

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02088

研究課題名（和文）3Dドメインスワッピングに基づく蛋白質多量体の生体内形成と新規デザイン

研究課題名（英文）In vivo formation and new design of protein oligomers based on 3D domain swapping

研究代表者

廣田 俊（Hirota, Shun）

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授

研究者番号：90283457

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,900,000円

研究成果の概要（和文）：3Dドメインスワッピングは同一タンパク質分子が分子間で同じ構造領域を交換する現象で、1994年に初めて報告された。近年、ドメインスワッピングしたタンパク質の多量体構造に関する知見は増えたが、生体内でドメインスワッピングが起こる機構や条件は未解明である。また、タンパク質の多量化はその構造と機能の高度化に有用であるが、タンパク質構造体を人工的に構築することは難しく、一般的な手法も確立されていない。以上の現状を踏まえ、本研究では生体内でのドメインスワッピングの機構と条件を明らかにするとともに、ドメインスワッピングを基盤としたタンパク質多量体の創製を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、生体内でタンパク質多量化機構を分子レベルで解明し、機能性タンパク質多量体の創製を行う、新しい試みである。アンフィンセンのドグマではタンパク質はアミノ酸配列が決まれば、その立体構造が一意的に決まるとされているが、生体内でタンパク質は3Dドメインスワッピングし、必ずしも立体構造が一意的に決まらない。そのため、生体内でタンパク質がドメインスワッピングする機構や条件を解明することは重要である。また、タンパク質高次構造体形成の制御方法を開発することは、生体適合性に優れた物質輸送技術の創出に繋がる。

研究成果の概要（英文）：3D domain swapping is a phenomenon in which the same protein molecule exchanges the same structural region between molecules. Domain swapping was first reported in 1994. In recent years, there has been an increase in knowledge about the structure of domain-swapped proteins, but the mechanism and conditions under which domain swapping occurs in vivo have not been elucidated. In addition, oligomerization of proteins is useful for enhancing their structures and functions. However, it is difficult to artificially construct a protein nanostructure, and a general method has not been established yet. In this study, the mechanism and conditions of in vivo domain swapping are investigated. Protein oligomers with unique structures are constructed based on domain swapping.

研究分野：生体関連化学

キーワード：タンパク質 3Dドメインスワッピング 金属タンパク質 多量化 タンパク質デザイン

1. 研究開始当初の背景

3D ドメインスワッピング (以下、ドメインスワッピング) は、同一タンパク質分子が分子間で同じ構造領域を 3 次的に交換する現象である。ドメインスワッピングは、1994 年にジフテリア毒素タンパク質で初めて報告され、年々ドメインスワッピングに関する知見が増えている。例えば、電子伝達タンパク質である *c* 型シトクロム (cyt) はエタノール処理によりドメインスワッピングし、多量体を形成する。また、好熱性水素細菌 (*Hydrogenobacter thermophilus*, HT) cyt c_{552} を大腸菌発現系で発現させると、約 20% のタンパク質が多量体として得られることが明らかになっている。しかし、タンパク質の細胞内ドメインスワッピングに影響を与える要因についてはほとんど明らかにされていない。別の電子伝達タンパク質であるブルー銅タンパク質のドメインスワッピングに関する報告もない。一方、タンパク質のみで調製された材料は生体適合性が高く、タンパク質多量体を自在に設計できれば、その利用価値も飛躍的に増大する。また、天然タンパク質の立体構造予測と人工タンパク質の分子設計には、タンパク質のアミノ酸配列と立体構造の関係を理解することが重要である。しかし、タンパク質多量体の設計は依然として困難であり、タンパク質多量体の分子設計には、アミノ酸配列が多量体形成に及ぼす影響の解明が必要である。

2. 研究の目的

本研究では、ドメインスワッピングの理解を深めるため、生体内ドメインスワッピングによるタンパク質多量化における因子を調べた。さらに、ドメインスワッピングの利用を目指し、新規ドメインスワッピング構造の解明、アミノ酸置換によるドメインスワッピング構造の安定化を行った。また、ドメインスワッピングを利用したタンパク質構造のスイッチングシステムの構築を目指し、一酸化炭素の添加で解離するタンパク質 2 量体を構築した。

