

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23370053

研究課題名(和文) NMRを用いた膜蛋白質構造ライブイメージング技術

研究課題名(英文) NMR live imaging technology to monitor membrane protein structure

研究代表者

児嶋 長次郎 (Kojima, Chojiro)

大阪大学・たんぱく質研究所・准教授

研究者番号：50333563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,400,000円、(間接経費) 4,620,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、創薬ターゲットとして重要な「膜」蛋白質を生きている細胞のまま原子レベル精度で検出可能なNMR技術を開発し、「膜」蛋白質の構造変化のライブイメージング技術を確立することを目的としている。具体的には、生きている細胞で観測したい「膜」蛋白質のみを安定同位体標識し、それを固体NMR法で検出する。本研究においては、バックグラウンドとなる細胞由来のNMR信号を抑制する試料調製技術を開発することで、大幅な感度向上に成功しており、最終的に目的「膜」蛋白質の生体内でのNMR検出に成功した。

研究成果の概要(英文)：Membrane protein is an important target for drug discovery. In this study, using solid state NMR, we have developed a method to detect a signal from a target membrane protein expressed on the cell surface. Special isotope labeling technique enabled to suppress the background signals and enhanced the signal-to-noise ratio. Finally we succeeded to detect NMR signals of the target membrane protein using live cells.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物化学

キーワード：NMR 構造生物学 膜蛋白質

1. 研究開始当初の背景

代謝産物など細胞内の物質を NMR で検出する手法は古くから知られているが、生きている細胞内の「可溶性」蛋白質を原子レベル分解能で NMR 検出する技術 (In-cell NMR 法) は最近になって開発されてきた。大腸菌では 2001 年に Dötsch らが、アフリカツメガエル卵母細胞では 2006 年に Wagner らと Shirakawa らが、ヒトの細胞では 2009 年に Shirakawa らがそれぞれ NMR 検出法の開発に成功している (ref. 1)。さらに 2009 年には Ito らが生きている大腸菌内で「可溶性」蛋白質の立体構造決定に成功している (ref. 2)。

In-cell NMR 法では ^{15}N 標識した「可溶性」蛋白質の主鎖アミド基を溶液 NMR の測定法である ^1H - ^{15}N HSQC 法により検出する。「膜」蛋白質を ^1H - ^{15}N HSQC 法で検出するには、界面活性剤で「膜」蛋白質を可溶化する (業績 10, 15) バイセル様脂質二重膜であるミニディスクに再構成する必要があるが、いずれの方法も生きている細胞には用いることができない。

固体 NMR の測定法であるマジック角回転法を用いれば生きている細胞をそのまま測定できる可能性があるものの、現実的には固体 NMR 法は感度が低く、細胞レベルでは「膜」蛋白質どころか「可溶性」蛋白質の検出すら困難である。一方、藤原(研究分担者)および松木(連携研究者)は高磁場 DNP 法を開発中であり、温度因子を含めるとすでに 30 倍程度の感度向上を達成している。さらに現在開発中の極低温マジック角回転プローブを用いることで大幅な感度向上が可能であり、平成 22 年度中に少なくとも 100 倍以上の感度向上が達成される見通しである。そこで申請者は、この高磁場 DNP 法を用いることで生きた細胞のまま原子レベル精度で「膜」蛋白質の構造情報を検出することを着想した。

1. Serber Z and Dotsch V. In-cell NMR spectroscopy. *Biochemistry*, 40, 14317-14323 (2001); Selenko P *et al.* and Wagner G. Quantitative NMR analysis of the protein G B1 domain in *Xenopus laevis* egg extracts and intact oocytes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 103, 11904-11909 (2006); Sakai T *et al.* and Shirakawa M. In-cell NMR spectroscopy of proteins inside *Xenopus laevis* oocytes. *J. Biomol. NMR*, 36, 179-188 (2006); Inomata K *et al.* and Shirakawa M. High-resolution multi-dimensional NMR spectroscopy of proteins in human cells. *Nature*, 458, 106-109 (2009).

2. Sakakibara D *et al.* and Ito Y. Protein structure determination in living cells by in-cell NMR spectroscopy. *Nature*, 458, 102-105 (2009).

