

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06509

研究課題名(和文)環境に対応して機能を変えるホモ多量体酵素の動的構造変化の解析

研究課題名(英文) Analysis of dynamic structural changes in a homotetrameric enzyme adapting its functions to environmental changes

研究代表者

池上 貴久 (Ikegami, Takahisa)

横浜市立大学・生命医科学研究科・教授

研究者番号：20283939

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：解糖系の酵素であるグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素(GAPDH)は、4つの同じサブユニットが集まったホモ四量体である。GAPDHは、生体が老化して酸化ストレスにさらされた際に、本来の機能とは異なる別の機能をもつ蛋白質に変身するため、moon-lighting proteinと呼ばれている。この変化の仕組みをNMRとthermal shift assay, 分析ゲル濾過で解析した結果、機能の変化はサブユニット数の変化に起因することが示唆された。特にNADがない状態でATPが存在した時にそれが顕著であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GAPDHは生化学的に長らく研究されてきた分子であり、従来よりサブユニット分裂が機能変化に関与する可能性が示唆されてきた。しかし、決定的な証拠はなく、議論の的となっていた。本研究では、分析ゲル濾過による分子レベルの解析とNMRによる原子レベルの解析を組み合わせることで、このサブユニット分裂を原子レベルで実証した。このサブユニット分裂は、老化や酸化ストレスによって引き起こされる。またGAPDHは、アルツハイマー病やパーキンソン病の発症に関わる分子との相互作用も報告されており、重要な役割をもつことが示唆されている。

研究成果の概要(英文)：Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is an enzyme that plays a crucial role in the glycolytic pathway and forms a homotetrameric structure composed of four identical subunits. GAPDH is known as a moon-lighting protein as it transforms into a protein with different functions from its original glycolytic function when cells age and are exposed to oxidative stress. The mechanism of this transformation was analyzed using NMR, thermal shift assay, and analytical gel filtration. The results suggest that the change in function is due to an alteration in the number of subunits. This was particularly evident when ATP was present in the absence of the coenzyme, NAD.

研究分野：構造生物学

キーワード：解糖系 GAPDH アロステリック効果 ホモ多量体 NMR

1. 研究開始当初の背景

本研究の動機は「なぜ酵素蛋白質にはホモ多量体がかくも多いのか」という疑問に始まる。もちろん、活性部位がサブユニットの境界面にある、全サブユニットが同時に構造を変えることによって、活性を協同的に増減させることができる (Monod-Wyman-Changeux モデル) などの理由が考えられる。しかし、解糖系で働くホモ四量体の酵素、グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素 (GAPDH) に着目すると、上記の事由が当てはまらない。例えば、GAPDH の活性部位は二つのサブユニットにまたがっているわけではない。また、GAPDH は負の協同性をもつことが知られており、上記の正の協同性とは性質が真逆である。このようにホモ四量体である必要性が見当たらない GAPDH ではあるが、ではなぜそのような四次構造をとるのだろうか？ここで GAPDH の機能に目を向けると、これは数十種類の生体分子と相互作用し機能をさまざまに変える moon-lighting protein であることが分かる。そこで、環境の変化に応じてホモ多量体のサブユニット数を変えることにより相互作用相手やひいては自身の機能を入れ替えるのではないかという推測がたつた。実際に、ポルフォビリノーゲン合成酵素でこの考え方が Morpheein モデルという名で提唱されている (Jaffe, *et al.* (2012) *Methods Mol. Biol.* 796, 217)。ところが、筆者が見る限り、この実験結果は再現性を伴っていない。もし、GAPDH で Morpheein モデルが実証できれば、これは蛋白質の構造と機能の関係にまた新たな知見を与えることになる。

