

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02873

研究課題名（和文）癌抑制タンパク質p53の一過的機能停止制御を介した新規ゲノム編集法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel genome editing method through transient arrest control of the tumor suppressor protein p53

研究代表者

坂口 和靖（Sakaguchi, Kazuyasu）

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：00315053

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：ゲノム編集は、次世代の遺伝子治療法として大きな注目を集めている。しかしながら、CRISPR/Cas9法においても癌抑制タンパク質p53の機能不全細胞に対してより優先的にゲノム編集が起こるため、より安全で効率の良いゲノム編集法の開発が求められている。

本研究では、癌抑制タンパク質p53機能の時間的制御による新規ゲノム編集法の開発を目指し研究を実施した。p53四量体形成の構造安定性の解析を実施し、各種パラメータの条件検討を実施した。その結果、標的細胞へのp53四量体形成ドメインペプチドアナログの添加によるp53機能の一過的な阻害を介して、ゲノム編集効率を顕著に増強させることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

次世代の遺伝子治療法として注目されるゲノム編集においては、高い編集効率ばかりでなく編集後の細胞癌化に対する安全性が非常に重要である。従来の方法では、編集後に細胞が癌化するリスクが懸念されていた。本研究の成果により、安全かつ高効率なゲノム編集法の改良に対しての新たな指針が示された。

研究成果の概要（英文）：Genome editing has attracted significant attention as a next-generation gene therapy method. However, CRISPR/Cas9 also preferentially edits genomes of cells with dysfunctional cancer suppressor protein p53, and therefore, the development of safer and more efficient genome editing methods is required. In this study, we investigated the structural stability of p53 tetramer formation and examined the conditions for various parameters. As a result, we succeeded in significantly enhancing genome editing efficiency by transiently inhibiting p53 function through the addition of p53 tetramer formation domain peptide analogues to target cells.

研究分野：生物化学

キーワード：癌抑制タンパク質p53 多量体形成 ゲノム編集 ペプチド 一過的阻害

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ゲノム編集は、次世代の遺伝子治療法として大きな注目を集めている。しかしながら、従来の CRISPR/Cas9 法では、癌抑制タンパク質 p53 正常型細胞においてゲノム改変に伴い p53 が活性化され、細胞周期の停止やゲノム編集阻害が起こり編集効率が低いこと、また p53 が変異・欠損している細胞に対してより優先的にゲノム編集が起こることが報告されていた。p53 機能不全細胞は編集後の細胞癌化のリスクがあり、遺伝子治療において大きな問題となる。このため、有効な治療法が遺伝子治療のみである遺伝性疾患等の治療のためにも、より安全で高効率なゲノム編集法の開発が求められていた。

2. 研究の目的

本研究では、癌抑制タンパク質 p53 機能の時間的制御による新規ゲノム編集法の開発を目的とする。すなわち、p53 の機能発現に必須な四量体形成を介して、ゲノム編集時にのみ p53 活性を停止させ、効率的なゲノム編集を達成し、編集後に p53 活性を回復させることにより、癌化の恐れのない安全なゲノム編集法の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) ペプチド調製

本研究で用いた p53 四量体形成ペプチドアナログは、化学合成および大腸菌発現系により調製した。Fmoc 固相合成法により化学合成したペプチドは、HPLC 精製により高純度で得られ、MALDI-TOF MS により分子量を確認した。また、大腸菌発現系による発現・精製においては、TEV 切断部位を有する GST タグ融合ペプチドとして発現させ、GST タグアフィニティー精製後、TEV 切断によりペプチドを遊離し、逆相カラムにより精製し、MALDI-TOF MS により分子量を確認した。

(2) Cas9 タンパク質の調製

Cas9 タンパク質は購入したプラスミドを用いて大腸菌発現系により発現・精製した。Cas9-NLS-His について、His タグアフィニティー精製、イオン交換クロマトグラフィーにより精製し、高純度の Cas9 タンパク質を得た。