2. 研究の目的

本研究では「膜」蛋白質を生きている細胞のまま原子レベル精度で検出可能な NMR 技術を開発し、「膜」蛋白質の構造変化のライブイメージング技術を確認する。具体的には、生きている細胞で観測したい「膜」蛋白質のみを安定同位体標識し、それに高磁場 DNP 法を適用する。加えてバックグラウンドとなる細胞由来の NMR 信号を抑制する試料調製技術と重水素フィルタ技術を開発することで更なる感度向上を達成し、目的「膜」蛋白質の生体内での NMR 検出を可能にする。最終的には生きた細胞のまま原子レベル精度で「膜」蛋白質の構造変化を検出する。

3. 研究の方法

高度好塩好アルカリ性菌 *Natronomonas pharaonis* は近紫外および紫光から逃げる負の走光性を示し、その光受容体は 7 回膜貫通型ロドプシン様蛋白質 ppR である。この光応答に關与するシグナル伝達カスケードは詳しく調べられており、最初のシグナル伝達は ppR からそのトランスドューサー蛋白質 (pHtrII) への膜貫通型蛋白質同士の相互作用によって行われている。研究代表者の児嶋は ppR と pHtrII が直接結合すること、光活性化状態でその結合が弱くなることなどを明らかにしている。このシグナルは膜中での pHtrII の構造変化によって下流に伝えられると考えられている。さらに ppR と pHtrII は大腸菌での大量発現系が確立されており、熱安定性も高いため、本研究の優れたモデル系となっている。

本研究ではニュージャージー医科歯科大の井上教授(海外共同研究者)が開発した SPP システムを基盤に、甲斐荘教授の SAIL アミノ酸や申請者らが開発しつつある重水素フィルタ技術などと組み合わせ、生きている大腸菌で大腸菌由来のバックグラウンドを抑制しつつ 2 回膜貫通型蛋白質 pHtrII のみを安定同位体標識する試料調製技術を開発し、高磁場 DNP 法を適用する。最終的に生きた細胞のまま原子レベル精度で「膜」蛋白質の構造変化を検出するライブイメージング技術を確認する。

4. 研究成果

平成 23 年度は、(1)観測する膜蛋白質のみを安定同位体標識する技術の開発と、(2)(3)バックグラウンドとなる大腸菌由来の NMR 信号を抑制する技術の開発を行った。

課題(1)：生きている大腸菌の膜蛋白質をそのまま検出するには、大腸菌に安定同位体を取り込ませ、目的の膜蛋白質のみを安定同位体標識する技術が不可欠である。そこで 2

回膜貫通型蛋白質 pHtrII の大腸菌大量発現系において、培養時に非標識培地を、蛋白質の発現誘導時に安定同位体標識培地を用いることで、pHtrII のみを安定同位体標識した。選択的な標識が達成されたかどうかを判定するために、菌体破碎後の膜画分を NMR 測定した。最終的に膜画分中の pHtrII の固体 NMR 測定に成功した。

課題(2)：膜画分の pHtrII の固体 NMR 測定において、目的の膜蛋白質以外の信号も検出されており、これらは大腸菌由来と考えられた。そこで目的蛋白質以外のバックグラウンドとなる信号の抑制を試みた。具体的には、児嶋が実績を持つ pCold システムを用いた低温での発現誘導により、発現誘導後の目的膜蛋白質以外の蛋白質の翻訳を抑制した。さらに、目的蛋白質以外の翻訳を完全に阻害できる SPP システム (pCold システムに配列特異的な RNA 切断酵素を共発現させる系) の開発者であるニュージャージー医科歯科大の井上教授の助力を得て、SPP システムによる pHtrII の大量発現系の構築に成功した。SDS-PAGE 上では 48 時間に渡って pHtrII 以外の翻訳が完全に抑制されていた。固体 NMR を用い、最終的に大腸菌そのままの状態での pHtrII 由来と考えられる信号の観測に成功した。

平成 24 年度は、平成 23 年度から継続して選択標識のための個々の基盤技術課題(1)-(3)の開発を進め、膜画分を用いた評価法に基づき大腸菌由来のバックグラウンドを抑制した pHtrII の選択標識技術を確立した。また新規課題(4)として大腸菌そのものに高磁場 DNP 法を適用する研究に着手した。

課題(1)：観測する膜蛋白質のみを安定同位体標識する技術を開発した。2 回膜貫通型蛋白質 pHtrII の大腸菌大量発現系において、培養時に非標識培地を、蛋白質の発現誘導時に安定同位体標識培地を用いることで、pHtrII のみを安定同位体標識した。帰属や立体構造解析を容易にするため、均一標識試料だけでなくアミノ酸選択標識を行った。

