

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25249117

研究課題名(和文) 無機物質に結合する特異ペプチドの分子設計の基盤技術

研究課題名(英文) Molecular design for specific peptides binding to inorganic material

研究代表者

黒田 章夫 (Kuroda, Akio)

広島大学・先端物質科学研究科・教授

研究者番号：50205241

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,000,000円

研究成果の概要(和文)：大気に浮遊するアスベストは、中皮腫や肺ガンを引き起こす環境汚染物質である。我々はアスベストに対する特異性のあるバイオプローブと蛍光顕微鏡を用いて、高感度にアスベストを検出する方法を開発している。角閃石アスベストであるアモサイトに特異的に結合する31アミノ酸残基のペプチドを同定している。その結合メカニズムを明らかにするために、アミノ酸を置換した変異体を使い、アモサイトに結合するアミノ酸残基を同定した。その結果、電荷的に陽性のリジン残基が結合に重要な働きをすることが分かった。さらにNMRによるペプチドの構造解析を行い、アスベスト表面とペプチドの結合のシミュレーションを行って議論した。

研究成果の概要(英文)：Fluorescence microscopy-based assay with affinity probes could enable highly sensitive and selective detection of airborne asbestos, an inorganic environmental pollutant that can cause mesothelioma and lung cancer. We have selected a 31 amino acids peptide that specifically binds to amphibole asbestos, amosite. In order to clarify the binding mechanism, we identify the amino acid residues contributing to the probe's affinity to amosite fibers by using a number of substituted peptides. We found that the probable binding mechanism is electrostatic interaction, with positively charged side chains of lysine residues being primarily responsible for the probe's affinity to asbestos. We carried out structural analysis of the peptide using NMR and binding simulation between the peptide and the surface of asbestos.

研究分野：応用生物学

キーワード：アスベスト バイオアッセイ ペプチド 結合

1. 研究開始当初の背景

空気中に浮遊する微小粒子は様々なものがあるが、アスベストを含め一部の無機繊維は肺ガン、中皮腫を引き起こす。空気中のアスベストの検出は、空気中に浮遊する物質をフィルターで捕捉し、透明化後、位相差顕微鏡で観察する。位相差顕微鏡ではアスベストかどうかの判定はできないので、繊維の同定にはX線分析装置が装備された電子顕微鏡を用いて1本1本に電子線を当てX線分析することになっている。アスベスト検査は、同定まで含めると非常に時間と手間がかかる方法である。

研究代表者は、2005年アスベストが大きな環境問題を引き起こした際に、バイオ技術でアスベストが検出できないかを検討した。すなわち、抗体の特異的な結合を用いた検査が応用できれば、分析が容易になるのではないかと考えた。しかしながら、無機物質に対する抗体の取得は難しい。そこで、細胞質タンパク質ライブラリーから結合タンパク質を選択することが利用できるのではないかと考えた。これらの技術は、主に無機物質とバイオを融合させるナノテクノロジーのツールとして発達してきたが、無機物質に対するバイオアッセイ法として本技術を利用された例は研究代表者の知る限り存在しない(無機イオンは除く)。

アスベストは大きく分けると、蛇紋石アスベストと角閃石アスベストの二種類が存在する。それぞれのアスベストに結合するタンパク質が2種類取得できたが、1つは特異性が十分ではなく、ケイ酸アルミニウムなどの無機繊維にも結合した。しかし、アスベスト以外に結合する領域を削ることで、アスベストが同定できるレベルまで高めることに成功した。31個のアミノ酸配列からなるペプチド(QYREMLIADGIDPNELLNSLA AVKSGTKAKR)以下アスベスト結合ペプチドと呼ぶ)に絞り込み、さらにそのペプチドをストレプトアビジン上で4つ提示することによって、結合力を向上させることに成功した。これらのタンパク質を蛍光で修飾したものをプローブとし、蛍光顕微鏡で観察するという簡単な作業で同定まで行えるようになった。