(3) p53 レポーター細胞系

ゲノム編集効率の解析においては、A549 細胞を基盤として編集時に p53 活性を同時に解析可能なレポーターアッセイ系を用いた。本レポーター細胞系は、蛍光タンパク質 mCherry を恒常的に発現する。さらに内在性 p53 活性は高親和性 p53 コンセンサス配列を応答配列とした Cerulean、p53 下流標的遺伝子 *CDKN1A* の p53 による転写活性を Venus の発現により、定量的に測定することが可能である。

(4) p53 四量体形成ドメインペプチドによる内在性 p53 の機能阻害解析

A549 レポーター細胞に対して p53 四量体形成ドメインペプチドを添加し、内在性 p53 の活性を解析した。p53 活性化の刺激にはエトポシドを選択した。1 回目のエトポシド刺激時に p53 四量体形成ドメインペプチドを同時に添加し、18 時間後の細胞を蛍光顕微鏡で観察し、Venus、Cerulean、mCherry 蛍光の画像を取得した。その後、培養を続け、2 回目のエトポシド刺激では p53 四量体形成ドメインを添加しない条件で観察を実施した。

(5) 機械学習を用いた画像解析による p53 活性の定量

(4) で得られた Venus、Cerulean、mCherry 蛍光の画像を機械学習により解析し、p53 活性の定量を実施した。恒常的に発現する mCherry 蛍光画像を用いて encoder に EfficientNet b7 を用いた Flexible Private Network による Semantic Segmentation を行い、mCherry 蛍光を示すエリアを検出した。次に、ImageJ を用いて検出されたエリアにおける Venus 強度と Cerulean 強度を定量し、p53 依存的転写活性を解析した。

(6) ゲノム編集の解析

樹立した A549 レポーター細胞の mCherry を標的としたゲノム編集を実施し、mCherry の蛍光を失った細胞をゲノム編集が行われた細胞として解析した。精製した Cas9 および mCherry を標的としたガイド RNA 複合体を NLS-K10-p53Tet ペプチド存在下および非存在下において Lipofectamine CRISPRMAX により導入し、導入から 48 時間培養した。48 時間後の細胞を固定して DAPI により核の染色を実施した。蛍光顕微鏡により細胞の mCherry、DAPI、Venus 蛍光を観察した。

(7) 機械学習を用いた画像解析によるゲノム編集効率の定量

(6)で観察した画像を用いて、mCherry の蛍光強度を定量した。蛍光強度の定量には当研究室で作成したプログラムを用いた。まず、DAPI の画像を用い、画像中の細胞数を YOLOv7 を用いた物体検知により検出、定量した。次に、画像中の mCherry 蛍光を示す細胞数を検出するためのプログラムを作成した。mCherry の蛍光画像を用いて、encoder に EfficientNet b7 を用いた Flexible Private Network による Semantic Segmentation を行い、mCherry 蛍光を示すエリアを検出し、そのエリアの数から mCherry 蛍光細胞を検出した。mCherry 蛍光を消失した細胞の個数からゲノム編集された細胞数、さらには全細胞におけるゲノム編集された細胞の割合によりゲノム編集効率を評価した。

4. 研究成果

本研究では、p53 の機能発現に必須な四量体形成を基盤として、ゲノム編集時にのみ p53 活性を停止させ、効率的なゲノム編集を達成し、編集後に p53 活性を回復させることにより、癌化のリスクの少ないより安全で高効率なゲノム編集法の開発のため、以下の研究を実施した。