課題(2)：バックグラウンドとなる大腸菌由来の NMR 信号を抑制する標識技術を開発した。pCold システムを用いた低温での発現誘導により、発現誘導後の目的膜蛋白質以外の蛋白質の翻訳を抑制した。

課題(3)：バックグラウンドとなる大腸菌由来の NMR 信号を抑制する重水素フィルタ技術を開発した。目的蛋白質を重水素標識することで重水素フィルタリングを行い、大腸菌由来の信号を抑制するための測定技術を開発した。

課題(4)：大腸菌へ高磁場 DNP 法を適用する研究に着手した。研究分担者の藤原らが開発中の高磁場 DNP 法を大腸菌に適用するため、グリセロール水溶液にバイラジカル(1 分子中に 2 個のラジカルを持つ化合物)と検出対象を共存させ、100 K 以下の低温にて測定を行う実験系を立ち上げた。

平成 25 年度は、平成 24 年度までに確立した大腸菌由来のバックグラウンドを抑制した pHtrII の選択標識技術(1)-(3)を用い、目的「膜」蛋白質の生体内での NMR 検出技術として確立した。また、平成 24 年度に引き続き、課題(4)として大腸菌そのものへの高磁場 DNP 法の適用に取り組むとともに、新規課題(5)として膜蛋白質の構造変化の検出にも取り組んだ。

選択標識技術(1)は、観測する膜蛋白質のみを安定同位体標識する技術であり、2 回膜貫通型蛋白質 pHtrII の大腸菌大量発現系において、培養時に非標識培地を、蛋白質の発現誘導時に安定同位体標識培地を用いることで、pHtrII のみを安定同位体標識した。帰属や立体構造解析を容易にするため、均一標識試料だけでなくアミノ酸選択標識試料を用いた。選択標識技術(2)(3)は、バックグラウンドとなる大腸菌由来の NMR 信号を抑制する技術であり、pCold システムを用いた低温での発現誘導により、発現誘導後の目的膜蛋白質以外の蛋白質の翻訳を抑制した。課題(4)は、大腸菌への高磁場 DNP 法の適用であり、研究分担者の藤原らが開発中の高磁場 DNP 法を大腸菌に適用し、大腸菌に発現している pHtrII の観測に取り組んだ。また、課題(5)は、大腸菌における光刺激依存的な膜蛋白質の構造変化の検出であり、これを行うための光照射システムを高磁場 DNP 装置に設置し、光照射実験を行った。

これらの実験から、大腸菌そのままの固体 NMR 信号の検出に成功するとともに、膜蛋白質間相互作用の検出に成功した。

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 18 件)

(1) Kyoko Furuita, Shunpei Murata, JunGoo Jee, Satoshi Ichikawa, Akira Matsuda and *Chojiro Kojima. Structural feature of bent DNA recognized by HMGB1. *J. Am. Chem. Soc.*, 133, 5788-5790 (2011). 査読有

(2) *Yuki Sudo, Rikou Tanaka, Toshitatsu Kobayashi, Naoki Kamo, Toshiyuki Kohno and *Chojiro Kojima. Functional expression of a two-transmembrane HtrII protein using cell-free synthesis. *Biophysics*, 7, 51-58 (2011). 査読有

(3) Ken-ichiro Taoka, Izuru Ohki, Hiroyuki Tsuji, Kyoko Furuita, Kokoro Hayashi, Tomoko Yanase, Midori Yamaguchi, Chika Nakashima, Yekti Asih Purwestri, Shojiro Tamaki, Yuka Ogaki, Chihiro Shimada, Atsushi Nakagawa, *Chojiro Kojima and *Ko Shimamoto. 14-3-3 proteins act as

intracellular receptors for rice Hd3a florigen. *Nature*, 476, 332-335 (2011). 査読有

(4) Ikumi Kawahara, *Kaichiro Haruta, Yuta Ashihara, Daichi Yamanaka, Mituhiro Kuriyama, Naoko Toki, Yoshinori Kondo, Kenta Teruya, Junya Ishikawa, Hiroyuki Furuta, Yoshiya Ikawa, Chojiro Kojima and *Yoshiyuki Tanaka. Site-specific isotope labeling of long RNA for structural and mechanistic studies. *Nucleic Acids Res*, 40, e7 (2012). 査読有