3. 研究の方法

これまで、ウマ cyt *c* や HT cyt c_{552} など、表面が正に帯電した *c* 型 cyt のドメインスワッピングに関する知見は多く得られてきたが、負に帯電した *c* 型 cyt のドメインスワッピングに関する知見は緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) cyt c_{551} に限定的であった。そこで、負負に帯電した深海好圧好冷性細菌 (*Shewanella violacea*, SV) cyt c_5 の大腸菌発現系を構築した。SV cyt c_5 をエタノール添加、凍結乾燥、再溶解の操作で多量化させ、2 量体をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) により精製した。精製した SV cyt c_5 の 2 量体を 20% ポリエチレングリコール (PEG) 3350 と 200 mM 硝酸カリウムを含む溶液を沈殿剤溶液として結晶化し、X 線結晶構造解析を行った。ウマ cyt *c*、HT cyt c_{552} 、PA cyt c_{551} 、SV cyt c_5 の大腸菌発現系を用いたときに得られる各タンパク質の多量体量を SEC で見積もった。さらに、これらの *c* 型 cyt の巻き戻り反応を負に帯電したりポソーム存在下および非存在下で行い、得られる多量体量を SEC で見積もった。

アルカリゲネス・キシロソキシダンス (*Alcaligenes xylosoxidans*) アズリンに対して、アルコール添加、凍結乾燥、再溶解の操作による多量化を様々な条件 (pH、アルコールの種類、銅酸化状態) で検討した。得られたアズリンの 2 量体を SEC で精製し、吸収スペクトルおよび EPR スペクトルで銅活性部位構造を調べるとともに、サイクリックボルタメトリーにより酸化還元電位を求めた。アズリン 2 量体の詳細な 3 次元構造を明らかにするため、25% PEG 3000 を含む 100 mM MES 緩衝液 (pH6.5) を沈殿剤溶液として結晶化し、X 線結晶構造解析を行った。

ウマミオグロビン (Mb) において、単量体と 2 量体で構造変化するヒンジ領域にある Gly80 を Ala に置換した G80A 変異体、さらに、ヒンジ領域にある His81 と His82 も Ala に置換した G80A/H81A/H82A 変異体が大腸菌発現系を用いて作製した。Mb の Gly80 を α ヘリックス形成能が異なるアミノ酸 (Ser, Val, Leu, Ile, Ala) に置換した G80S, G80V, G80L, G80I, G80A 変異体を作製し、単量体と 2 量体の形成量を SEC により分析した。

好熱菌 (*Hydrogenophilus thermoluteolus*) cyt *d* (PHCP) の 2 量体の構造安定性に寄与する Phe11, Thr18, Phe71 を常温菌 (*Allochrochromatium vinosum*) cyt *d* (AVCP) の相当するアミノ酸残基 Thr11, Phe18, Asp71 に置換した変異体 (1 置換体; F11T, T18F, F71D, 2 置換体; T18F/F71D, 3 置換体; F11T/T18F/F71D) を作製した。各変異体に対して、吸収スペクトルを用いて CO 結合挙動を調べた。さらに、各変異体の CO 結合による 2 量体の解離挙動を SEC により調べた。

4. 研究成果

(1) *c* 型 cyt の細胞内ドメインスワッピングにおけるタンパク質表面電荷の影響

タンパク質のドメインスワッピングに関する知見は増えているが、細胞内でのドメインスワッピングに影響を与える因子についてはほとんど明らかにされていない。そこで、タンパク質表面電荷が *c* 型 cyt のドメインスワッピングに与える影響を調べた。ウマ cyt *c* および HT cyt c_{552}

