

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20750133

研究課題名（和文）蛋白質複合体機能のリガンド依存的スイッチに対するラショナルデザイン

研究課題名（英文） Rational strategy of tuning protein-complex function by ligand

研究代表者

水野 稔久（MIZUNO TOSHIHISA）

名古屋工業大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：90345950

研究成果の概要（和文）：

蛋白質-蛋白質相互作用のモデル系として RNA 合成酵素（T7 RNAP）とその阻害剤蛋白質（T7 lysozyme）の相互作用ペアを用い、T7 lysozyme 側に、特定のペプチド依存的に大きく構造転移を起こす人工コイルドコイルドメインを導入する事により、これらの間の蛋白質間相互作用の Off から On へのスイッチに成功した。また一方で、*in vivo* での使用に望ましい、『膜透過性を持つ有機小分子』に応答し、構造変化を可逆的に起こす人工蛋白質ドメインの設計にも取り組み成功した。本研究期間中にはなし得なかったが、このアダマンタン結合蛋白質の配列を天然蛋白質中に組み込む事により、有機分子依存的な蛋白質間相互作用調節系への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：

As a model system of protein-protein interaction, we chose the T7 RNA polymerase-T7 lysozyme pair in this research. By inserting the originally designed coiled-coil protein, which transform its tertiary structure from random coil to coiled-coil structure by the specific ligand peptide, into the T7 lysozyme, we succeeded in tuning the interaction between T7 RNA polymerase and T7 lysozyme by the binding of specific ligand peptide. On the other hand, we also succeeded in constructing the ligand-binding protein, which exhibits a reversible structural alteration following the specific ligand binding. Interestingly, this protein can work even in the *in vivo* circumstances. By combining this designed ligand-binding protein with various target natural proteins, ligand-binding tuning of protein-protein interactions should be possible in future.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：ナノバイオ、蛋白質、バイオテクノロジー

1. 研究開始当初の背景

近年、生命現象を定性的にではなく、定量的かつ時空間的に詳細に理解する事により、より深く生命を理解しようという研究領域が隆盛をきわめている。この要請に対し、従来細胞生物学者が持たなかった非天然由来のツールの供給は、これまでにない革新的な生命現象の理解を促す事が期待できることから、様々なタイプの、細胞内プローブの開発が取り組まれている。一方多くの生命現象は、特定の蛋白質単独で果たしている訳でなく複数の蛋白質同士が相互作用を介して行っており、これらの蛋白質間相互作用を、外部からの刺激で意図的に調節可能な手法の開発もまた、生命現象の理解に必須であろう。これに対し、ケミカルジェノミクス的な化合物スクリーニングの中から、相互作用を Knock-on あるいは Knock-off できる分子の探索が検討されているが、実際にはヒットする確立は低いと言わざるをえない。蛋白質工学的工夫を駆使する事により、この目的をなるべく合理的に達成できる手法の開発を行う事は、これらの問題解決と研究分野への貢献が期待できる。

2. 研究の目的

本申請者はこれまでに、単量体の蛋白質機能を外部刺激依存的に、off から On へとスイッチできる手法の検討を行ってきており、酵素や蛍光蛋白質等で、ペプチドあるいは金属イオンの添加に応じた、機能スイッチに成功している。具体的な方法としては、金属イオンあるいは特定のペプチドと結合する事により、立体構造がランダムコイル構造からコイルドコイル構造へと大きな構造転移を起こす人工蛋白質を設計し、これを機能調節を行いたい天然蛋白質配列中に挿入する事により行った。リガンドがない状態では人工蛋白質部位はランダム構造を取っているため、導入された天然蛋白質の機能も、この構造摂動を受けて機能が抑制される。一方でリガンドの添加後には人工蛋白質部位がコイルドコイル構造へと構造変化を起こすため、導入された天然蛋白質部位の構造安定化が促され、蛋白質機能の回復が期待できる。

この手法は、相互作用する蛋白質ペアへの応用が期待される。片方の蛋白質の、特にペアとなる蛋白質との相互作用面に対して構造摂動を起こすように、構造転移を起こす人工蛋白質配列を挿入する方法である。また一方で、新たに、膜透過性が高く、生体直行性の高い有機小分子に応答して構造変化を起こす人工蛋白質の設計の検討を行う。ペプチドや金属イオンなどは、細胞内への導入は困難であり、この人工蛋白質ドメインを準備する事により、今後 in vivo 環境でも機能調節