(5) Kumiko Kawasaki, Momoko Yoneyama, Naoko Murata-Kamiya, Hideyoshi Harashima, Chojiro Kojima, Yutaka Ito, Hiroyuki Kamiya and *Masaki Mishima. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR assignments of the *Escherichia coli* Orf135 protein. *Biomol NMR Assign*, 6, 1-4 (2012). 査読有

(6) Kumiko Kawasaki, Teppei Kanaba, Momoko Yoneyama, Naoko Murata-Kamiya, Chojiro Kojima, Yutaka Ito, Hiroyuki Kamiya and *Masaki Mishima. Insights into substrate recognition by the *Escherichia coli* Orf135 protein through its solution structure. *Biochem Biophys Res Commun*, 420, 263-268 (2012). 査読有

(7) Ken-ichiro Taoka, Izuru Ohki, Hiroyuki Tsuji, Chojiro Kojima and Ko Shimamoto. Discovery of Flowering Hormone (Florigen) Receptor and Its Crystal Structure. *Photon Factory Activity Report*, Part A "Highlights and Facility Report", 44-45 (2012). **Review**. 査読無

(8) Izuru Ohki, Ko Shimamoto and Chojiro Kojima. Structure of florigen activation complex. *SPRING-8 Research Frontiers 2011*, 30-31 (2012). **Review**. 査読無

(9) 田岡健一郎・大木出・辻寛之・児嶋長次郎・島本功 「フロリゲン（花成ホルモン）の細胞内受容体の発見」 *SPRING-8 利用者情報*, 17, 3-8 (2012). 査読無

(10) 田岡健一郎・大木出・辻寛之・児嶋長次郎・島本功 「花成ホルモンーフロリゲンーとその受容体の構造解析からみえてきたフロリゲン機能の分子基盤」 *化学と生物*, 50, 654-659 (2012). 査読無

(11) Yoshikazu Hattori, Kyoko Furuita, Izuru Ohki*, Takahisa Ikegami, Harumi Fukada, Masahiro Shirakawa, Toshimichi Fujiwara and Chojiro Kojima*. Utilization of lysine ^{13}C -methylation NMR for protein-protein interaction studies. *J. Biomol. NMR*, 55, 19-31 (2013). 査読有

(12) Rei Abe-Yoshizumi, Shiori Kobayashi, Mizuki Gohara, Kokoro Hayashi, Chojiro Kojima, Seiji Kojima, Yuki Sudo, Yasuo Asami and Michio Homma*. Expression, purification and biochemical characterization of the cytoplasmic loop of PomA, a stator component of the Na^+ driven flagellar motor. *Biophysics*, 9, 21-29 (2013). 査読有

(13) Jakub Šebera, Jaroslav Burda, Michal Straka, Akira Ono, Chojiro Kojima, Yoshiyuki Tanaka, and Vladimír Sychrovský*. Formation of the T-Hg^{II}-T Metal-Mediated DNA Base Pair; Proposal and Theoretical Calculation of the Reaction Pathway. *Chem.-Eur. J.*, 19, 9884-9894 (2013). 査読有

(14) Ken-ichiro Taoka, Izuru Ohki, Hiroyuki Tsuji, Chojiro Kojima and Ko Shimamoto. Structure and function of florigen and the receptor complex. *Trends Plant Sci.*, 18, 287-294 (2013). **Review**. 査読有

(15) 古板恭子・服部良一・児嶋長次郎 「NMR 滴定実験と蛋白質の化学修飾」 *NMR*, 4, 93-98 (2013). 査読無

(16) Ken-ichi Kosami, Izuru Ohki*, Kokoro Hayashi, Ryo Tabata, Sayaka Usugi, Tsutomu Kawasaki, Toshimichi Fujiwara, Atsushi Nakagawa, Ko Shimamoto, and Chojiro Kojima*. Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a rice Rac/Rop GTPase, OsRac1. *Acta Cryst.* F70, 113-115 (2014). 査読有

(17) Hiroshi Yamaguchi, Jakub Šebera, Jiro Kondo, Shuji Oda, Tomoyuki Komuro, Takuya Kawamura, Takenori Dairaku, Yoshinori Kondo, Itaru Okamoto, Akira Ono, Jaroslav V. Burda, Chojiro Kojima, Vladimír Sychrovský*, and Yoshiyuki Tanaka*. The structure of metallo-DNA with consecutive T-Hg^{II}-T base-pairs explains positive entropy for the metallo-base-pair formation. *Nucleic Acids Res.*, 42, 4094-4099 (2014). 査読有