2. 研究の目的

蛋白質の構造と機能の関係では、古くから鍵と鍵穴の関係が重視されており、ここにアロステリック効果の概念も加わってこの説が拡張され、そして実際ほとんどの系で証明されてきた。さらに、アロステリック効果が一つのサブユニットだけに閉じるのではなく、ホモ多量体のすべてのサブユニットに同時に影響して正の協同性を生み出すと拡張することで MWC モデルが生まれ、これも実証された。最近では天然変性蛋白質 (領域) も登場し、鍵と鍵穴のような固い構造から柔軟な構造をもつ蛋白質の動的で遷移的な相互作用も機能に重要であり、液液相分離などを通して例証されている。しかし、ホモ多量体が環境の変化に応じてサブユニット数を変化させ、それによって機能を全く別のものに変えてしまうという例はまだ実証例がない。そこで筆者は GAPDH においてこれを検出することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

安定同位体で標識された hGAPDH の調製

Ile, Leu, Val, Met のメチル基のみを $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ で、それ以外を $^2\text{H}/^{12}\text{C}$ で標識したヒト由来の GAPDH ($\{u\text{-}[^2\text{H}, ^{15}\text{N}]; \text{Ile}^{\delta 1}\text{-}[^{13}\text{CH}_3]; \text{Met}^{\epsilon}\text{-}[^{13}\text{CH}_3]; \text{Leu}^{\delta}, \text{Val}^{\gamma}\text{-}[^{13}\text{CH}_3, ^{12}\text{CD}_3]\}$ -hGAPDH) を調製するために、重水 M9 最少培地の中に α -ketobutyrate ($[3,3\text{-}^2\text{H}_2, 4\text{-}^{13}\text{C}_1]$ 2-oxobutanoic acid), α -ketoisovalerate ($3\text{-}[^{13}\text{C}_1]$ methyl- $[3,4,4,4\text{-}^2\text{H}_4]$ 2-oxobutanoic acid), $[^{13}\text{C}^{\epsilon}]$ -Met, $[^2\text{H}]$ -glucose, $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ を添加して大腸菌を培養した。一方、重水素化せずに $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 安定同位体で標識した試料も調製した。そこでは M9 最少培地に $[^{13}\text{C}]$ -glucose, $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ を添加した。GAPDH の遺伝子には 5' 末端側に (His)₆ タグをつけた。大腸菌をソニケーションで破碎した後、DEAE 陰イオン交換カラムをパスさせて核酸成分を除き、Ni-NTA カラムに hGAPDH を吸着させた。イミダゾールで溶出させた後、HRV3C でタグを切断した。再び Ni-NTA カラムを通過させた後、濃縮してゲル濾過カラムにて精製した。溶出成分の光吸収 A_{260}/A_{280} 比を確認し、さらに残留核酸を除くために陰イオン交換カラムを通過させた。NAD⁺ なしの apo 体を調製する場合には、塩酸で洗った活性炭により NAD⁺ を除去した。ほぼ同様の調製をブタ由来の GAPDH でも行った (pGAPDH)。

NMR 測定

上記のメチル基特異的 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 標識の重水素化試料を使って NMR の $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 相関スペクトルを測定した。パルス系列はメチル TROSY を使った。測定では、メチル基の ^1H の共鳴領域に選択的な 90, 180 度 shaped-pulse を用いた。一方、重水素化していない $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識試料の $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 相関スペクトルの測定では echo-antiecho 法を組み込んだ HSQC を利用した。

Thermal Shift Assay

測定対象の蛋白質溶液を 0.1 mg/mL になるように調製した。測定に用いる蛍光色素 (SYPRO Orange Protein Gel Stain) を Buffer : SYPRO Orange = 49 : 1 になるように希釈した。蛋白質溶液に希釈した蛍光色素を 19 : 1 になるように混ぜ加えた。専用の 96 穴プレートに調製したサンプルを 20 μL ずつ分注し、C1000 Thermal Cycler を用いて測定した。