(1) p53 レポーターアッセイ系の構築

野生型 p53 を有する A549 細胞を基盤として、シングルセルレベルで p53 機能およびゲノム編集効率を同時に解析可能なレポーターアッセイ系を構築した (Fig. 1)。この p53 レポーターアッセイ系は、SV40 プロモーターにより恒常的に mCherry を発現し、p53 の活性化により p21 遺伝子 *CDKN1A* プロモーターを介した黄色蛍光タンパク質 Venus と、p53 コンセンサス配列 C3 を介した青色蛍光タンパク質 Cerulean を発現する。このレポーターアッセイ系を用いることにより、種々の刺激に対する p53 応答をリアルタイムでモニターすることが可能である。さらに、mCherry を標的としたガイド RNA の使用により、ゲノム編集の効率も評価可能である。

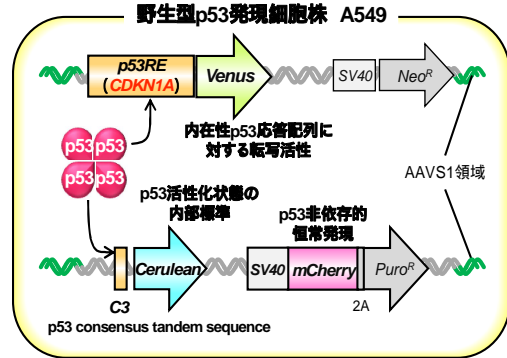


Fig. 1 A549 を基盤とした p53 レポーターシステム

蛍光顕微鏡画像の mCherry の領域における Cerulean および Venus の蛍光強度に対して機械学習を用いて解析することで、時間依存的な p53 活性の定量化に成功した。

(2) 一過的 p53 機能停止ペプチドのデザインと調製

内在性 p53 の一過的機能停止のため、p53 四量体形成ドメインペプチド (p53Tet) アナログを用いた (Fig. 2)。p53Tet は、内在性 p53 タンパク質とヘテロ四量体を形成し、ドミナントネガティブ効果により、p53 タンパク質の機能を停止させることが可能である。本研究では、p53Tet の N 末端に、核局在シグナル (NLS) 配列および細胞内取り込み促進のための 10 個の Lys 残基 (K10) 配列を有している。この NLS-K10-p53Tet を化学合成によって合成し精製した。さらに、大量の NLS-K10-p53Tet を得るための大腸菌発現系を構築した。

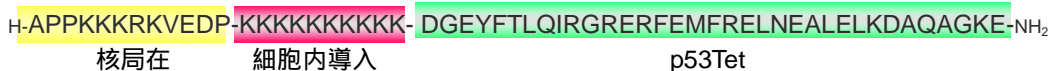


Fig. 2 一過的 p53 機能停止ペプチド NLS-K10-p53Tet

(3) p53 四量体形成安定におけるアミノ酸残基の重要性と多量体による生物活性への効果

タンパク質多量体化におけるアミノ酸残基の重要性を理解するため、p53 四量体形成ドメインペプチドおよびコイルドコイルペプチドをターゲットとした多量体の機能解析を実施した (Table 1)。哺乳類の p53 四量体形成ドメインは配列の相同性が高いにもかかわらず、ツパイの p53 四量体形成ドメインはヒトの p53 四量体形成ドメインよりも顕著に熱安定性が高いことを明らかとした (Nakagawa *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2020, **521**, 681)。さらに、ツパイとオポッサムの四量体形成ドメインペプチドを大腸菌発現系により発現・精製し、X 線結晶構造解析を実施した。その結果、 α ヘリックスの疎水性残基 (ヒト p53 の F341 および Q354 に相当する残基) がパッキングに重要であることを明らかとした。

Table 1 哺乳類 p53 四量体形成ドメイン配列

	p53TD sequences		identity	similarity
Human	324	DGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKE	358	-
Tree shrew	324	DEEYFTLQIRGRERFEMLREINEALELKDAMAGKE	358	88.6%
Guinea pig	321	DAEYFTLQIRGRKNFELLREINEALEFKDAQTEKE	355	71.4%
Chinese hamster	324	DGEYFTLQIRGHERFKMPELNEALELKDAQASKG	358	82.9%
Sheep	313	DGEYFTLQIRGRKRPEMFPRELNEALELMDAQAGRE	347	91.4%
Opossum	296	EGEYFTLQIRGRQRYELLREINEALELKEAHSRKE	330	71.4%

