

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22989

研究課題名(和文) オオクワガタ不凍物質を活用したナノ氷結晶の作製

研究課題名(英文) Application of hyperactive antifreeze from a cold-tolerant insect

研究代表者

津田 栄 (TSUDA, SAKAE)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・上級主任研究員

研究者番号：70211381

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：オオクワガタがもつ不凍物質は1990年代にゴミムシダマシから発見されたものと相同性の高い不凍タンパク(AFP)であること、その幼虫はマイナス5℃下に24時間置いても凍らないことを明らかにした。オオクワガタAFPは6種類のアイソフォームの混合物であり、いずれも12残基のペプチドのタンデムリピートであった。同AFPを氷晶プローブに吸着させて回収するワン・ステップ精製技術も開発し、AFPを含む過冷却細胞保存液がラット膵島細胞に対する優れた保護効果を示すことを明らかにした。過冷却水はAFPが結合したナノ氷結晶で満たされた状態にあると考えられた。これらの成果は国際誌やセミナーで国内外に発信された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水を冷却すると過冷却と呼ばれる状態を経て氷になる。過冷却水の中には無数の単結晶氷が発生した状態と考えられ、本研究はそれらをナノサイズ(ナノ氷結晶)に留める高性能不凍タンパク質(DhbAFP)をオオクワガタの体液から抽出することに成功した。DhbAFPのアミノ酸配列、遺伝子配列、生化学的性質、氷結晶結合能、3次元分子構造などが明らかになり、その取得技術も本研究の中で確立された。DhbAFPを含む保存液を使ってマイナス5℃で細胞を非凍結保存したときに20日間保存後で53%という極めて高い生存率が得られたことはナノ氷結晶の有効性を示していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：This research clarified that a stag beetle (*Dorcus hopei binodulosus*) synthesizes a hyperactive antifreeze protein (DhbAFP), which unexpectedly shares a significant identity with an AFP identified from a phylogenetically distant beetle discovered in 1990s. It also appeared that Dhb larvae are not frozen during minus 5 deg C storage for 24 hrs. The native DhbAFP sample appeared to be a mixture of 6 isoforms, each of which consists of tandem repeats of a 12-residue consensus sequence. A special instrument to purify this beetle AFP by employing ice-probe was also prepared, which simplified the AFP preparation procedure. A supercooled cell storage solution containing DhbAFP appeared to improve the survival rate (%) of rat insulinoma cells, which suggests that AFP binds to embryo ice crystals generated in supercooled water to make them "nano" ice crystals, thereby minimizing physical damages onto the preserved cells. These results were published in world-wide.

研究分野：生物物理学、低温生物学

キーワード：不凍タンパク質 ナノ氷結晶 過冷却 分子構造 熱ヒステリシス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

地球上には凍結環境を生き抜く能力をもつ生物が存在する。越冬性昆虫はその代表例であり、体液成分の一つとして不凍タンパク質 (AFP) をもつチャイロコメノゴミムシダマシ (*Tenebrio molitor*) は、そうした耐凍性を獲得していることが知られていた。しかし、他にどのような昆虫が AFP をもつのか、AFP が如何にして体液の凍結を阻止するのかのメカニズムは不明であった。津田らはオオクワガタ終齢幼虫の体液が何らかの不凍物質をもつことを見出していたが、その素性を明らかにすることは出来ていなかった。

### 2. 研究の目的

オオクワガタ (*Dorcus hopei binodulosus*) がもつ不凍物質の構造と機能を解析し、同物質を用いて微細氷結晶 (ナノ氷結晶) を作成することを本研究の主目的とした。不凍物質がタンパク質 (AFP) ならば、そのアミノ酸配列と遺伝子構造を解析し、チャイロコメノゴミムシダマシ由来の AFP (TmAFP) との関係性を明らかにする必要があると考えた。オオクワガタ不凍物質の試料を大量取得する方法の開発も視野に入れ、同物質を氷晶プローブに吸着させて回収するワン・ステップ精製技術の開発も試みることにした。