分析ゲル濾過

カラムとしては Superdex 200 10/300GL を用いた。流速は 0.5~0.75 ml/min にて行った。

4. 研究成果

安定同位体標識された hGAPDH の調製

さまざまな溶液条件、さらにさまざまな相互作用の相手分子の滴定下において GAPDH がどのように三次、四次構造を変えるかを観るには、溶液 NMR が適している。しかし、GAPDH ホモ四量体での分子量は 144 k に及ぶため、試料の重水素化が必須である。さらに、これまでの $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ アミド基の共鳴値の検出は感度の点から難しく、 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ メチル基の共鳴値の検出にシフトする必要があった。そこで、human 由来の GAPDH 遺伝子を載せたプラスミドで大腸菌を形質転換し、M9 最少培地にて培養した。その結果、Ile, Leu, Val, Met のメチル基のみを $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ で、それ以外を $^2\text{H}/^{12}\text{C}$ で標識した hGAPDH が発現した。精製の後、活性炭を使って補酵素である NAD^+ を除去し、これを apo 体とした。holo 体は apo 体に NAD^+ を追加して調製した。

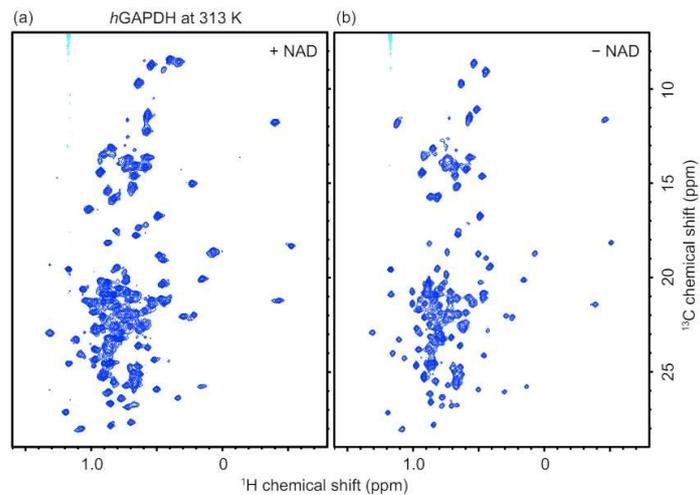
NMR 測定

重水素化していない $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識試料を使って $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ 相関スペクトルを測定してみたが、ピーク信号はほとんど観られなかった。これは GAPDH が四量体を形成して 144 k という分子量を保っているためと思われる。一方、 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 相関 HSQC スペクトルでは、特にメチル基を中心にブロードではあるが、かなりの信号が観測された。これはメチル基本来の感度の高さを反映しているためと思われる。なお、HMQC スペクトルでは、 ^1H の横緩和が効いてくるために、ピークがかなりブロードになった。一方、メチル基特異的 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 標識の重水素化試料では、メチル TROSY パルス系列を使った。感度と線幅の細さはすばらしく、軽水素化 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識試料では、50 μM 程度のサブユニット濃度で 12~24 hr ぐらいの測定時間が必要であったのに対して、重水素化試料では数 μM で十分な感度が得られた。

apo 体と holo 体の構造の比較

原核・真核生物の由来を問わず、GAPDH と補酵素 NAD^+ との関係には負の協同性があることが知られている。そのため、四量体に最後まで残った NAD^+ 1 分子の相互作用は非常に強く、上記のように活性炭で処理しないと外すことができない。そこで生体内の NAD^+ が老化などにより減少し、最終的に GAPDH が apo 体になるとサブユニット分裂が起こるのではないかと長らく予想されていた。NMR で両者のスペクトルを比較したところ (右図)、 NAD^+ 結合部位

と思われる領域のピークを除いて、その他のほとんどのメチル基のピーク位置には変化がなかった。これは、apo 体と holo 体に大きな構造変化はないことを意味している。しかし、apo 体には多くの沈殿が発生しており、構造が不安定であることが予想された。実際に thermal shift assay により T_m 値に 10°C の違いがあることが分かった。分析ゲル濾過による分析においても、 NAD^+ の有無にかかわらず hGAPDH は四量体の位置に溶出した。カラムの中の濃度は 1 μM 以下であると推定される。しかし、同様の分析ゲル濾過を pGAPDH で行った際、apopGAPDH が 4°C において少しだけ二量体の位置にもピークが認められた。 28°C では観測されなかった。hGAPDH と pGAPDH の CLUSTAL 2.1 のアライメントスコアは 95.5 で両者のアミノ酸配列は似ている。しかし、 T_m 値を比べると、pGAPDH の方が $7\sim 8^\circ\text{C}$ も低く不安定である。以下の結果においても、サブユニット分裂は pGAPDH の方が顕著に観られるが、これは pGAPDH の不安定性によるものと考えている。



