

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06114

研究課題名（和文）複数の溶液計測データの統合解析による蛋白質アンサンブル構造決定

研究課題名（英文）Ensemble structure determination using multiple measurement data in solution state

研究代表者

池谷 鉄兵（Ikeya, Teppei）

東京都立大学・理学研究科・准教授

研究者番号：30457840

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）：NMR相互作用解析から分子間の結合親和性を算出する新たなプログラムを2つ開発し、GRB2-SOS1、Drk-Sosの相互作用解析に適用した。その結果、GRB2とDrkのN-SH3ドメインがCSH3よりSOSと強く結合することを明らかにした。ここから、GRB2、DrkによるSOS分子認識モデルを提案し、GRB2-SOS1によるLLPS形成機構に新たな洞察を得た。加えて、multi-state立体構造計算法を用いて、GRB2の溶液構造を解析し、2つのドメインが一体となり1つが独立して運動していることを解明した。さらに、GRB2とSOS1のみによるLLPS形成を発見し、溶液NMRを用いて解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

液液相分離（LLPS）は、多くの細胞内イベントで重要な役割を果たしている。LLPSは常に動的な変化を伴い、マルチドメイン蛋白質、天然変性蛋白質、RNAなどの柔軟性の高い分子が関与している。溶液NMRは、こうした分子の動的変化を原子分解能で解析できる有力な手法である。本研究で開発した計算手法やNMR計測法を応用することで、LLPS形成機構に関する構造生物学的知見がさらに深まることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We developed two new programs to calculate intermolecular binding affinity from NMR interaction analysis and applied them to analyze the interactions between GRB2-SOS1 and Drk-Sos. As a result, it was revealed that the N-terminal SH3 domains of GRB2 and Drk bind more strongly to SOS than the C-terminal SH3 domains. Based on this, we proposed a molecular recognition model for SOS by GRB2 and Drk, providing new insights into the LLPS formation mechanism by GRB2-SOS1. Additionally, using the multi-state structure calculation method, we analyzed the solution structure of GRB2 and clarified that two of its domains are united while one remains independently mobile. Furthermore, we analyzed LLPS formation by GRB2 and SOS1 using solution NMR.

研究分野：生物物理

キーワード：GRB2 SOS1 多価相互作用 液液相分離 アンサンブル構造解析 天然変性タンパク質 マルチドメインタンパク質

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

蛋白質などの生体高分子は、その機能活性に最適な立体構造を保持している。またこの構造は、一定の静的状態にとどまらず、高い自由度を持った動的性質も併せ持ち、驚くほど多様な生命機能を生み出している。一方で、高い自由度は周辺環境に極めて敏感なため、分子機能と構造・運動性、およびそこに内在する機能情報の詳細な解析には、本来の環境に近い条件下での計測が必要となる。

核磁気共鳴分光法(NMR)は、非侵襲性に優れ、系に殆どダメージを与えずに、分子の立体構造と運動性の

両方の情報を得られる点に顕著な特徴を持つ。申請者らは、生細胞中の生体高分子を原子分解能で解析する細胞内 NMR 計測 (in-cell NMR) の開発を進め、生きた原核と真核細胞のいずれにおいても、世界初の細胞内蛋白質立体構造決定に成功し、これまで複数の成果を挙げてきた。一方で、従来の NMR 構造解析は、可能な限り収束した構造に纏まる条件を模索してきた。しかし、生体高分子の多くは、実際には大きく揺らいでおり、その揺らぎは生命機能に重要な情報を含んでいる。例えば、生体分子の構造変化過程において、「構造のアンサンブルに内在する少数構造が、相互作用相手との結合により大多数の構造として顕在化する」というモデル (conformational selection) の理解が、分子機能のより深い解釈につながった例が報告されている (図 1)。こうした機構の詳細な解析には、データからアンサンブルや運動性の情報を正確に抽出し、そこに含まれる少数構造 (レアイベント) を検出する技術が必要となる。

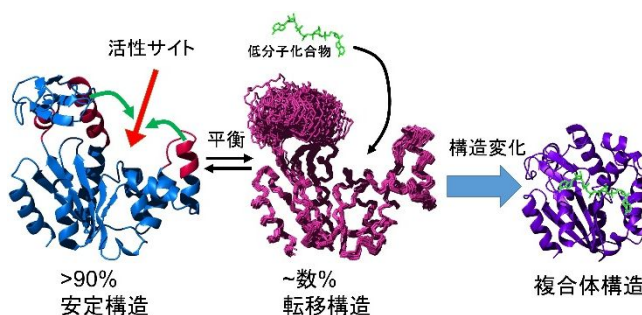


図 1. アデニル酸キナーゼの構造変化モデル。安定構造と数%程度の不安定な転移構造との平衡を保っており、この転移構造が環境 (低分子化合物の結合等) によって起きる構造の変化の種となっている。蛋白質の運動性とレアイベントが機能活性に強く影響すると考えられている。