のタンパク質表面は正に帯電しており、PA cyt c_{551} および SV cyt c_5 は負に帯電している。まず、新しく作製した SV cyt c_5 に対して、エタノール添加、凍結乾燥、再溶解の操作を行い、2量体を作製した。SV cyt c_5 の2量体を精製し、その立体構造を X 線結晶構造解析により調べたところ、HT cyt c_{552} および PA cyt c_{551} と同様、プロトマー間で N 末端ヘリックスとヘムを含む領域が交換されるドメインスワッピング構造を有することが明らかとなった。ウマ cyt c および HT cyt c_{552} は大腸菌内で多量体を形成したが、PA cyt c_{551} および SV cyt c_5 は形成しなかった。さらに、ウマ cyt c および HT cyt c_{552} の巻き戻り反応系に表面が負に帯電したリポソームを添加すると得られるタンパク質多量体量が増大した。一方、PA cyt c_{551} および SV cyt c_5 の巻き戻り反応系に負に帯電したリポソームを添加しても得られる多量体量は変化しなかった。これらの結果より、負に帯電した膜上で正に帯電した c 型 cyt が凝集し、 c 型 cyt の分子間相互作用が増えることにより多量体量が増大することが示唆された (図1)。

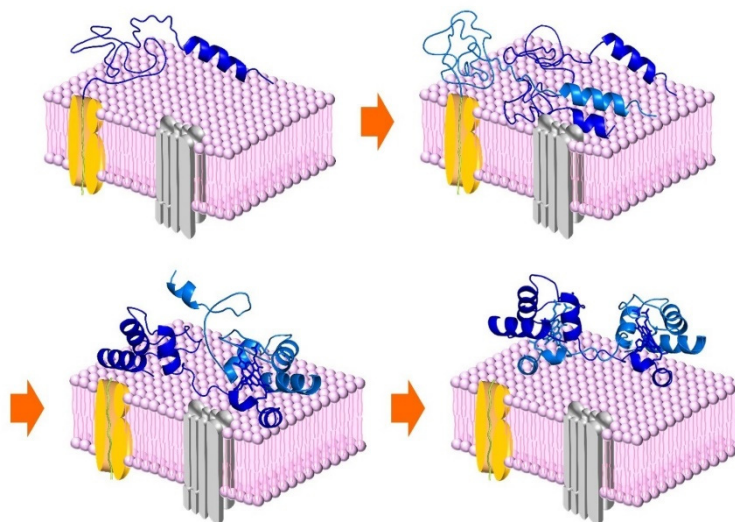


図1. 膜表面での c 型 cyt フォールディングの模式図。

(2) アズリンのドメインスワッピング

アズリンの Cu(I) 型 (還元型) は、pH 5.0 で 2,2,2-トリフルオロエタノール 5% (v/v) 添加、凍結乾燥、pH 7.0 で再溶解の操作により多量化したが、Cu(II) 型 (酸化型) に同様の操作を行っても、ほとんど多量化しなかった。精製したアズリン 2 量体は 60°C で 60 分間加熱しても単量体に解離せず、比較的安定