GAPDH のニトロシル化

GAPDH は活性部位に存在するシステイン残基 Cys152 がニトロシル化されると、これを引き金として Siah1 蛋白質と相互作用し、複合体のまま細胞核に移行してアポトーシスを引き起こすことが知られている (Hara, *et al.* (2005) *Nat. Cell Biol.* 7, 665)。そこで、ニトロソシステインを使って GAPDH をニトロシル化し、構造変化が起こるかどうかを解析した。ESI-MS で分子量の変化を調べたところ、約半数のサブユニットがニトロシル化されていることが分かった。そしてニトロシル化されていない GAPDH には NAD^+ が 2-4 個ついているのに対し

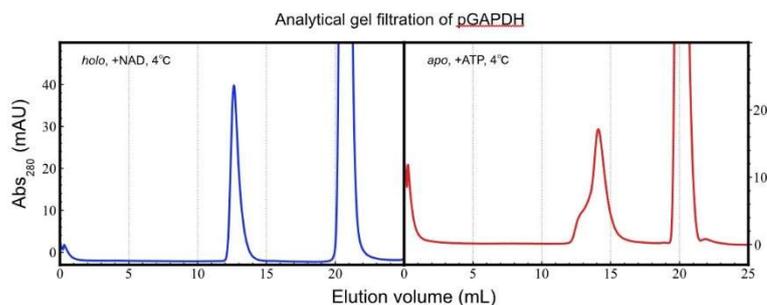
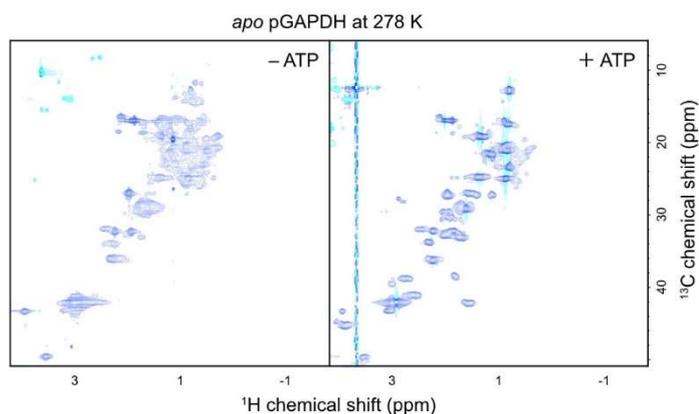
て、ニトロシル化された GAPDH では NAD⁺ が 1-3 個に減少していることも分かった。このようにニトロシル化により NAD⁺ との親和性が低くなった。しかし、サブユニット分裂を示すような結果は得られなかった。一方、 T_m 値はニトロシル化により 8-9 度も下がった。この不安定化は NAD⁺ 離脱にもよると考えている。また、NMR スペクトルはこのニトロシル化によってそれほど変わらず、サブユニット分裂などの大きな構造変化を示すものではなかった。

NOR3 による GAPDH の酸化

ニトロソシステインによるニトロシル化の程度は弱いため、反応性のより強い試薬である NOR3 も使った。すると、NOR3 で処理した hGAPDH の T_m 値は、*apo* 体の T_m 値よりも 4 °C 低くなった。さらに NMR で解析してみると、かなりのピークがブロード化していた。酸化の対象となる残基として、Met46 と活性部位の Cys152 が報告されているので (Samson, *et al.* (2014) *J. Biol. Chem.* 289, 26922) M46L, C152S バリエントでも同様の実験を試みた。しかし、NMR スペクトルの劣化の程度に大差はなかったことから、NOR3 によるニトロシル化はさまざまな残基に及んでいると予想された。

