

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03170

研究課題名（和文）シグナル伝達の制御に向けた膜内タンパク質切断における基質特異性決定因子の探索

研究課題名（英文）Examination of substrate specificity in the regulated intramembrane proteolysis

研究代表者

禾 晃和 (Nogi, Terukazu)

横浜市立大学・生命医科学研究科・准教授

研究者番号：40379102

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、RsePの基質の選別・認識の分子機構を明らかにすることを旨とし、X線結晶解析と電子顕微鏡解析を組み合わせ、大腸菌由来のsite-2 proteaseホモログであるRsePとそのオルソログの立体構造解析に取り組んだ。超好熱菌由来のオルソログに関しては、PAタグを移植してNZ-1抗体のFab断片を結合させた試料を用いて電顕解析を行い、PDZタンデムのコンフォメーションを推定した。さらにRsePと海洋性細菌由来のオルソログに関しては、X線結晶構造を決定することにも成功し、基質との相互作用様式や切断促進の分子機構の理解が深まった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではRsePの立体構造を初めて明らかにすることに成功し、これまでのsite-2 proteaseファミリーの構造研究の停滞状況を打開することができた。膜内切断プロテアーゼは、アルツハイマー病やパーキンソン病などのヒトの疾患に関わるとともに、細菌、ウイルス、原虫など様々な病原体の感染にも関わっている。Site-2 proteaseファミリーは、特に細菌感染症と密接な関係があることから、本研究で明らかになった知見は、今後、細菌感染のメカニズムの解明や新規の治療法の開発に貢献すると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this project, we worked on the structural analysis of E. coli site-2 protease homolog RseP and its orthologs by using x-ray crystallography and electron microscopy so as to elucidate the molecular mechanism underlying the substrate discrimination and cleavage. For an RseP orthologue from a hyperthermophilic bacterium, we designed the mutants with a grafted PA14 tag to prepare the complexes with NZ-1 Fab. Subsequently, we estimated the conformation of the PDZ tandem by performing negative stain electron microscopy on the PA14-grafted orthologs in complex with the NZ-1 Fab. Furthermore, we succeeded in determining the x-ray crystal structures of RseP and its orthologue from a marine bacterium, which deepened our understandings of the interaction mode between RseP and substrates as well as the molecular mechanism by which RseP promotes the substrate cleavage.

研究分野：構造生物学

キーワード：構造生物学 X線結晶解析 電子顕微鏡解析 分子認識 膜タンパク質

1. 研究開始当初の背景

膜内タンパク質切断は、特定のタンパク質が膜貫通領域で加水分解を受ける現象である。基質となるタンパク質の多くは、膜に繫留されたシグナル分子の前駆体であり、切断によって膜から遊離して活性化される。したがって、膜内タンパク質切断は“疎水的な膜内部でのタンパク質切断”という化学反応が引き金となる細胞内シグナル伝達と言える。膜内タンパク質切断の関わる生命現象は様々な生物種で発見されており、Notch シグナルや小胞体ストレス応答など、真核生物の生命機能の維持に必須なシグナル伝達も膜内タンパク質切断によって制御される。また、アルツハイマー病を引き起こすアミロイドβも膜内タンパク質切断によって産生されることから、切断の分子機構の理解は医学的にも重要な課題である。

膜内タンパク質切断を触媒するのは膜内切断プロテアーゼと呼ばれる膜内在性タンパク質である。膜内切断プロテアーゼは、活性中心の構造によって site-2 protease (S2P)、 γ -secretase/Signal peptide peptidase (SPP)、Rhomboïd、Ras-converting enzyme 1 (Rce1) の4つのファミリーに分類される。研究開始当初、膜内切断プロテアーゼの構造解析は進展していたが、生理的機能や基質が分かっている膜内切断プロテアーゼの基質複合体の構造は決定されていなかった。このため、膜内タンパク質切断によるシグナル伝達の開始点とも言える、膜内切断プロテアーゼによる基質認識の分子機構は明らかになっていなかった。