(18) Saori Kataoka, Kyoko Furuita*, Yoshikazu Hattori, Naohiro Kobayashi, Takahisa Ikegami, Kazuhiro Shiozaki, Toshimichi Fujiwara and Chojiro Kojima*. ^1H , ^{15}N and ^{13}C resonance assignments of the conserved region in the middle domain of *S. pombe* Sin1 protein. *Biomol NMR Assign*, in press. 査読有

〔学会発表〕(計 63 件)

(1) 服部良一、大木出、古板恭子、池上貴久、深田はるみ、白川昌宏、藤原敏道、児嶋長次

郎「リジン側鎖を介した塩橋の NMR 検出」, 第 11 回蛋白質科学会年会、ホテル阪急エキスポパーク、吹田、2011 年 6 月 7-9 日

(2) 片岡沙織、林こころ、天野剛志、廣明秀一、藤原敏道、児嶋長次郎「大腸菌 pCold-GST システムを用いたクラス B に属する GPCR 細胞外ドメインの可溶性画分への発現」, 第 11 回蛋白質科学会年会、ホテル阪急エキスポパーク、吹田、2011 年 6 月 7-9 日

(3) 児嶋長次郎「超高磁場 NMR のための高感度測定技術」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「先端的 NMR 拠点から生まれる新たな潮流：最新成果、役割、利用」, 大阪大学蛋白質研究所、吹田、2011 年 7 月 28-29 日

(4) Saori Kataoka, Kokoro Hayashi, Takeshi Tenno, Hidekazu Hiroaki, Toshimichi Fujiwara, Chojiro Kojima "NMR sample preparation of N-terminal extracellular domain of type B G protein-coupled receptor using pCold-GST system", The 49th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, September 16-18, 2011, University of Hyogo, Himeji, Japan

(5) Mizuki Gohara, Rei Abe-Yoshizumi, Shiori Kobayashi, Yoshikazu Hattori, Chojiro Kojima, Michio Homma "Structural changes investigated by solution NMR in *Vibrio* flagellar rotor protein FliG", The 49th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, September 16-18, 2011, University of Hyogo, Himeji, Japan

(6) Kyoko Furuita, Yoshikazu Hattori, Takahisa Ikegami, Toshimichi Fujiwara, Chojiro Kojima "A novel sensitivity enhancement technique for solution NMR utilizing long longitudinal relaxation time", The 50th Memorial Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan, November 15-18, 2011, Osanbashi Hall, Yokohama, Japan

(7) Yoshikazu Hattori, Izuru Ohki, Kyoko Furuita, Takahisa Ikegami, Harumi Fukada, Masahiro Shirakawa, Kei-ichi Yokoyama, Ei-ichiro Suzuki, Toshimichi Fujiwara, Chojiro Kojima "Protein Modification Method for Studying Protein-Protein Interaction by NMR", The 50th Memorial Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan, November 15-18, 2011, Osanbashi Hall, Yokohama, Japan

(8) Ayako Egawa, Keisuke Ikeda, Momoko Yoneyama, Kokoro Hayashi, Chojiro Kojima, Hideo Akutsu, Toshimichi Fujiwara "Solid-state NMR structural analysis of transmembrane halobacterial transducer pHtrII", The 50th Memorial Annual Meeting of the Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan, November

15-18, 2011, Osanbashi Hall, Yokohama, Japan

(9) Kyoko Furuita, Yoshikazu Hattori, Takahisa Ikegami, Toshimichi Fujiwara, Chojiro Kojima "A new NMR sensitivity enhancement technique using long relaxation time", The Annual Meeting of the Spectroscopical Society of Japan, November 30-December 2, 2011, RIKEN Yokohama Institute Main Office Building Hall, Yokohama, Japan

(10) 片岡沙織、林こころ、天野剛志、廣明秀一、藤原敏道、児嶋長次郎「大腸菌 pCold-GST システムを用いた G 蛋白質共役型受容体 N 末端細胞外ドメインの可溶性画分への発現」, 第 34 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011 年 12 月 13-16 日

(11) 服部良一、古板恭子、横山敬一、鈴木榮一郎、藤原敏道、児嶋長次郎「NMR 利用のためのトランスグルタミナーゼによる蛋白質修飾技術の開発」, 第 12 回蛋白質科学会年会、名古屋国際会議場、名古屋、2012 年 6 月 20-22 日

(12) 児嶋長次郎「超高磁場溶液 NMR 装置を用いた蛋白質の高感度測定」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「磁気共鳴の先端計測技術と生体系への展開」, 大阪大学蛋白質研究所、吹田、2012 年 7 月 31 日-8 月 1 日

