗真菌活性を発現する機構を推定した。また、リポソーム製剤との組み合わせにおいては、真菌細胞壁への薬剤の指向性の付与が可能であることを見出し、基本特許の出願に至った。

(4-3) 人工脂質修飾タンパク質の膜ドメイン選択的局在化と細胞内輸送

GUV を構成する脂質組成を調整 (DOPC/DPPC/cholesterol = 4:4:2) し、ラフトモデル相である液体秩序相 (Lo 相) と非ラフトモデル相である液体無秩序相 (Ld 相) からなる相分離 GUV を得た。これに対する EGFP-Pal と EGFP-Ole のアンカリング挙動を評価したところ、EGFP-Pal は Lo 相に、EGFP-Ole は Ld 相に局在することが確認された (図4)。また、ゲル相 (So 相) と Ld 相に相分離したコレステロールを含まない GUV (DOPC/DPPC = 5:5) においては、EGFP-Pal の So 相への局在は観察されなかった。以上のことから、導入脂質の性質により対象タンパク質の相分離ドメイン選択性が生じ、飽和脂肪酸であるパルミトイル基による修飾は、飽和脂質 (DPPC) とコレステロールにより構成されるラフトモデル相 (Lo 相) への同種脂質間の親和性に寄与していることが明らかとなった。

次に、脂質修飾 EGFP のアンカリングに伴う細胞応答を評価した。赤色蛍光標識 Cholera toxin subunit B (CT-B) でラフトを染色した Jurkat 細胞を、異なる濃度の EGFP-Pal または EGFP-Ole と温置し、免疫賦活剤であるコンカナバリン A を添加してラフトの内在化とクラスターの形成を誘導した。その結果、EGFP-Pal の場合においてのみ、Jurkat 細胞膜への濃度依存的なアンカリングと細胞内への輸送 (内在化) が観察された。内在化経路の解析のため、Methyl- β -cyclodextrin (M β CD) を用いた前処理により細胞膜中のコレステロールを枯渇させた Jurkat 細胞に EGFP-Pal を添加したところ、細胞膜へのアンカリング、ラフトを介した細胞内在化の双方が大幅に抑制された (図5)。上述の Ld/Lo 相分離 GUV を用いた検討において、EGFP-Pal は飽和脂質 (DPPC) とコレステロールに富むラフトモデル Lo 相に局在したことも踏まえ、本実験条件下においては、EGFP-Pal は Jurkat 細胞膜上のラフトドメインにアンカリングし、細胞膜中のコレステロールの存在に依存するカベオラ/エンドサイトーシス経路により内在化したことが示唆された。今後更なる脂質部位の多様化と人工膜・細胞膜との相互作用の解析を通して、タンパク質の翻訳後修飾において生物が特定の脂質を選択するに至った理由の解明に繋がる可能性がある。