本研究では、膜内切断プロテアーゼの構造生物学的研究の立ち遅れた状況を打開するため、S2Pファミリーに属する細菌由来の RseP の構造解析に取り組んだ。RseP は、基質の同定など、タンパク質レベルでの研究が最も進んでいた膜内切断プロテアーゼの1つであり、構造情報が得られれば基質認識や切断に関する機能解析がさらに進展すると期待されていた。RseP は大腸菌では細胞表層ストレス応答のシグナル伝達経路において、1回膜貫通型タンパク質 RseA の RIP を触媒することが報告されていた。切断の結果、RseA に結合する転写因子 σ^E が膜から遊離して活性化し、ストレス応答に関わる遺伝子群の発現が制御される。さらに RseP は、RseA 以外にも分泌タンパク質から切り離された残渣のシグナルペプチドを切断することも報告されていた。RseP は、分子量が約5万で4つの膜貫通領域(TM1-4)を有する。配列解析から、亜鉛イオンを配位する活性残基は TM1、TM3 にあると予測されていた。また、ペリプラズム側を向く TM2 と TM3 の間の親水性領域には、リガンド認識に関わることで知られる PDZ ドメインが2つ連なった PDZ タンデム領域が存在し、基質の選別に関わる可能性が示されていた。一方、細胞質側を向く TM1 と TM2 の間には膜内部に入り込む β -ループ領域が2つあると予測され、基質との相互作用や切断の促進に関わる可能性が示されていた。

2. 研究の目的

本研究では、RseP の基質の選別・切断の分子機構を明らかにすることを目指し、X線結晶解析と電子顕微鏡解析を組み合わせて、RseP の構造決定に取り組むこととした。ただし、RseP は、電子顕微鏡解析の対象としては分子量が小さすぎると考えられたことから、PA タグという12残基の配列を RseP のループ領域に移植し、抗 PA タグ抗体である NZ-1 の Fab 断片(以下、NZ-1 Fab とする)を結合させることで、構造解析可能なサイズになるように最適化することとした。PA タグと NZ-1 抗体を利用することの利点は、RseP に対する抗体を新たに作製することなく、部位特異的にフラグメント抗体を結合させられることである。本研究の開始以前に、PA タグを RseP の可溶性断片に挿入した変異体と NZ-1 Fab が安定な複合体を形成し、結晶化することも確認していた。しかしながら、複合体の X線結晶解析から、PA タグの挿入によって、可溶性断片の構造の一部が壊れてしまうことも明らかになった。そこで、本研究では、電顕解析でより天然状態に近い RseP の構造を高分解能で観測することを目指し、PA タグの挿入方法の最適化にも取り組むこととした。この PA タグと NZ-1 Fab の利用法の確立により、分子量限界の問題が解消され、電顕解析の適用範囲が拡大するという波及効果も期待された。

3. 研究の方法

(1) PA タグ挿入方法の最適化と電子顕微鏡解析

PA タグの挿入と NZ-1 Fab の結合による標的タンパク質の構造変化を原子レベルで評価するために、超好熱菌 *Aquifex aeolicus* 由来の RseP オルソログ (*AaRseP*) の可溶性ドメインである PDZ タンデムを断片化したタンパク質をモデルとして用いた。PA タグを挿入した *AaRseP* の PDZ タンデム断片の変異体をグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として発現させた。プロテアーゼで GST を切り離し、イオン交換クロマトグラフィーやゲルろ過で精製した後、結晶化に使用した。PDZ タンデム断片単独及び NZ-1 Fab との複合体の状態で X線結晶解析を行った。X線回折データの収集は、主に高エネルギー加速器研究機構の Photon Factory BL-1A 及び 17A で行った。分子置換法による位相決定の後、構造精密化を行った。

PA タグの挿入方法の最適化の後、全長の *AaRseP* にも PA タグを挿入し、NZ-1 Fab との複合体試料を調製して、電顕解析を行った。本研究では、まず PA タグを挿入した全長の *AaRseP* と NZ-

