

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450128

研究課題名(和文) レクチンのタンパク質工学的改変による活性発現機構解明とその有用機能開発

研究課題名(英文) Elucidation of the action mechanisms lectins through protein engineering techniques and their application to the development of novel functions

研究代表者

畠山 智充 (HATAKEYAMA, Tomomitsu)

長崎大学・工学研究科・教授

研究者番号：50228467

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：多彩な生理活性を発現するレクチンの生理活性発現機構を、タンパク質工学的な改変を行うことにより詳細に活性発現機構を解析するとともに、そこで得られた知見を基盤として新たな有用機能をもつ新規タンパク質の開発を行った。研究対象としては、主に海産無脊椎動物のレクチンを用い、特に数種類のレクチンに関しては、その遺伝子クローニングにより全配列を決定するとともに、X線結晶構造解析によって新規な立体構造の解明を行った。さらにそれらの組換えタンパク質を大腸菌を用いて発現させるとともに、遺伝子組み換え技術を用いて個々のアミノ酸の役割を解明し、新規な活性を有するレクチンの開発などに成功した。

研究成果の概要(英文)：The mechanisms of the action of lectins were analyzed in detail by the protein engineering techniques, and the novel proteins with new useful functions were developed based on the findings obtained there. In this study, lectins from the marine invertebrates were used. Their entire sequences were determined by the cDNA cloning, and the novel three-dimensional structures were elucidated by X-ray crystallographic analysis. In addition to expressing these recombinant proteins using E. coli cells, we elucidated the role of individual amino acid residues using genetic recombination techniques and successfully developed lectins having novel activities.

研究分野：蛋白質科学

キーワード：レクチン 蛋白質工学 糖鎖 X線結晶構造解析 部位特異的変異

1. 研究開始当初の背景

レクチンは生物体内に広く存在する糖結合タンパク質の総称であり、免疫、発生・分化、細胞内でのタンパク質輸送・フォールディングなど、糖鎖を介して分子認識や細胞間認識に重要な役割を果たすことが知られている。著者らはこれまでに、無脊椎動物から様々なレクチンを単離し、その構造と機能について明らかにしてきた。特に、棘皮動物のナマコ類に属するグミ (*Cucumaria echinata*) から得られた 3 種類の Ca^{2+} 依存性レクチン CEL-I, CEL-III, CEL-IV については、X 線結晶構造解析により詳細な立体構造を明らかにするとともに、種々の生化学的手法を用いてその糖認識機構の解析を進めてきた。中でも CEL-III は、強い溶血活性や細胞毒性を示す極めて特異な活性を示すレクチンであるが、これは CEL-III が細胞表面糖鎖に結合した後に細胞膜内で自己会合し、膜貫通チャネルを形成するためであることを明らかにした。一方、同じグミから精製された CEL-I 及び CEL-IV は C 型レクチンに属しており、これらの糖結合部位アミノ酸を適切にデザインすることによって、新規な分子認識能を付与することが可能であることを示した。

2. 研究の目的

(1) 溶血性レクチン CEL-III の部位特異的変異体の作製とその膜孔形成複合体構造の解明

CEL-III は標的細胞膜表面糖鎖と結合することが引き金となって細胞膜内でオリゴマー化し、膜貫通チャネルを形成する。このような大きな立体構造変化は、ドメイン 3 内の様々なアミノ酸残基同士の相互作用の結果であることから、その詳細を解明するために、網羅的な部位特異的変異体を作製することによって、個々のアミノ酸の役割を明らかにする。特にドメイン 3 内を中心に多数の部位特異的変異体を作製し、そのオリゴマー化及び溶血活性への影響を検討する。

(2) 新規無脊椎動物レクチンの探索とそのタンパク質工学的改変による新規有用タンパク質開発

主に数種類の海産無脊椎動物由来レクチンを対象にして、糖特異性変換の試みを行う。現在、グミから得られる CEL-IV についても、弱いながらガラクトースからマンノース特異性を上昇させることに成功している。また、グミ以外にも海産無脊椎動物にはこれまでに知られていない特異な活性と構造を有するレクチンが多く存在することが予想される。そこで、二枚貝類のマガキやウチムラサキ、刺胞動物のイシワケイソギンチャク、棘皮動物のラッパウニなど数種の海産無脊椎動物から新規なレクチンを単離し、それらの立体構造を解析する。それによって、これまでに知られていないレクチンの糖認識機構を明らかにするとともに、生体内糖鎖の分析