2. 研究の目的

NMR は本来、溶液中の分子のアンサンブルを観測していることから、データに含まれる揺らぎ・内部運動の情報を忠実に再構成できれば、溶液状態の真の構造の存在確率分布を視覚化することが可能である。申請者は、2018 年度採択の基盤 C 課題において、NMR データを統合解析する手法を開発し、YUH1 蛋白質の活性部位付近が大きな運動性を持ち、この運動性が酵素活性に強く寄与する可能性を見出した。また、2 つのコピキチン (Ub) が結合した poly-Ub ダイマーが、希薄溶液と生細胞内に近い細胞抽出液下とで異なる構造分布で存在することを示唆する結果も得た。本課題ではここで開発した手法をさらに拡張し、NMR 常磁性効果や、溶液 X 線小角散乱法 (SAXS) 等の様々な溶液データを統合解析することで、より信頼性の高い構造アンサンブルを可視化する技術を開発する。これにより、マルチドメイン蛋白質や天然変性蛋白質 (IDP) のような柔らかな分子の揺らぎに内在する情報を可視化し、その基本原理を明らかにすることが本課題の目標である。

3. 研究の方法

本研究の解析対象は、MAPK 経路に関与する複数の蛋白質 (図 2) を選択した。これらの蛋白質は、1. 柔らかなリンカーや天然変性領域、構造多形の構造を持ち、2. 創薬・医療への応用への可能性と液液相分離 (LLPS) との関連が報告されている。GRB2, Drk, SOS1 蛋白質は、柔らかなリンカーでつながったマルチドメイン蛋白質である。こうした柔らかな領域が、希薄溶液下もしくは細胞内の混雑環境下でどのように変化し、ドメイン間配向にどのような影響を及ぼすか

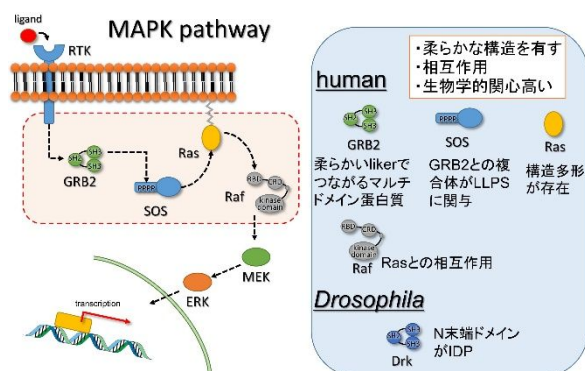


図 2. 本課題のターゲット蛋白質 (赤枠)。図中の MAPK 経路に関わる蛋白質

に焦点を当て、アンサンブル解析を進める。特に、**GRB2-SOS1** は最近 **LLPS** を形成することで、細胞内シグナル伝達を促進していることを示唆する結果が複数報告され注目を集めている。申請者らが開発してきた常磁性効果の **NMR** 測定法と、**multi-state** 構造解析法を、こうした柔らかなタンパク質の構造解析に適用し、アンサンブル構造の可視化を行う。複数の異なるデータを包括的に統計解析することで、立体構造を存在確率分布の形で可視化する。**GRB2**、**SOS1**、**LAT** からなる液滴は、超複合体となりかなりの高分子量となるため、メチル基もしくはアミノ酸選択的安定同位体試料を作製することで、**S/N** 比と分解能を向上させる。

4. 研究成果

1. **GRB2** と **SOS1** の相互作用解析

GRB2 と **SOS1** は、**MAPK** 経路の主要タンパク質であり、最近、膜蛋白質 **LAT** (または **EGFR**) を含む三者複合体が関与する液液相分離 (**LLPS**) が注目されている。**GRB2** は受容体型チロシンキナーゼ (**RTK**) とヌクレオチド交換因子である **SOS1** の間をつなぐアダプター蛋白質であり、1つの **SH2** ドメインの両側に2つの **SH3** ドメイン (**NSH3** と **CSH3**) を含む構造をとる (図 3a)。**GRB2** の2つの **SH3** ドメインが **SOS1** の10個のプロリンリッチモチーフ (**PRM**) と、**SH2** ドメインが **RTK** のリン酸化チロシンと結合親和性を持ち、多価の相互作用をすることで液滴が形成されると考えられている (図 3b)。

GRB2 と **SOS1** の相互作用を **NMR** 滴定実験と数値解析を用いて調べた結果 (図 4), **NSH3** の **PRM** への結合親和性が、**CSH3** のものより解離定数の値の比較で **10-20** 倍程度強いことが明らかになった。また、**NMR** 緩和緩和解析から、**NSH3** と **SH2** は一体となって運動しているのに対し、**CSH3** は独立して存在していることも見出した。さらに、ドメインごとに切り出した試料の **NMR** 解析により、この予測をさらに裏付ける結果が得られた。

加えて、**SH3** への **PRM** の局所的な結合が **GRB2** のドメイン配向に影響を与え、2量体化を促進していることも示唆された **SH2** とリン酸化チロシンとの結合についても、**SH2** だけの単純な認識ではなく、他のドメインとの寄与も示唆された。これらの結果を基に、**GRB2** と **SOS1** の多価相互作用と **LLPS** 形成機構のモデルを提案した (図 5)。この成果はプレプリントサーバー **bioRxiv** にて発表し、現在学術論文誌にも投稿中である。

2. マルチドメインタンパク質 **GRB2** のドメイン相対配向

¹⁵N 緩和解析の結果、**GRB2** の **CSH3** ドメインは、**NSH3** や **SH2** に対して異なる運動性を有することが示された。この結果を踏まえ、