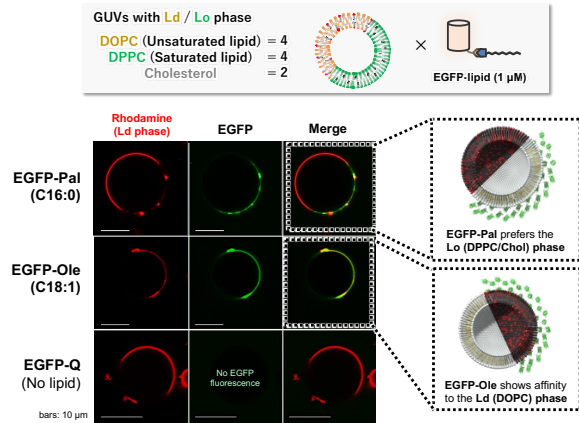


図4 脂質修飾EGFPの相分離膜ドメインへの選択的アンカリング

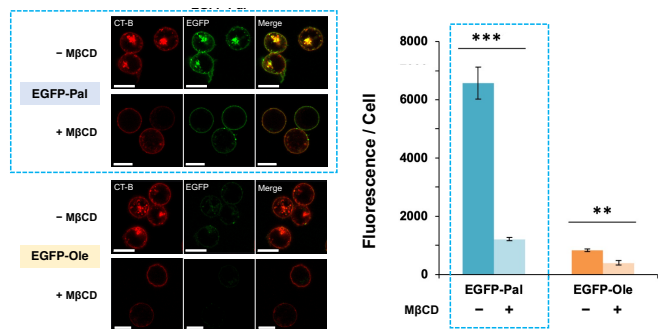


図5 修飾脂質と細胞膜コレステロールがEGFPの内在化に与える影響

本研究を通して、タンパク質の脂質修飾による部分疎水化は、目的タンパク質に膜を介在する動的な性質を付与する有効な手段であることが示された。抗真菌活性を示す酵素との組み合わせにおいては、脂質を基材とする市販抗真菌製剤との相乗効果が観察され、基本特許の出願を完了した。今後、真菌症の診断・治療が実施可能な研究開発機関との連携を進める。脂質修飾タンパク質と生体模倣膜・生細胞を組み合わせた検討からは、パルミトイル基の導入により、脂質間引力を基本とするラフト選択的なタンパク質のアンカリングと細胞内デリバリーの可能性が示された。また、酵素架橋反応そのものに与える反応場の影響に関する基礎検討においても特徴的な成果が得られた。最後に、コロナ禍における新たな共同研究として、本学農学研究院日下部宜宏教授 (研究協力者) と薬学研究院西田基宏教授との共同研究において、カイコ発現系で調製されたコロナウイルス外被 S プロテインの組換え MTG による部位特異的修飾について一定の成果が得られた。本基礎研究成果は、将来的な異分野共同研究に寄与することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 内田和希, 神谷典穂	4. 巻 39
2. 論文標題 脂質二分子膜へのタンパク質のアンカリング技術	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BIOINDUSTRY	6. 最初と最後の頁 19 ~ 26
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 無
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 Taniguchi Hiromasa, Ishimime Yugo, Minamihata Kosuke, Santoso Pugoh, Komada Takuya, Saputra Hendra, Uchida Kazuki, Goto Masahiro, Taira Toki, Kamiya Noriho	4. 巻 19
2. 論文標題 Liposomal Amphotericin B Formulation Displaying Lipid-Modified Chitin-Binding Domains with Enhanced Antifungal Activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 3906 ~ 3914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.molpharmaceut.2c00388	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 Uchida Kazuki, Obayashi Hiroki, Minamihata Kosuke, Wakabayashi Rie, Goto Masahiro, Shimokawa Naofumi, Takagi Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 38
2. 論文標題 Artificial Palmitoylation of Proteins Controls the Lipid Domain-Selective Anchoring on Biomembranes and the Raft-Dependent Cellular Internalization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 9640 ~ 9648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.2c01205	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 Santoso Pugoh, Komada Takuya, Ishimine Yugo, Taniguchi Hiromasa, Minamihata Kosuke, Goto Masahiro, Taira Toki, Kamiya Noriho	4. 巻 134
2. 論文標題 Preparation of amphotericin B-loaded hybrid liposomes and the integration of chitin-binding proteins for enhanced antifungal activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 259 ~ 263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2022.06.005	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 Santoso Pugoh, Minamihata Kosuke, Ishimine Yugo, Taniguchi Hiromasa, Komada Takuya, Sato Ryo, Goto Masahiro, Takashima Tomoya, Taira Toki, Kamiya Noriho	4. 巻 8
2. 論文標題 Enhancement of the Antifungal Activity of Chitinase by Palmitoylation and the Synergy of Palmitoylated Chitinase with Amphotericin B	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1051 ~ 1061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsinfectdis.2c00052	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 Sato Ryo, Minamihata Kosuke, Wakabayashi Rie, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 21
2. 論文標題 Molecular crowding elicits the acceleration of enzymatic crosslinking of macromolecular substrates	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 306 ~ 314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D20B01549H	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 Minamihata Kosuke, Tanaka Yusuke, Santoso Pugoh, Goto Masahiro, Kozome Dan, Taira Toki, Kamiya Noriho	4. 巻 32
2. 論文標題 Orthogonal Enzymatic Conjugation Reactions Create Chitin Binding Domain Grafted Chitinase Polymers with Enhanced Antifungal Activity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1688 ~ 1698
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.1c00235	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 Wakabayashi Rie, Higuchi Ayato, Obayashi Hiroki, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 22
2. 論文標題 pH-Responsive Self-Assembly of Designer Aromatic Peptide Amphiphiles and Enzymatic Post-Modification of Assembled Structures	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3459 ~ 3459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073459	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 Takahara Mari, Mochizuki Shinichi, Wakabayashi Rie, Minamihata Kosuke, Goto Masahiro, Sakurai Kazuo, Kamiya Noriho	4. 巻 32