や単離及び新規な特異性を有するレクチンのデザインや組換え体発現用のタグとして応用する可能性などを検討する。さらに、ラッパウニ棘中の毒液に存在する数種のレクチンは特異な生理活性を有することが知られており、これらの活性発現機の解明にもつなげていく。

3. 研究の方法

(1) CEL-III の部位特異的変異体作製とその膜孔複合体形成能への影響の解析

CEL-III の溶血活性は、標的細胞膜内での七量体形成能に大きく依存していることから、CEL-III オリゴマー中の構成プロトマー同士の相互作用に関与していることが予想されるアミノ酸残基を中心に、異なるアミノ酸に置換した部位特異的変異体を作製する。ターゲットとするアミノ酸残基としては、細胞膜上で基礎的なリング構造を形成している bundle 領域を中心とする。この領域は、CEL-III が膜上で会合するために最初に分子間で相互作用するのに重要であるものと考えられ、膜孔となる パレルを形成する前段階であるプレポア (prepore) を形成する上で大きな役割を果たしているものと考えられる。一方、糖結合ドメイン 1, 2 も膜孔複合体中で外側のリングを形成し、膜上で表面糖鎖との結合によって複合体安定化に寄与していることが推定される。そこで、このドメイン 1, 2 におけるプロトマー同士の相互作用に寄与しているアミノ酸についても変異体を作製し、七量体形成能への影響を検討する。

(2) 部位特異的変異によるレクチンの糖結合特異性変換とその構造決定

C 型レクチン CEL-I の糖結合部位に存在する糖結合モチーフ QPD 配列を EPN に変えるとともに、ガラクトースの疎水面と相互作用する W105 を H105 に置換した部位特異的変異体 (EPNH-CEL-I) がどのようにしてマンノースを認識するのかを、さらに多くの変異体を作製することによって解析する。また、ポリアミドアミンデンドリマーにマンノオリゴ糖などの糖鎖を付加した糖鎖含有ポリアミドアミンデンドリマー (sugar-PD) を用いて種々の糖鎖との結合活性を検討する。

(3) 新規レクチンの探索とその構造決定

海産無脊椎動物にはこれまでに知られていない多くのタイプのレクチンが存在することが予想される。これまでに詳細な研究を行ったグミ以外に、二枚貝類、イソギンチャク類、ウニ類などからも新規なレクチンを単離し、その構造及び糖認識機構を明らかにするために、cDNA クローニングや組換え体発現、さらに X 線結晶構造解析を行う。

4. 研究成果

(1) CEL-III の部位特異的変異体作製とその

膜孔複合体形成能への影響の解析

CEL-III のオリゴマー化に關与するアミノ酸残基の役割を明らかにするために、ドメイン3内に位置する複数のアミノ酸残基に対する変異体 K338R, N369A, D371K, K405E, K405R を作製した。これらの変異体の溶血活性評価を行った結果、K338R は野生型 (WT-) CEL-III と同程度の活性を示し、K405E, K405R は赤血球凝集活性を示すとともに溶血活性を示したが、N369A, D371K は活性が確認されなかった。また、D371K では溶血活性が消失したが、これは Lys405 との静電反発が生じたために膜孔形成が抑制され、活性が低下したためであると考えられた。一方、Asn369 は CEL-III オリゴマー間での相互作用に重要な寄与をしていることが強く示唆された。Lys338 については、これまでの研究から、Ala 置換変異体の活性が大きく低下することが知られていたが、今回作製した K338R については WT-CEL-III と同程度の活性を示したことから、この残基の正電荷が活性に重要な寄与をしていることが示唆された。