が可能な手法へと拡張できる事が期待されるためである。

3. 研究の方法

蛋白質-蛋白質相互作用のモデル系として RNA 合成酵素 (T7 RNAP) とその阻害剤蛋白質 (T7 lysozyme) の相互作用ペアを用い、T7 lysozyme 側に、特定のペプチド依存的に大きく構造転移を起こす人工コイルドコイルドメインを導入する事により、これらの間の蛋白質間相互作用の Off から On へのスイッチが可能か検討を行う。ここで用いる蛋白質変異体は、それぞれの遺伝子となる DNA を、合成 DNA をもとにした PCR により作製し、発現ベクターにのせた後に大腸菌発現系を用いて合成した。機能評価は、アフィニティークロマトグラフィーなどの精製を行って用いた。

また、膜透過性を持つ有機小分子に応答し、構造変化を可逆的に起こす人工蛋白質の設計には、これまでにデノゴ設計蛋白質として報告されている GCN4-pLI の 4 本鎖コイルドコイル蛋白質をベースに設計を行う。蛋白質の N-末端、C-末端間の距離が、有機分子の結合に伴い変化するか評価を行うために、N-末端側に BFP、C-末端側に GFP を繋いだ変異体も準備して検討を行う。これらの蛋白質変異体の調製は、同様に大腸菌発現系を用い、アフィニティークロマトグラフィーによる精製を行った後に、機能評価を行った。In vivo での評価に関しては、これらの蛋白質を大腸菌菌体内で発現したものをそのまま用いて検討を行った。

4. 研究成果

(i) ペプチドリガンド応答 RNA 合成酵素/阻害剤複合体

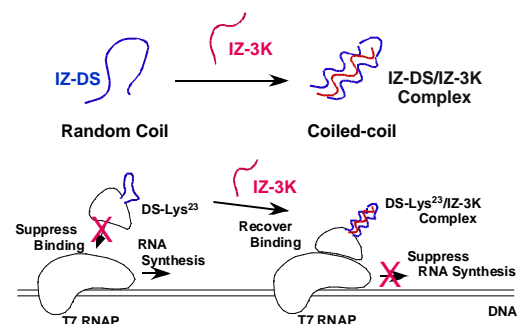


図1 ランダム構造からコイルドコイル構造へと構造転移を起こすペプチド配列ペアを、大きく構造変化を起こすリンカー配列と、その構造転移を誘起するリガンドとして利用した、蛋白質間相互作用調節系の検討

T7 lysozyme (WT-Lys) は、T7 RNA polymerase (T7 RNAP) に結合する事により、その m-RNA

合成を阻害する阻害剤として知られている。また、WT-Lys の結合部位は鋳型となる DNA と T7 RNAP の結合面とは異なる位置にあるため、m-RNA の合成量の変化により、T7 lysozyme と T7 RNAP の間の純粋な相互作用の評価が可能である。そこで、ここでは相互作用する蛋白質ペアのうちの T7 lysozyme 側に IZ-DS の配列を組み込み (DS-Lysⁿ:n 番目のアミノ酸の後に IZ-DS の配列を挿入した変異体という意味)、IZ-3K 依存的に、T7 RNAP との結合力に変化が生じるか検討を行った (図 1)。

IZ-DS 配列の導入は、天然型 T7 lysozyme の配列中に、前後に 6 残基のリンカーを介して直接挿入する手法をとった。挿入する位置は、大きな構造摂動の効果を期待しつつも、IZ-DS 部分のフォールディングに伴う、立体構造回復も必要となる為、元々 2 次構造を取っている部分の途中は回避し、2 次構造と 2 次構造の境目にあたるループ部位を中心に候補となる部位を 3カ所 (23、62、70 番目) 決めた。種々の検討の結果、23 番目のアミノ酸の後への挿入が最適である事が分かったため、こちらを IZ-DS の導入位置とする事にした。

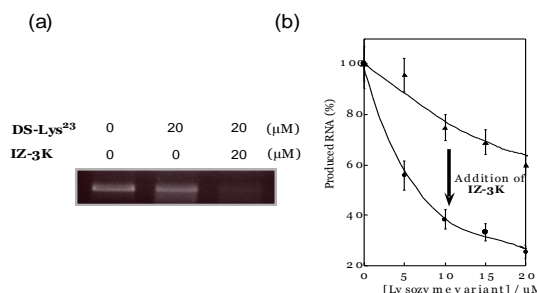


図 2 T7 RNAP の *in vitro* 転写系における DS-Lys²³ の IZ-3K 依存的な阻害活性の評価; [DS-Lys²³] = 0-20 μ M, [IZ-3K] = 0-20 μ M, T7 RNAP 5 u, 20 mM rNTP, 10 mM DTT, 2 mM spermidine, 0.01 wt% BSA, 20 mM HEPES (pH7.9), reaction time 2 hours.