GRB2 のドメイン相対配置を詳細に調べるために、我々がこれまでに開発してきた複数の距離情報に基づく **multi-state** 立体構造解析法を適用した。常磁性緩和促進 (**PRE**) と残余双極子相互作用 (**RDC**)、および核オーバーハウザー効果 (**NOE**) などの **NMR** データから得られる空間

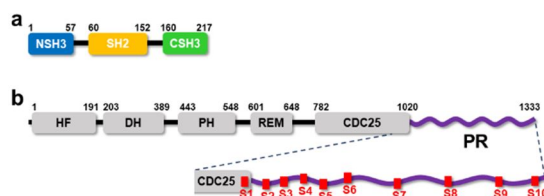


図 3. **GRB2** (a) と **SOS1** (b) のドメイン構造

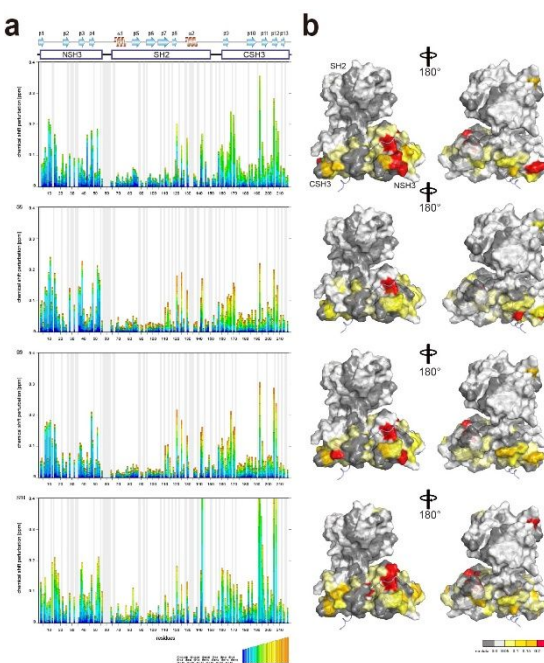


図 4. **SOS-PRM S4** (a), **S5** (b), **S9** (c), **S10** (d) と ¹⁵N-**GRB2** との **NMR** 滴定実験の結果

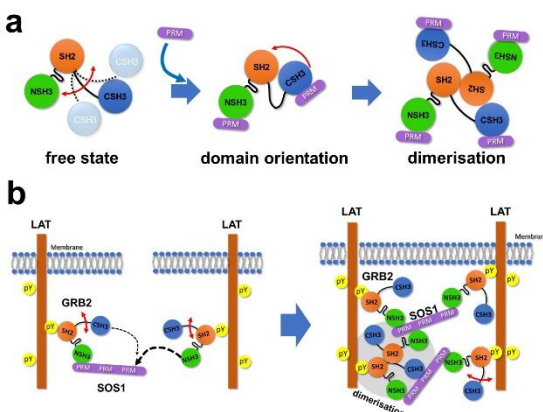


図 5. **GRB2** のドメイン配向 (a) と **LLPS** 形成機構の提案モデル (b)

情報を用いて計算を行った結果, **CSH3** ドメインが **NSH3** と **SH2** に対してかなり大きな配置の変化を伴うことが明らかとなった。これは、緩和解析から予想されて結果と一致していた。**CSH3** の大きな構造をより正確に見積もるために、**NMR** データに加えて溶液 **X** 線小角散乱 (**SAXS**) を測定した。動的散乱 (**DLS**) の解析結果から、**GRB2** が溶液中で一部 2 量体化していることが示唆されたため、**GRB2** 単量体の構造情報のみを取り出すことができる **SEC-SAXS** 実験を行い、溶液中における **GRB2** 単量体の動的構造情報を得た。**NMR** と **SEC-SAXS** データの両方と一致する構造多形を得るために、**PRE** から得られる距離情報を拘束条件として、**MELD** 法を用いた粗視化 **MD** より得られた構造アンサンブルから、**Integrative Modeling** 法 (**Reweighting after Restraining Scheme**) により、最適な構造アンサンブルをサンプリングする手法を新たに開発した。得られた構造を解析した結果、3 つの構造アンサンブルが **GRB2** の溶液構造多形を表現できることを示した (図 6)。

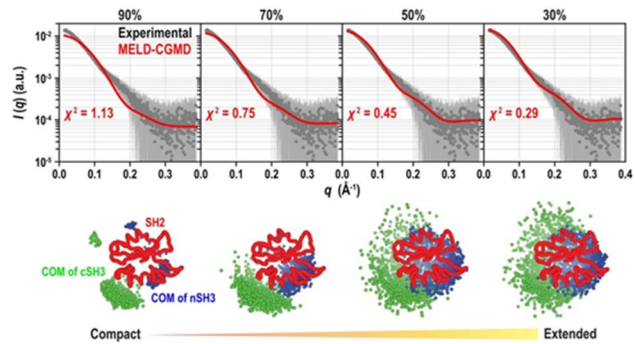


図 6. 本課題で開発した **Integrative Modeling** 法により得られた **GRB2** の構造アンサンブル。上の図は、**SAXS** の実験プロファイルと得られたアンサンブル構造から逆計算したプロファイルの比較