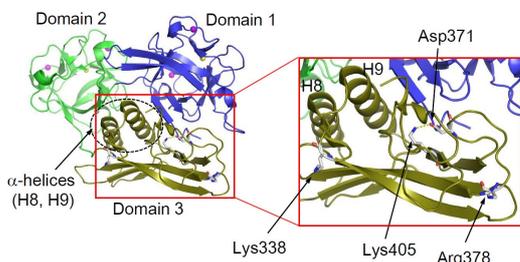


図1. CEL-III のドメイン3の構造

(2) 部位特異的変異によるレクチンの糖結合特異性変換とその構造決定

グミのガラクトース特異的レクチン CEL-I の QPD 配列を EPN 配列に変えたとともに、Trp105 をヒスチジン残基に置換した組換え体 (EPNH-CEL-I) を作製した結果、EPNH-CEL-I はマンノースに対する親和性が著しく上昇しており、His105 がマンノースとの結合を増強させていることが明らかになった。このことから、C型レクチンのガラクトースまたはマンノース特異性は QPD 及び EPN 配列のみではなく、近傍に位置するアミノ酸残基の性質によって大きく左右されることが明らかになった。さらに、この105番目に位置するアミノ酸残基の役割を明らかにするために、Tyr 及び Ala 置換体についても作製し、その糖結合性を検討した結果、Tyr 置換体はマンノース及びガラクトースの両者に結合したが、Ala 置換体はマンノースのみ結合性を示した。このことから、この105番目のアミノ酸の疎水性が糖特異性に重要であり、疎水的相互作用の低下とともにマンノースへの特異性が高まることが明らかになった。

(3) 新規レクチンの探索とその構造決定

海産無脊椎動物レクチンとして、新たに二

枚貝ウチムラサキ (*Saxidomus purpuratus*) 由来の SPL, 刺胞動物イシワケイソギンチャク (*Gyactis japonica*) 由来の GJL-I, ラッパウニ (*Taxopneustes pileolus*) 由来の SUL-I の精製, cDNA クローニングならびに X 線結晶構造解析を行った。

SPL は、cDNA クローニングを行った結果、A鎖及びB鎖として配列が決定された。二量体としての SPL は SPL-a と SPL-b の2種類が得られ、それぞれ A鎖と B鎖から成るヘテロ二量体 (SPL-a) または B鎖のみから成るホモ二量体 (SPL-b) であることがわかった。さらに、両者の X 線結晶構造解析から、立体構造的には C型糖認識ドメイン構造と非常に類似しており、SPL は C型レクチンファミリーに属することが明らかになったが、通常の C型レクチンと異なり、両者とも Ca^{2+} 依存性が低く、X 線結晶構造解析の結果、 Ca^{2+} を介さず糖のアセトアミド基を主に認識していることが明らかになった。

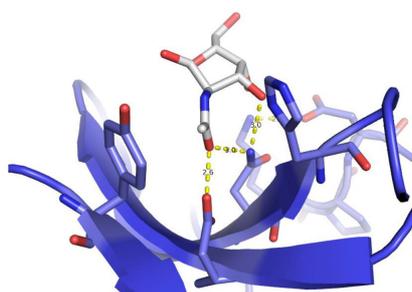


図2. SPL の N-アセチルグルコサミン結合様式

GJL-I については N-末端がブロックされていたため、内部の部分アミノ酸配列をもとに cDNA クローニングを行い、全長のアミノ酸配列を決定した。GJL-I についても X 線結晶構造解析を行った結果、N-末端アミノ酸がピログルタミン酸に変換されていること、また、C型レクチンと類似した糖認識能を持つにもかかわらず、全体構造や糖結合部位構造はこれまでに見出されていない全く新しいタイプのレクチンであることが明らかになった。

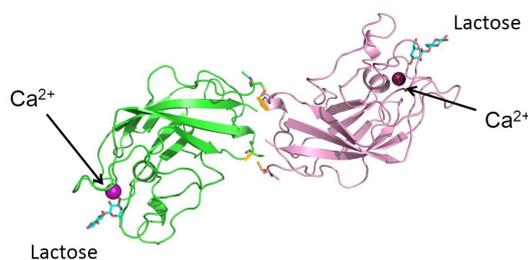


図3. GJL-I の立体構造

SUL-I についても cDNA クローニングを行った結果、魚卵に多く見いだされるラムノース結合レクチン (RBL) と類似した3つのドメインから成ることが明らかになった。X 線結晶構造解析の結果から RBL との立体構造類似性が示されたが、3つのドメインから成