IZ-DS の配列を導入した、DS-Lys²³ の検討を行った。はじめに、ピアコア測定を用いて、IZ-3K と DS-Lys²³ の間で相互作用の評価を行ったところ、飽和型の SPR シグナルのレスポンスが得られ、ここから与えられる K_d は 308 nM と算出された。IZ-DS と IZ-3K の間の値 (244 nM) と比してもほぼ変わらなかったことより、IZ-DS 配列部位は T7 Lysozyme 中に挿入したにも関わらず、十分、結合活性を保っている事が確認された。また、CD スペクトルからも結合に伴い α -ヘリックス含量の増加が確認され、DS-Lys²³ と IZ-3K の添加比が 1 : 1 の位置に屈曲点を持つような α -ヘリックス含量増加が観測された。この結果は、IZ-3K との選択的相互作用と共に、挿入され

た IZ-DS 部位の構造形成誘起を示唆している。

最後に、*in vitro* 転写系における DS-Lys²³ の IZ-3K 依存的な阻害活性変化の評価を行った。その結果、IZ-3K 不在下においては、大きく阻害活性が抑えられているものが、IZ-3K の添加により、明らかな阻害活性の向上が観測された (図 2、7 倍以上の活性の変化)。この結果はすなわち、今回モデル系として用いた T7 RNAP と T7 lysozyme の間の蛋白質-蛋白質間相互作用を、任意の外部因子であるペプチドにより選択的に Off から On にする事に成功した事に対応し、当初の目的が実現されたといえる。また、ここで用いたコイルドコイルドメインの導入では、ターゲットとなる天然蛋白質に対して円順列変異を施す必要がなく、もともと N-末端、C-末端が遠い位置にあり、円順列変異体の作成の難しい天然蛋白質に対しても、特定の外部刺激により構造転移を起こす設計蛋白質を用いる事で、機能スイッチが可能である事が示された。

(ii) 有機小分子の結合に伴い構造変化を起こす人工蛋白質の設計

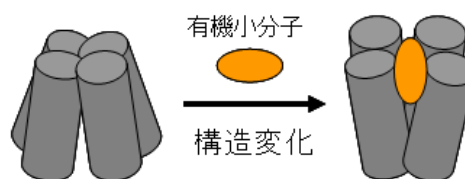


図 3 有機小分子との結合に伴う可逆的な構造変化

in vivo での使用に適した、“有機小分子を結合することにより可逆的な構造変化を起こす”人工蛋白質の設計を行った。有機小分子としては、生体直行性の高いアダマンタン誘導体を選択し、一方で設計を行う蛋白質の基本骨格には、4 本鎖コイルドコイル蛋白質の *de novo* 設計例で知られる GCN4-pLI の配列を利用した。アダマンタン誘導体の結合部位には、コイルドコイル構造の疎水場に着目し、この部位を占める合計 8 つの Ile、Leu 残基を、側鎖の長さの短い Ala に変異を施す事により、アダマンタン誘導体の収まる空孔を設ける事とした。またこの際に疎水場パッキングの不安定化による蛋白質構造安定性の大きな低下が懸念されたため、4 本鎖コイルドコイルを形成する 4 本の α -ヘリックスを柔軟なリンカー配列で繋いで利用した。

まず、バンドル構造中央部に 8 つの Ala 変異により結合サイトをデザインした変異体 (AM2) を構築し、アダマンタンなどの結合評価を行ったが、残念ながら結合挙動は見られなかった。この原因として、疎水場パッ