3. **GRB2** と **SOS1** による液相分離

GRB2 が **SOS1** の **PR** ドメインと、膜蛋白質 **LAT** (もしくは **EGFR**) との 3 者複合体を形成することで、液相分離 (**LLPS**) を起こすことは広く知られるようになってきた。一方で、本研究では **GRB2** と **SOS1-PR** ドメインのみでも **LLPS** を起こすことを新たに発見した。**SOS1** は、**PR** ドメインと **CDC42** の一部の領域にまたがって 10 力所の **PRM** を保持していると考えられている (**S1-S10**)。しかし、先行研究では **S4-S10** の 7 力所の **PRM** を持つ短い **PR** ドメインを使用していたため、我々の実験もこれに

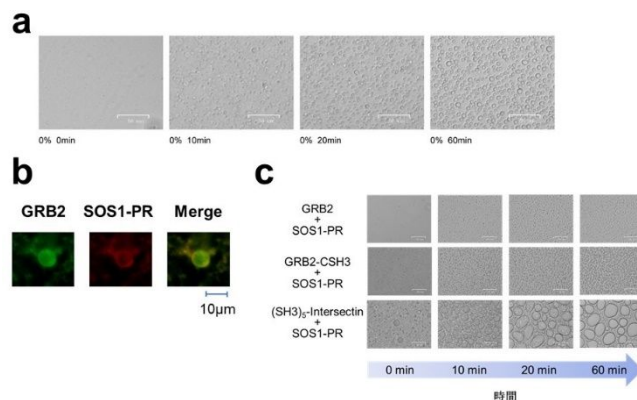


図 7. **GRB2** と **SOS1-PR** による液滴形成過程の顕微鏡観察図。

合わせて短い **PR** ドメインを主に用いた。図 7a は、**GRB2** と **SOS1-PR** を 1:1 のモル比で混合した際の光学顕微鏡観察による液滴形成の時系列変化である。2 つの蛋白質を混合後、10 分程度で明らかな球状の液滴が観察され、60 分後には、最も多数の液滴が観察された。液滴の直径はおおよそ 0.2-4 μm 程度であった。この液滴が **GRB2** と **SOS1-PR** によるものかを観察するために、**GRB2** を緑に **SOS1** を赤に蛍光染色し、蛍光顕微鏡による観察を行った (図 7b)。これにより、ほとんどの **GRB2** と **SOS1-PR** が液滴内に共存していることが確認された。

次に、**GRB2** と **SOS1-PR** による液滴形成の主な駆動力を明らかにするため、主に 4 つの因子 (**SOS1 PR** の濃度、塩濃度、**pH**、1-6 ヘキサンジオール量) に対する **LLPS** 形成の変化を観察した。解析の結果、1-6 ヘキサンジオール量の変化により液滴形成が顕著に変化したことから、**GRB2** と **SOS1-PR** による液滴形成の主な駆動力が疎水性相互作用であることが示唆された。

GRB2 の 2 つの **SH3** ドメインの **LLPS** 形成への寄与の大きさを調べるため、**NSH3** と **CSH3** ドメインをそれぞれ切

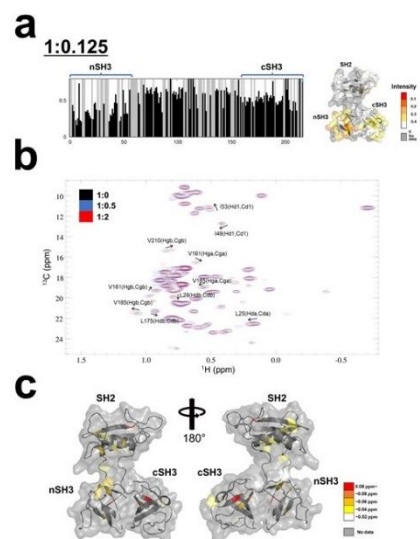


図 8. 安定同位体標識 **GRB2** に対して **SOS1-PR** の **NMR** 滴定実験。

り出したコンストラクト、**GRB2**に**CSH3**を人工的に追加したコンストラクト(**GRB2-cSH3**)、および5つの**SH3**ドメインからなるインターセクションを調製し、これらに**SOS1-PR**を加えて液滴形成を光学顕微鏡を用いて観察した。その結果、**SH3**ドメインの数が増えるにつれて液滴のサイズが大きくなることが確認された(図7c)。**CSH3**ドメイン単体では液滴形成は観察されず、複数の**SH3**ドメインと**SOS1-PRM**との多価相互作用による架橋構造が**LLPS**形成に重要であることを示唆する結果となった。

¹⁵N標識および**ILV**メチル基選択標識**GRB2**と、非標識の**SOS1-PR**を調製し、**NMR**滴定実験を行った。メチル基選択標識試料については、**GRB2: SOS1-PR**の比率を1:3まで徐々に変化させ、**2D ¹H-¹³C HMQC**を測定した(図8b)。さらに、メチル基シグナルの化学シフト変化から、2つの結合部位を仮定したモデルにより、結合親和性を算出した。解析の結果、7個の**PRM**を持つ**SOS1-PR**においても、**PRM**単独で解析した場合と同様に、**NSH3**と**CSH3**では、**NSH3**とより強い結合親和性があることが分かった(図8a)。さらに、**ILV**メチル基選択標識**GRB2**と非標識**SOS1**を用いた**NMR**滴定実験からは、一部の残基で顕著な化学シフト変化が観測された(図8c)。この変化は、**SH3**ドメインの**PRM**結合領域以外や**SH2**ドメイン側にも見られ、**SOS1-PR**との相互作用に伴う、**GRB2**のドメイン相対配置や二量体化などの大きな構造変化が起きていることが示唆された。