2. 研究の目的

無機物質に対する特異ペプチドを用いて、検出に利用しようとする研究は、国内外において研究代表者以外、知りうる範囲では他に例をみない独自技術である。世界初の本技術を環境検査の新機軸に高めるためには、無機物質とペプチドの相互作用の解析が避けて通れないと考えられた。最近、固体表面上のペプチドの構造が二次元NMRによって解析できるようになった。今こそアスベスト結合ペプチドがどのようにアスベスト表面を識別するのかを解析し、あらゆる無機物質に対する特異ペプチドを取得するにはどのようにすればいいのかという設計原理に関する学

理構築まで発展させたいと考えた。

カーボンナノチューブの一部にもアスベスト様の毒性が確認されている。アスベストの場合、蛍光により30nmの微細アスベストも観察できるようになった。カーボンナノチューブも蛍光が付加されることで直接観察も可能であると考えられた。同様にカーボンナノチューブ結合ペプチドを選定し、進化学、分子工学を駆使した設計原理により蛍光プローブを得る。通常の光学顕微鏡では観察できない微細カーボンナノチューブを蛍光顕微鏡で直接検出できる検出系の確立を目指した。

3. 研究の方法

3.1 アスベスト結合ペプチドのアラニンスクヤニング解析

アスベスト結合ペプチドにGGGSのアミノ酸配列からなるリンカー配列を付加し、N末端をピオチンで修飾したペプチドを合成し、さらに各アミノ酸をアラニンで置換したペプチドを合成した。このピオチンで標識されたペプチドを、蛍光色素Cy3で修飾されたストレプトアビジンと混合することによって蛍光標識を行なった。具体的には、0.1M Tris-HCl(pH8.3)緩衝液中に、蛍光標識されたストレプトアビジン(33.2pmol)に対して20倍量のピオチン標識アスベスト結合ペプチドを添加し、1時間静置した。蛍光標識したアスベスト結合ペプチドを20nMとなるように、0.5mlのリン酸緩衝液中[0.3M Phosphate(pH8.0)、0.3M NaCl、0.5% Tween80]に希釈し、さらに50µgのアモサイトを添加して10分間混合した。遠心操作(20,000g, 5min)を行なった後、上清を取り除き未結合のタンパク質を取り除いた。さらに、0.5mlのリン酸緩衝液を添加して洗浄を3回行なった。最後に、0.5mlの溶出液[0.1M Tris-HCl(pH8.0)、1%SDS]を加え、95、5分間加熱処理を行なうことで、アモサイトに結合している蛍光タンパク質を溶出させた。遠心操作(20,000g, 5min)を行った後、溶出された蛍光タンパク質の量を、分光蛍光度計FP-6500(日本分光社)で測定することにより算出した。

3.2 アスベスト結合ペプチドの変異導入と認識特異性の解析

H-NSの75-90番目のアミノ酸領域(H-NS₇₅₋₉₀)と83-90番目のアミノ酸領域(H-NS₈₃₋₉₀)を含む遺伝子をPCRで増幅した。これらのH-NS遺伝子をpET21b-AviTag[ピオチン化タグ(AviTag)をHisタグの上流に導入したpET21bベクター]にクローニングし、pET-H-NS₇₅₋₉₀-AviTag、pET-H-NS₈₃₋₉₀-AviTagを作製した。また、H-NS₇₅₋₉₀のロイシン(L)をグリシン(G)に置換した変異体(H-NS₇₅₋₉₀-L75G/L76G/L79G)を発現するためのプラスミドは、pET-H-NS₇₅₋₉₀-AviTagを鋳型としてインバースPCRにより変異を導入することで、

pET-H-NS₇₅₋₉₀-L75G/L76G/L79G-AviTag を作製した。これらのプラスミド導入した *E. coli* Rosetta (DE3) pLysS を 0.5mM IPTG、4 時間、28 °C で培養しタンパク質の発現を行なった。得られた菌体の細胞抽出液をニッケルカラムに供し H-NS タンパク質 (H-NS₇₅₋₉₀、H-NS₈₃₋₉₀、H-NS₇₅₋₉₀-L/G 置換体) を精製した。これらの精製したタンパク質は、ビオチンで修飾されているため、蛍光色素 Cy3 で修飾されたストレプトアビジンと混合することによって蛍光標識した。蛍光標識した H-NS タンパク質をアモサイト、W01(ケイ酸カルシウム繊維)、PT1(チタン酸カリウムウイスキー)にそれぞれ結合させ、結合量を上記 3.1 の方法と同様に測定した。W01 と PT1 への交差反応は、W01 (または PT1) への結合量をアモサイトへの結合量で割り比率で評価した。