る RBL 類似レクチンは今回初めて構造が決定されたものであり、その立体構造から、標的細胞膜上の糖鎖を 3 つの糖結合部位によって架橋することにより細胞毒性などの生物活性を発現することが示唆された。

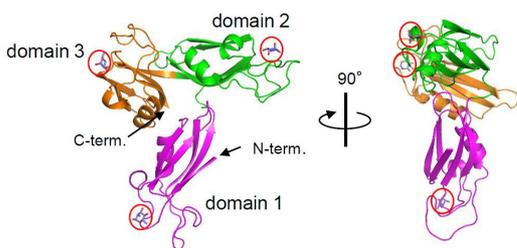


図 4 . SUL-I の立体構造

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) Tomomitsu Hatakeyama, Shuichiro Goda, Hideaki Unno, Mechanism of action of the pore-forming lectins mediated by binding to cell surface carbohydrate chains, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 査読有 , 28(161), E55-E60 (2016)
DOI: 10.4052/tigg.1427.1E
- (2) Tomonao Nagao, Risa Masaki, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Tomomitsu Hatakeyama, Effects of amino acid mutations in the pore-forming domain of the hemolytic lectin CEL-III, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 査読有 , 80(10), 1966-1969 (2016)
DOI: 10.1080/09168451.2016.1176520
- (3) Hideaki Unno, Kazuki Matsuyama, Yoshiteru Tsuji, Shuichiro Goda, Keiko Hiemori, Hiroaki Tateno, Jun Hirabayashi, Tomomitsu Hatakeyama, Identification, characterization, and X-ray crystallographic analysis of a novel type of mannose-specific lectin CGL1 from the pacific oyster *Crassostrea gigas*, *Scientific Reports*, 査読有 , 6, article number 29135 (2016)
DOI: 10.1038/srep29135
- (4) Tomomitsu Hatakeyama, Ayaka Ichise, Tomokazu Yonekura, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Hideyuki Nakagawa, cDNA cloning and characterization of a rhamnose-binding lectin SUL-I from the toxopneustid sea urchin *Toxopneustes pileolus* venom, *Toxicon*, 査読有 , 94, 8-15 (2015)
DOI: 10.1016/j.toxicon.2014.11.236
- (5) Hiromi Moriuchi, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Hiroaki Tateno, Jun Hirabayashi, Tomomitsu Hatakeyama, Mannose-recognition mutant of the galactose/N-acetylgalactosamine-specific C-type lectin CEL-I engineered by site-directed mutagenesis, *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 査読有 , 1850(7), 1457-1465 (2015)
DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.04.004
- (6) Tomomitsu Hatakeyama, Erika Higashi, Hideyuki Nakagawa, cDNA cloning and expression of Contractin A, a phospholipase A₂-like protein from the globiferous pedicellariae of the venomous sea urchin *Toxopneustes pileolus*, *Toxicon*, 査読有 , 108, 46-52 (2015)
DOI: 10.1016/j.toxicon.2015.09.040
- (7) Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Tomomitsu Hatakeyama, Hemolytic lectin CEL-III heptamerizes via a large structural transition from α -helices to β -barrel during the transmembrane pore-formation process, *Journal of Biological Chemistry*, 査読有 , 289(18), 12805-12812 (2014)
DOI: 10.1074/jbc.M113.541896
- (8) Yuta Kato, Kazunori Kochi, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Tomomitsu Hatakeyama, Manno-oligosaccharide-binding ability of mouse RegIV/GST-fusion protein evaluated by complex formation with the carbohydrate-containing polyamidoamine dendrimer, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 査読有 , 78(11), 1906-1909 (2014)
DOI: 10.1080/09168451.2014.940834

[学会発表](計 37 件)