キングの過度の不安定化が考えられたため、8つのAla変異のうちの1つをTrpに変えた変異体(AM2W)を構築し、アダマンタン誘導体との結合評価を行った。その結果、一数百nM程度の解離定数と高い結合活性が確認された。一方、溶液中でAM2Wが単量体で存在している事を確認するため、超遠心分析を行った。3種類の異なる濃度でのみかけの分子量を計算し、濃度0へと外挿するグローバルフィッティングを行う事により計算分子量は14904と得られた。これは、理論分子量11558と充分近かった事から、少なくとも50μM以下の濃度範囲に於いては、単量体として存在している事が確認された。またアダマンタンの結合の蛋白質構造安定性への影響の検討するために、熱変成実験を行った。蛋白質内部に埋められない空間が存在する状況よりは、その空間を分子が結合して埋める事により安定性の向上が期待されたためである。AM2Wは、変成剤などが無い条件下では、95℃に於いても熱変成が見られなかったため、4Mのウレア共存下での熱変成実験を行ったところ、アダマンタンの添加により、5℃の熱変成温度の上昇が観測された。以上の結果より、7つのAla、1つのTrp変異を、4本鎖コイルドコイル疎水場に施す事により、アダマンタン誘導体の結合サイトが構築でき、かつその結合は蛋白質全体の立体構造安定性に影響を及ぼし得る事が確認された。

AM2

Q IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG EG_G
_GGSQ IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG GG_T
_GGKQ IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG EG_G
 Q IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG GQ_L

AM2W

Q IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG EG_G
_GGSQ IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG GG_T
_GGKQ IEDKLEE ILSKAYH WENELAR IKKLLG EG_G
 Q IEDKLEE ILSKAYH AENELAR IKKLLG GQ_L

AM1W

Q IEDKAE E ALSKLYH IENELAR IKKLLG EG_G
_GGSQ IEDKAE E ALSKLYH IENELAR IKKLLG GG_T
_GGKQ IEDKAE E WLSKLYH IENELAR IKKLLG EG_G
 Q IEDKAE E ALSKLYH IENELAR IKKLLG GQ_L

図4 GCN4-pLI変異体のアミノ酸配列

そこで次に、具体的にリガンドの結合に応答し構造変化が可能な設計蛋白質の構築をめざし、結合サイトをバンドル構造の端側に構築する検討を行った。これは、バンドル構造の端側に空孔を設計した場合には、その近

傍にあるN-末端、C-末端間距離への影響がより大きくなる事を期待したためである。設計配列は、図Xに示す(AM1W)。AM2Wと同様にアダマンタン誘導体の結合評価を行った結果、同程度の結合活性を示す事が分かった。そこで次に、この蛋白質のN-末端、C-末端にそれぞれ異なる蛍光蛋白質を導入したBFP-AM1W-GFPを発現精製し、この蛋白質のBFPからGFPへのFRET(蛍光共鳴エネルギー移動)効率のアダマンタン結合に伴う変化の検討を行った。その結果、アダマンタン結合によりFRET効率が0.24から0.18へ変化する事が確認された。これは、BFPとGFPの間のFörster半径を考慮すると、49.6Åから53.0Åへの距離の変化に対応する。また興味深いことに、この溶液中にアダマンタンと高い親和性を持つ事が知られるβ-シクロデキストリンを添加する事により、そのFRET効率が元に戻る事が確認された。これは、リガンド分子の結合解離に伴い、N-末端、C-末端間の距離も可逆的に変化を起こしている事が確認された。またin vivoでの評価の一環として、大腸菌内でBFP-AM1W-GFPを発現させ、この菌体に対してアダマンタンを添加して同様にFRET効率の評価を行ったところ、アダマンタンが細胞膜を透過して細胞内にあるBFP-AM1W-GFPに結合する事が、FRET効率の変化から確認された。以上の結果より、in vivo環境下で特定の有機小分子と選択的に結合し構造変化を起こす人工蛋白質の構築に成功したと言える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

1. K. Nakagawa, T. Nakano, N. Fukui, A. Nakashima, S. Sakai, T. Mizuno, T. Dewa, K. Iida, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, R. Fujii, H. Hashimoto, M. Nango, "Reconstitution of the Light-harvesting (LH1) Complex Using Zinc-substituted Bacteriochlorophyll a and LH1-polypeptides Isolated from the Purple Photosynthetic Bacterium *Rhodospirillum rubrum*, Together with all-trans Carotenoids", *Carotenoid Science*, in press. 2010 (査読有)

2. K. Nakagawa, T. Nakano, N. Fukui, A. Nakashima, S. Sakai, T. Mizuno, T. Dewa, K. Iida, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, R. Fujii, H. Hashimoto, M. Nango, "Reconstitution of the Light-harvesting 1 (LH1) Complex Using LH1-α and LH1-β Polypeptides,

Separately Isolated from the Purple Photosynthetic Bacterium *Rhodospirillum rubrum*, Together with Bacteriochlorophyll *a* and All-trans Carotenoids”, *Carotenoid Science*, in press. 2010 (査読有)