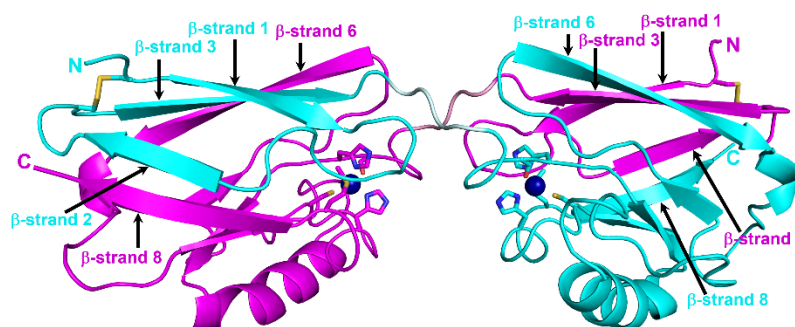


図2. ドメインスワッピングしたアズリン 2 量体の X 線結晶構造 (PDB ID: 6L1V)。

であることが示された。アズリン 2 量体の可視領域での最大吸収波長は 618 nm で、単量体の最大吸収波長 (622 nm) から若干ブルーシフトした。アズリン 2 量体の EPR スペクトルの $A_{||}$ 値 (5.85 mT) は単量体の値 (5.95 mT) より若干小さく、ロンビック型スペクトル性が若干増大した。さらに、アズリン 2 量体の酸化還元電位は 342 ± 5 mV (vs NHE) で、単量体よりも約 50 mV 高かった。これらの結果より、アズリン 2 量体の銅活性部位構造がドメインスワッピングにより若干変化することが明らかとなった。X 線結晶構造解析により、アズリン 2 量体では 3 つの β ストランドを含む N 末端領域がプロトマー間で交換することが明らかとなった (図2)。アズリン 2 量体の銅配位構造は単量体と同様、歪んだ四面体構造を形成していたが、Cu-O (Gly45) 結合長は 2 量体の方が長かった (単量体: 2.46–2.59 Å, 2 量体: 2.98–3.25 Å)。単量体で形成される Asn10–His46 間の水素結合は 2 量体では形成されず、His46 は Gly45 の隣の残基であるため、His46 が関与する水素結合の消失により Gly45 の構造束縛が緩和され、2 量体の Cu-O (Gly45) 結合が伸長したと解釈した。これらの結果より、ドメインスワッピングしたアズリン 2 量体の性質と立体構造が明らかになり、ブルー銅タンパク質でドメインスワッピングが起こることが初めて示された。

(3) ヒンジ領域の α ヘリックス形成能の調節による Mb のドメインスワッピングの制御

ミオグロビン (Mb) はドメインスワッピングにより 2 量体を形成し、単量体で 2 つの α ヘリックス (E ヘリックスと F ヘリックス) を繋ぐループ構造の領域が、2 量体では α ヘリックスの

一部に構造変化し、E ヘリックスと F ヘリックスとともに 1 本の長い α ヘリックスを形成する。ヒンジ領域のアミノ酸残基をヘリックス形成能の高い Ala に置換した G80A Mb および G80A/H81A/H82A Mb は、単量体とドメインスワッピングした 2 量体の平衡状態で得られた。特に、Gly80 に加えて、His81 と His82 を Ala に変異した G80A/H81A/H82A 変異体で、平衡状態においてドメインスワッピングした 2 量体の量が增大した。Mb のヒンジ領域内の Gly80 の位置に導入されたアミノ酸残基のヘリックス形成能が高いほど、平衡状態におけるドメインスワッピング 2 量体の量が增大し、ヒンジ領域のヘリックス形成能とドメインスワッピング 2 量体量は相関した(図 3)。これらの結果は、Mb のヒンジ領域のヘリックス形成能を変えることにより、単量体に対する 2 量体の安定性が制御可能であることを示しており、アミノ酸のヘリックス形成能を利用したドメインスワッピング多量体の新しい制御法を提供する。