### 3. 研究の方法

オオクワガタ成虫の雌雄ペアを購入して採卵し、その終齢幼虫を 4~25 の異なる温度に低温順化させてから体液を採取し、不凍活性を測定した。この測定には、ステージにリンカム社製 LK600 温度制御装置を装着したライカ社製 DMLB 型顕微鏡システムを用いた。雄の成虫個体を氷温に晒し麻酔した後、カッターナイフで胸部筋肉を取り出し、DNA 抽出キットを使ってミトコンドリアの 16S リボソーム RNA (16S rRNA) コード遺伝子を含む上清液を得た。既知のオオクワガタ由来 16S rRNA の一部を合成し、PCR 装置を使うことで、この合成遺伝子と相補的な遺伝子が存在するかどうかを上清液について探索した。その結果に基づき、実験に供した個体が確かにオオクワガタであるかどうかを調べた。

不凍活性が確認されたオオクワガタ終齢幼虫はマイナス 5~10 のインキュベーター内に 24 時間静置してから室温に取り出し生還するかどうかを調べた。またその終齢幼虫を麻酔後にすり潰して懸濁液にし、その中に TmAFP をコードする遺伝子と相補的な遺伝子が存在するかどうかを調べた。AFP であることが判明した分子は、大腸菌を宿主ベクターとして用いてチオレドキシンの融合タンパク質として発現し、タグを切断せずにそのまま不凍活性を調べた。更に、分子描画ソフトウェア Pymol を使って同 AFP の 3 次元構造を解析し分子モデルを作製した。



図 1. オオクワガタの成虫と幼虫 ( )。各々をミトコンドリア DNA と AFP の遺伝子解析に用いた。

更に、分子描画ソフトウェア Pymol を使って同 AFP の 3 次元構造を解析し分子モデルを作製した。

#### 4. 研究成果

オオクワガタ雌雄ペアから取得した合計 51 個の卵を孵化させ、3 齢(終齢)幼虫になるまで飼育した。これらを 4、10、25 の 3 グループに分けて飼育後、背面より注射器で採取した体液について不凍活性(熱ヒステリシス値)を測定した。その結果、各温度について 1.7、4.4、0 という値が求まった。この結果から 10 で飼育した幼虫が最も多くの不凍物質をもつことが示された。次いで、成虫個体の筋肉懸濁液についてミトコンドリア 16S rRNA コード遺伝子を探索

した所、982 塩基対の該当遺伝子が見出された。その配列が米国 NCBI データバンクに登録済みのオオクワガタ 16S rRNA 遺伝子と 99.2% の相同性を示したことから種同定が確定した。終齢幼虫の懸濁液について遺伝子実験キットを用いて mRNA ライブラリーを作成し DNA の探索を行った結果、TmAFP をコードする DNA と相同性の高い DNA が合計 6 種類発見された。それらを翻訳して得られたアミノ酸配列を図 2 に示す。解析の結果、DNA は合計 6 種類の AFP アイソフォーム(M.w. 8,000~11,000) をコードすることが明らかになった。

次いで DhbAFP2 の遺伝子組換え体を合成し、それが不凍活性を有するかどうかを確認する為の実験を行った。宿主ベクターとして大腸菌 *E. Coli* BL21 を用い、安定化と可溶化の為にチオレドキシンの融合タンパク質として DhbAFP2 を作製したところ、オオクワガタ体液に観察されたものと同じ約 4 の不凍活性をもつことが示された。この結果から、オオクワガタは TmAFP と相同性の高い 6 種類の AFP アイソフォーム(DhbAFP1-6) を発現していることが強く推察された。DhbAFP1-6 と TmAFP は 12 残基のペプチド(TCTxSxNCxxAx, x は任意のアミノ酸) の繰り返しで構成されており、極めて高い配列相同性を示した。幾つかの DhbAFP アイソフォームは TmAFP には無い C 末端配列(VLLLSKII EHDD) をもつことが判明したが、現時点でその機能は不明である。既知の TmAFP の X 線構造を参考に作製した DhbAFP6 の予測構造を図 3 に示す。12 残基のペプチドの繰り返し(タンデムリピート)で構成されるオオクワガタ AFP は、四角柱状の分子表面に複数の水分子を並べた状態になっていると予想された。これらの水分子の間隔は、氷結晶を構成する水分子の間隔と一致しており、容易に氷結晶と結びついて結晶成長を止める働きをされると考えられた。

