

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：34204

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05739

研究課題名(和文) 中分子創薬を企図した新規プロテアソーム阻害剤と薬物送達法の開発

研究課題名(英文) Development of novel middle-molecule proteasome inhibitors and their drug delivery methods

研究代表者

長谷川 慎 (Hasegawa, Makoto)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・教授

研究者番号：10367899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、26Sプロテアソームに作用しやすいペプチド複合型阻害剤を開発することを目的とする。このペプチド領域は細胞膜透過性を持ち、薬剤耐性細胞に対する効果を増強させる。まず、cDNAディスプレイ法により大腸がんに顕著に発現する膜タンパク質に結合する新規配列ペプチドを探索した。次に、プロテアソームに集積するペプチドを分子量500程度のプロテアソーム阻害化合物に連結し、受容体エンドサイトーシスにより細胞特異的に内部移行し、標的に集積する化合物を合成した。さらに、モデル系として大腸がん由来株細胞を用い、細胞内プロテアソーム活性などを検証し薬効を証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、プロテアソームの新しい制御機構を明らかにするために、ランダムペプチドライブラリーから20S PSに直接的な親和性を有するアミノ酸配列の探索を行った。得られたペプチドは、20S PSに対し非拮抗的に阻害作用を示した。その作用には疎水性アミノ酸を含む7残基の配列が重要であることを構造活性相関の検証により明らかにした。従来のプロテアソーム阻害剤が基質認識部位に直接作用するのに対し、これらのペプチドは全く異なるメカニズムで活性制御することから、新しいタイプのプロテアソーム阻害剤開発の手がかりになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to develop a peptide-conjugated inhibitor that can act easily on the 26S proteasome. This peptide region is permeable to cell membranes and enhances its effect on drug-resistant cells. First, we searched for novel sequence peptides that bind to membrane proteins prominently expressed in colorectal cancer by cDNA display method. Next, peptides that accumulate on proteasomes were linked to proteasome inhibitor compounds with a molecular weight of about 500, and compounds were synthesized that internalize cell-specifically by receptor endocytosis and accumulate on their targets. The drug efficacy was further demonstrated by using colon cancer-derived cell lines as a model system to verify intracellular proteasome activity and other properties.

研究分野：ケミカルバイオロジー

キーワード：進化分子工学 プロテアソーム阻害剤 中分子医薬

1. 研究開始当初の背景

プロテアソームは古細菌および真核生物の細胞内に普遍的に存在し、細胞周期、遺伝子発現、シグナル伝達、免疫応答をはじめとした幅広い生体制御メカニズムで中心的に機能しているプロテアーゼ複合体である。プロテアソームの機能は、ユビキチン修飾を目印に、特定のタンパク質を特定のタイミングで分解することであり、タンパク質の細胞内存在量を負に調節する主要な経路である¹⁾。

ユビキチン修飾タンパク質を分解するプロテアソームの分子形態は、26S プロテアソーム(以下、26S PS)と呼ばれる。26S PS は、そのコアとして 20S プロテアソーム(以下、20S PS)と、その両端に会合する 19S 複合体(以下、19S RP)からなる、2.4 MDa もの巨大タンパク質複合体である²⁾。ユビキチン修飾は、19S RP により認識されて除去されると同時に、基質タンパク質本体がアンフォールディングされ、中心部の 20S PS 内部に送られる。20S PS は、おのおの 7 種類の サブユニットと サブユニットがそれぞれ形成する リング、リングの 2 種類のリングが 配置に重なったバレル状の構造体を形成している。基質タンパク質は、リングの 3 種類の基質特異性は異なるサブユニット 1、2 および 5 の触媒部位によって分解される。これらの基質特異性からプロテアソームの基質タンパク質分解活性は、PGPH 活性(1: 酸性アミノ酸の位置で切断)、トリプシン様活性(2: 塩基性アミノ酸の位置で切断)、キモトリプシン様活性(5: 疎水性アミノ酸の位置で切断)と呼ばれる³⁾。