- (1) 板倉周平, 郷田秀一郎, 海野英昭, 皇山智充, ヘテロ二量体からなる新規二枚貝由来 C 型レクチン SPL の構造と糖結合特性, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.9.26, 仙台国際センター / 東北大学川内北キャンパス (宮城県・仙台市)
- (2) 郷田秀一郎, 梶山晃成, 永野結花, 内田拓郎, 海野英昭, 皇山智充, 超好熱アーキア *Sulfolobus tokodaii* 由来アルコール脱水素酵素の熱活性化による構造変化, 第 89 回日本生化学会大会, 2016.9.24, 仙台国際センター / 東北大学川内北キャンパス (宮城県・仙台市)
- (3) 板倉周平, 郷田秀一郎, 海野英昭, 皇山智充, Ca²⁺非依存性 C 型レクチン SPL の糖認識機構, 日本農芸化学会 2016 年度西日本支部大会, 2016.9.15, 長崎大学文教キャンパス (長崎県・長崎市)
- (4) 中村梓, 郷田秀一郎, 海野英昭, 皇山智充, イシワケイソギンチャク由来 Ca²⁺依存性レクチン GJL-I の構造と糖認識能, 日本農芸化学会 2016 年度西日本支部大会, 2016.9.15, 長崎大学文教キャンパス (長崎県・長崎市)
- (5) Azusa Nakamura, Shuichiro Goda, Hideaki Unno, Tomomitsu Hatakeyama, Crystal structure of a novel Ca²⁺-dependent lectin

- GJL-I from the sea anemone *Gyactis japonica* and its carbohydrate-recognition mechanism, The 30th Anniversary Symposium of the Protein Society, 2016.7.17, Hyatt Regency Baltimore, Baltimore (USA)
- (6) Shuhei Itakura, Shuichiro Goda , Hideaki Unno, Tomomitsu Hatakeyama, Structure and carbohydrate-binding properties of a C-type lectin SPL with novel carbohydrate-recognition motifs, The 30th Anniversary Symposium of the Protein Society, 2016.7.17, Hyatt Regency Baltimore, Baltimore (USA)
- (7) 中村 梓, 及川大翔, 森 伸伍, 舘野浩章, 平林 淳, 山口健一, 郷田秀一郎, 海野英昭, 畠山智充, イシワケイソギンチャク由来新規 Ca^{2+} 依存性レクチン GJL-I の立体構造と糖認識機構, 平成 28 年度日本生化学会九州支部例会, 2016.5.13, 鹿児島大学郡元キャンパス (鹿児島県・鹿児島市)
- (8) 板倉周平, 郷田秀一郎, 海野英昭, 畠山智充, ウチムラサキ由来 C 型レクチン SPL の cDNA クローニング及び X 線結晶構造, 平成 28 年度日本生化学会九州支部例会, 2016.5.13, 鹿児島大学郡元キャンパス (鹿児島県・鹿児島市)
- (9) 郷田秀一郎, 梶山晃成, 永野結花, 内田拓郎, 海野英昭, 畠山智充, 超好熱アーキア由来アルコール脱水素酵素の熱活性化による酵素活性及び構造の経時変化の解明, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 2016.3.28, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)
- (10) 畠山智充, 東 絵梨花, 海野英昭, 郷田秀一郎, 中川秀幸, ラッパウニ毒素タンパク質 Contractin A の cDNA クローニングと大腸菌による発現, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 2015.3.27, 岡山大学津島キャンパス (岡山県・岡山市)
- (11) 長尾 知直, 真崎 理沙, 郷田 秀一郎, 海野 英昭, 畠山 智充, 溶血性レクチン CEL-III の細胞膜ポア形成ドメイン内におけるアミノ酸残基の機能解析, 第 38 回日本分子生物学会年会, 第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015.12.1, ポートアイランド (兵庫県・神戸市)
- (12) 中村 梓, 及川 大翔, 森 伸伍, 郷田 秀一郎, 海野 英昭, 畠山 智充, イシワケイソギンチャク由来 Ca^{2+} 依存的ガラクトース特異性レクチン GJL-I の糖結合特異性と立体構造, 第 38 回日本分子生物学会年会, 第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015.12.1, ポートアイランド (兵庫県・神戸市)
- (13) 川北 晃寛, 市瀬 彩香, 中川 秀幸, 畠山 智充, ラッパウニの叉棘毒液由来ラムノース結合レクチン SUL-I の立体構造解析, 第 38 回日本分子生物学会年会, 第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015.12.1, ポートアイランド (兵庫県・神戸市)
- (14) 梶山 晃成, 永野 結花, 内田 拓郎, 海野 英昭, 畠山 智充, 郷田 秀一郎, 超好熱アーキア由来アルコール脱水素酵素の熱活性化による酵素活性及び構造の変化の解明, 第 38 回日本分子生物学会年会, 第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015.12.1, ポートアイランド (兵庫県・神戸市)
- (15) 古賀 智之, 山下 謙一郎, 海野 英昭, 畠山 智充, 郷田 秀一郎, 超好熱アーキア *Pyrococcus horikoshii* 由来 S-layer タンパク質の機能及び安定性の解明, 第 38 回日本分子生物学会年会, 第 88 回日本生化学会大会 合同大会, 2015.12.1, ポートアイランド (兵庫県・神戸市)
- (16) 中村 梓, 及川大翔, 森 伸伍, 郷田秀一郎, 海野英昭, 畠山智充, イシワケイソギンチャク由来新規 Ca^{2+} 依存性レクチン GJL-I の構造解析と糖認識機構の解明, 日本農芸化学会 2015 年度中四国・西日本支部合同大会, 2015.9.17, 愛媛大学樟味キャンパス (農学部) (愛媛県・松山市)
- (17) 板倉周平, 細田耕平, 須川穰二, 郷田秀一郎, 海野英昭, 畠山智充, ウチムラサキ由来レクチン SPL の cDNA クローニング及び構造機能解析, 日本農芸化学会 2015 年度中四国・西日本支部合同大会, 2015.9.17, 愛媛大学樟味キャンパス (農学部) (愛媛県・松山市)
- (18) 長尾知直, 真崎理沙, 郷田秀一郎, 海野英昭, 畠山智充, ポア形成レクチン CEL-III の溶血活性に關与するアミノ酸残基の機能解析, 日本農芸化学会 2015 年度中四国・西日本支部合同大会, 2015.9.17, 愛媛大学樟味キャンパス (農学部) (愛媛県・松山市)
- (19) 郷田秀一郎, 梶山晃成, 永野結花, 内田拓郎, 海野英昭, 畠山智充, 超好熱アーキア由来アルコール脱水素酵素の熱活性化による酵素活性及び構造の経時変化, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015.6.25, あわぎんホール (徳島県・徳島市)
- (20) 海野 英昭, 郷田 秀一郎, 畠山 智充, マガキ由来レクチン CGL-1 の構造・機能解析, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015.6.24, あわぎんホール (徳島県・徳島市)
- (21) 畠山智充, 市瀬彩香, 海野英昭, 郷田秀一郎, 酒井仁美, 中川秀幸, ラッパウニ叉棘毒液由来レクチン SUL-I の組換え体作製と X 線結晶構造解析, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015.6.23, あわぎんホール (徳島県・徳島市)
- (22) 小川佳祐, 米倉政実, 畠山智充, 上妻由章, 多重変異導入による溶血性レクチン