1 Fab が安定な複合体を形成していることを確認するために、モリブデン酸アンモニウム等で負染色した試料で電子顕微鏡像を撮影し、三次元再構成を行った。

(2) RseP の X 線結晶解析

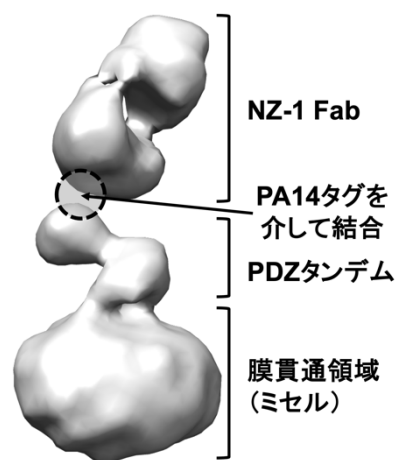
大腸菌 RseP (*EcRseP*) 及びグラム陰性菌由来のオルソログを大腸菌で発現させ、X 線結晶解析を行った。*EcRseP* については、C 末端に PA タグを融合したコンストラクトを作製し、PA タグを利用して穏和な条件で精製を行った。*Kangiella koreensis* 由来のオルソログ (*KkRseP*) については、C 末端に His タグを融合したコンストラクトを作製し、汎用的な固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーで精製を行った。Lipidic cubic phase (LCP) 法による結晶化を行い、*EcRseP*、*KkRseP* いずれについても活性阻害剤である Batimastat との複合体で結晶を取得した。X 線回折データは、微小結晶からのデータ収集に最適化された SPring-8 BL32XU で測定した。まず、*KkRseP* のセレノメチオニン変異体結晶からの異常散乱データを用いて位相決定を行い、*KkRseP* の構造を決定した。続いて、*KkRseP* の部分構造をサーチモデルとして *EcRseP* の結晶構造を分子置換法で決定した。

4. 研究成果

(1) PA タグ挿入方法の最適化と電子顕微鏡解析

先行研究において 12 残基からなる PA タグを PDZ タンデム挿入し、NZ-1 Fab を結合させるとタグ挿入部位近傍の 2 次構造が壊れることが明らかになっていた。NZ-1 と結合した PA タグは末端間が 14Å 程度離れてしまうため、挿入部位近傍に歪みを生じることが避けられなかった。そこで、PA タグの N 末端側に 2 残基を付加した PA14 タグを挿入することで PDZ タンデムの構造変化を抑えることが可能かを検証した。その結果、NZ-1 と結合した PA14 タグの末端間の距離は 7Å 程度まで狭まり、PDZ タンデムの構造変化も抑えられた。本研究では、PDZ タンデムの β-ヘアピン領域 2 箇所には PA14 タグの挿入を試みたが、分子の外側に突き出した β-ヘアピン領域では、先端部を欠失させてから PA14 タグを挿入することで、Fab と PDZ タンデムの距離を近づけることができた。一方、平坦な分子表面に組み込まれた β-ヘアピン領域では、先端部を欠失させることなく、そのまま PA 14 タグを挿入することで PDZ タンデムの構造を壊さず、NZ-1 Fab を結合させることができた。

続いて本研究では、上記の試行錯誤の結果として最適化された方法で、全長の *AaRseP* の PDZ タンデム領域にも PA14 タグを挿入し、NZ-1 Fab との複合体試料を作製して電顕解析に取り組んだ。その結果、負染色電顕単粒子解析によって、明瞭な三次元再構成像を取得することに成功し、全長タンパク質における PDZ タンデムの配置を同定することができた。三次元再構成像は二次構造を判別できる分解能ではなかったが、上記の PDZ タンデム断片と NZ-1 Fab の複合体構造と照らし合わせることで、PDZ タンデムのモデルを高い信頼度で電顕マップに当てはめることができた。先行研究から、PDZ タンデムを構成する 2 つの PDZ ドメインは、それぞれの推定リガンド結合部位を向かい合わせにして二枚貝のようなコンフォメーションをとることで内部にポケット状の空間を形成していること、そして、このポケット状の空間を膜貫通領域側に向けて活性中心の上に覆い被さっていることが推定されていた。このような配置をとることで、PDZ タンデムは嵩高いペリプラズム領域をもつ膜タンパク質の侵入を阻害するサイズ排除フィルターとして機能するというモデルが立てられていた。本研究で明らかにした電顕構造は、先行研究における PDZ タンデムの配置の推定とよく一致しており、PDZ タンデムがサイズ排除フィルターとして機能することを裏付けるものであった。