3.3 NMR によるアスベスト結合ペプチドの構造解析

31 個のアミノ酸配列からなるペプチド (QYREMLIADGIDPNELLNSLAAVKSGTKAKR) を合成した。このペプチドを 8mg/ml (2.35mM) の濃度で、5%重水を含んだ 20mM リン酸緩衝液 (pH6.0) に溶解した。NMR 測定は、ブルカー・バイオスピン社の AVANCE 700MHz デジタル NMR 装置を用いて測定を行なった。NMR 測定は、¹H -¹H COSY, ¹H -¹H NOESY, ¹H -¹H TOCSY, ¹H -¹³C HSQC, ¹H -¹³C HMBC を行なった。NMR データは、NMRPipe (IBBR: Institute for Bioscience & Biotechnology Research, <https://www.ibbr.umd.edu/nmrpipe>) で変換し、2次元スペクトルは、NMRView (One Moon Scientific 社) を用いて解析を行なった。角度制限情報の取得には、主鎖の二面角 (ϕ , ψ) を予測する TALOS プログラム (NIH: National Institute of Health, <http://spin.niddk.nih.gov/bax/software/TALOS>) を用いて計算を行なった。NOESY スペクトルで得られた距離制限情報と、TALOS 解析で得られた角度制限情報を CYANA (エルエイシステムズ社) に入力し構造計算を行なった。

3.4 MD(Molecular dynamics)シミュレーションを用いたアスベスト結合ペプチドとイノケイ酸との相互作用解析

Crystallography Open Database から、イノケイ酸の結晶構造 (COD ID: 1532023) を取得し、SciMAPS (モルシス社) を用いて、結晶構造モデルを作製した。アスベスト結合ペプチドの 3次元構造は、CYANA の構造計算で最も成績が良かった構造を、MDシミュレーションの初期構造とした。MOE (Molecular Operating Environment, CCG 社) を用いて MDシミュレーションを行ない、アスベスト結合ペプチドとイノケイ酸との相互作用を解析した。MD 計算には NAMD (<http://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/>) を用い、300K で 600ps の計算を行なった。

3.5 カーボンナノチューブ結合ペプチドのスクリーニング

ファージライブラリーとして Phage Display Peptide Library (PhD-12, New England Biolabs 社) を用いて、カーボンナノチューブに結合するペプチドのスクリーニングを行なった。ファージライブラリーを 0.02%BSA を含む緩衝液 A [0.1M Tris-HCl (pH8.0), 0.1% (v/v) Tween20, 0.1M NaCl] で、 1.0×10^{10} に希釈して、1mg の多層カーボンナノチューブと室温で 10 分間混合した。遠心分離 (10,000rpm, 5min) によりカーボンナノチューブを沈殿させた後、上清を取り除き未結合のファージを取り除いた。沈殿したカーボンナノチューブは、緩衝液 A で 5 回洗浄した後、500 μ l の溶出液 [6M 尿素] を加え、室温で 10 分間保温して、カーボンナノチューブに結合したファージを溶出させた。溶出したファージは、大腸菌 ER2738 株に感染させて増殖させた。この一連の操作 (バイオパニング) を、合計で 7 回行なった (結合条件を厳しくするために、BSA を 2 回目以降 0.1% に増やし、4 回目以降カーボンナノチューブを 0.1mg に減らし、5 回目以降 Tween20 を 0.5% に増やした)。7 回のバイオパニングを行なった後に得られたファージの提示するペプチドのアミノ酸配列をシークエンス解析により同定した。