3. K. Nakagawa, N. Fukui, T. Nakano, A. Mizuno, A. Nakashima, S. Sakai, T. Mizuno, T. Dewa, K. Iida, A. T. Gardiner, R. J. Cogdell, R. Fujii, H. Hashimoto, M. Nango, “Carotenoid Specificity During Reconstitution of the Light-harvesting 1 (LH1) Complexes Using LH1-polypeptides Isolated from the Purple Photosynthetic Bacterium *Rhodobacter sphaeroides* Together with Bacteriochlorophyll *a* and Carotenoids”, *Carotenoid Science*, in press. 2010 (査読有)

4. T. Mizuno, K. Suzuki, T. Imai, Y. Furutani, M. Kudou, M. Oda, H. kandori, K. Tsumoto, T. Tanaka, “Manipulation of the Protein-complex function by using an Engineered Heterotrimeric Coiled-coil Switch”, *Org. Biomol. Chem.*, 7, 3102-3111 (2009). (査読有)

5. D. Shiga, D. Nakane, T. Inomata, H. Matsuda, M. Oda, M. Noda, S. Uchiyama, K. Fukui, Y. Takano, H. Nakamura, T. Mizuno, T. Tanaka, “The effect of the side chain length of Asp and Glu on coordination structure of Cu (2+) in a *de novo* designed protein”, *Biopolymer*, 91, 907-916 (2009). (査読有)

6. T. Mizuno, C. Hasegawa, Y. Tanabe, K. Hamajima, T. Muto, Y. Nishi, M. Oda, Y. Kobayashi, T. Tanaka. Organic Ligand Binding by Hydrophobic Cavity in Designed Tetrameric Coiled-Coil Proteins. *Chem. Eur. J.* 15: 1491-1498, 2009. (査読有)

7. A. Kashiwada, K. Matsuda, T. Mizuno, T. Tanaka. Construction of a pH-Responsive Artificial Membrane Fusion System by Using Designed Coiled-Coil Polypeptides. *Chem. Eur. J.* 14: 7343-7350, 2008. (査読有)

8. 水野稔久、織田昌幸、田中俊樹. 設計タンパク質をモジュールドメインとして利用した外部刺激応答タンパク質の創製. *熱測定* 35: 227-236, 2008. (査読有)

[学会発表] (計 2 4 件)

国際

1. Toshihisa Mizuno, Kumiko Suzuki,

Kaori Murao, Satoshi Yuzawa, Toshiki Tanaka, 「Construction of the Stimuli-dependent Natural Protein Mutants Using the De Novo Designed Ligand-responsible α -Helical Coiled-coil」、IFPT 2009、2010 年 9 月 18 日、中国 (北京)

2. 近藤 政晴、中島 彩乃、酒井 俊亮、中川 勝統、橋本 秀樹、水野 稔久、田中 俊樹、出羽 毅久、南後 守、「光合成細菌のアンテナ系モデルタンパク質/色素複合体の再構成と基板上への組織化」、日本化学会第90春季年会 (2010)、2010年3月27日、大阪

3. 酒井 俊亮、中川 勝統、中島 彩乃、飯田 浩史、藤井 律子、橋本 秀樹、水野 稔久・田中 俊樹、出羽 毅久、南後 守、「光合成でのアンテナ系モデルタンパク質を用いた色素複合体の再構成」、日本化学会第90春季年会 (2010)、2010年3月27日、大阪

4. 右近卓也、水野稔久、杉安和憲、竹内正之、出羽毅久、南後守、田中俊樹、「チャンネル構造を有する設計蛋白質の構築」、「分子ナノシステムの創発化学」第1回公開シンポジウム、2010 年 2 月 5 日、京都

5. 大草 宏一、水野 稔久、田邊 陽一、織田 昌幸、田中 俊樹、「Zn 結合性3本鎖 α -ヘリカルコイルドコイル蛋白質の設計」、第24回生体機能関連化学シンポジウム、2009年9月14日、九州大学

6. 武藤 隆史、水野 稔久、織田 昌幸、田中 俊樹、「有機小分子に結合する人工タンパク質の設計」、第24回生体機能関連化学シンポジウム、2009年9月14日、九州大学

7. 田邊 陽一、三上 文三、水野 稔久、田中 俊樹、織田 昌幸、「endo-1,3- β -glucanase の構造や機能における触媒残基と Ca²⁺の役割」、第9回日本蛋白質科学会年会、2009年5月20日、熊本