また、生物活性における多量体効果を解析するために、単量体から四量体を形成するコイルドコイルペプチドにバイオミネラリゼーションペプチドを結合させたアナログについて、銀粒子の形成に関する形状を測定した。その結果、バイオミネラリゼーションペプチドの三量体化により特に銀ナノプレートの形成が促進されることが明らかとなった。加えて、ペプチドの DNA の相互作用様式、およびタンパク質の核内における集合様式についても解析を実施し、興味深い結果を得た。

(4) p53 四量体ペプチドアナログによる p53 機能阻害能

p53 四量体ペプチドアナログ NLS-K10-p53Tet の p53 機能に対する効果を明らかにするために、トランスフェクションから 24 時間後に蛍光顕微鏡による Cerulean および Venus の観察を実施した (Fig. 3)。その結果 NLS-K10-p53Tet の添加により内在性 p53 の活性化が抑制されたことが示された。さらに、2 回目のエトポシド刺激により Cerulean および Venus の発現が増加したことが示され、内在性 p53 の再活性化が明らかとなった。

以上より、NLS-K10-p53Tet により p53 の転写活性を一時的に低下させることに成功した。

(5) *in vitro* DNA 消化活性

今回用いた Cas9 タンパク質は、その C 末端部に NLS と His タグを有している。His タグは、エンドソーム脱出促進のため付加した状態で使用した。Cas9-NLS-His を大腸菌発現系で発現し精製した。mCherry 配列を有するプラスミドに対して、精製した Cas9-NLS-His と mCherry を標的とするガイド RNA を用いて *in vitro* での編集を行った。その結果、mCherry 配列が効率よく切断されることが示された (Fig. 4)。

(6) ゲノム編集効率解析

CRISPR/Cas9 によるゲノム編集を行なった。p53 レポーターシステム A549 細胞に対して、mCherry を標的としたガイド RNA および Cas9-NLS-His を用いて、ゲノム編集を行なった。その結果、編集された細胞では mCherry の蛍光が観察されなくなることが示された (Fig. 5)。NLS-K10-p53Tet 添加により、細胞数の顕著な増加と、mCherry 消光細胞の顕著な増加が観察された (Fig. 6)。この結果より、添加した p53Tet により二本鎖切断の修復が促進され、ゲノム編集が効率的に行われたことが示

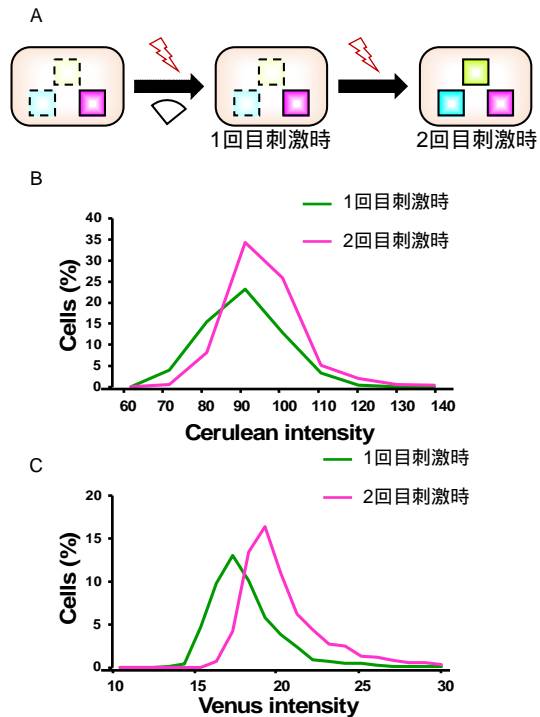


Fig. 3 エトポシド刺激によるレポーター細胞の p53 応答 assay flow (A)。樹立したレポーター細胞に NLS-K10-p53Tet を添加してエトポシド刺激を行い、p53 転写活性を示す Cerulean (B) および Venus (C) 蛍光を観察した。