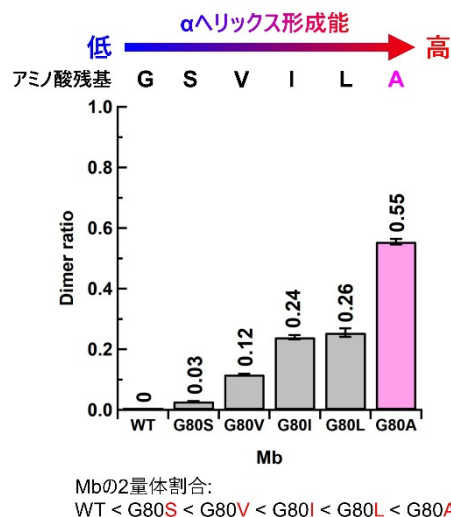


図 3. 野生型および変異型 Mb のヒンジ領域の 80 番目のアミノ酸残基と 2 量体割合の関係。

(4) サブユニット界面変異による耐熱性 cyt *d* への一酸化炭素依存的 2 量体-単量体遷移特性の付与

ドメインスワッピングを利用したタンパク質構造のスイッチングシステムの構築のため、ガス結合能を示すホモ 2 量体ヘムタンパク質である好熱性 PHCP を用いた。PHCP は AVCP と相同性が高く、AVCP は 5 配位ヘムをサブユニット内に有する *c* 型 cyt で、ホモ 2 量体を形成する。AVCP は還元型ヘムへの一酸化炭素 (CO) 結合により可逆的に 2 量体-単量体の 4 次構造変化を示すが、還元型 PHCP は飽和 CO 溶液中でも 2 量体-単量体遷移を示さない。そこで、PHCP 2 量体の構造安定性に寄与するアミノ酸残基を AVCP の相当するアミノ酸残基に置換した。作製した全ての PHCP 変異体は野生型よりも高い CO 親和性を有することが吸収スペクトルによる解析から明らかになった。特に、T18F/F71D と F11T/T18F/F71D 変異体は AVCP よりも高い CO 親和性を示した。SEC 分析から、F18T または F71D の置換を有する変異体は CO 結合により 2 量体から単量体へ解離した(図 4)。T18F および F71D 変異体のシミュレーション構造において、サブユニット界面の構造に変化がみられ、効果的な CO 依存的な 2 量体-単量体遷移が誘起されることが示唆された。以上より、F18T および F71D の置換により PHCP に CO 依存的 2 量体-単量体遷移特性を付与できた。これらの結果は、サブユニット界面変異により、多量体タンパク質の安定性とリガンド親和性を調整し、タンパク質 4 次構造特性を変換できることを示している。