3.6 ペプチドを用いたカーボンナノチューブの蛍光検出

カーボンナノチューブ結合ペプチドにリンカー配列 (GGGSGGS) と C 末端にビオチンを標識したペプチドを合成した。具体的には、LPWWNRWPPVETGGGSGGS-biotin を合成した。このビオチンで標識されたペプチドを、蛍光色素で修飾されたストレプトアビジンと混合することによって蛍光標識を行なった。蛍光標識したカーボンナノチューブ結合ペプチドを、Bis-Tris 緩衝液 (pH6.0) で 40nM に希釈した。カーボンナノチューブは、直径 140nm と直径 20-40nm の 2 種類を用いて、NMP (N-methylpyrrolidone) の溶液に分散させ、前者は 1mg/ml に、後者は 0.1mg/ml となるように分散させた。蛍光標識したペプチド溶液 100 μ l に 1 μ l のカーボンナノチューブ分散液 (1mg/ml) を添加して混合した。この混合液を、スライドガラスに滴下して蛍光顕微鏡で観察を行なった。

4. 研究成果

4.1 アスベスト結合ペプチドの配列置換と認識特異性の変化

これまでの研究で、角閃石アスベストに結合するタンパク質 H-NS は、特異性が十分ではなかったが、60-90 番目のアミノ酸領域に限定した H-NS₆₀₋₉₀ (QYREMLIADGIDPNELLNSLAAVKSGTKAKR) は、アスベストを同定できるレベルまでに高い特異性を有することが分かった。

ていた。本研究で、さらにアスベストに結合するのに最低限必要な領域まで絞り込んだところ、83-90番目のアミノ酸領域に限定した H-NS₈₃₋₉₀ (KSGTKAKR) がアスベストに結合できることがわかった。さらに、この配列の中のどのアミノ酸が、アスベストとの結合に関与しているかを調べた。具体的には、KSGTKAKR の各アミノ酸をアラニンで置換したペプチドを合成し、角閃石アスベストであるアモサイトへの結合性を評価した (図 1)。その結果、アスベストへの結合には塩基性アミノ酸が関与しており、特に 87 番目のリジン (KSGTKAKR: 下線部で示す) が結合に最も影響を与えていることが分かった。

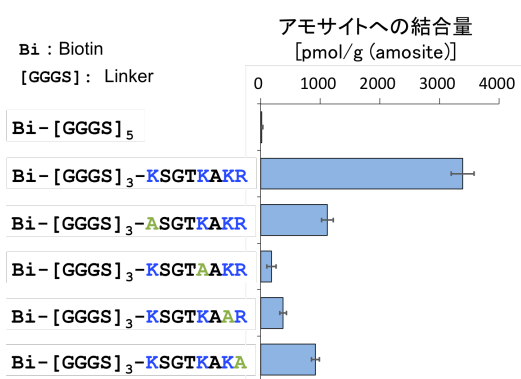


図 1、アスベスト結合ペプチドのアラニンスクランニング解析

H-NS₈₃₋₉₀ が、アスベストに結合できたことから、KSGTKAKR という 8 個のアミノ酸配列があればアスベストと結合できることが分かった。しかし、一方で H-NS₈₃₋₉₀ は、W01 (ケイ酸カルシウム繊維) と PT1 (チタン酸ウイスキー) に結合しやすくなっており、特異性が低下していることが分かった (表 1)。H-NS₈₃₋₉₀ は、H-NS₇₅₋₉₀ に比べ、W01 に 2 倍程度、PT1 に 2.7 倍程度結合しやすくなっていることが分かった。また、H-NS₇₅₋₉₀ のロイシン (L) をグリシン (G) に置換した変異体 (H-NS₇₅₋₉₀-L/G 置換体) は、同様に W01 に 1.9 倍程度、PT1 に 2 倍程度結合しやすく特異性が低下していることから、疎水性アミノ酸であるロイシン (L) が特異性に関与していることが示唆された。

表 1、W01、PT1 への交差反応。W01(a) または PT1(b) への結合量をアモサイトへの結合量で割った比率で評価した。

アミノ酸配列	W01への交差反応 ^a	PT1への交差反応 ^b
H-NS ₈₃₋₉₀ KSGTKAKR	0.208	0.139
H-NS ₇₅₋₉₀ LLNSLAAVKSGTKAKR	0.101	0.051
H-NS ₇₅₋₉₀ -L/G置換体 GGN ^u SGAAVKSGTKAKR	0.191	0.106