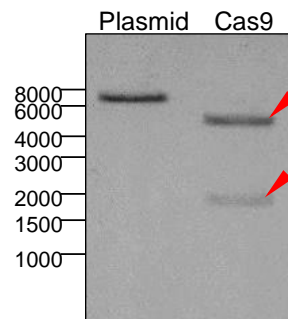


Fig. 4 Cas9 タンパク質活性評価 mCherry 配列を有する plasmid を制限酵素により一箇所切断して直鎖状にし、さらに精製した Cas9 タンパク質と mCherry を標的としたガイド RNA を加えて反応させた。

唆された。一方、全体の細胞数とゲノム編集された細胞数から算出したゲノム編集効率は p53Tet 添加の有無による顕著な差は見られなかった。Control 条件と p53Tet 添加条件の編集効率は同程度であり、これは全体の細胞数の増加が大きいためと考えられる。

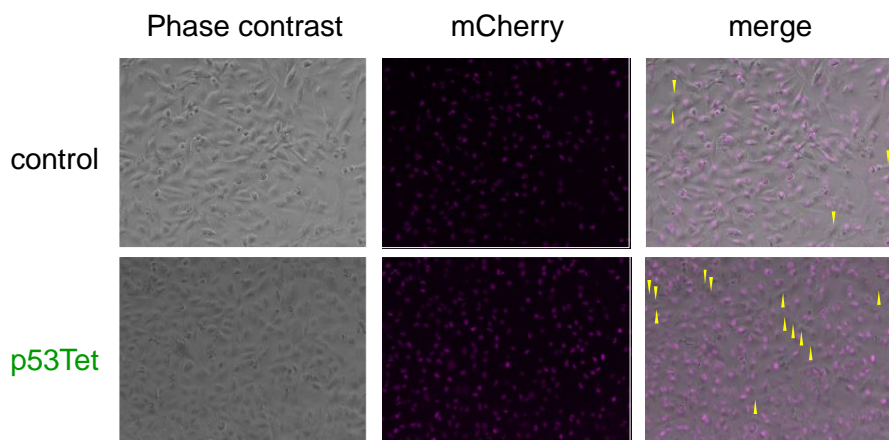


Fig. 5 蛍光タンパク質 mCherry のゲノム編集解析
 蛍光タンパク質 mCherry を標的としたゲノム編集を実施した。NLS-K10-p53Tet ペプチド非存在下 (control)、存在下 (p53Tet) においてゲノム編集を実施し、48 h 後に蛍光顕微鏡により mCherry 蛍光を観察した。

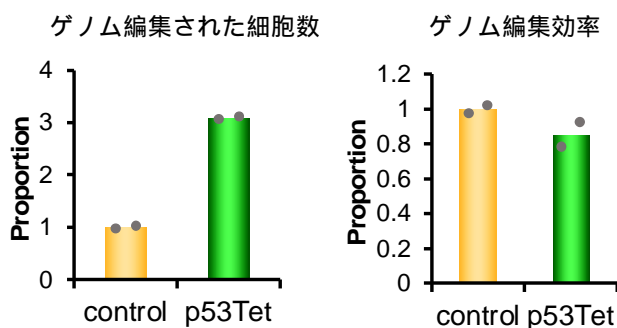


Fig. 6 蛍光タンパク質 mCherry のゲノム編集の定量
 得られた蛍光画像を用いた機械学習を実施し、解析したエリアにおける mCherry 蛍光を消失した細胞数からゲノム編集された細胞数 (左)、全細胞におけるゲノム編集された細胞の割合 (ゲノム編集効率) (右) を定量した。