ATP による GAPDH のサブユニット分裂

界面活性剤などは 1 分子の中に親水性と疎水性の両方の領域をもち、疎水的な他分子を囲んで水溶液中に溶解させる機能をもつ。このような両親媒性の物質のうち低分子量の物質のことをハイドロトロープとよぶ。最近、細胞内の ATP がハイドロトロープとして機能している可能性が示唆された (Malinovska, *et al.* (2017) *Science* 356, 753)。ATP が生体内でフォールド途中の GAPDH を安定化し、一種のシャペロンのような働きをもつことも示唆されている。そこで、*apo* 体の pGAPDH に ATP を加え、4 °C で NMR を測定してみた。すると、¹H/¹³C 相関スペクトルの ¹³C 次元に沿って、ピークの形に歪みが観られ、さらに強度の強いピークが現れた (上図)。これは、pGAPDH が測定の中に構造を変化させていることを示している。さらに分析ゲル濾過においても、四量体よりもむしろ二量体の位置に溶出ピークが観られた (下図)。このことから、*apo* 体は 4 °C という低温状態では一種の低温変性を起こして二量体に分裂し、その二量体は ATP により安定化され、四量体ではサブユニット界面として隠れていた領域がサブユニット分裂によりフレキシブルな部分として溶媒に露出したことが予想された。



5. 考察

GAPDH は通常は解糖系での一酵素として機能している。しかし、特に細胞が酸化状態にある時には、さまざまな種類の生体分子と相互作用し、自身の機能を変えてしまう。GAPDH は、このような moon-lighting protein の代表格であるが、その際に立体構造がどのようになっているのかについてはほとんど研究例がない。当研究の結果と考え合わせると、おそらく構造変化は平衡状態にあり、全分子が変化後の構造に完全にシフトしてそれに安定化してしまうわけでもなく、その変化した構造にはフレキシブルな部分が存在し、変化した分子は相互作用相手がないと不安定になる。このような状況により、他分子との複合体の共結晶構造や電顕構造がほとんどないことが、この種の研究があまり進んでいない要因ではないかと考えられる。NMR はそのような動的な状態を構造の面から解析するのに適したツールであるため、筆者はこの系を NMR で解析することとした。

しかし、四量体としての分子量が大きいため、これまでの ¹H/¹⁵N 相関スペクトルでは有用な情報が得られなかった。実際、筆者の知る限り、GAPDH の詳細な NMR 解析はなかつ

た。そこで、筆者は重水素化、メチル基のみの選択的な $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ 化、メチル TROSY 測定法を組み合わせ導入することにより、数 μM という NMR にとってはきわめて低い濃度での解析を可能とした。研究結果は、これまでに生化学研究の面から報告されてきた結果と基本的には矛盾しなかった。しかし、分子レベルではなく原子レベルでそれらを実証したのは初めてだといえる。

GAPDH が moon-lighting な機能を発揮するには、 NAD^+ が枯渇すること、複数の残基がニトロシル化も含め酸化されることが必要である。これはまさに生体細胞が老化したときの状況に似ている。さらに細胞内には 5mM ほどの ATP が常に存在しており、GAPDH がサブユニット分裂する方向に平衡を傾けている。その二量体は本来は非常に不安定であるが、相互作用相手の生体分子と複合体を形成するまでは ATP により一時的に安定化されるのではないかと推測される。

活性部位の Cys152 がニトロシル化されると Siah1 と相互作用することが知られてはいるが、このニトロシル化で GAPDH に大きな構造変化は確認できなかった。現在、Siah1 を調製して GAPDH と混合する実験を進めているが、今のところ、両者の相互作用はかなり弱いように見える。よって、筆者は Cys152 以外の残基のニトロシル化や酸化も必要ではないかと推測している。あるいは、まだ知られていない第三の分子が介在している可能性も否定できない。

また、GAPDH は NAD^+ との相互作用において負の協同性をもつ。そのため、四量体についている NAD^+ の個数が減るほど、その残っている NAD^+ は GAPDH に対して強い相互作用をもつことになる。これは、GAPDH が容易に apo 体になって、別の機能に変化してしまうことへの抵抗かもしれない。