4.2 NMR によるアスベスト結合ペプチドの構造解析

アスベスト結合ペプチドがどのようにアスベストを認識しているのかを明らかにするために、NMR による立体構造解析を行なった。NMR 解析には、特異性が最も高かった H-NS₆₀₋₉₀ (QYREMLIADGIDPNELLNSLAAVKSGTKAKR : 31 アミノ酸) を用いて行なった。上記の 31 個のアミノ酸配列からなるペプチドを、5% 重水を含んだ 20mM リン酸緩衝液 (pH6.0) に溶解し NMR 測定を行なった。NMR 測定は、¹H-¹H COSY, ¹H-¹H NOESY, ¹H-¹H TOCSY, ¹H-¹³C HSQC, ¹H-¹³C HMBC を行なった。

得られた各種 NMR スペクトルの情報をもとに、CYANA を用いてアスベスト結合ペプチドの構造解析を行なった。まず、各アミノ酸の C、C、C=O、H、NH の化学シフトを帰属した。次に、CYANA を用いた構造計算に必要な角度制限情報と距離制限情報の取得を行なった。角度制限情報の取得には、主鎖の二面角(φ、ψ)を予測する TALOS プログラムを用いて計算を行なった。距離制限情報の取得には、NOESY スペクトルの解析を行なった。NOE は、空間的に近距離 (5Å 以内) にある場合に観測される。NOESY スペクトルから、距離制限にかかわるシグナルを帰属した。上記で得られたデータをもとに、CYANA により構造計算を行なった (図 2)。その結果、アスベスト結合ペプチドの下線部で示す領域 (QYREMLIADGIDPNELLNSLAAVKSGTKAKR) においてヘリックス構造があることが分かった。このヘリックス構造のロイシン (L) は、前項目 4.1 の実験結果から特異性に関与していることが示唆されている。一方で、アスベストへの結合に重要な C 末端領域の KSGTKAKR のアミノ酸配列の部分は、フレキシブルな構造をとっていることが分かった。上記のヘリックス構造領域と、結合に重要な C 末端領域が、アスベストへの結合にどのように関与しているかを解析するために、MD (Molecular dynamics) によるシミュレーションを行なった。

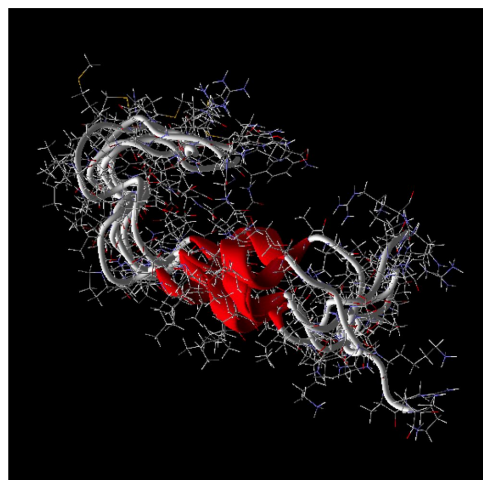


図 2、アスベスト結合ペプチドの 3 次元構造。CYANA での計算結果の上位 5 つの構造を重ね合わせて表示した。

4.3 MD シミュレーションを用いたアスベスト結合ペプチドとイノケイ酸との相互作用解析

CYANA を用いた構造解析によって得られたアスベスト結合ペプチドの3次元構造を用いてアスベストとの相互作用について MD シミュレーションを行なった。角閃石アスベストの表面は、イノケイ酸により構成されている。Crystallography Open Database から、イノケイ酸の結晶構造を取得し、SciMAPS を用いて、結晶構造モデルを作製した。アスベスト結合ペプチドの3次元構造とイノケイ酸の結晶構造モデルを用いて、MOE による MD 計算を行なうことで、結合モデルのシミュレーションを行なった(図3)。その結果、特異性への関与が示唆された N 末端側のヘリックス構造領域は、MD シミュレーションではイノケイ酸への直接的な結合はみられなかった。一方で、C 末端領域(KSGTKAKR)がイノケイ酸(アスベスト表面)への結合に関与している。N 末端側のヘリックス構造がどのようなメカニズムで C 末端の結合領域に影響を与えているかは不明であるが、おそらく N 末端側のヘリックス構造が C 末端領域のフレキシビリティを下げ方向に働きかけ、アスベストへの特異性を向上させていると考えられた。