26S PS により分解されるタンパク質の中には、腫瘍抑制因子である p53、サイクリン依存キナーゼ阻害タンパク質 p27kip1、転写因子 NF- κ B 制御因子である I- κ B といった分子が含まれ、それらの分解阻害ががん細胞増殖の抑制に結び付くことから、プロテアソーム阻害剤 (PI) は抗がん剤として重要な位置づけにある。実際、PI は、難治性血液がんの一つである多発性骨髄腫 (MM) の治療薬として臨床使用されている。多発性骨髄腫は、血液細胞の一種である形質細胞が腫瘍化し、複数の箇所で発症するために多発性の名を有する。MM 治療では、PI に加えて抗炎症剤ステロイド、免疫調節薬レナリドミドやサリドマイドの多剤併用化学療法により長期間の疾患コントロールが期待できる。ボルテゾミブ (製品名ベルケイド) は最初に臨床応用された PI であり、多発性骨髄腫の多剤併用療法における標準的治療薬となっている⁴⁾。ひきつづく第二、三代 PI として、カルフィルゾミブおよびイクサゾミブが承認されている⁵⁾。これらは、2~4 残基のペプチド骨格に、プロテアソームの酵素活性中心のアミノ酸側鎖と化学反応するファーマコフォアを持つ。ボルテゾミブとイクサゾミブはボロン酸、カーフィルゾミブはエポキシケトン反応基として、プロテアソームの活性中心の求核性側鎖と共有結合を形成して阻害効果を発揮する。

26S PS では 19S RP が蓋の役割をして基質導入経路を制御する。これにより基質タンパク質は選別され、構造をほどかれた上で 20S PS 内部に送られる。この経路は狭く、閉じた状態では低分子化合物ですらなかなか通過できない。一方で、ある種の PI は、基質同様に 19S RP に認識されて内部に取り込まれるために、26S PI に効率的に作用するものがあるようである。例えば、19S RP の発現量が抑制された細胞においてはボルテゾミブがプロテアソームを阻害しにくくなり、それが MM 細胞のボルテゾミブ耐性の原因であることが報告されている⁶⁾。さらには、細胞内でのプロテアソームの分子形態は複雑であり、そこに隠された機能が存在する可能性がある。

2. 研究の目的

新しい創薬リードとしてペプチドなど中程度の分子量の化合物が再評価されている。細胞選択性・膜透過性・特異性・親和性などの機能を付与できるためであるが、その開発の方法論は発展途上である。本研究では、上記の機能を持つペプチドを利用した低分子量の医薬候補の活性増強とドラッグデリバリーの手法を確立し、新しい中分子医薬の設計法を提案する。本研究では、26S プロテアソームに作用しやすいペプチド複合型阻害剤を開発することを目的とする。このペプチド領域は細胞膜透過性を持ち、薬剤耐性細胞に対する効果を増強させる。まず、cDNA ディスプレイ法により大腸がんに関連して発現する膜タンパク質 (膜結合型グアニル酸シクラーゼ C) に結合する新規配列ペプチドを探索する。次に、プロテアソームに集積するペプチドを分子量 500 程度のプロテアソーム阻害化合物に連結し、受容体エンドサイトーシスにより細胞特異的に内部移行し、標的に集積する化合物を合成する。さらに、モデル系として大腸がん由来株化細胞を用い、細胞内プロテアソーム活性などを検証し薬効を証明する。

3. 研究の方法

3-1 RID-F ペプチドコンジュゲートの作成

ペプチドコンジュゲートを得るために、ペプチドを、100 当量の TEA を含む DMF 中で、カルボキシ基またはアミノ基を持つ等モルの RID-F 誘導体と 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC) および 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) と反応させた。すべてのペプチドは、標準的な方法に従って 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) 化学を用いて合成した。40 で 6 時間インキュベートした後、逆相カラム (COSMOSIL, 5C18-AR-II, 4.6 × 150 mm, ナカライテスク株式会社, 京都) を備えた HPLC システム (Gilson, Inc., Middleton) によって反応混合物から標的コン

ジユゲートを精製した。HPLC は、水中の 0.05%トリフルオロ酢酸中の 5-50%アセトニトリルの直線勾配で 1 mL/min の流速で実施した。目的物であるコンジュゲートの純度は、Spiral-TOF JMS-S3000 質量分析計(日本電子株式会社, 東京)を用いて確認した。

3-2 細胞培養

RPMI8226 および KMS-11 細胞株は、RIKEN BRC Cell Bank(千葉)および JCRB Cell Bank、国立生物医学研究所栄養健康研究所(大阪)から入手した。細胞は、10%ウシ胎仔血清、100 units/mL ペニシリン、および 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ストレプトマイシンを添加した RPMI1640 培地(ナカライテスク株式会社, 京都)を用いて 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ で培養した。