本研究において、四量体として機能する p53 に対して、p53 四量体形成ドメインペプチドを用いたヘテロオリゴマー形成による一過的機能停止制御法の開発に成功した。p53Tet により内在性 p53 の機能停止が可能であり、その効果は一過的であることが示された。したがって本手法は、内在性 p53 の発現抑制を行わず機能停止が可能となり、安全性に優れた技術である。今後、ゲノム編集操作手順や、NLS-K10-p53Tet 導入時期や期間についての最適化により、実用的な展開が期待される。

次世代の遺伝子治療法として注目されるゲノム編集においては、高い編集効率ばかりでなく安全性が非常に重要である。従来の方法では、編集後に細胞が癌化するリスクが懸念されていた。本研究の成果により、安全かつ高効率なゲノム編集法の改良に対しての新たな指針が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tsuruoka Tatsuki, Nakayama Emiri, Endo Takuya, Harashima Shingo, Kamada Rui, Sakaguchi Kazuyasu, Imagawa Toshiaki	4. 巻 136
2. 論文標題 Development of a fluorescence reporter system to quantify transcriptional activity of endogenous p53 in living cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	6. 最初と最後の頁 jcs260918
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/jcs.260918	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 Sakaguchi Shuya, Nakagawa Natsumi, Wahba Haytham M., Wada Junya, Kamada Rui, Omichinski James G., Sakaguchi Kazuyasu	4. 巻 24
2. 論文標題 Highly Similar Tetramerization Domains from the p53 Protein of Different Mammalian Species Possess Varying Biophysical, Functional and Structural Properties	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 16620 ~ 16620
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms242316620	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 Sakaguchi Tatsuya, Nakagawa Natsumi, Mine Kenta, Janairo Jose Isagani B., Kamada Rui, Omichinski James G., Sakaguchi Kazuyasu	4. 巻 8
2. 論文標題 Biomaterialization through a Symmetry-Controlled Oligomeric Peptide	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomimetics	6. 最初と最後の頁 606 ~ 606
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomimetics8080606	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 Tani Itsumi, Ito Shogo, Shirahata Yukiko, Matsuyama Yutaka, Omichinski James G., Shimohigashi Yasuyuki, Kamada Rui, Sakaguchi Kazuyasu	4. 巻 581
2. 論文標題 Role of active site arginine residues in substrate recognition by PPM1A	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1 ~ 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.10.001	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 Kamada Rui、Sakaguchi Shuya、Kura Shoma、Takamatsu Kaori、Yamamoto Tetsuya、Imagawa Toshiaki、Sakaguchi Kazuyasu	4. 巻 51
2. 論文標題 Stereoselective Interaction of Helix-Hairpin-Helix Motif Peptides with DNA Structure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1029 ~ 1032
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220340	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 -