- CEL-III の溶血活性の向上, 第 15 回日本蛋白質科学会年会, 2015.6.23, あわぎんホール (徳島県・徳島市)
- (23) 中村 梓, 及川 大翔, 森 紳伍, 海野英昭, 郷田秀一郎, 畠山智充, ガラクトース特異的 Ca^{2+} 依存性レクチン GJL-I の cDNA クローニングと X 線結晶構造解析, 平成 27 年度日本生化学会九州支部例会, 2015.5.15, 九州大学 (福岡県・福岡市)
- (24) 海野英昭, 辻 慶輝, 伊東利樹, 郷田秀一郎, 畠山智充, マガキ由来レクチン CGL-1 の構造・機能解析, 平成 28 年度日本生化学会九州支部例会, 2015.5.15, 九州大学 (福岡県・福岡市)
- (25) 真崎 理沙, 長尾 知直, 郷田 秀一郎, 海野 英昭, 畠山 智充, 溶血性レクチン CEL-III のオリゴマー構造解析と溶血活性に關するアミノ酸残基の検索, 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014.11.26, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)
- (26) Hiromi Moriuchi, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Tomomitsu Hatakeyama, Alteration of the carbohydrate-binding specificity of the C-type lectin CEL-I by site-directed mutagenesis, SFG & JSCR 2014 Joint Annual Meeting, 2014.11.16, Hilton Hawaiian Village Waikiki Beach Resort, Honolulu (USA)
- (27) Ayaka Ichise, Hideaki Unno, Shuichiro Goda, Hideyuki Nakagawa, Tomomitsu Hatakeyama, Expression and characterization of the recombinant lectin SUL-1 derived from the venom of the sea urchin *Toxopneustes pileolus*, SFG & JSCR 2014 Joint Annual Meeting, 2014.11.16, Hilton Hawaiian Village Waikiki Beach Resort, Honolulu (USA)
- (28) 海野英昭, 辻 慶輝, 伊東利樹, 郷田秀一郎, 畠山智充, マガキ由来レクチン CGL-1 の構造・機能解析, 第 87 回日本生化学会大会, 2014.10.15, 国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都 (京都府・京都市)
- (29) 市瀬彩香, 海野英昭, 郷田秀一郎, 中川秀幸, 畠山智充, ラッパウニ叉棘由来ガラクトース特異的レクチン SUL-1 の遺伝子クローニングと機能解析, 第 87 回日本生化学会大会, 2014.10.15, 国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都 (京都府・京都市)
- (30) 郷田秀一郎, 永野結花, 内田拓郎, 海野英昭, 畠山智充, 超好熱アーキア由来アルコール脱水素酵素の活性化による構造変化, 第 88 回日本生化学会大会, 2014.10.15, 国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都 (京都府・京都市)
- (31) 森内 裕美, 海野 英昭, 郷田 秀一郎, 畠山 智充, C 型レクチン CEL-I の部位特異的変異による糖結合特異性変換とその結晶構造, 2014 年度日本農芸化学会西