このサブユニット分裂は 4°C という低温で観られた。これは一種の低温変性を意味している。生体は実際には $25\sim 37^\circ\text{C}$ という温度であり、実験で採用した 4°C という温度は現実離れしている。しかし、この GAPDH の構造変化は on/off の形式ではなく、そこには常に平衡状態が存在する。よって、体温では今のところ検出は難しいが、moon-lighting 状態になった分子が少量でも存在することは確かである。GAPDH は細胞内の数十パーセントを占める多量の蛋白質であるため、そのような少ないモル比であっても、アポトーシスを引き起こしたりするには十分であるのかもしれない。

現在、このサブユニット分裂により生成される二量体が O/P サブユニットの構成であるのか、それとも O/R サブユニット構成であるのかを明らかにしようとしている。前者は比較的安定であり、四量体が ATP 添加によりサブユニット分裂したときの NMR スペクトルは O/P 変異二量体のスペクトルと似ていた。しかし、O/P 二量体は比較的安定であるために、他分子と相互作用しやすいかどうかについては疑問が残る。一方、O/R 変異二量体は不安定であるため、現在その調製法を検討している。

GAPDH は解糖系という、生物にとってもっとも基本的なエネルギー産生のための代謝に関与している。その GAPDH が、細胞が酸化ストレスに晒された時に他機能に「変身」するということは、無関係に見えるそれら他機能もエネルギー代謝という共通の目的に関与しているのかもしれない。筆者は、ホモ多量体をとる多くの moon-lighting proteins において、この様式が存在する可能性があると考えており、GAPDH を機会に、さまざまな例が生体内で見つかることを期待している。