PA14タグを介した形成させた *AaRseP* と NZ-1 Fab の複合体

PA14タグの位置からPDZタンデムの配置を正確に推定することができた。

(2) RseP の X 線結晶解析

PA タグを融合した *EcRseP* を NZ-1 Sepharose レジンをを用いてアフィニティー精製し、ゲルろ過クロマトグラフィーにアプライしたところ、単量体成分が高収率で得られた。この単量体成分は安定で再びゲルろ過クロマトグラフィーにアプライすると単分散状態で溶出した。さらに、可溶化状態での切断実験でも従来のプロトコルで得られた精製試料に比べて活性が高いことが分かった。しかしながら、このような高品質な精製試料であっても単結晶が得られず、構造解析は停滞していた。そのような状況の中、他の研究グループから、MMP 阻害剤として開発されたペプチド様の化合物である Batimastat が *EcRseP* に阻害効果を示すことが報告された。膜内切断プロテアーゼに限らず酵素の結晶化においては、酵素単独では構造に揺らぎがあつて結晶が析出しない場合でも阻害剤を添加することで構造の揺らぎが抑制されて結晶が析出することがある。そこで、*EcRseP* についても同様に、結晶化能を向上させる目的で Batimastat を添加して結晶化

条件のスクリーニングを行った。その結果、限られた条件ではあったが再現よく結晶が析出する条件が見つかった。*EcRseP* の結晶は、LCP から析出する結晶の典型例として非常に小さかったことから、マイクロフォーカスビームラインである SPring-8 BL32XU において X 線回折データを収集した。多数の結晶から集めた部分的な回折データを統合することで、最終的に 3.2 Å 分解能のデータセットが取得できた。そして、*EcRseP* の PDZ ドメインや類縁タンパク質の膜貫通領域の部分モデルを用いて分子置換法で位相決定を試みたが、サーチモデルに含まれない領域の電子密度は不明瞭で、モデル構築や精密化は困難であった。そこで、*EcRseP* よりも精製タンパク質の安定性が高いことが分かっていた *KkRseP* を利用して位相決定を行うこととした。*KkRseP* は単独でも結晶化することが分かっていたが、X 線回折の分解能は 4~5 Å 程度にとどまっていた。この *KkRseP* にも *Batimastat* を添加して再度結晶化条件のスクリーニングを行ったところ、*KkRseP* 単独とは全く外形の異なる結晶が得られ、X 線回折の分解能も 3.0 Å 近くまで向上した。*KkRseP* についても分子置換法による位相決定が困難であったことから、*KkRseP* のセレノメチオニン変異体結晶を作製して異常散乱データを収集し、分子置換法と単波長異常散乱法を組み合わせた MR-SAD 法によって位相決定を行った。その結果、モデル構築可能な明瞭な電子密度が得られ、一部のループ領域を除く分子全体のモデルをアサインすることができた。そして、この *KkRseP* のモデルを用いて分子置換法を行い、*EcRseP* の結晶構造も決定することができた。