高濃度の AFP をもつことが予想された 10 低温順化後のオオクワガタ終齢幼虫をマイナス 5 の冷凍庫内に 24 時間静置し、室温に戻して生還するかどうかを調べた。その結果、実験に供した幼虫 7 頭が全て凍らずに生還することが分かった。一方、植氷により強制凍結させた幼虫は生還しなかったことから、DhbAFP は体液の凍結を防ぐ役割を果たすと考えられた。

これらの結果を基に、なぜオオクワガタが系統進化的に大きく異なるチャイロコメノゴミムシダマシのものと同じ AFP を有しているのかを考察した。2 つの昆虫が属する科(コガネムシ科とゴミムシダマシ科)が分岐したのは 3 億 5 千万年前と推定され、その時代に生存した各々の昆

DhbAFP1	DhbAFP2	DhbAFP3
10CTGGSNCSCTA	10CTGGTDCTSCTS	10CTGGSDCTSCTS
ACTGCGNCPNAH	ACTSCANCPNAQ	ACTGCGNCPNAQ
TCTNSRNCINAL	TCTNSGNCVNAQ	TCTNSGNCVNAQ
TCTDSTNCRRAR	TCTTSTNCRAT	TCTTSSNCRAT
TCTNSKDCLAAT	TCTNSQDCFAAT	TCTNSQDCFAAT
TCTTSTNCKAK	TCTSSNCYTAT	TCTTSTNCHTAT
TCTNSDNCYAAT	TCTDSTNCSAT	TCTNSDNCYAAT
TCTDSTNCSAT	TCTNSIGCPGYE	TCTNSIGCPGH <sup>96</sup>
TCTNSIGCPRR <sup>108</sup>	VLLLSKII EHDD <sup>109</sup>	

図 2. オオクワガタ AFP のアミノ酸配列解析結果の例。12 残基の特徴的な配列の繰り返して構成されている。

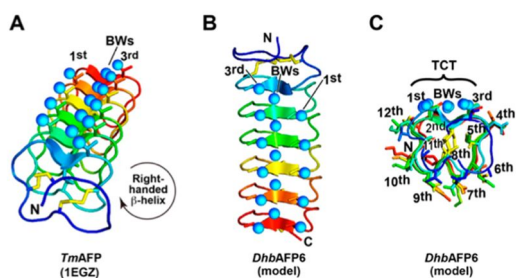


図 3. オオクワガタ AFP の 3 次元構造モデル。複数の水分子が四角柱状の分子表面に整列すると考えられた。

虫の祖先が AFP 遺伝子を獲得したと仮定すると、数多くの昆虫が AFP の遺伝子をもっていないことはならないことになる。しかし、例えばオオクワガタと同じ科に属するカブトムシにすら AFP 遺伝子は見当たらない。つまり、オオクワガタとゴミムシダマシは最近になって（約 350 万年前）何らかの理由で同じ AFP 遺伝子を獲得するに至ったと推察された。こうした異種生物間の遺伝子交換メカニズムは一般に水平伝播（horizontal gene transfer）と呼ばれている。水平伝播は微生物には頻繁に見られるものだが、異種昆虫間で確認されたのは今回のケースが世界で初めてである。