6. 謝辞

当研究には非常に多くの人々が携わった。特に、小沼剛助教、元田容子研究員をはじめとして、院生であった牧山ユキさん、渡邊祐大くん、鈴木陽菜梨さんにあらためて感謝申し上げます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Todokoro, Y., Kang, S.J., Suzuki, T., Ikegami, T., Kainosho, M., Yoshida, M., Fujiwara, T., Akutsu, H.	4. 巻 144
2. 論文標題 Chemical conformation of the essential glutamate site of the c-ring within thermophilic bacillus FoF1-ATP synthase determined by solid-state NMR based on its isolated c-ring structure.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Am. Chem. Soc.	6. 最初と最後の頁 14132-14139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c03580	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 Hata K, Kobayashi N, Sugimura K, Qin W, Haxholli D, Chiba Y, Yoshimi S, Hayashi G, Onoda H, Ikegami T, Mulholland CB, Nishiyama A, Nakanishi M, Leonhardt H, Konuma T, Arita K	4. 巻 50
2. 論文標題 Structural basis for the unique multifaceted interaction of DPPA3 with the UHRF1 PHD finger.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Res.	6. 最初と最後の頁 12527-12542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkac1082	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 Furuita, K., Sugiki, T., Takamuku, M., Hattori, Y., So, M., Kawata, Y., Ikegami, T., Fujiwara, T., Kojima, C.	4. 巻 322
2. 論文標題 Sensitivity enhancement by sequential data acquisition for ¹³ C-direct detection NMR.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Magn. Reson.	6. 最初と最後の頁 106878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2020.106878	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 Tohda, R., Tanaka, H., Mutoh, R., Zhang, X., Lee, Y.H., Konuma, T., Ikegami, T., Migita, C.T., Kurisu, G.	4. 巻 296
2. 論文標題 Crystal structure of higher plant heme oxygenase-1 and its mechanism of interaction with ferredoxin.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 100217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.016271	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 Kamata Kenichi, Mizutani Kenji, Takahashi Katsuya, Marchetti Roberta, Silipo Alba, Addy Christine, Park Sam-Yong, Fujii Yuki, Fujita Hideaki, Konuma Tsuyoshi, Ikegami Takahisa, Ozeki Yasuhiro, Tame Jeremy R. H.	4. 巻 10
2. 論文標題 The structure of SeviL, a GM1b/asialo-GM1 binding R-type lectin from the mussel Mytilisepta virgata	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 22102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78926-7	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 池上貴久	4. 巻 68
2. 論文標題 核磁気共鳴 NMR で飲み物を味わう	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 化学と教育 (日本化学会)	6. 最初と最後の頁 504-507
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 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 Konuma Tsuyoshi, Kurita Jun-ichi, Ikegami Takahisa	4. 巻 352
2. 論文標題 CPMG pulse sequence for relaxation dispersion that cancels artifacts independently of spin states	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J. Magn. Reson.	6. 最初と最後の頁 107489 - 107489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmr.2023.107489	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 Kikuchi Masaki, Takase Shohei, Konuma Tsuyoshi, Noritsugu Kota, Sekine Saaya, Ikegami Takahisa, Ito Akihiro, Umehara Takashi	4. 巻 120
2. 論文標題 GAS41 promotes H2A.Z deposition through recognition of the N terminus of histone H3 by the YEATS domain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 e2304103120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2304103120	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 Hokazono Sayaka, Imagawa Eri, Hirano Daishi, Ikegami Takahisa, Oishi Kimihiko, Konuma Tsuyoshi	4. 巻 18
2. 論文標題 1H, 13C and 15N backbone resonance assignments of hepatocyte nuclear factor-1-beta (HNF1) POUS and POUHD	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biomol. NMR Assign.	6. 最初と最後の頁 59 ~ 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12104-024-10168-4	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 Imamura Kayo, Akagi Ken-Ichi, Miyanoiri Yohei, Tsujimoto Hirokazu, Hirokawa Takatsugu, Ashida Hideo, Murakami Kaori, Inoue Asuka, Suno Ryoji, Ikegami Takahisa, Sekiyama Naotaka, Iwata So, Kobayashi Takuya, Tochio Hidehito	4. 巻 32
2. 論文標題 Interaction modes of human orexin 2 receptor with selective and nonselective antagonists studied by NMR spectroscopy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 352 ~ 361.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2023.12.008	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 Konuma Tsuyoshi, Takai Tomoyo, Tsuchiya Chieko, Nishida Masayuki, Hashiba Miyu, Yamada Yudai, Shirai Haruka, Motoda Yoko, Nagadoi Aritaka, Chikaishi Eriko, Akagi Ken ichi, Akashi Satoko, Yamazaki Toshio, Akutsu Hideo, Ikegami Takahisa	4. 巻 33
2. 論文標題 Analysis of the homodimeric structure of a D Ala D Ala metallopeptidase, VanX, from vancomycin resistant bacteria	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Protein Sci.	6. 最初と最後の頁 e5002
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.5002	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 Suzuki Noa, Konuma Tsuyoshi, Ikegami Takahisa, Akashi Satoko	4. 巻 33
2. 論文標題 Biophysical insights into the dimer formation of human Sirtuin 2	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Protein Sci.	6. 最初と最後の頁 e4994
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.4994	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 池上貴久	4. 巻 13
2. 論文標題 ベクトルモデルはどのくらい信じてよいのか?	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 NMR学会誌 基礎講座	6. 最初と最後の頁 32-40
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 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6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 池上貴久
2. 発表標題 Analysis of the homodimeric structure of a D-Ala-D-Ala metallopeptidase, VanX, from vancomycin-resistant bacteria
3. 学会等名 The 7th International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池上貴久
2. 発表標題 AX3スピン系は訳分らないけど、やはり「メチル基」様様
3. 学会等名 第61回NMR討論会チュートリアルコース (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池上貴久
2. 発表標題 Methods of uniform or site-specific deuteration of proteins and their applications to NMR analyses
3. 学会等名 J-PARC Workshop 2022 Deuterium Science Entering a New Phase (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 池上貴久
2. 発表標題 CPMG pulse sequence that cancels artifacts independently of spin states for relaxation dispersion
3. 学会等名 22nd International Society of Magnetic Resonance Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木陽菜梨, 牧山ユキ, 元田容子, 小沼剛, 池上貴久
2. 発表標題 解糖系moonlighting蛋白質GAPDHの環境変化に対応した立体構造変化の解析
3. 学会等名 日本蛋白質科学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木陽菜梨, 牧山ユキ, 元田容子, 小沼剛, 池上貴久
2. 発表標題 多機能性タンパク質 GAPDH の立体構造変化と相互作用の解析
3. 学会等名 NMR 討論会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
---------	---------