4. **Drk** と **SOS1** による相互作用解析

GRB2 のショウジョウバエホモログである **Drk** は **GRB2** と同様のドメイン構造を持つが **NSH3** ドメインを切り出したコンストラクトを解析すると、フォールド型とアンフォールド型が 1:1 で存在する平衡状態にあることが知られている。この平衡構造が **Drk** の分子機能とどのように関連しているかを調べるために、**Sos** と **Dos** 由来の **PRM** との相互作用解析

を行った。**Drk** は、**Sos** と **Dos** とそれぞれと相互作用することで、ショウジョウバエの複眼細胞において異なる細胞内シグナル伝達を担っている。**Sos** と **Dos** には、それぞれ 2 か所の有力な **PRM** があることが知られている。**Drk** の **NSH3** および **CSH3** に対して **Sos** および **Dos** 由来の **PRM** を用いて **NMR** 滴定実験を行った結果、図 9 に示すような親和性の差異が判明した。具体的には、**Sos** 由来の 2 つの **PRM** (**S1** および **S2**) はいずれも **NSH3** に対して強い親和性を示したが、**Dos** 由来の 2 つの **PRM** (**S1** および **S2**) は **NSH3** と **CSH3** の両方に対してほぼ同程度の親和性を持っていた。このような 2 つの **SH3** の **PRM** に対する親和性の差および **Sos** と **Dos** との親和性の差が、ショウジョウバエにおける **Drk** の機能制御に関与している可能性がある。

また、**Drk** 全長を用いた **NMR** 解析の結果、全長 **Drk** の **NSH3** ドメインはフォールドとアンフォールドの平衡状態ではなく、完全にアンフォールド状態で存在していることが示唆された。**Drk** のこれらの成果は、3 報の原著論文として研究成果を学術誌に報告した。