マイナス温度下で凍結しない水は過冷却水と呼ばれる（図 4）。過冷却水の中は、ナノ氷結晶と呼ばれる極めて微細な単結晶氷で埋め尽くされた状態になっており、ナノ氷結晶が温度低下に伴い成長融合を繰り返すことで凍結が起これと考えられる。但し、ナノ氷結晶を分光学的に捉えることは極めて困難であり、その存在を示す実験的証拠を得ることが今後の課題である。オオクワガタ AFP の分子表面には約 20 個の縦横に並んだ結合水が存在しており、その配置は単結晶氷の基底面ならびに第 1 プリズム面を形成する水分子の配列と極めて良い一致を示している。これらの結合水が占める領域は約  $40 \times 20$  平方オングストロームであり、そのサイズのナノ

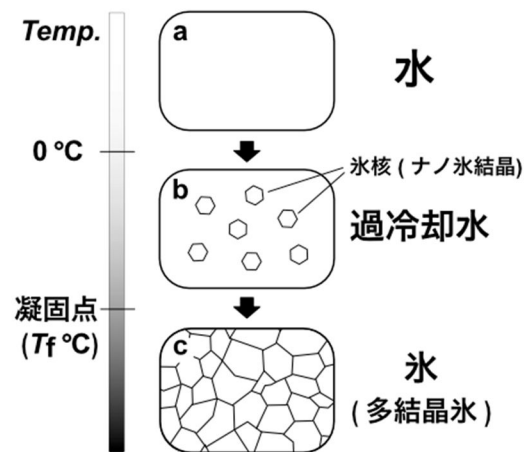


図 4. 水凍結の模式図。AFP は過冷却水の中に発生する氷核（ナノ氷結晶）に強く特異的に結合して微小サイズに留め過冷却状態の維持に貢献すると予測された。

氷結晶がオオクワガタ AFP を含む過冷却水中に生成すれば、理論的にはこれに特異的に結合することで結晶成長を止めることができると考えられる。このようにして、オオクワガタ AFP は過冷却水中に発生した単結晶氷に結合し成長を止めることで、それらをナノ氷結晶に留め、過冷却状態を安定化する役目を果たしていると推察された。つまり、オオクワガタ AFP の水溶液を零以下に冷やして過冷却状態にしたとき、ナノ氷結晶がその内部に形成されていると考えられた。