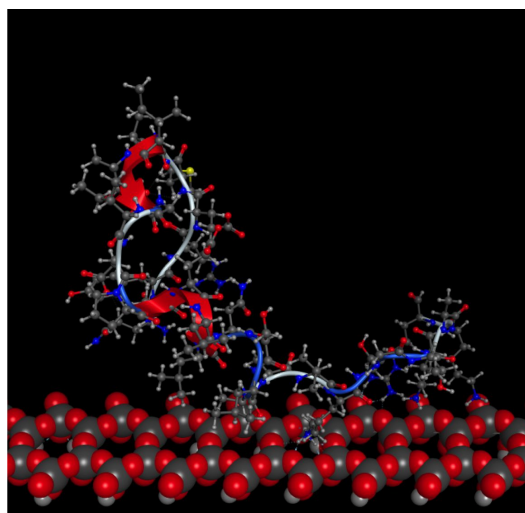


図3、アスベスト結合ペプチドのイノケイ酸(アスベスト表面)への結合モデル

4.4 カーボンナノチューブに結合するペプチドのスクリーニング

カーボンナノチューブは、微細な繊維物質であるため通常の光学顕微鏡では検出が難しい。カーボンナノチューブに結合するペプチドを選定し、蛍光プローブを作製することでカーボンナノチューブを蛍光顕微鏡で簡単に検出することを目指した。カーボンナノチューブに結合するペプチドを取得するために、12 アミノ酸残基からなるランダムペプチドを提示したファージライブラリーを用いてスクリーニングを行なった。カーボンナ

ノチューブとファージライブラリーを混合し、洗浄、結合したファージの溶出、大腸菌を用いたファージの増幅という一連の操作を7回行ない、カーボンナノチューブに結合するファージを取得した。取得したファージが提示するアミノ酸配列をシーケンス解析により同定した(表2)。カーボンナノチューブに結合するファージが提示したペプチドでは、22 個解析したうち6 個が LPWWNRWPPVET という配列を有していた。また、4 種類のペプチドで共通して WNPW という配列もみられた。また、今回取得された配列の中には、すでにカーボンナノチューブに結合するペプチドとして報告されている LLADTTHHRPWT という配列もみられた(Su et al., J. phys. Chem.B, 110, 23623-23627, 2006)。今回新しく取得したカーボンナノチューブ結合ペプチドの中で最も多くみられた LPWWNRWPPVET は、以前報告された LLADTTHHRPWT に比べ、約 10 倍程度結合力が高いことが分かった。この LPWWNRWPPVET のアミノ酸配列を有したペプチドを合成し、蛍光で標識して蛍光プローブを作製することで、カーボンナノチューブを蛍光で検出できるか検討を行なった。

表2、取得したカーボンナノチューブ結合ペプチドのアミノ酸配列

アミノ酸配列	出現頻度(/22)
LPWWNRWPPVET	6
WWRTPWTEPTPA	3
WWNPWTPQSTPS	2
WNPWNSWSNMRM	1
WNPWWRAPLTGA	1
WNPWAGWTMGHL	1
GWWNWNPPHVGT	1
LLADTTHHRPWT	1
その他	6

4.5 ペプチドを用いたカーボンナノチューブの蛍光検出

蛍光標識したカーボンナノチューブ結合ペプチドを用いて、直径 140nm 及び 20-40nm の2種類のカーボンナノチューブに対して蛍光顕微鏡による検出を行なった(図4)。140nm のカーボンナノチューブは、位相差顕微鏡でも確認できたが、蛍光顕微鏡の方が明瞭に観察することができた。一方で、20-40nm のカーボンナノチューブは、位相差顕微鏡ではほとんど検出できなかったが、蛍光顕微鏡では観察することができた。以上の結果から、カーボンナノチューブ結合ペプチドを蛍光プローブとして利用することで、位相差顕微鏡で検出が困難なカーボンナノチューブを蛍