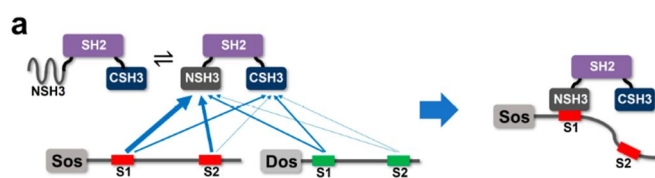


図 9 . **Drk** に対する **Sos** および **Dos** 由来の **PRM** の親和性の差異 **NMR** による相互作用解析から得られた各 **PRM** への親和性の強さを矢印の太さで模式的に示し、その分子認識モデルを提案した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Sayeesh P.M., Ikeya, T., Sugasawa, H., Watanabe, R., Mishima, M., Inomata, K., & Ito, Y.	4. 巻 625
2. 論文標題 Insight into the C-terminal SH3 domain mediated binding of Drosophila Drk to Sos and Dos	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem. Biophys. Res. Commun.	6. 最初と最後の頁 87-93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2022.08.007	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 O2.Tariq, M., Ikeya, T., Togashi, N., Fairall, L., Bueno-Alejo, C., Kamei, S., Romartinez-Alonso, B., Campillo, M.A.M., Hudson, A. J., Ito, Y., Schwabe, J.W.R., Dominguez, C. & Tanaka, K.	4. 巻 1
2. 論文標題 Structural and biochemical insights into heterotetramer formation of oncogenic K-Ras4BG12V and Rgl2, a RalA/B activator	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1-56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2022.10.10.511529	査読の有無 無
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 T. Abe, Y. Suzuki, T. Ikeya & K. Hirota	4. 巻 11
2. 論文標題 Targeting chromosome trisomy for chromosome editing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18054
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-97580-1	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 H. Yagi, T. Kasai, E. Rioual, T. Ikeya & T. Kigawa	4. 巻 118
2. 論文標題 Molecular mechanism of glycolytic flux control intrinsic to human phosphoglycerate kinase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Proceedings of the National Academy of Sciences, USA	6. 最初と最後の頁 e2112986118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2112986118	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 P.M. Sayeesh, M. Iguchi, Y. Suemoto, J. Inoue, K. Inomata, T. Ikeya & Y. Ito	4. 巻 24
2. 論文標題 Interactions of the N- and C-Terminal SH3 Domains of Drosophila Drk with the Proline-Rich Peptides from Sos and Dos	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 14135 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms241814135	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 M. Tariq, T. Ikeya, N. Togashi, L. Fairall, S. Kamei, S. Mayooramurugan, L.R. Abbott, A. Hasan, C. Bueno-Alejo, S. Sukegawa, B. Romartinez-Alonso, M.A.M. Campillo, A.J. Hudson, Y. Ito, J.W.R. Schwabe, C. Dominguez, K. Tanaka	4. 巻 7
2. 論文標題 Structural insights into the complex of oncogenic KRas4B G12V and Rgl2, a RalA/B activator	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202302080 1-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.202302080	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 K. Futagawa, T. Morioka, K. Furihata, H. Watanabe, Y. Ito, T. Ikeya, A. Hokura, K. Nagata, M. Suzuki	4. 巻 23
2. 論文標題 Structural and Functional Analyses of the Acidic and Basic Amino Acid Repeat Sequence (DDRK) in Pif 80 from Pinctada fucata on the Aragonite Crystal Surface Using NMR	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 5264-5278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.cgd.3c00467	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 K. Tateno, T. Ando, M. Tabata, H. Sugawara, T. Hayashi, P.M. Sayeesh, K. Inomata, T. Mikawa, Y. Ito & T. Ikeya	4. 巻 1
2. 論文標題 Different molecular recognition by three domains of the full-length GRB2 to SOS1 proline-rich motifs and EGFR phosphorylated sites	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 1-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2024.04.20.590390	査読の有無 無
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 P.M. Sayeesh, M. Iguchi, K. Inomata, T. Ikeya & Y. Ito	4. 巻 25
2. 論文標題 Structure and dynamics of Drk-SH2 domain and its site-specific interaction with Sev receptor tyrosine kinase	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 6386 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms25126386	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56件(うち招待講演 2件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 猪股晃介, 豊田芽生, 島 海翔, 長峰萌華, 末広志織, 池谷鉄兵, 鈴木隆史, 山本雅之, 伊藤 隆
2. 発表標題 In-cell NMRにおける細胞試料管理
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 池谷鉄兵, 菅澤はるか, 富樫直之, 林 俊文, 美川 務, 杉田有治, 伊藤 隆
2. 発表標題 GRB2とSOS1による多価相互作用と液液相分離の溶液NMR解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 T. Ikeya, M. Oide, W. Ren, K. Tateno, T. Ando, H. Sugasawa, Y. Sugita, Y. Ito
2. 発表標題 Analysis of the mechanism underlying multivalent interactions between GRB2 and SOS1 and their LLPS using solution NMR
3. 学会等名 日本生物物理学会第61回年会(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 P.M. Sayeesh, M. Iguchi, H. Sugasawa, K. Inomata, T. Ikeya, Y. Ito
2. 発表標題 Interaction of N-and C-terminal SH3 domains of Drosophila adapter protein Drk with Sos and Dos
3. 学会等名 The 19th European Magnetic Resonance Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 屋部祥大, 田岸亮馬, 鴨志田一, 美川 務, 猪股晃介, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 In-cell NMRを用いたlinear diubiquitinの細胞内での立体構造解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大久保里佳, 堀川皓央, 伊藤かおり, 菱倉直樹, 渡邊吏輝, 三島正規, 猪股晃介, 小手石泰康, 澤井仁美, 城 宣嗣, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 異種核多次元NMRによる根粒菌マルチドメイン蛋白質FixJの立体構造解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 P.M. Sayeesh, M. Iguchi, T. Ikeya, Y. Ito
2. 発表標題 Structural and dynamic studies on the Drosophila adapter Protein Drk