以上のように、本研究はオオクワガタが有する不凍物質は不凍タンパク質（DhbAFP）であること、DhbAFP の DNA とアミノ酸組成は 1990 年代にゴミムシダマシから発見されたものと極めて相溶性が高いこと、AFP を体液中にもつ同終齢幼虫はマイナス 5 下に 24 時間置いても凍らずに生存可能であること、DhbAFP は 6 種類のアイソフォームの混合物であること、それらは 12 残基の単位ペプチドが繰り返して出来ているタンデムリピートであること等を明らかにした。更に、氷晶プローブによるワン・ステップ AFP 精製技術を開発して DhbAFP 試料を取得して DhbAFP を含む細胞保存液を作製した。この液を用いてラット臍島細胞を非凍結状態で保存した所、20 日間保存後で 53% という高い細胞保護効果が確認された。この結果から、DhbAFP を含む過冷却水は同 AFP が無数に結合したナノ氷結晶で満たされた状態にあると考えられた。これらの研究成果は国際誌論文やプレスリリースなどで広く国内外に発信された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計23件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Arai Tatsuya, Yamauchi Akari, Miura Ai, Kondo Hidemasa, Nishimiya Yoshiyuki, Sasaki Yuji C., Tsuda Sakae	4. 巻 22
2. 論文標題 Discovery of Hyperactive Antifreeze Protein from Phylogenetically Distant Beetles Questions Its Evolutionary Origin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3637
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22073637	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 Khan N. M.-Mofiz Uddin, Arai Tatsuya, Tsuda Sakae, Kondo Hidemasa	4. 巻 11
2. 論文標題 Characterization of microbial antifreeze protein with intermediate activity suggests that a bound-water network is essential for hyperactivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85559-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 Singh Purnima, Tsuda Sakae, Singh Shiv Mohan, Mondal Sukanta, Roy Utpal	4. 巻 28
2. 論文標題 Partial characterization of an antifreeze protein (CRY-c) from Cryobacterium psychrotolerans MLB-29 of Arctic glacier cryoconite	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polar Science	6. 最初と最後の頁 100661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.polar.2021.100661	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 Scholl Connor L., Tsuda Sakae, Graham Laurie A., Davies Peter L.	4. 巻 288
2. 論文標題 Crystal waters on the nine polyproline type II helical bundle springtail antifreeze protein from Granisotoma rainieri match the ice lattice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 4332-4337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15717	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 Yamauchi Akari, Arai Tatsuya, Kondo Hidemasa, Sasaki Yuji C., Tsuda Sakae	4. 巻 10
2. 論文標題 An Ice-Binding Protein from an Antarctic Ascomycete Is Fine-Tuned to Bind to Specific Water Molecules Located in the Ice Prism Planes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 759-759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10050759	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 Tsuda Sakae, Yamauchi Akari, Khan N. M.-Mofiz Uddin, Arai Tatsuya, Mahatabuddin Sheikh, Miura Ai, Kondo Hidemasa	4. 巻 10
2. 論文標題 Fish-Derived Antifreeze Proteins and Antifreeze Glycoprotein Exhibit a Different Ice-Binding Property with Increasing Concentration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 423-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10030423	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 Yamazaki Aya, Nishimiya Yoshiyuki, Tsuda Sakae, Togashi Koji, Munehara Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Freeze Tolerance in Sculpins (Pisces; Cottoidea) Inhabiting North Pacific and Arctic Oceans: Antifreeze Activity and Gene Sequences of the Antifreeze Protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 139 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9040139	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 Arai Tatsuya, Nishimiya Yoshiyuki, Ohyama Yasushi, Kondo Hidemasa, Tsuda Sakae	4. 巻 9
2. 論文標題 Calcium-Binding Generates the Semi-Clathrate Waters on a Type II Antifreeze Protein to Adsorb onto an Ice Crystal Surface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 162-162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9050162	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 Kuramochi Masahiro, Takanashi Chiaki, Yamauchi Akari, Doi Motomichi, Mio Kazuhiro, Tsuda Sakae, Sasaki Yuji C.	4. 巻 9