3-3 プロテアソーム蛍光基質アッセイ

Suc-LLVY-MCA、Z-LLE-MCA および Boc-LRR-MCA の分解速度をそれぞれ測定することにより、CT-L、PGPH および T-L プロテアソーム活性を測定した。精製されたヒト 20S プロテアソーム(0.1 μg , Enzo Life Sciences Inc., NY)を、試験用緩衝液(25 mM HEPES [pH 8.0], 0.5 mM EDTA, 0.03% SDS)100 μL 中で、種々の阻害化合物濃度(0.1~10 μM)の存在下で、蛍光基質ペプチド(50 μM)を添加した。反応混合物中の放出された 7-amino-4-methylcoumarin(AMC)($\lambda_{\text{ex}}=380\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}}=480\text{nm}$)の蛍光を 37 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間モニターした。また、精製した 26S プロテアソーム(0.1 μg)についての化合物(0.1~40 μM)の阻害活性は、上記と同様の条件を用いたが、異なる試験用の緩衝液(50 mM HEPES [pH 7.5], 40 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 50 μg のウシ血清アルブミン、0.5 mM ATP, 1 mM のジチオスレイトール)を用いた。プロテアソーム活性の 50%阻害に必要な化合物濃度として IC₅₀ 値を定義し、それぞれの阻害曲線から各化合物について決定した。

3-4 細胞生育阻害アッセイ

RPMI8226 および KMS-11 細胞を、96 ウェルプレートに 5 \times 10² cells / well の密度で播種し、DMSO に溶解した種々の濃度(0.1~10 μM)の阻害化合物と共に 24 または 48 時間インキュベートした。細胞内 ATP の量は、CellTiter-GloTM Luminescent Cell Viability Assay (Promega Corporation, Madison)を用い、添付された手順に従って測定した。

3-5 細胞内プロテアソーム活性の測定

RPMI8226、KMS-11 細胞を、96 ウェルプレートに 5 \times 10³ cells/well の密度で播種し、終濃度 0.5% の DMSO に溶解した様々な濃度(0.1~10 μM)の阻害剤で 24 または 48 時間インキュベートした。Proteasome-Glo Assay (Promega Corporation, Madison) 試薬を製造元の手順に従って添加した。このアッセイは、アミノルシフェリンに結合したペプチドからなる発光基質が、界面活性剤含有緩衝液と共に添加される段階で直接細胞の溶解がされる。緩衝液含有ルシフェラーゼの基質であるアミノルシフェリン色素生成を、15 分間のインキュベーション後に測定した。

4. 研究成果

成果 1: ペプチド複合型低分子プロテアソーム阻害剤の開発

プロテアソーム阻害剤として新たに見出したタモキシフェン誘導体 RID-F の 26S PS への阻害作用が、ペプチド構造の導入により向上することを見出した^{7,8)}。RID-F に鎖長の異なる塩基性または疎水性ペプチドを付加した RID-F 誘導体を合成し、26S PS への阻害活性を評価した結果、それらの阻害活性はペプチドの長さおよび化学的性質に依存して増強した。まず、26S PS 阻害の増強には、少なくとも 7 残基のアミノ酸からなるペプチドの付加が必要であった。また、この効果は配列によらず、一定の鎖長を持つペプチドの付加により見られた。一方で、アミノ酸配列は阻害特異性を左右し、疎水性アミノ酸からなるペプチドはキモトリプシン様活性を、塩基性アミノ酸からなるペプチドはトリプシン様活性を阻害した。しかし、このようなペプチド付加誘導体は細胞内に移行しにくくなるため薬剤送達の工夫が必要である。

ヒト免疫不全ウイルス-1(HIV-1)由来の Tat タンパク質などに代表されるいくつかのタンパク質には、細胞を浸透できる能力を持つことが知られている。その能力に必要な最小ドメインは、「細胞透過性ペプチド」(cell-penetrating peptide: CPP)と呼ばれる 10~16 アミノ酸の短いペプチド配列として定義されている。CPP は、ペプチドやタンパク質、リボ核酸、オリゴヌクレオチド模倣体、ナノ粒子など本来は細胞膜を透過できない物質に付加することでこれらを細胞内移行させることができる⁹⁾。CPP は、細胞膜を透過しにくい薬物をも生細胞中に移行させることができるので、ドラッグデリバリーシステムの薬剤輸送担体として活用されている。例えば、抗がん剤ドキソルビシンに結合した Tat ペプチドは、薬物感受性細胞株および薬剤耐性細胞株の両方において、薬物の細胞内濃度を有意に増加させることが報告されている。天然の Tat ペプチドは、6 つのアルギニンと 2 つのリジン残基を含むいくつかのカチオン性アミノ酸からなるカチオン性ペプチドである。オクタアルギニン(R₈)は、Tat ペプチドよりも単純な配列であるが、このペプチドの付加化合物も細胞内取り込みの効率が向上できることが報告されている。