光で検出できることが分かった。

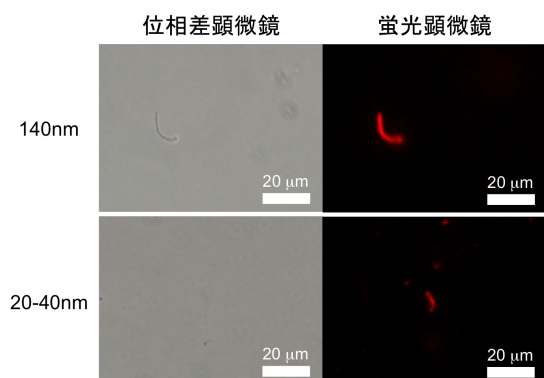


図4. カーボンナノチューブの蛍光検出

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 7 件)

1) T. Nishimura, M. Alexandrov, T. Ishida, R. Hirota, T. Ikeda, K. Sekiguchi, A. Kuroda, Differential counting of asbestos using phase contrast and fluorescence microscopy, *Annals of Occupational Hygiene*, 60 (9), 1104-1115 (2016). doi: 10.1093/annhyg/mew055. (査読あり)

2) A. Kuroda, M. Alexandrov, T. Nishimura, T. Ishida, Rapid on-site detection of airborne asbestos fibers and potentially hazardous nano materials using fluorescence microscopy-based biosensing, *Biotechnology Journal*, 11(6), 757-767 (2016). doi: 10.1002/biot.201500438. (査読あり)

3) M. Alexandrov, E. Ichida, T. Nishimura, K. Aoki, T. Ishida, R. Hirota, T. Ikeda, T. Kawasaki, A. Kuroda, Development of an automated asbestos counting software based on fluorescence microscopy, *Environ Monit Assess*, 187, 4166-4167 (2015). doi: 10.1007/s10661-014-4166-y. (査読あり)

4) T. Ishida, M. Alexandrov, T. Nishimura, K. Minakawa, R. Hirota, K. Sekiguchi, N. Kohyama, and A. Kuroda, Molecular engineering of a fluorescent bioprobe for sensitive and selective detection of amphibole asbestos, *PLoS ONE*, 8(9):e76231 (2013) doi: 10.1371/journal.pone.0076231. (査読あり)

他 3 件

〔学会発表〕(計 25 件)

1) 黒田章夫, バイオを利用したアスベストの検出技術開発, 電気化学会「安全・安心のためのバイオセンシング」, 2017年3月25日、東京(八王子市)

2) 黒田章夫, バイオと材料の界面制御の技術開発, JACI 電子情報技術部会マイクロナノシステムと材料・加工分科会 講演会. 2017年3月7日、東京(千代田区)

3) 黒田章夫, 野外でのバイオ検査を目的とした携帯型蛍光顕微鏡の開発, 国際バイオテクノロジー展, 2016年5月12日、東京(江東区)

他 22 件

〔図書〕(計 5 件)

1) 黒田章夫

アスベスト検知装置, 建築設備と配管工事, 54 (8), 40-43 (2016)

2) 黒田章夫, 石田丈典, 西村智基, アレキサンドロフマキシム

バイオ技術を駆使したアスベストの検出技術, 化学工業, 65(7), 524-531(2014)

他 3 件

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

1) 名称: アスベスト小体の溶解剤、アスベスト小体の溶解方法、およびアスベストを原因とする中皮腫の発生予防剤

発明者: 黒田章夫、石田丈典

権利者: 広島大学

種類: 特許

番号: 特願 2016-115754

出願年月日: 平成 28 年 6 月 9 日

国内外の別: 国内

2) 名称: 結晶構造を有する物質に結合するプロテインタグ、および、その利用

発明者: 黒田章夫、石田丈典

権利者: 広島大学

種類: 特許

番号: 特願 2015-185940

出願年月日: 平成 27 年 9 月 18 日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等:

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/akuroda/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒田 章夫 (Akio KURODA)

広島大学・先端物質科学研究科・教授

研究者番号: 50205241

(2) 連携研究者

楯 真一 (Shinichi TATE)

広島大学・理学研究科・教授

研究者番号: 20216998