2. 論文標題 Expression of Ice-Binding Proteins in <i>Caenorhabditis elegans</i> Improves the Survival Rate upon Cold Shock and during Freezing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6246 ~ 6246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42650-8	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 Tsutomu Aohara, Jun Furukawa, Kenji Miura, Sakae Tsuda, Jessica S. Poisson, Robert N. Ben, Peter W. Wilson & Shinobu Satoh	4. 巻 132
2. 論文標題 Presence of a basic secretory protein in xylem sap and shoots of poplar in winter and its physicochemical activities against winter environmental conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 655-665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-019-01123-9	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 Tsuda Sakae, Yamauchi Akari, Khan N. M.-Mofiz Uddin, Arai Tatsuya, Mahatabuddin Sheikh, Miura Ai, Kondo Hidemasa	4. 巻 10
2. 論文標題 Fish-Derived Antifreeze Proteins and Antifreeze Glycoprotein Exhibit a Different Ice-Binding Property with Increasing Concentration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 423-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10030423	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 倉持昌弘、高梨千晶、山内彩加林、戸井基道、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次	4. 巻 65
2. 論文標題 線虫 <i>C.エレガンス</i> を用いた不凍タンパク質の <i>in vivo</i> 解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cryobiology and Cryotechnology	6. 最初と最後の頁 23-26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20585/cryobolcryotechnol.65.1_23	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 Kuramochi Masahiro, Takanashi Chiaki, Yamauchi Akari, Doi Motomichi, Mio Kazuhiro, Tsuda Sakae, Sasaki Yuji C.	4. 巻 9
2. 論文標題 Expression of Ice-Binding Proteins in Caenorhabditis elegans Improves the Survival Rate upon Cold Shock and during Freezing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42650-8	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 Arai Tatsuya, Nishimiya Yoshiyuki, Ohyama Yasushi, Kondo Hidemasa, Tsuda Sakae	4. 巻 9
2. 論文標題 Calcium-Binding Generates the Semi-Clathrate Waters on a Type II Antifreeze Protein to Adsorb onto an Ice Crystal Surface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 162 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9050162	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 Yamazaki Aya, Nishimiya Yoshiyuki, Tsuda Sakae, Togashi Koji, Munehara Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Freeze Tolerance in Sculpins (Pisces; Cottoidea) Inhabiting North Pacific and Arctic Oceans: Antifreeze Activity and Gene Sequences of the Antifreeze Protein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 139 ~ 139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom9040139	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 Rahman Anika T., Arai Tatsuya, Yamauchi Akari, Miura Ai, Kondo Hidemasa, Ohyama Yasushi, Tsuda Sakae	4. 巻 9
2. 論文標題 Ice recrystallization is strongly inhibited when antifreeze proteins bind to multiple ice planes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-36546-2	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 Arai Tatsuya, Inamasu Rena, Yamaguchi Hiroki, Sasaki Daisuke, Sato-Tomita Ayana, Sekiguchi Hiroshi, Mio Kazuhiro, Tsuda Sakae, Kuramochi Masahiro, Sasaki Yuji C.	4. 巻 8
2. 論文標題 Laboratory diffracted x-ray blinking to monitor picometer motions of protein molecules and application to crystalline materials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Structural Dynamics	6. 最初と最後の頁 044302 ~ 044302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/4.0000112	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 Yamauchi Akari, Miura Ai, Kondo Hidemasa, Arai Tatsuya, Sasaki Yuji C., Tsuda Sakae	4. 巻 22
2. 論文標題 Subzero Nonfreezing Hypothermia with Insect Antifreeze Protein Dramatically Improves Survival Rate of Mammalian Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 12680 ~ 12680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222312680	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 Kuramochi Masahiro, Dong Yige, Yang Yue, Arai Tatsuya, Okada Rio, Shinkai Yoichi, Doi Motomichi, Aoyama Kouki, Sekiguchi Hiroshi, Mio Kazuhiro, Tsuda Sakae, Sasaki Yuji C.	4. 巻 29