R₈ ペプチドを付加した RID-F は、薬剤耐性を示す KMS-11 細胞にもアポトーシス誘導を促し、さらに細胞内のプロテアソーム活性を強く阻害することが確認された⁸⁾。また、CPP を付加した RID-F は、CPP を付加していない RID-F よりも迅速に細胞死を誘導した。このような PI への CPP の付加は、細胞レベルでの薬効増強の戦略になり得る可能性がある。それは、CPP に次のような 3 つの機能が期待

されるからである。第 1 に、CPP 付加誘導体は、細胞膜透過ペプチドによって細胞への浸透を促進し、それによって PI の細胞内濃度を十分なレベルまで増加させる。第 2 に、そのペプチド部分がプロテアソームによって基質として認識され、それにより PI の 26S PS 内部への進入が促進される。第 3 に、薬剤耐性株に対して薬効が顕著に改善されることから、ペプチド付加による全体サイズの増大が薬剤排出ポンプによる排除への抵抗性となる可能性がある。

成果 2: プロテアソームの活性を制御するペプチド

一定の構造を持たない領域 (Intrinsically disordered regions : IDR) を持つタンパク質は、ユビキチン非依存的に 20S CP 単独で分解される¹⁰⁾。IDR を持つ代表的な 20S CP の基質として、アルツハイマー病の責任分子であるタウタンパク質 (Tau) や、パーキンソン病責任分子の α -シヌクレイン (α -Syn) などが挙げられる。しかし、IDR は 20% もの細胞内タンパク質に含まれており、IDR が 20S PS に直ちに分解されるわけではない。多くのタンパク質は、本質的に構造化されていないセグメントを持っているが、多くの場合、セグメントはタンパク質自体の中に隠されているか、あるいは結合パートナーやシャペロンによって保護/安定化されている。いったんセグメントが露出すると、タンパク質全体が分解の対象となる可能性がある。このユビキチン非依存性のタンパク質分解は、高度に制御された 26S PS によるユビキチン依存性の分解と共存している可能性が指摘されている¹¹⁾。

これらの基質は 20S PS の基質取り込み口、すなわち リングのゲートの開口を促進し、自身の分解を促進する機能を持つ様である。20S PS へのターゲティングシグナルは、基質上の非構造化ポリペプチドセグメントであると考えられる。これらの基質は、20S PS との何らかの機能的・物理的な相互作用の存在が推定されているが、その詳細は不明である。20S PS の 2 つの リングには、緩やかに折りたたまれたポリペプチドがドッキングする可能性のある場所が数多く存在する。基質が結合すると、非対称な構造変化が起こり、ゲートが開き、プロテアソーム主導の転位機構によって基質の分解が開始される可能性が想定されるが、構造変化の詳細についてもまだ不明である。

本研究では、プロテアソームの新しい制御機構を明らかにするために、ランダムペプチドライブラリーから 20S PS に直接的な親和性を有するアミノ酸配列の探索を行った。ここで採用した cDNA ディスプレイ法は、人工分子進化法による機能性ペプチドの創出技術である¹²⁾。これは、mRNA の 3' 末端に結合したチロシル tRNA のアナログであるピュロマイシンを利用し、翻訳産物とその情報をコードする mRNA の複合体が作成することが基本原理である。ランダム DNA 配列プールを鋳型として、無細胞翻訳系によりペプチド-cDNA 複合体を作り出し、20S CP に対して親和性を持つ分子を分離し、その後、このペプチドに付随した DNA 配列を PCR 増幅した。これを 1 サイクルとして、複数回のサイクル繰り返しにより特異的で親和性の強い 10 アミノ酸残基の収束配列を得た。これらペプチドは、20S PS にたいし非拮抗的に阻害作用を示した。その作用には疎水性アミノ酸を含む 7 残基の配列が重要であることを構造活性相関の検証により明らかにした。