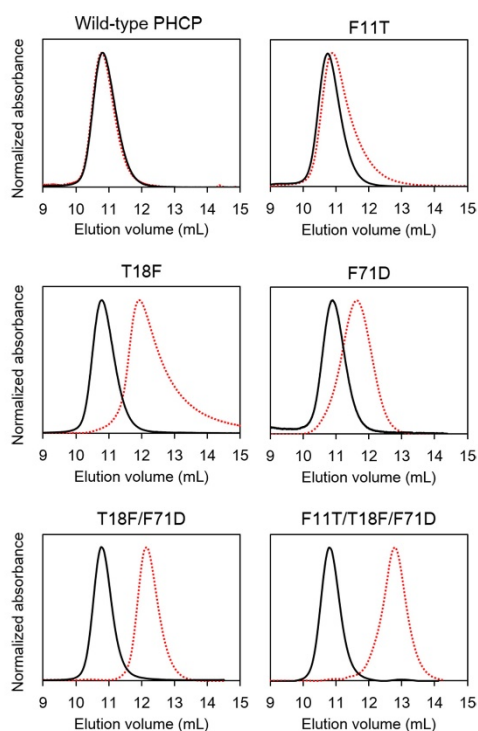


図 4. 野生型 PHCP とその変異体のサイズ排除クロマトグラム：空気中の酸化型 (黒実線) と CO 飽和状態での還元型 (赤点線) の PHCP の溶出曲線。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Satoshi Nagao, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiaki Higuchi, Shun Hirota	4. 巻 15
2. 論文標題 Thermodynamic Control of Domain Swapping by Modulating the Helical Propensity in the Hinge Region of Myoglobin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry an Asian Journal	6. 最初と最後の頁 1743 ~ 1749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/asia.202000307	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 Satoshi Nagao, Ayaka Idomoto, Naoki Shibata, Yoshiaki Higuchi, Shun Hirota	4. 巻 217
2. 論文標題 Rational Design of Metal-Binding Sites in Domain-Swapped Myoglobin Dimers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Inorganic Biochemistry	6. 最初と最後の頁 111374 ~ 111374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2021.111374	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 Satoshi Nagao, Shun Hirota	4. 巻 94
2. 論文標題 New Aspects of Cytochrome c: 3D Domain Swapping, Membrane Interaction, Peroxidase Activity, and Met80 Sulfoxide Modification	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 170 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200272	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 Shota Shiga Masaru Yamanaka, Wataru Fujiwara, Shun Hirota, Shuichiro Goda, Koki Makabe	4. 巻 20
2. 論文標題 Domain-Swapping Design by Polyproline Rod Insertion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2454-2457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201900179	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 Partha Pratim Parui, Yeasmin Sarakar, Rini Majumder, Sanju Das, Hongxu Yang, Kazuma Yasuhara, Shun Hirota	4. 巻 10
2. 論文標題 Determination of Proton Concentration at Cardiolipin-Containing Membrane Interfaces and Its Relation with the Peroxidase Activity of Cytochrome c	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 9140-9051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9SC02993A	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 Hongxu Yang, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Kazuma Yasuhara, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	4. 巻 1867
2. 論文標題 Protein Surface Charge Effect on 3D Domain Swapping in Cells for c-Type Cytochromes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics	6. 最初と最後の頁 140265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbapap.2019.140265	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 Robby Noor Cahyono, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota	4. 巻 12
2. 論文標題 3D Domain Swapping of Azurin from Alcaligenes xylosoxidans	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metallomics	6. 最初と最後の頁 337-345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C9MT00255C	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 該当する