2. 論文標題 Dynamic motions of ice-binding proteins in living Caenorhabditis elegans using diffracted X-ray blinking and tracking	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 101224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2022.101224	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 大山恭志、津田 栄	4. 巻 84
2. 論文標題 不凍タンパク質(AFP)による過冷却安定化技術	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 化学工学	6. 最初と最後の頁 382-385
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 津田 栄	4. 巻 67
2. 論文標題 不凍タンパク質の分子機能と応用技術に関する研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 低温生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20585/cryobolcryotechnol.67.1_1	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 山内彩加林、三浦 愛、津田 栄	4. 巻 56
2. 論文標題 オオクワガタ由来高活性型不凍タンパク質の発見	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ニューサイエンス社 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 34-37
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 倉持昌弘、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次	4. 巻 53
2. 論文標題 線虫の凍結・低温耐性を改善する氷結合タンパク質の生体内作用機序の解明	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ニューサイエンス社 月刊細胞	6. 最初と最後の頁 59-62
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31件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 根塚映見、新井達也、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 昆虫由来高活性型不凍タンパク質の探索と機能評価
3. 学会等名 第65回低温生物工学会(誌上開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山内彩加林、根塚映見、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 昆虫由来不凍タンパク質の細胞保護効果
3. 学会等名 第65回低温生物工学会(誌上開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 津田 栄
2. 発表標題 不凍タンパク質の分子機能と応用技術に関する研究(学会賞受賞講演)
3. 学会等名 第65回低温生物工学会(誌上開催) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮脇長人、津田 栄、萩原知明、鈴木 徹
2. 発表標題 界面前進凍結濃縮の応用による 不凍タンパク質の精製法について
3. 学会等名 日本食品工学会第21回年次大会(誌上開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 董芸格、倉持 昌弘、高梨千晶、三尾和弘、戸井基道、関口博史、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 SINGLE MOLECULAR OBSERVATION OF AFP AND ICE-CRYSTAL DYNAMICS IN CAENORHABDITIS ELEGANS BY TIME-RESOLVED X-RAY DIFFRACTION MEASUREMENTS
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 倉持 昌弘、戸井基道、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 THE OBSERVATION OF THE ICE-BINDING PROTEIN FOR FREEZING AND COLD TOLERANCE OF TRANSGENIC CAENORHABDITIS ELEGANS
3. 学会等名 Biophysical Society 64th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 董芸格、倉持 昌弘、高梨千晶、三尾和弘、戸井基道、青山光輝、関口博史、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 時分割回折X線法による線虫C.エレガンスの不凍タンパク質と氷の1分子動態観察
3. 学会等名 第33回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山内彩加林、新井達也、室井宏仁、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 魚類および微生物由来不凍タンパク質の比較による細胞保護メカニズムの解明
3. 学会等名 第64回低温生物工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮脇長人、津田 栄、萩原知明、鈴木 徹
2. 発表標題 不凍タンパク質の ice affinity とその氷結晶への吸着機構について
3. 学会等名 第64回低温生物工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津田 栄
2. 発表標題 ICE RECRYSTALLIZATION IS EFFICIENTLY TERMINATED BY ANTIFREEZE PROTEIN-BINDING TO MULTIPLE ICE PLANES
3. 学会等名 2019年度国際低温生物学会 (CRYO2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津田 栄、三浦 愛、近藤英昌
2. 発表標題 Practical Use of New Quality Products of Antifreeze Protein
3. 学会等名 2019年度国際分析化学会 (AnalytiX-2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉持昌弘、董 芸格、高梨千晶、山内彩加林、戸井基道、青山 光輝、関口 博史、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 In vivo effect of Ice-Binding Protein Cold tolerance observation and X-ray single molecular measurement using living <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉持昌弘、董 芸格、高梨千晶、戸井基道、青山 光輝、関口 博史、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 Ice-Binding Proteins Improves the Survival Rate of <i>Caenorhabditis elegans</i> at Non-freezing Temperature
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉持昌弘、董 芸格、高梨千晶、戸井基道、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 The in vivo effects of the ice-binding protein mutations for the cold tolerance in <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉持昌弘、董 芸格、高梨千晶、戸井基道、三尾和弘、津田 栄、関口 博史、佐々木裕次
2. 発表標題 Dynamics And Functions of Antifreeze Proteins In Transgenic <i>Caenorhabditis Elegans</i> At Freezing Environments