2. 論文標題 Extending the Half-Life of a Protein in vivo by Enzymatic Labeling with Amphiphilic Lipopeptides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 655 ~ 660
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.1c00027	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 PERMANA Dani, MINAMIHATA Kosuke, GOTO Masahiro, KAMIYA Noriho	4. 巻 37
2. 論文標題 Strategies for Making Multimeric and Polymeric Bifunctional Protein Conjugates and Their Applications as Bioanalytical Tools	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 425 ~ 437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SCR07	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 Hori Katsutoshi, Yoshimoto Shogo, Yoshino Tomoko, Zako Tamotsu, Hirao Gen, Fujita Satoshi, Nakamura Chikashi, Yamagishi Ayana, Kamiya Noriho	4. 巻 133
2. 論文標題 Recent advances in research on biointerfaces: From cell surfaces to artificial interfaces	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 195 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2021.12.004	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 Sato R., Minamihata K., Wakabayashi R., Goto M., Kamiya N.	4. 巻 600
2. 論文標題 PolyTag: A peptide tag that affords scaffold-less covalent protein assembly catalyzed by microbial transglutaminase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Biochemistry	6. 最初と最後の頁 113700 ~ 113700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ab.2020.113700	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 Sato Ryo, Minamihata Kosuke, Ariyoshi Ryutaro, Taniguchi Hiromasa, Kamiya Noriho	4. 巻 176
2. 論文標題 Recombinant production of active microbial transglutaminase in E. coli by using self-cleavable zymogen with mutated propeptide	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Protein Expression and Purification	6. 最初と最後の頁 105730 ~ 105730
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pep.2020.105730	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 Ramadhan Wahyu, Ohama Yuki, Minamihata Kosuke, Moriyama Kousuke, Wakabayashi Rie, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 130
2. 論文標題 Redox-responsive functionalized hydrogel marble for the generation of cellular spheroids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 416 ~ 423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.05.010	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 Minamihata Kosuke, Hamada Yusei, Kagawa Genki, Ramadhan Wahyu, Higuchi Ayato, Moriyama Kousuke, Wakabayashi Rie, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 3
2. 論文標題 Dual-Functionalizable Streptavidin-SpyCatcher-Fused Protein-Polymer Hydrogels as Scaffolds for Cell Culture	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 7734 ~ 7742
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsabm.0c00940	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 Wakabayashi Rie, Ramadhan Wahyu, Moriyama Kousuke, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 52
2. 論文標題 Poly(ethylene glycol)-based biofunctional hydrogels mediated by peroxidase-catalyzed cross-linking reactions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Polymer Journal	6. 最初と最後の頁 899 ~ 911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41428-020-0344-7	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 Takahara Mari, Kamiya Noriho	4. 巻 26
2. 論文標題 Synthetic Strategies for Artificial Lipidation of Functional Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 4645 ~ 4655
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201904568	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 Permana Dani, Minamihata Kosuke, Sato Ryo, Wakabayashi Rie, Goto Masahiro, Kamiya Noriho	4. 巻 5
2. 論文標題 Linear Polymerization of Protein by Sterically Controlled Enzymatic Cross-Linking with a Tyrosine-Containing Peptide Loop	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 5160 ~ 5169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b04163	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 佐藤 峻, Dani Permana, 南畑 孝介, 神谷 典穂	4. 巻 65
2. 論文標題 生体触媒を利用した超高分子量タンパク質集合体の構築	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ケミカルエンジニアリング	6. 最初と最後の頁 13 ~ 18
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 無
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 -