結晶内での *EcRseP* と *KkRseP* は、異なるコンフォメーションをとっていたが、各ドメインやモジュールの構造はよく一致していた。特に、膜内の触媒コア領域の構造はよく一致しており、結晶化の際に添加した *Batimastat* の結合様式も同様によく一致していた。TM1 と TM2 の間には膜に入り込むように 2 つの β -ループが形成されていると予測されていたが、実際には 1 つの長い β -ループが折れ曲がることで 4 本のストランドからなる 1 枚の β -シートが形成されていた（以下、MRE β -シートと呼ぶ）。この MRE β -シートは活性中心の近傍に存在し、4 本のストランドのうち一番活性中心に近い Edge strand と *Batimastat* が主鎖間で水素結合を形成していた。*Batimastat* の末端に存在するヒドロキサム酸基は亜鉛イオンに配位結合し、加水分解に必要とされる水分子と置き換わっていた。また、Edge strand の反対側からは TM3 上の Asn-394 が *Batimastat* の主鎖と水素結合を形成することで、クランプのように *Batimastat* を固定していることが分かった。さらに、変異体解析から、Asn-394 への変異によって、*Batimastat* の阻害効果が減弱するだけでなく、基質の切断効率も低下することが明らかになった。これらの知見は、基質も *Batimastat* と同様に、Asn-394 によって固定された状態で切断を受ける可能性が高いことを示している。以上のとおり、*EcRseP* や *KkRseP* の X 線結晶解析によってそれぞれのタンパク質の原子レベルでの立体構造情報が明らかになっただけでなく、膜内における基質の結合様式や切断促進の分子機構の理解が深まった。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Parvin Shumaia, Takeda Renoma, Sugiura Yu, Neyazaki Makiko, Nogi Terukazu, Sasaki Yukio	4. 巻 146
2. 論文標題 Fragile X mental retardation protein regulates accumulation of the active zone protein Munc18-1 in presynapses via local translation in axons during synaptogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 36 ~ 47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2018.09.013	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 Tamura-Sakaguchi Risako, Aruga Rie, Hirose Mika, Ekimoto Toru, Miyake Takuya, Hizukuri Yohei, Oi Rika, Kaneko Mika K., Kato Yukinari, Akiyama Yoshinori, Ikeguchi Mitsunori, Iwasaki Kenji, Nogi Terukazu	4. 巻 77
2. 論文標題 Moving toward generalizable NZ-1 labeling for 3D structure determination with optimized epitope-tag insertion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section D Structural Biology	6. 最初と最後の頁 645 ~ 662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2059798321002527	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 Imaizumi Y, Takanuki K, Miyake T, Takemoto M, Hirata K, Hirose M, Oi R, Kobayashi T, Miyoshi K, Aruga R, Yokoyama T, Katagiri S, Matsuura H, Iwasaki K, Kato T, Kaneko MK, Kato Y, Tajiri M, Akashi S, Nureki O, Hizukuri Y, Akiyama Y, Nogi T	4. 巻 8
2. 論文標題 Mechanistic insights into intramembrane proteolysis by E. coli site-2 protease homolog RseP	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabp9011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abp9011	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 Tanaka Tsubasa, Ekimoto Toru, Nagatomo Meri, Neyazaki Makiko, Shimoji Erena, Yamane Tsutomu, Kanagawa Sakura, Oi Rika, Mihara Emiko, Takagi Junichi, Akashi Satoko, Ikeguchi Mitsunori, Nogi Terukazu	4. 巻 31
2. 論文標題 Hybrid in vitro/in silico analysis of low affinity protein-protein interactions that regulate signal transduction by Sema6D	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Protein Science	6. 最初と最後の頁 e4452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.4452	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 2)Nagae M, Suzuki K, Yasui N, Nogi T, Kohno T, Hattori M, Takagi J	4. 巻 -
2. 論文標題 Structural studies of reelin N-terminal region provides insights into a unique structural arrangement and functional multimerization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 mvaa144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvaa144	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 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 檜作 洋平, 横山 達彦, 三宅 拓也, 小林 達也, 今泉 友希, 高貫 一徳, 大井 里香, 禾 晃和, 秋山 芳展
2. 発表標題 細菌パーシスター化における膜内切断プロテアーゼRsePの役割: 生理学的及び構造学的アプローチ
3. 学会等名 第95回 日本細菌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rie Aruga, Risako Tamura-Sakaguchi, Mika Hirose, Toru Ekimoto, Rika Oi, Mika K. Kaneko, Yukinari Kato, Mitsunori Ikeguchi, Kenji Iwasaki, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Structural analysis of intramembrane protease using the NZ-1 labeling technique with optimized epitope-tag insertion
3. 学会等名 PDBアジア地区50周年記念シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 禾 晃和
2. 発表標題 生体膜上で形成される低親和性蛋白質間相互作用の構造生物学的研究
3. 学会等名 令和3年(2021年)度日本結晶学会年会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今泉 友希, 高貫 一徳, 三好 賢一, 大井 里香, 松浦 滉明, 平田 邦生, 武本 瑞貴, 濡木 理, 禾 晃和
2. 発表標題 膜内プロテアーゼRsePのX線結晶構造解析