8. 大草 宏一、水野 稔久、田邊 陽一、坪井 茉奈、柏田 歩、織田 昌幸、田中 俊樹、「構造変化を伴う金属イオン結合 α -ヘリカルコイルドコイル蛋白質の設計と機能評価」、第9回日本蛋白質科学会年会、2009年5月20日、熊本

9. 大草宏一、水野稔久、田邊陽一、織田昌幸、田中俊樹、「構造変化を伴う金属イオン結合三本鎖コイルドコイル蛋白質変異体の構築と機能評価」、日本化学会第 89 春期年会 (2009)、2009 年 3 月 29 日、日本大学船橋キャンパス

10. 坪井茉奈、柏田歩、水野稔久、長崎 健、松田清美、「生理的 pH において機能する

標的選択的膜融合系の構築」、日本化学会第89 春期年会 (2009)、2009 年 3 月 29 日、日本大学船橋キャンパス

1 1. Toshihisa Mizuno, 「Design and Application of Recombinant Proteins Respondent with External Stimuli」、7th International life Surveyor Symposium、2009 年 1 月 29 日、株式会社 日立製作所 中央研究所 小平記念館

1 2. Toshihisa Mizuno, Toshiki Tanaka, 「Design and Application of the De Novo Designed Metal-Bind α -helical Coiled-coil Proteins」、IUMRS-ICA2008、2008 年 12 月 9 日、名古屋国際会議場

1 3. 水野稔久、「5 本鎖コイルドコイル蛋白質のデザインとリガンド結合評価」、第 11 回生命化学研究会-生命化学をシステムで捉えたら、2008 年 11 月 28 日、水上館

1 4. 武藤隆史、水野稔久、田中俊樹、「FRET による設計タンパク質への有機小分子結合の評価」、第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008 年 9 月 19 日、東工大すずかけ台キャンパス

1 5. 鈴木久美子、水野稔久、工藤基徳、津本浩平、織田昌幸、田中俊樹、「3 本鎖ヘテロコイルドコイルを用いた T7 リゾチームの活性制御」、第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008 年 9 月 19 日、東工大すずかけ台キャンパス

1 6. 大草宏一、水野稔久、田邊陽一、織田昌幸、田中俊樹、「金属イオン応答コイルドコイル変異体の機能評価」、第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008 年 9 月 19 日、東工大すずかけ台キャンパス

1 7. 萩原宏貴、水野稔久、田中俊樹、「リガンド結合能を持つ 5 本鎖コイルドコイル蛋白質の設計」、第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008 年 9 月 19 日、東工大すずかけ台キャンパス

1 8. 柏田歩、坪井茉奈、松田清美、水野稔久、田中俊樹、「de novo 設計ポリペプチドを用いた pH 応答型ベシクル融合系の構築」、第 3 回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008 年 9 月 18 日、東工大すずかけ台キャンパス

1 9. 鈴木久美子、水野稔久、田中俊樹、「3 本鎖ヘテロコイルドコイルを利用した T7 RNAP の活性制御」、第 23 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム、2008 年 9 月 17 日、東工大すずかけ台キャンパス

2 0. 武藤隆史、水野稔久、田中俊樹、「FRET

による設計タンパク質への有機小分子結合の評価」、第 23 回生体機能関連化学シンポジウム若手フォーラム、2008 年 9 月 17 日、東工大すずかけ台キャンパス

2 1. Kumiko Suzuki、Toshihisa Mizuno、Toshiki Tanaka、「Regulation of Protein-protein Interaction via Assembly of Coiled-coil domain」、Joint symposium of 18th International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids and 35th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry、2008 年 9 月 11 日、京都大学 百周年時計台記念館

2 2. Kumiko Suzuki、Toshihisa Mizuno、Toshiki Tanaka、「The novel methodology to tune the protein-protein interaction by ligand」、The 17th Meeting of Methods in Protein Structure Analysis (MPSA2008)、2008 年 8 月 27 日、北海道大学学術交流会館

2 3. 梅津光央、中西猛、田中圭介、小池博之、水野稔久、田中俊樹、熊谷泉「会合機能ペプチドデザインによるビルドアップ抗体アセンブリ」、第 20 回生体機能関連化学若手の会サマースクール、2008 年 8 月 7 日、小原温泉 かつらや

2 4. 水野稔久、田中俊樹「5 本鎖コイルドコイル蛋白質の設計」、第 8 回日本蛋白質科学会年会、2008 年 6 月 12 日、タワーホール船堀

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 稔久 (MIZUNO TOSHIHISA)

名古屋工業大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：90345950