〔学会発表〕 計53件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Design of Bioconjugates that Function at Biological Interface
3. 学会等名 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering (KSBB) 2021 International Symposium, 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 カイコを用いた生体分子工学の展開-九州発昆虫バイオリファイナーの構築に向けて
3. 学会等名 KFC第22回特別講演会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 酵素的脂質修飾によるタンパク質の膜ドメイン選択的濃縮
3. 学会等名 第58回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Design of Bioconjugates that Function at Biointerface
3. 学会等名 Indo-Japan SAKURA Science Cafe(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 峻・南畑孝介・若林里衣・後藤雅宏・神谷典穂
2. 発表標題 架橋酵素による高分子水溶液中での特異なタンパク質集合化挙動
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 人工脂質修飾タンパク質の相分離脂質膜ドメインへの選択的アンカリングと局在挙動の評価
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口浩誠、PugohSantoso、佐藤峻、南畑孝介、石嶺悠悟、平良東紀、神谷典穂
2. 発表標題 新規抗真菌薬の創出に向けた脂質修飾タンパク質含有製剤の設計
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 峻・南畑孝介・若林里衣・後藤雅宏・神谷典穂
2. 発表標題 酵素反応を介した事後修飾によるタンパク質集合体の機能拡張
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 人工脂質修飾タンパク質の膜ドメイン選択的局在化技術の汎用化に向けた検討
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 非細胞コンパートメントの構築とその生物工学的応用
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 生物工学的応用に向けた微小ハイドロゲルビーズの調製と機能化
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会（ランチョンセミナー）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 人工脂質修飾タンパク質の膜ドメイン選択的局在化技術の応用
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Enzymatic manipulation of proteins toward biological interfaces
3. 学会等名 AFOB 2021 virtual conference（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriho Kamiya, Pugoh Santoso, Taniguchi Hiromasa, Yugo Ishimine, Kosuke Minamihata, Tomoya Takashima, Toki Taira
2. 発表標題 Design of Chitinase-based Antifungal Bioconjugates
3. 学会等名 The 26th Symposium of Young Asian Biological Engineers' Community (YABEC2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuki Uchida, Hiroki Obayashi, Kosuke Minamihata, Rie Wakabayashi, Masahiro Goto, Naofumi Shimokawa, Masahiro Takagi, Noriho Kamiya
2. 発表標題 Selective Anchoring Behavior of Artificial Lipid-modified Proteins on Lipid Membrane Domains
3. 学会等名 The 26th Symposium of Young Asian Biological Engineers' Community (YABEC2021)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口浩誠、PugohSantoso、佐藤峻、南畑孝介、石嶺悠悟、平良東紀、神谷典穂
2. 発表標題 真菌特異性を付与した新規抗真菌薬の設計とその機能評価
3. 学会等名 日本生物工学会 九州支部 大分大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秦 哲、内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、神谷 典穂
2. 発表標題 Fc 受容体細胞外ドメインを用いた新たな作用機序を有するリポソーム製剤の開発
3. 学会等名 日本生物工学会 九州支部 大分大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤 峻・南畑孝介・若林里衣・後藤雅宏・神谷典穂
2. 発表標題 クラウドイング環境と酵素反応を用いたタンパク質重合体形成とその機能評価
3. 学会等名 日本生物工学会 九州支部 大分大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 人工脂質修飾タンパク質のラフトドメインへの局在化技術の開発
3. 学会等名 日本生物工学会 九州支部 大分大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Enzymatic manipulation of protein assemblies that function at biointerface
3. 学会等名 PacificChem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryo Sato, Kosuke Minamihata, Rie Wakabayashi, Masahiro Goto, Noriho Kamiya
2. 発表標題 Enzyme-mediated protein assembly under molecular crowding conditions