3. 学会等名 令和3年(2021年)度日本結晶学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安達 友里子, 平田 邦生, 金子 美華, 加藤 幸成, 禾 晃和
2. 発表標題 抗体Fab断片の動物細胞による組換え発現と結晶解析による構造形成の検証
3. 学会等名 令和3年(2021年)度日本結晶学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田尻 道子, 大井 里香, 禾 晃和, 明石 知子
2. 発表標題 リガンドスクリーニングを目指したリガンド-膜タンパク質複合体のネイティブ質量分析
3. 学会等名 第94回日本生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rie Aruga, Risako Tamura-Sakaguchi, Mika Hirose, Toru Ekimoto, Rika Oi, Mika K. Kaneko, Yukinari Kato, Mitsunori Ikeguchi, Kenji Iwasaki, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Optimization of the NZ-1 labeling technique for the application to 3D structure analysis
3. 学会等名 XXV IUCr Congress (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有賀 理江, 廣瀬 未果, 坂口(田村) 梨沙子, 金子 美華, 加藤 幸成, 加藤 貴之, 岩崎 憲治, 禾 晃和
2. 発表標題 抗体ラベリング法を用いた膜内切断プロテアーゼの電子顕微鏡単粒子解析
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 禾 晃和
2. 発表標題 標的タンパク質へのPAタグ挿入方法の最適化によるNZ-1ラベリング法の一般化
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田尻 道子, 大井 里香, 禾 晃和, 明石 知子
2. 発表標題 膜内切断プロテアーゼのリガンド - 膜タンパク質複合体のネイティブ質量分析
3. 学会等名 第69回質量分析総合討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rie Aruga, Risako Tamura, Mika Hirose, Rika Oi, Mika K. Kaneko, Yukinari Kato, Kenji Iwasaki, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Determining the domain arrangement of bacterial site-2 protease by the site-specific insertion of PA tag and labeling with NZ-1 Fab
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 Aki Shiozawa, Noriyuki Kodera, Terukazu Nogi
2. 発表標題 How similar are the LDLR family members? - Examination of pH-dependent regulation of ligand capture and release through SPR and HS-AFM analyses
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 禾 晃和
2. 発表標題 細胞表層ストレス応答に関わる大腸菌膜内切断プロテアーゼRsePの構造生物学的解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aki Shiozawa, Noriyuki Kodera, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Biophysical analysis of pH-dependent conformational change of LDLR family members in ligand capture and release
3. 学会等名 第58回日本生物物理学学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有賀理江・田村梨沙子・浴本享・廣瀬未果・大井里香・金子美華・加藤幸成・岩崎憲治・池口満徳・禾 晃和
2. 発表標題 NZ-1ラベリングによる立体構造解析の一般化に向けたPAタグ挿入方法の最適化
3. 学会等名 日本結晶学会2020年度年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中 翼、下地 恵令奈、永友 芽里、山根 努、浴本 亨、根谷崎 牧子、大井 里香、池口 満徳、禾 晃和
2. 発表標題 In vitroとin silicoの融合によるセマフォリン-プレキシシンペアの結合特異性決定因子の探索
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会 第19回日本蛋白質科学会年会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三好 賢一、田村 梨沙子、高貫 一徳、廣瀬 未果、大井 里香、金子 美華、加藤 幸成、岩崎 憲治、禾 晃和
2. 発表標題 電子顕微鏡単粒子解析に向けた抗体断片の結合による標的タンパク質のサイズと形状の最適化
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会 第19回日本蛋白質科学会年会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塩澤 亜希、飯田 麻生、小田 隆、佐藤 衛、禾 晃和
2. 発表標題 SEC-SAXSによるLDLRファミリーのpH依存的な構造変化の検証
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会 第19回日本蛋白質科学会年会 合同年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 リガンド結合と解離を調節する1回膜貫通型受容体のpH依存的な構造変化の追跡
2. 発表標題 禾 晃和
3. 学会等名 第71回日本細胞生物学会大会 第19回日本蛋白質科学会年会 合同年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣瀬 建、金子 美華、加藤 幸成、禾 晃和
2. 発表標題 親水性領域部分断片とFab断片の共結晶構造解析による膜内切断酵素特異的抗体のエピトープ領域の探索
3. 学会等名 日本結晶学会2020年度年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Risako Tamura, Rika Oi, Satoko Akashi, Mika K. Kaneko, Yukinari Kato, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Insertion of the PA tag into a target protein and promotion of the crystallization by utilizing the NZ-1 Fab as a crystallization chaperone
3. 学会等名 AsCA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsubasa Tanaka, Erena Shimoji, Meri Nagatomo, Tsutomu Yamane, Toru Ekimoto, Makiko Neyazaki, Rika Oi, Mitsunori Ikeguchi, Terukazu Nogi
2. 発表標題 Exploration of structural determinants of binding selectivity in semaphorin-plexin pairs through hybrid approach of in vitro/in silico analyses
3. 学会等名 AsCA2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

横浜市立大学大学院生命医科学研究科構造生物学研究室
<http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/xtal-mls/members/nogi/index.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
研究 分 担 者	岩崎 憲治 (Iwasaki Kenji) (20342751)	筑波大学・生存ダイナミクス研究センター・教授 (12102)	

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