1. 著者名 Masaru Yamanaka, Ryoko Nakayama, Sotaro Fujii, Satoshi Wakai, Yoshihiro Sambongi, Shun Hirota	4. 巻 93
2. 論文標題 Conferment of CO-Controlled Dimer-Monomer Transition Property to Thermostable Cytochrome c by Mutation in the Subunit-Subunit Interface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 702-709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20180311	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 Shun Hirota	4. 巻 194
2. 論文標題 Oligomerization of Cytochrome c, Myoglobin, and Related Heme Proteins by 3D Domain Swapping	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Inorganic Biochemistry	6. 最初と最後の頁 170-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2019.03.002	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45件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 廣田俊
2. 発表標題 3Dドメインスワッピングによる金属タンパク質の超分子創成
3. 学会等名 錯体化学会オンライン研究会「錯体化学に基づく分子の構造変換設計と機能制御」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Shiga, Masaru Yamanaka, Wataru Fujiwara, Shun Hirota, Shuichiro Goda, Koki Makabe
2. 発表標題 The Design of Artificial Domain-Swapped Dimers by Polyproline Rod Insertion
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 廣田俊
2. 発表標題 金属タンパク質：反応機構解明と超分子創製
3. 学会等名 フロンティア生命化学研究会 特別シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 酒井隆裕、Wahyu Firtiana、山中優、一二三恵美、宇田泰三、廣田俊
2. 発表標題 多量化する抗体酵素軽鎖の会合挙動
3. 学会等名 日本化学会第101春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田充希、山中優、廣田俊
2. 発表標題 センサータンパク質を駆動系として組み込んだビルディングブロックタンパク質の超分子化
3. 学会等名 日本化学会第101春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山中優、内橋貴之、廣田俊
2. 発表標題 センサータンパク質を駆動系として組み込んだビルディングブロックタンパク質の二量体の性質と挙動
3. 学会等名 日本化学会第101春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤原綱大、山中優、廣田俊
2. 発表標題 ドメインスワッピングを基に設計したビルディングブロックヘムタンパク質の構築と超分子化
3. 学会等名 日本化学会第101春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nur Afiqah Azmi, Masaru Yamanaka, Shun Hirota
2. 発表標題 Construction of Oligomers of Thermotoga maritima Ferredoxin
3. 学会等名 The 101st Chemical Society of Japan Annual Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Satoshi Nagao, Hisashi Kobayashi, Shun Hirota
2. 発表標題 NMR Characterization of Dynamic Properties of Cytochrome c bound to Membranes using Lipid Bicelles
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC15) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaru Yamanaka, Ryoko Nakayama, Sotaro Fujii, Satoshi Wakai, Yoshihiro Sambongi, Shun Hirota
2. 発表標題 Conferment of CO-Controlled Dimer-Monomer Transition Property to Thermostable Cytochrome c by Mutation in the Subunit Interface
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC15) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Leonie Berthonnaud, Charlene Esmieu, Shun Hirota, Christelle Hureau
2. 発表標題 Oxygen Activation by Cu-Amyloid- Peptide: Models Relevant for Alzheimer's Disease
3. 学会等名 15th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC15) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Nagao, Hisashi Kobayashi, Shun Hirota
2. 発表標題 NMR Characterization of Dynamic Properties of Cytochrome c Bound to Membranes Using Phospholipid Bicelles
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井戸本彩花、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊
2. 発表標題 金属結合部位を有するドメインスワップしたミオグロビン 2 量体のデザインと性質
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Chunguang Ren, Mohan Zhang, Akiya Oda, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota
2. 発表標題 Construction of Protein Supramolecules Based on Domain Swapping
3. 学会等名 第19回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Chunguang Ren, Mohan Zhang, Akiya Oda, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota
2. 発表標題 Construction of Protein Supramolecules Based on Domain-Swapping Mechanism
3. 学会等名 33rd Annual Symposium of the Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shun Hirota
2. 発表標題 Oligomerization of Cytochrome c, Myoglobin, and Related Heme Proteins by 3D Domain Swapping
3. 学会等名 19th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC19) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rooby Noor Cahyono、山中優、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊
2. 発表標題 Domain Swapping of Azurin from Alcaligenes xylosoxidans and Characterization of Its Dimer
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 山中優、萩原理生、廣田俊
2. 発表標題 フェリチンゲルの作製と金属吸着
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 井戸本彩花、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊
2. 発表標題 ドメインスワッピングを利用したミオグロビンへの金属結合部位の導入
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 Shun Hirota
2. 発表標題 Constructing Heme Protein Supramolecules by 3D Domain Swapping
3. 学会等名 2nd International Conference on Bioinformatics, Biotechnology, and Biomedical Engineering (BioMIC 2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田俊
2. 発表標題 新規フェリチングルの作製と遷移金属捕捉等の活用
3. 学会等名 けいはんなビジネスメッセ2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井戸本彩花、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊
2. 発表標題 金属結合部位を導入したドメインスワップミオグロビン2量体の構造と性質
3. 学会等名 第9回CSJ化学フェスタ2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shun Hirota
2. 発表標題 Oligomerization of Heme Proteins by 3D Domain Swapping
3. 学会等名 The 6th National Conference on Biophysical Chemistry (NCBPC-6) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣田俊
2. 発表標題 シトクロムc: 多量化と膜相互作用
3. 学会等名 日本薬学会東海支部特別講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shun Hirota
2. 発表標題 Reaction Mechanism Elucidation and Supramolecular Creation of Metalloproteins
3. 学会等名 The 100th Chemical Society of Japan Annual Meeting (中止) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Nagao, Ayaka Idomoto, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota
2. 発表標題 Amino Acid Sequence Design of The Hinge Region in Domain Swapping for Construction of Protein Supramolecules
3. 学会等名 The 100th Chemical Society of Japan Annual Meeting (中止)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 猪俣惇平、Le MOUËL Korantin、山中優、廣田俊
2. 発表標題 ポプラプラスチアニンの多量化と2量体の性質
3. 学会等名 日本化学会第100春季大会 (中止)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山中優、廣田俊
2. 発表標題 ドメインスワップ構造を基に設計した融合タンパク質による可動型超分子の構築
3. 学会等名 日本化学会第100春季大会(中止)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Shiga, Masaru Yamanaka, Wataru Hujiwara Shun Hirota, Shuichiro Goda, Koki Makabe
2. 発表標題 The Design of Artificial Domain-Swapped Proteins by Polyproline-Rod Insertion
3. 学会等名 The 100th Chemical Society of Japan Annual Meeting (中止)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shun Hirota
2. 発表標題 Supramolecular Assemblies of c-Type Cytochromes Based on 3D Domain Swapping
3. 学会等名 233rd ECS Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shun Hirota
2. 発表標題 Construction of Protein Supramolecules by 3D Domain Swapping
3. 学会等名 The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan (Workshop: 35th Anniversary of Protein Engineering since 1983) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 志賀翔多、山中優、廣田俊、真壁幸樹
2. 発表標題 球状蛋白質のドメインスワッピングを実現するループのリデザイン
3. 学会等名 第18回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Satoshi Nagao, Hisashi Kobayashi, Shun Hirota
2. 発表標題 NMR Study on Dynamic Properties of Cytochrome c Bound to Lipid Bicelles
3. 学会等名 The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shun Hirota, Satoshi Nagao, Masaru Yamanaka, Yoshiki Higuchi
2. 発表標題 Domain Swapping-Based Assemblies of c-Type Cytochromes
3. 学会等名 Tenth International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-10) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長尾聡、小林紀、廣田俊
2. 発表標題 バイセルと溶液NMRを組合せた手法で可能になるシトクロムcと脂質膜の相互作用の高分解能解析
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 山中優、中山諒子、藤井創太郎、岩井暁、三本木至宏、廣田俊
2. 発表標題 サブユニット界面変異による耐熱性シトクロムc へのCo依存的2量体-単量体遷移特性の付与
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 根木秀佳、吉田紀生、廣田俊、東雅大
2. 発表標題 シトクロムcの多量体形成におけるアニオンの影響に関する理論的研究
3. 学会等名 第12回分子科学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 廣田俊、太虎林、樋口芳樹、柳澤幸子、小倉尚志
2. 発表標題 Picobiology of Metalloproteins: Vibrational Spectroscopic Studies of Cytochrome c and Hydrogenase
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会（シンポジウム：ピコバイオロジーが目指すもの）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長尾聡、小林紀、廣田俊
2. 発表標題 脂質バイセルに結合したシトクロムcの動的性質のNMR研究
3. 学会等名 第57回NMR討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hulin Tai, Shun Hirota, Koji Nishikawa, Yoshiki Higuchi, Liang-nian Ji, Zong-wan Mao
2. 発表標題 Activation/Inactivation Mechanism between the Ni-SIr and Ni-SIa States of [NiFe] Hydrogenase Studied by Utilizing Ni-SIr-to-Ni-SIa Photoactivation
3. 学会等名 中国化学会第十四次全国生物無機化学学术會議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Cheng Xie, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota
2. 発表標題 Construction of a Two-Dimensional Protein Array Utilizing a Cytochrome c555-Based Protein
3. 学会等名 99th Chemical Society of Japan Annual Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Robby Noor Cahyono, Masaru Yamanaka, Satoshi Nagao, Shun Hirota
2. 発表標題 Oligomerization of Azurin from <i>Alcaligenes xylosoxidans</i> and Characterization of Its Dimer
3. 学会等名 99th Chemical Society of Japan Annual Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Nagao, Ayaka Suda, Hisashi Kobayashi, Naoki Shibata, Yoshiki Higuchi, Shun Hirota
2. 発表標題 Design of Stable Domain-Swapped Myoglobin Oligomers
3. 学会等名 99th Chemical Society of Japan Annual Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山中優、中山諒子、若井暁、藤井創太郎、三本木至宏、廣田俊
2. 発表標題 耐熱性シトクロムcのサブユニット界面変異によるCO応答性2量体-単量体変換特性の付与
3. 学会等名 日本化学会第99春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井戸本彩花、長尾聡、柴田直樹、樋口芳樹、廣田俊
2. 発表標題 金属結合性を有するドメインスワップしたミオグロビン2量体のデザインと性質
3. 学会等名 日本化学会第99春季大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本化学会	4. 発行年 2020年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 212 (うち6ページ)
3. 書名 CSJカレントレビュー第36号 生体分子反応を制御する：7章 タンパク質の超分子制御	

〔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

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