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 豊田芽生, 猪股晃介, 末広志織, 島 海翔, 長峰萌華, 池谷鉄兵, 鈴木隆史, 山本雅之, 伊藤隆
2. 発表標題 ストレス応答型の転写制御に関するKeap1-Nrf2複合体のIn-cell NMR解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 助川咲良, 富樫直之, P.M.Sayeesh, 菅澤はるか, 猪股晃介, 田仲加代子, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 溶液NMRによるKRASとRGL2の相互作用の解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富樫直之, 助川咲良, 菅澤はるか, 美川 務, 猪股晃介, 田仲加代子, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 NMRピークの線形解析を用いたKRAS/RGL2RBD滴定データの定量化
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井口真由美, P.M.Sayeesh, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 Drk蛋白質のN末端およびC末端SH3ドメインとSos/Dos由来ペプチドとの相互作用解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮田裕貴, 菅澤はるか, 猪股晃介, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 溶液NMRによるUbiquitin C-terminal Hydrolase L3 (UCHL3)の構造・ダイナミクス解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林 俊文, 館野桂太, 菅澤はるか, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 GRB2とSOS1による多価相互作用の溶液NMR解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 加藤聖人, P.M.Sayeesh, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 蛋白質の立体構造に対する分子クラウディングの影響の解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菱倉直樹, 渡邊吏輝, 大久保里佳, 堀川皓央, 伊藤かおり, 三島正規, 猪股晃介, 小手石泰康, 澤井仁美, 城 宣嗣, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 NMRによるFixL-FixJ二成分シグナル伝達系の機能解析
3. 学会等名 第62回NMR討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 二川 慶, 森岡 太一, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆, 片山 秀和, 永田 宏次, 鈴木 道生
2. 発表標題 アコヤガイ靱帯の酸性ペプチド LICP の溶液 NMR 法を用いた構造・機能解析
3. 学会等名 第100回日本農芸化学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Sayeesh, PM, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe and Y. Ito
2. 発表標題 NMR studies of a Drosophila adapter protein, Drk
3. 学会等名 第1回生命金属科学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sayeesh, PM, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe and Y. Ito
2. 発表標題 NMR studies of a Drosophila adapter protein, Drk
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八木 宏昌, 葛西 卓磨, Elisa Rioual, 池谷 鉄兵, 木川 隆則
2. 発表標題 NMR解析を用いた解糖系酵素PGKによる解糖流量調節機構の解明
3. 学会等名 第74回日本生物工学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二川 慶, 森岡 太一, 伊藤隆, 池谷 鉄兵, 降旗 一夫, 渡辺 裕之, 永田 宏次, 鈴木 道生
2. 発表標題 バイオミネラルタンパク質のlow complexity regionの構造・機能解析
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 屋部 祥大, 田岸 亮馬, 鴨志田 一, 美川 務, 猪股 晃介, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 In-cell NMRによるlinear diubiquitinのin-situ立体構造解析
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 豊田 芽生, 猪股 晃介, 末広 志織, 島 海翔, 池谷 鉄兵, 鈴木 隆史, 山本 雅之, 伊藤 隆
2. 発表標題 In-cell NMR によるKeap1/Nrf2系の研究
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大久保 里佳, 池谷 鉄兵, 渡邊 吏輝, 菱倉 直樹, 三島 正規, 猪股 晃介, 小手石 泰康, 澤井 仁美, 城 宣嗣, 伊藤 隆
2. 発表標題 常磁性 NMR を用いた根粒菌マルチドメイン蛋白質 ixJの立体構造解析
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 館野 桂太, 菅澤 はるか, 安藤 考史, 田端 真彩子, 美川 務, 猪股 晃介, 甲斐荘 正恒, 三島 正規, 杉田 有治, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 マルチドメイン蛋白質GRB2とSOS1-PRM領域の相互作用解析
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 考史, 菅澤 はるか, 館野 桂太, 田端 真彩子, 美川 務, 宮野入 洋平, 川端 庸平, Hisham Dokainish, Weitong Ren, 大出 真央, 寺内 勉, 猪股 晃介, 三島 正規, 甲斐荘 正恒, 杉田 有治, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 常磁性NMRを用いたマルチドメイン蛋白質GRB2の立体構造解析
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富樫 直之, 宮田 裕貴, 亀井 駿, 菅澤 はるか, 美川 務, 猪股 晃介, 田仲 加代子, 伊藤 隆, 池谷 鉄兵
2. 発表標題 GMPPNP結合型K-RasG12VとRgl2RBDの相互作用解析
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八木 宏昌, 葛西 卓磨, Elisa Rioual, 池谷 鉄兵, 木川 隆則
2. 発表標題 NMR 解析を用いた解糖系酵素 PGK の環境適応の活性制御による解糖系調節機構
3. 学会等名 第61回NMR討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二川 慶, 森岡 太一, 伊藤隆, 池谷 鉄兵, 降旗 一夫, 渡辺 裕之, 永田 宏次, 鈴木 道生
2. 発表標題 アコヤガイ貝殻内タンパク質の low complexity region の構造、機能解析
3. 学会等名 第17回バイオミネラリゼーションワークショップ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 豊田 芽生, 猪股 晃介, 末広 志織, 島 海翔, 池谷 鉄兵, 鈴木 隆史, 山本 雅之, 伊藤 隆
2. 発表標題 An in-cell NMR study of the Keap1-Nrf2 system
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大久保 里佳, 池谷 鉄兵, 渡邊 吏輝, 菱倉 直樹, 三島 正規, 猪股 晃介, 小手石 泰康, 澤井 仁美, 城 宣嗣, 伊藤 隆
2. 発表標題 A paramagnetic NMR study of a rhizobial multi-domain protein, FixJ
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 館野 桂太, 菅澤 はるか, 安藤 考史, 田端 真彩子, 美川 務, 猪股 晃介, 甲斐荘 正恒, 三島 正規, 杉田 有治, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 Solution NMR analysis reveals different binding modes on the interaction between a human multi-domain protein GRB2 and human SOS1-PRMs
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 考史, 菅澤 はるか, 館野 桂太, 田端 真彩子, 美川 務, 宮野入 洋平, 川端 庸平, Hisham Dokainish, Weitong Ren, 大出 真央, 寺内 勉, 猪股 晃介, 三島 正規, 甲斐荘 正恒, 杉田 有治, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 Structure determination of a human multi-domain protein, GRB2, by paramagnetic NMR
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富樫 直之, 宮田 裕貴, 亀井 駿, 菅澤 はるか, 美川 務, 猪股 晃介, 田仲 加代子, 伊藤 隆, 池谷 鉄兵
2. 発表標題 Interaction analysis of K-Ras4BG12V with Rgl2-RBD by solution NMR
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井口 真由美, Sayeesh, PM, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 NMR studies on the N-terminal SH3 domain-mediated binding of Drosophila Drk to Sos and Dos
3. 学会等名 バイオカンファレンス2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sayeesh P M, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe and Y. Ito
2. 発表標題 NMR studies of site-specific interaction of Drosophila adapter protein Drk with Sos and Dos