このペプチド配列が、プロテアソームの未知の基質認識メカニズムとどのように関係するか詳細な検証は途上であるが、同様にある種のペプチド配列がプロテアソーム活性を阻害・促進することは複数報告されている。従来のプロテアソーム阻害剤が基質認識部位に直接作用するのに対し、これらのペプチドは全く異なるメカニズムで活性制御することから、新しいタイプのプロテアソームを標的とした創薬の手がかりになることが期待される。

成果 3: 大腸癌に特異的に発現するタンパク質に対する結合ペプチド

グアニル酸シクラーゼ C (GC-C) はヒトを含む高等動物の腸管上皮に存在する膜一回貫通型の受容体である。GC-C は内因性リガンドであるグアニリン・ウログアニリンと大腸菌によって産生される外因性リガンド耐熱性エンテロトキシン (STa) によって活性化され、腸管内水分貯留を促す。GC-C シグナル伝達の不全に起因する結腸癌に対し、人工的にリガンドを供給することで、腫瘍が抑制されたという報告があり、GC-C をターゲットとするリガンドは結腸癌予防につながると思われる。

GC-C のペプチドアゴニストであり、便秘型過敏性腸症候群などの治療薬として利用されているリナクロチドは、天然リガンドを基に設計されており、システインに富み、分子内に複数の S-S 架橋を持つため、大量合成が難しい。そこで、本研究では簡易合成可能な新規ペプチドを cDNA ディスプレイ法で探索した。直鎖と環状 2 種類のペプチドを設計し、2 種類の間でアミノ酸配列や GC-C に対する親和性の比較を試みた。その結果、新規の環状ペプチドが得られたため、新規環状ペプチドの GC-C に対する結合親和性と活性を評価した。

環状ランダムペプチドの探索では、システインを 4 ヶ所に保持する 15 残基程度の新規ペプチドを得ることができた。しかし、直鎖ランダムペプチドの探索では GC-C に対し結合親和性を持つペプチドは得られなかった。これは立体構造をとらない直鎖ペプチドでは、GC-C への親和性が弱く、特定のペプチド配列が収束しなかったことが考えられる。GC-C のリガンドはどれもループ構造をとっており、システインの S-S 結合によるリガンドのループ形成は GC-C への結合に必要な不可欠であることが知られている。結果から改めて GC-C への結合にはシステイン残基による立体構造の形成が重要であることが示唆された。

BIAcore の結果から、ペプチドの GC-C に対する結合親和性は天然のリガンドよりも弱いことが判った。リナクロチドの K_D が約 80nM であるのに対し、取得されたペプチドの K_D は 30~50 μ M の値を示した。先行研究より脱グリコシル化された組み換え細胞外ドメイン (ECD) は天然リガンドである STa への親和性は変わらず、 K_D 値に変化がないことが明らかにされている。そのため、大量発現が可能で、糖鎖修飾を受けない大腸菌タンパク質発現系で調製した GC-C を実験に使用した。しかし、糖鎖修飾を

受けていない分、構造が不安定であるため BIAcore のセンサーチップに固定した際に構造が変化し、 K_D 値が大きくなったことが考えられる。また、cDNA ディスプレイのビーズに固定化した GC-C も、セレクションの間、時間が経つにつれ構造が変化している可能性が考えられる。

ヒト結腸癌細胞 (Caco-2) に発現する GC-C に対してペプチドは cGMP 量を増加させなかった。この結果から、新規環状ペプチドにはアゴニスト活性が無く、炎症性腸疾患や結腸直腸癌予防にこれらペプチドをそのまま利用するのは、難しいかもしれない。今後、この配列をベースに結合親和性を高めることを検証する必要がある。先行研究により、GC-C のエンドサイトーシスは受容体活性化とは関係なくクラスリン依存的に起こることが知られており¹³⁾、今回の実験で取得ペプチドは単独ではアゴニスト活性を持たないことが示唆されたが、GC-C に対し特異的な親和性を持つのであれば、エンドサイトーシスを引き起こし、癌細胞内への移行が可能であると考えられる。