3. 学会等名 米国化学会 (ASCB-EMB02019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺 爽、Sheikh mahatabuddin、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 Sequence Determination and Characterization of Type I AFPs from <i>Liposetta pinnifasciata</i> (Barfin Plaice)
3. 学会等名 第7回国際生命科学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子雅規、室井宏仁、山内彩加林、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 Lifetime of cell line is dramatically improved by electroporator-assisted permeation of antifreeze protein
3. 学会等名 第7回国際生命科学シンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中博基、津田 栄、近藤英昌
2. 発表標題 Development of an efficient production method of recombinant antifreeze proteins
3. 学会等名 第7回国際生命科学シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮川祥英、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 ギスカジカ由来不凍タンパク質の構造と機能の解析
3. 学会等名 2019極限環境生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金子雅規、室井宏仁、山内彩加林、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 エレクトロポレーションによる不凍タンパク質の細胞内導入がもたらす生存率改善効果
3. 学会等名 2019極限環境生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺 爽、Sheikh mahatabuddin、三浦 愛、近藤英昌、津田 栄
2. 発表標題 トウガレイ由来I型不凍タンパク質の構造機能解析
3. 学会等名 2019極限環境生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 瀧上結葵、津田 栄、西寒水 将、今井 敬、堂地 修
2. 発表標題 ウシ体外発生培地への不凍タンパク質添加が胚発生および発育に及ぼす影響
3. 学会等名 2019年度北海道人工授精技術研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮脇長人、津田 栄、萩原知明、鈴木 徹
2. 発表標題 不凍タンパク質の界面前進凍結濃縮における ice affinityについて
3. 学会等名 日本食品科学工学会第66回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 董 芸格、倉持昌弘、高梨千晶、三尾和弘、戸井基道、青山光輝、関口 博史、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 時分割回折 X線法による線虫 C. エレガンスの不凍タンパク質と氷の 1 分子動態観察
3. 学会等名 第33回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉持昌弘、戸井基道、三尾和弘、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 THE OBSERVATION OF THE ICE-BINDING PROTEIN FOR FREEZING AND COLD TOLERANCE OF TRANSGENIC CAENORHABDITIS ELEGANS
3. 学会等名 The Biophysical Society 64th Annual Meeting USA (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 董 芸格、倉持昌弘、高梨千晶、三尾和弘、戸井基道、関口 博史、津田 栄、佐々木裕次
2. 発表標題 SINGLE MOLECULAR OBSERVATION OF AFP AND ICE-CRYSTAL DYNAMICS IN CAENORHABDITIS ELEGANS BY TIME-RESOLVED X-RAY DIFFRACTION MEASUREMENTS
3. 学会等名 The Biophysical Society 64th Annual Meeting USA (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内彩加林、三浦 愛、津田 栄
2. 発表標題 昆虫由来不凍タンパク質は細胞を-5°Cで生存可能にする
3. 学会等名 第19回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakae Tsuda
2. 発表標題 Discovery of the hyperactive antifreeze protein from a Japanese stag beetle
3. 学会等名 IBP International Seminar Series 2021-2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 津田 栄
2. 発表標題 不凍タンパク質とは何か?-その構造機能解明と実用化の現況-
3. 学会等名 第61回生命科学夏の学校セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山内彩加林、三浦 愛、津田 栄
2. 発表標題 日本産オオクワガタ由来不凍タンパク質の発見-昆虫不凍タンパク質の起源を探る-
3. 学会等名 日本昆虫学会 第81回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 津田 栄
2. 発表標題 不凍タンパク質と氷 -水はどのように凍結するか?-
3. 学会等名 基礎生物学研究所 Cryopreservation Conference 2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>津田 栄 Tsuda Sakae ホームページ  <a href="https://sakaetsuda.jp/index.html">https://sakaetsuda.jp/index.html</a>          プレスリリース・低温環境に弱い線虫が氷点下で生き延びた！  <a href="https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2019/pr20190515/pr20190515.html">https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2019/pr20190515/pr20190515.html</a>          プレスリリース・氷の結晶化は極少量の抗凍結タンパク質(AFP)で止まる <a href="https://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/2019/nr20190213/nr20190213.html">https://www.aist.go.jp/aist_j/new_research/2019/nr20190213/nr20190213.html</a> 令和元年度低温生物工学会・学会賞津田 栄 学会賞受賞ホームページ「不凍タンパク質の分子機能と応用に関する研究」  <a href="http://square.umin.ac.jp/jsccl/jp/about/awardL.html">http://square.umin.ac.jp/jsccl/jp/about/awardL.html</a></p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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	大山 恭史  (Ohyama Yasushi)  (80356675)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員   (82626)	

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	近藤 英昌  (Kondo Hidemasa)  (80357045)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員    (82626)	

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