3. 学会等名 EMBO lecture course (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Ito, K. Inomata & T. Ikeya
2. 発表標題 Solution NMR approaches to 3D structure determination of proteins in living eukaryotic cells
3. 学会等名 22nd International Society of Magnetic Resonance Conference (ISMAR), the 9th Asia-Pacific NMR (APNMR) Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Ikeya, M. Okada, Y. Tateishi, E. Nojiri, T. Mikawa, S. Rajesh, H. Ogasa, T. Ueda, H. Yagi, T. Kohno, T. Kigawa, I. Shimada, P. Guentert & Yutaka Ito
2. 発表標題 Multi-state structure determination and dynamics analysis reveals a new ubiquitin-recognition mechanism in yeast ubiquitin C-terminal hydrolase
3. 学会等名 22nd International Society of Magnetic Resonance Conference (ISMAR), the 9th Asia-Pacific NMR (APNMR) Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 池谷鉄兵, 伊藤隆
2. 発表標題 複数の異なる NMR データの統合解析によるタンパク質 multi-state 立体構造解析
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会 蛋白質科学会アーカイブ WS: 蛋白質を多角的に捉える NMR 新技術 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. P. Maxin, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe, Y. Ito
2. 発表標題 Insight into the C-terminal SH3 mediated binding of Drosophila Drk towards Sos and Dos
3. 学会等名 22nd International Society of Magnetic Resonance Conference (ISMAR), the 9th Asia-Pacific NMR (APNMR) Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Yagi, T. Kasai, E. Rioual, T. Ikeya & T. Kigawa
2. 発表標題 Molecular mechanism of glycolytic flux control intrinsic to human phosphoglycerate kinase
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. P. Maxin, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe & Y. Ito
2. 発表標題 Insight into the C-terminal SH3 mediated binding of Drosophila Drk towards Sos and Dos
3. 学会等名 第1回生命金属科学 夏の合宿
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. P. Maxin, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe & Y. Ito
2. 発表標題 Insight into the C-terminal SH3 mediated binding of Drosophila Drk towards Sos and Dos
3. 学会等名 バイオカンファレンス2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. P. Maxin, T. Ikeya, H. Sugasawa, R. Watanabe & Y. Ito
2. 発表標題 Insight into the C-terminal SH3 mediated binding of Drosophila Drk towards Sos and Dos
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富樫直之, 亀井駿, 菅澤はるか, 猪股晃介, 伊藤隆, 田仲加代子 & 池谷鉄兵
2. 発表標題 NMRによるKRASとRGL2の相互作用解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 屋部 祥大, 田岸亮馬, 鴨志田一, 美川務, 猪股晃介, 池谷鉄兵 & 伊藤隆
2. 発表標題 直鎖状ユビキチン二量体の溶液構造解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 末広志織, 猪股晃介, 豊田芽生, 池谷鉄兵, 鈴木隆史, 山本 雅之 & 伊藤隆
2. 発表標題 In-cell NMRを用いたKeap1-Nrf2制御系の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Ito, M. Toyoda, K. Inomata, S. Suehiro, K. Shima, T. Ikeya, T. Suzuki, M. Yamamoto, K. Inomata
2. 発表標題 In-cell NMR studies of the Keap1-Nrf2 system
3. 学会等名 Asia-Pacific Nuclear Magnetic Resonance (APNMR) 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 豊田芽生, 猪股晃介, 末広志織, 島 海翔, 長峰萌華, 池谷鉄兵, 鈴木隆史, 山本雅之, 伊藤隆
2. 発表標題 An in-cell NMR study of the Keap1-Nrf2 interaction involved in the stress-responsive transcriptional regulation
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 助川咲良, 富樫直之, P.M.Sayeesh, 菅澤はるか, 猪股晃介, 田仲加代子, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 Analysis of the interaction between KRAS and RGL2 by solution NMR
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富樫直之, 助川咲良, 菅澤はるか, 美川 務, 猪股晃介, 田仲加代子, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 Quantification of KRAS/RGL2-RBD titration data using linear analysis of NMR peaks
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井口真由美, P.M.Sayeesh, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 Structure and Biological Study of Drk SH2/SH3 Adapter Protein of Drosophila
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮田裕貴, 菅澤はるか, 猪股晃介, 伊藤 隆, 池谷鉄兵
2. 発表標題 Structural and Dynamics Analysis of Ubiquitin C-terminal Hydrolase L3 (UCHL3) Using solution NMR
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 林 俊文, 館野桂太, 菅澤はるか, 池谷鉄兵, 伊藤 隆
2. 発表標題 Solution NMR analysis of multivalent interactions between GRB2 and SOS1
3. 学会等名 バイオカンファレンス2023
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sugita, Y., Oide, M., Ikeya, T., Ito, Y.
2. 発表標題 The monomeric structures of GRB2 in solution by integrated modeling
3. 学会等名 EMBO Workshop Computational structural biology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ito, Y., Ikeya, T., Sayeesh, P.M., Oide, M., & Sugita, Y.
2. 発表標題 NMR studies of multi-domain adaptor proteins in signal transduction pathways
3. 学会等名 TJ2024 (Taiwan-Japan NMR Symposium 2024) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 二川 慶, 片山秀和, 池谷鉄兵, 伊藤 隆, 永田 宏次, 鈴木 道生
2. 発表標題 アコヤガイ靱帯の酸性ペプチド LICP の構造・機能解析
3. 学会等名 第100回日本農芸化学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 池谷鉄兵 & 伊藤隆	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 39
3. 書名 月刊「細胞」: 溶液NMR法を用いた蛋白質立体構造計算の最近の動向	

1. 著者名 池谷鉄兵 & 伊藤隆	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館	5. 総ページ数 39
3. 書名 アグリバイオ: 溶液NMR法を用いた蛋白質立体構造計算の最近の動向	

1. 著者名 池谷鉄兵 & 伊藤隆	4. 発行年 2023年
2. 出版社 北隆館・ニューサイエンス社	5. 総ページ数 39
3. 書名 Precision Medicine	

1. 著者名 Y. Ito, T. Ikeya, K. Inomata	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 11
3. 書名 New Developments in NMR	

1. 著者名 T. Ikeya & Y. Ito	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 22
3. 書名 Experimental Approaches of NMR Spectroscopy 2nd Edition	

〔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		
英国	レスター大学		