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Interaction of Protein/Peptide and other biomolecules from the chemical point of view
3. 学会等名 Biological Chemistry Symposium 2023 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Natsumi Nakagawa
2. 発表標題 Functional regulation of peptides and proteins via oligomerization
3. 学会等名 Biological Chemistry Symposium 2023 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kodai Ueno, Yuna Nunokawa, Daiki Kurosu, Natsumi Nakagawa, Rui Kamada, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Development of an efficient genome editing method by transient p53 suppression via p53TD peptide
3. 学会等名 Biological Chemistry Symposium 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryutaro Tatei, Kodai Ueno, Yuna Nunokawa, Rui Kamada, Natsumi Nakagawa, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Effect of coiled-coil peptides on E. coli growth in stationary phase
3. 学会等名 Biological Chemistry Symposium 2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Natsumi Nakagawa, Ryutaro Tatei, Kodai Ueno, Yuna Nunokawa, Shuya Sakaguchi, Rui Kamada, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 GROWTH OF E. COLI IN STATIONARY PHASE ENHANCED BY COILED-COIL PEPTIDES
3. 学会等名 第60回ペプチド討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 上野康大、布川優奈、坂口周弥、立井龍太郎、中川夏美、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 多量体化を介した新規機能性ペプチド r-Pep1 の高機能化
3. 学会等名 第9回北海道大学部局横断シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中川夏美、立井龍太郎、上野康大、布川優奈、坂口周弥、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 coiled-coilペプチドによる大腸菌の定常期における増殖促進
3. 学会等名 第9回北海道大学部局横断シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 上野康大、布川優奈、立井龍太郎、中川夏美、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 Coiled-coilペプチドの大腸菌増殖に対する増殖効果
3. 学会等名 第60回日本生化学会北海道支部例会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shuya Sakaguchi, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Structural and functional evolution of tetramerization in tumor suppressor protein p53 family
3. 学会等名 36th European Peptide Symposium/12th International Peptide Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Seiyo Doi, Itsumi Tani, Yui Oikawa, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 EFFECT OF CHARGED MOLECULES ON LIQUID-LIQUID PHASE SEPARATION OF NUCLEOLAR PROTEIN NUCLEOPHOSMIN
3. 学会等名 第59回ペプチド討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川夏美、坂口周弥、和田隼弥、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 PRMT5によるアルギニンメチル化カスケードを介したp53四量体形成制御機構
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中川夏美、坂口周弥、和田隼弥、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 Argメチル化カスケードによる癌抑制タンパク質p53四量体構造の安定性制御
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2022年夏季研究発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shuya Sakaguchi, Natsumi Nakagawa, Haytham Wahba, Rui Kamada, James G. Omichinski, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Alterations in the stability and hetero-oligomerization of the p53 family in vertebrates
3. 学会等名 35th Symposium of The Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Itsumi Tani, Shogo Ito, Yui Oikawa, Rui Kamada, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Effect of Phosphorylation of Nucleolar Protein Nucleophosmin on Nucleolar Formation
3. 学会等名 35th Symposium of The Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂口周弥、中川夏美、鎌田瑠泉、James G. Omichinski、坂口和靖
2. 発表標題 脊椎動物における癌抑制タンパク質p53とp53ファミリーの四量体構造の進化
3. 学会等名 第58回日本生化学会北海道支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷愛海、伊藤祥吾、及川ゆい、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 核小体タンパク質Nucleophosminのリン酸化による核小体形成制御機構の解明
3. 学会等名 第58回日本生化学会北海道支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuna Nunokawa, Shuya Sakaguchi, Rui Kamada, and Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Analysis of oligomerized bioactive peptides for eukaryotic and prokaryotic cells
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 布川優奈、坂口周弥、碓井拓哉、鎌田瑠泉、坂口和靖
2. 発表標題 コイルドコイルを介したペプチドの多量体化による生理活性増強効果
3. 学会等名 日本化学会北海道支部2021年夏季研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂口周弥、中川夏美、鎌田瑠泉、James G. Omichinski、坂口和靖
2. 発表標題 p53ファミリーの四量体構造とヘテロ多量体の脊椎動物における進化
3. 学会等名 化学系学協会北海道支部2021年冬季研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shuya Sakaguchi, Natsumi Nakagawa, Haytham Wahba, Rui Kamada, James G. Omichinski, Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Changes in the structure and function of the vertebrate p53 family proteins in evolution process
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂口周弥、中川夏美、鎌田瑠泉、James G. Omichinski、坂口和靖
2. 発表標題 p53ファミリー四量体形成ドメインの脊椎動物の進化における安定化機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shuya Sakaguchi, Natsumi Nakagawa, Rui Kamada, James G. Omichinski, and Kazuyasu Sakaguchi
2. 発表標題 Changes in structure and stability of p53 family tetramerization domain in vertebrate evolution
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	鎌田 瑠泉 (Kamada Rui) (40750881)	北海道大学・理学研究院・准教授 (10101)	

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 分 担 者	中川 夏美 (Nakagawa Natsumi) (30881528)	北海道大学・理学研究院・助教 (10101)	

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			
カナダ	モントリオール大学医学部			