文献

- 1) K. Tanaka, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B.*, **85**, 12 (2009)
- 2) G.A. Collins and A.L. Goldberg, *Cell*, **169**, 792 (2017)
- 3) M. Groll *et al.*, *Nature*, **386**, 463 (1997)
- 4) J. Adams and P.J. Elliott, *Oncogene*, **19**, 6687 (2000)
- 5) D.J. Kuhn *et al.*, *Blood*, **110**, 3281 (2007)
- 6) P. Tsvetkov *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 382 (2017)
- 7) M. Hasegawa *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **71**, 290 (2014)
- 8) M. Tanaka *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **146**, 636 (2018)
- 9) K.J.F. Carnevale *et al.*, *Bioconjug. Chem.*, **29**, 3273 (2018)
- 10) C.W. Liu *et al.*, *Science*, **299**, 408 (2003)
- 11) F.K. Deshmukh *et al.*, *Biomolecules*, **9**, 190 (2019)
- 12) K. Kitamura *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **387**, 1186 (2009)
- 13) G.P. Marszalowicz *et al.* *Oncotarget.*, **5**, 9460 (2014)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 KAMBA Seiji, OGURA Atsushi, MIURA Yoshiko, HASEGAWA Makoto	4. 巻 37
2. 論文標題 Enrichment of Uncommon Bacteria in Soil by Fractionation Using a Metal Mesh Device	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1295-1300
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/analsci.21P042	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 Seto Hirokazu, Saiki Atsushi, Matsushita Ryosuke, Mitsukami Wataru, Kamba Seiji, Hasegawa Makoto, Miura Yoshiko, Hirohashi Yumiko, Shinto Hiroyuki	4. 巻 32
2. 論文標題 Development of microparticle counting sensor based on structural and spectroscopic properties of metal mesh device	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced Powder Technology	6. 最初と最後の頁 1920-1926
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.appt.2021.04.002	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 -
1. 著者名 Mitsui E, Yoshida S, Shinoda Y, Matsumori Y, Tsujii H, Tsuchida M, Wada S, Hasegawa M, Ito A, Mino K, Onuki T, Yoshida M, Sasaki R, Mizukami T	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of ryuidine as a KDM5A inhibitor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9952
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-46346-x	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 Yamashita, S., Tanaka, M., Nodono, H., Hamada, A., Hamada, T., Hasegawa, M., Nishi, Y., Moss, J., Miwa, M.	4. 巻 167
2. 論文標題 Human alcohol dehydrogenase 1 is an acceptor protein for polyADP-ribosylation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical Pharmacology	6. 最初と最後の頁 27-32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bcp.2019.03.037.	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 Seto, H., Saiki, A., Kamba, S., Kondo, T., Hasegawa, M., Miura, Y., Hirohashi, Y. and Shinto, H.	4. 巻 35
2. 論文標題 Amplification of sensor signals from metal mesh device with fine periodic structure.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 619-623
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18P498.	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 Yin Xiaobo, Konishi Takayuki, Horikawa Kazuo, Tanaka Ryota, Togo Yuki, Noda Takanori, Hosoi Miho, Tsuchida Mie, Kunoh Tatsuki, Wada Shuichi, Nakamura Toshinobu, Tsuda Eisuke, Sasaki Ryuzo, Mizukami Tamio, Hasegawa Makoto	4. 巻 64
2. 論文標題 Structure and Function of Potential Glycosylation Sites of Dynactin-Associated Protein dynAP	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Biotechnology	6. 最初と最後の頁 611-620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12033-021-00435-3	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 Yin Xiaobo, Yamada Shota, Kobayashi Hiroaki, Tanaka Ryota, Togo Yuki, Hosoi Miho, Tsuchida Mie, Kunoh Tatsuki, Wada Shuichi, Nakamura Toshinobu, Sasaki Ryuzo, Mizukami Tamio, Hasegawa Makoto	4. 巻 11
2. 論文標題 Expression and cell transformation activity of dynactin associated protein isoforms	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 2110-2117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13202	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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高橋由貴、落合慧璃、長谷川慎
2. 発表標題 膜結合型グアニル酸シクラーゼCに対する人工リガンドペプチドの探索
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 木曾良明	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 265
3. 書名 ペプチド創薬の最前線	

1. 著者名 杉林堅次	4. 発行年 2022年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 239
3. 書名 中分子創薬に向けたDDS開発の新展開	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 プロテアソーム阻害ペプチド	発明者 長谷川慎、朱耘浩	権利者 学校法人関西文理総合学園
産業財産権の種類、番号 特許、2019-168564	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------