3. 学会等名 PacificChem2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Pugoh Santoso、南畑 孝介、石嶺 悠悟、谷口 浩誠、佐藤 峻、後藤 雅宏、高島 智也、平良 東紀、神谷 典穂
2. 発表標題 脂質化によるキチナーゼの抗真菌活性の増強ならびに脂質化キチナーゼのアンフォテリシンBとの相乗効果
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内田 和希、大林 洋貴、南畑 孝介、若林 里衣、後藤 雅宏、下川 直史、高木 昌宏、神谷 典穂
2. 発表標題 人工脂質修飾タンパク質の免疫細胞膜上へのアンカリング技術の開発
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤 峻・南畑孝介・若林里衣・後藤雅宏・神谷典穂
2. 発表標題 クラウド環境下での酵素触媒架橋反応が与える超巨大タンパク質重合体の機能評価
3. 学会等名 化学工学会第87年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 架橋酵素が繋ぐ異分野融合バイオ研究の展開 基礎研究からスタートアップ起業までー
3. 学会等名 「九州大学学術研究都市」Seminar in Tokyo 2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 カイコを用いた持続可能なタンパク質生産への挑戦
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神谷典穂
2. 発表標題 生物界面で機能する人工生体触媒の開発
3. 学会等名 日本応用酵素協会 酵素研究助成第46回研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有吉龍太郎、佐藤峻、南畑孝介、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 活性型トランスグルタミナーゼ前駆体の低分子・高分子基質に対する触媒特性の評価
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤峻、南畑孝介、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 様々な高分子水溶液中でのタンパク質架橋酵素の特異な触媒挙動
3. 学会等名 第14回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷口浩誠、Pugoh Santoso、駒田拓也、佐藤峻、南畑孝介、石嶺悠悟、平良東紀、神谷典穂
2. 発表標題 酵素触媒を用いた脂質修飾キチナーゼの調製と抗真菌活性の評価
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有吉龍太郎、佐藤峻、南畑孝介、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 異なる基質特異性を示す活性型トランスグルタミナーゼ前駆体の機能評価
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤峻、南畑孝介、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 タンパク質架橋酵素の触媒挙動に与える分子クラウディング剤の効果
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 樋口壺也斗、大林洋貴、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 酵素触媒によるペプチド自己集合材料の事後修飾
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 樋口壘也斗、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 高効率に生体高分子を事後修飾可能な自己組織化ペプチド足場材料の創製
3. 学会等名 化学工学会九州支部オンライン学生発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 樋口壘也斗、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 pH に依存した両親媒性ペプチドの自己組織化と酵素反応的事後修飾
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Pugoh Santoso, Takuya Komada, Hiromasa Taniguchi, Yugo Ishimine, Ryo Sato, Kosuke Minamihata, Tomoya Takashima, Toki Taira, Noriho Kamiya
2. 発表標題 Synergistic Antifungal Action of Lipid-Modified Chitinase With Amphotericin-B
3. 学会等名 International Chemical Engineering Symposia 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Enzymatic biomolecular engineering toward designer bioconjugates and biomaterials
3. 学会等名 The 14th Asian Congress on Biotechnology (ACB 2019), (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 駒田拓也、高原茉莉、Razi Muhamad Alif、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 脂質修飾タンパク質によるリポソームの表面修飾と細胞送達への応用
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有吉龍太郎、南畑孝介、神谷典穂
2. 発表標題 活性型トランスグルタミナーゼ前駆体の分子設計と機能評価
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 峻, 南畑 孝介, 後藤 雅宏, 神谷 典穂
2. 発表標題 タンパク質の片末端集合化を可能にするPolyTagの機能性評価
3. 学会等名 2019年度生物工学若手研究者の集い 夏のセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 峻, 神谷 典穂
2. 発表標題 MTG反応を介したタンパク質集合体の調製と形態評価
3. 学会等名 第22回トランスグルタミナーゼ研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神谷典穂, 南畑孝介, 日下部宜宏
2. 発表標題 蚕を起点とする持続可能な高付加価値タンパク質生産プロセスの構築
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有吉龍太郎, 佐藤峻、南畑孝介、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 活性型TGase前駆体の触媒特性の評価