(13) Kyoko Furuita, Yoshikazu Hattori, Takahisa Ikegami, Toshimichi Fujiwara, Chojiro Kojima "A novel sensitivity enhancement method for molecules possessing long longitudinal relaxation time", XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, August 19-24, 2012, Lyon Convention Center, Lyon, France

(14) JunGoo Jee, Yuki Nishigaya, Kyoko Furuita, Rikou Tanaka, Toshiyuki Kohno, Chojiro Kojima "Non-Uniform Sampling Applied to Low-Concentration Protein Sample", XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, August 19-24, 2012, Lyon Convention Center, Lyon, France

(15) Chojiro Kojima "What is pHtrII?", UMDNJ Inouye Lab Seminar, September 11, 2012, UMDNJ, Piscataway, USA

(16) Mizuki Gohara, Rei Abe-Yoshizumi, Shiori Kobayashi, Yohei Miyanoiri, Yoshikazu Hattori, Chojiro Kojima, Masatsune Kainosho, Michio Homma "Solution NMR analysis of FliG C-terminal domain derived from Na⁺-driven motor of *Vibrio*", The 50th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, September 22-24, 2012, Nagoya University, Nagoya, Japan

(17) Chojiro Kojima "New sensitivity-enhancement methods for ultra-high field solution NMR", The 3rd International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR, October 11-12, 2012, RIKEN Yokohama Institute Main Lecture Hall, Yokohama, Japan

(18) 服部良一、古板恭子、大木出、池上貴久、深田はるみ、白川昌宏、藤原敏道、児嶋長次郎「リジン ¹³C メチル化法のタンパク質・タンパク質相互作用解析への適用」、第51回 NMR 討論会、ウイנקあいち、名古屋、2012年11月8-10日

(19) 古板恭子、服部良一、池上貴久、藤原敏道、児嶋長次郎「長い縦緩和時間を利用した高感度溶液 NMR 測定法の開発と ¹³C 直接観測への応用」、第51回 NMR 討論会、ウイנקあいち、名古屋、2012年11月8-10日

(20) 江川文子、池田恵介、Lili Mao、林こころ、児嶋長次郎、井上正順、藤原敏道「固体 NMR 法を用いた生理的環境での膜蛋白質 pHtrII の構造解析」、第51回 NMR 討論会、ウイנקあいち、名古屋、2012年11月8-10日

(21) 大木出、服部良一、古板恭子、池上貴久、深田はるみ、白川昌宏、藤原敏道、児嶋長次郎「リジンの ¹³C メチル化標識法を使った NMR による蛋白質間相互作用解析の有効性」、第35回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、2012年12月11-14日

(22) 児嶋長次郎「蛋白質と核酸の NMR 構造解析」、九州大学先端物質化学研究所セミナー、九州大学、福岡、2013年1月9日

(23) 児嶋長次郎「Double- Acquisition Method and Lysine ¹³C- Methylation NMR」、味の素株式会社イノベーション研究所セミナー、味の素株式会社、川崎、2013年3月19日

(24) 服部良一、山崎俊栄、片岡沙織、古板恭子、山田健一、藤原敏道、児嶋長次郎「還元耐性ニトロキシラジカルを用いた蛋白質のスピンラベル」、第13回蛋白質科学学会年会、とりぎん文化会館、鳥取、2013年6月12-14日

(25) Chojiro Kojima "Sensitivity-enhanced protein NMR techniques developed for ultra-high field NMR", The 4th Symposium on Structure and Folding of Disease Related Proteins, July 5, 2013, Seoul National University, Seoul, Korea

(26) 児嶋長次郎「先端的 NMR 施設における試料調製と NMR 計測」、大阪大学蛋白質研究

所セミナー「世界をリードする NMR とその科学技術・社会へのインパクト」、千里ライフサイエンスセンター、豊中、2013年8月5-6日

その他 37 件

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

児嶋 長次郎 (KOJIMA, Chojiro)
大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究者番号：50333563

(2) 研究分担者

藤原 敏道 (FUJIWARA, Toshimichi)
大阪大学・蛋白質研究所・教授
研究者番号：20242381

松木 陽 (MATSUKI, Yoh)
大阪大学・蛋白質研究所・助教
研究者番号：70551498

(3) 連携研究者

大木 出 (OHKI, Izuru)
奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス研究科・助教
研究者番号：80418574