- 日本支部大会, 2014.9.18, 佐賀大学農学部 (佐賀県・佐賀市)
- (32) 市瀬彩香, 海野英昭, 郷田秀一郎, 中川秀幸, 畠山智充, ラッパウニ叉棘レクチン SUL-1 の遺伝子クローニングと機能解析, 2014 年度日本農芸化学会西日本支部大会, 2014.9.18, 佐賀大学農学部 (佐賀県・佐賀市)
- (33) 郷田 秀一郎, 本多 克也, 松川 貴博, 海野 英昭, 畠山 智充, 超好熱アーキア由来不活性型グルタミン酸脱水素酵素の生産機構の解明, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014.6.26, ワークピア横浜・横浜産貿ホール マリネリア (神奈川県・横浜市)
- (34) 海野 英昭, 郷田秀一郎, 畠山 智充, 溶血性レクチン CEL-III の膜孔形成機構, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014.6.24, ワークピア横浜・横浜産貿ホール マリネリア (神奈川県・横浜市)
- (35) 森内 裕美, 海野 英昭, 郷田 秀一郎, 舘野 浩章, 平林 淳, 畠山 智充, GalGalNAc 特異的 C 型レクチン CEL-I の部位特異的変異による Man 特異性への変換, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, 2014.6.24, ワークピア横浜・横浜産貿ホール マリネリア (神奈川県・横浜市)
- (36) 海野 英昭, 郷田秀一郎, 畠山 智充, 溶血性レクチン CEL-III の膜孔形成機構, 平成 26 年度日本生化学会九州支部例会, 2014.5.16, 九大薬学部 (福岡県・福岡市)
- (37) 森内裕美, 海野英昭, 郷田秀一郎, 畠山智充, Man 特異的 C 型レクチン変異体 EPNH-CEL-I の糖認識機構, 平成 26 年度日本生化学会九州支部例会, 2014.5.16, 九大薬学部 (福岡県・福岡市)

〔図書〕(計 1 件)

- (1) Tomomitsu Hatakeyama, Lectins Methods and Protocols (Jun Hirabayashi, Ed.), Chapter 15, Equilibrium dialysis using chromophoric sugar derivatives, 165-171, Humana Press inc. (Springer), New York, 2014

〔その他〕

- ホームページ等
<http://naosite.lb.nagasaki-u.ac.jp/>
<http://www.ch.nagasaki-u.ac.jp/bio/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
 畠山 智充 (HATAKEYAMA, Tomomitsu)
 長崎大学・工学研究科・教授
 研究者番号: 50228467
- (2) 研究分担者
 海野 英昭 (UNNO, Hideaki)
 長崎大学・工学研究科・助教
 研究者番号: 10452872