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 駒田拓也、Razi Muhamad Alif、高原茉莉、若林里衣、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 酵素架橋法を介したタンパク質装飾リポソームの調製とその特性評価
3. 学会等名 第71回日本生物工学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Komada, M. Alif razi, M. Takahara, R. Wakabayashi, M. Goto, N. Kamiya
2. 発表標題 Enzymatic preparation of lipid-modified proteins and their use for the decoration of liposome
3. 学会等名 18th Asian Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress (APCCHE 2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Biomolecular engineering by biocatalysis for designer bio-based functional materials
3. 学会等名 International Symposium of Innovative Bio-production Indonesia on Biotechnology & Bioengineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 峻, 南畑 孝介, 後藤 雅宏, 神谷 典穂
2. 発表標題 酵素触媒によるペプチドタグ特異的な異種タンパク質の集合化
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriho Kamiya
2. 発表標題 Biomolecular engineering for sustainable production of designer functional proteins
3. 学会等名 The 10th Symposium on Innovative Bioproduction Taichung (iBioT2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriho Kamiya, Dani Permana, Wahyu Ramadhan, Kosuke Minamihata, Masahiro Goto
2. 発表標題 Biomolecular engineering by oxidative enzymatic manipulation
3. 学会等名 The 25th Young Asian Biological Engineer 's Community 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 R. Sato, K. Minamihata, M. Goto, N. Kamiya
2. 発表標題 Single peptide-tag specific assembly of functional proteins by enzymatic crosslinking reaction
3. 学会等名 The 32nd International symposium on Chemical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 D. Permana, K. Minamihata, R. Sato, R. Wakabayashi, M. Goto, N. Kamiya
2. 発表標題 Formation of Linear Protein Polymer by Controlling Enzymatic Cross-linking Reaction with a Tyrosine-containing Loop Peptide.
3. 学会等名 The 12th Asian Federation of Biotechnology (AFOB) Regional Symposium 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 峻, 南畑 孝介, 後藤 雅宏, 神谷 典穂
2. 発表標題 分子クラウディング環境下における酵素触媒を介したタンパク質集合化挙動
3. 学会等名 化学工学会第85年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有吉龍太郎、佐藤峻、南畑孝介、後藤雅宏、神谷典穂
2. 発表標題 活性型トランスグルタミナーゼ前駆体の基質特異性の詳細解析
3. 学会等名 化学工学会第85年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗真菌剤組成物、化合物及び抗真菌剤	発明者 神谷典穂、平良東紀	権利者 国立大学法人 九州大学・琉球大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-151325	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

九州大学未来化学創造センター2021年度年報 http://web.cstm.kyushu-u.ac.jp/future/modules/introduction/index.php/report/2021/index.html 未来化学創造センター2020年度年報（神谷研究室） http://web.cstm.kyushu-u.ac.jp/future/modules/introduction/index.php/report/2020kamiya.html 水溶性タンパク質に簡便に脂質を導入する技術 https://www.youtube.com/watch?v=JPhBeyqjbr4

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
研究分担者	平良 東紀 (Taira Toki) (60315463)	琉球大学・農学部・教授 (18001)	
研究分担者	若林 里衣 (Wakabayashi Rie) (60595148)	九州大学・工学研究院・准教授 (17102)	

	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
研究協力者	南畑 孝介 (Minamihata Kosuke)	九州大学・助教 (17102)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	高木 昌宏 (Takagi Masahiro)	北陸先端科学技術大学院大学・教授 (13302)	
研究協力者	下川 直史 (Shimokawa Naofumi)	北陸先端科学技術大学院大学・准教授 (13302)	
研究協力者	日下部 宣宏 (Kusakabe Takahiro)	九州大学・教授 (17102)	

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