

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K05841

研究課題名(和文)サーマルプログラミングによる蛋白質ナノブロックの逐次的自己組織化基盤技術の開発

研究課題名(英文) Development of programmed self-assembly technology of protein nanobuilding blocks by thermal control

研究代表者

新井 亮一 (ARAI, Ryoichi)

信州大学・学術研究院繊維学系・准教授

研究者番号：50344023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、新規人工タンパク質WA20の安定化変異体の開発や可逆的に熱変性・再構成する蛋白質ナノブロックの開発、さらにサーマルサイクラーによる温度変化プログラミングにより逐次的に自己組織化させるための基盤的技術の開発を目的とした。まず、変性中点温度が122℃にまで飛躍的に向上した超安定化変異体SUWA (Super WA20)の開発に成功した。また、これを利用して、可逆的に熱変性・再構成する蛋白質ナノブロックSUWA-foldonなどを開発し、温度変化プログラムにより、6量体または12量体の複合体再構成をコントロールできる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規人工タンパク質の安定性が飛躍的に向上した超安定化人工蛋白質変異体SUWA (Super WA20)の開発は、変性中点温度が水の沸点を超える122℃にも達したことは特筆すべきことで学術的にも大きな意義がある。さらに、このSUWAを利用して、温度変化によって可逆的に熱変性・再構成する蛋白質ナノブロックSUWA-foldon等の開発にも成功したことは、今後、蛋白質ナノブロックの応用展開を進めて、社会的な貢献を目指すためにも意義がある成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop of programmed self-assembly technology of protein nanobuilding blocks by thermal control. We developed a hyperstable mutant Super WA20 (SUWA) of a de novo protein WA20. The SUWA protein denatured with an extremely high midpoint temperature ($T_m = 122^\circ\text{C}$), much higher than the T_m of WA20 (75°C). We constructed protein nanobuilding blocks which can be reversibly denatured and reconstituted by temperature control. For example, we developed a protein nanobuilding block, SUWA-foldon, which can be reversibly denatured and reconstituted by programmed temperature changes to control the reconstruction of hexamer or dodecamer complexes.

研究分野：蛋白質工学

キーワード：人工タンパク質デザイン タンパク質ナノブロック 自己組織化 タンパク質安定化 タンパク質複合体 タンパク質工学 タンパク質変性・再生 ナノバイオテクノロジー

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、研究者個人に帰属されます。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

蛋白質は、生体を構成する最も主要な機能性高分子であり、生体内で様々な機能を発揮するナノマシン、ナノマテリアルである。複雑な生命活動を司る機能性高分子である蛋白質を巧みに設計創製し、その構造や機能を自在に制御する分子技術を開拓・確立することができれば、医薬品や健康・医療用材料をはじめ、分子を基盤とする新材料・新デバイス・新プロセス等の創出・開発に革新をもたらすことが期待できる。特に、人工蛋白質の自在な設計構築や複合体の自己組織化技術を開発、応用することができれば、望みの機能性蛋白質ナノ構造複合体の構築が可能となると考えられる。近年の“DNA 折り紙”技術の発展により、DNA によって多様かつ複雑なナノ構造の構築が可能となってきた。しかし、機能性については、未だ今後の課題である。DNA, RNA 等の核酸は基本的に 4 種類の塩基しかないのに対し、蛋白質は化学的にも多様な 20 種類のアミノ酸からなり、その組み合わせは極めて多様である。実際の生体内でも蛋白質は非常に多種多様な機能を担っており、潜在的な機能性や応用発展性は核酸よりも遥かに高いと考えられる。しかしながら、蛋白質分子は、分子量の巨大さ、フォールディング過程や複合体形成の複雑さなどにより、人工蛋白質デザインや自己組織化技術開発は未だ立ち遅れているのが現状である。

近年、当研究グループでは、新規人工設計蛋白質(*de novo protein*, デノボ蛋白質)の創製研究に取り組んできた。特に、プリンストン大学の Michael Hecht 教授との共同研究によりバイナリーパターン法¹を用いて創出された、ユニークなヌンチャク型二量体の新規人工蛋白質 WA20 の X 線結晶構造解析に成功した(Fig. 1)(PDB ID: 3VJF)²。

さらに、独自のヌンチャク型二量体人工蛋白質 WA20 を“辺”とし、T4 ファージの fibrin 由来の三量体形成 foldon ドメイン(PDB ID: 1RFO)を“頂点”とした、蛋白質ナノブロック WA20-foldon を開発した(Fig. 2)³。ゲルろ過クロマトグラフィーによる精製及び各種分子量測定や、小角 X 線溶液散乱(SAXS)解析を行い、6 量体の樽型構造や 12 量体の正四面体型構造を形成することを明らかにした。将来的に、ナノバイオテクノロジーや合成生物学研究等への発展や応用が期待されるが、ナノ材料としての応用を目指した場合、蛋白質ナノブロック複合体構造について、さらなる安定性や自己組織化技術の高度化が求められている。

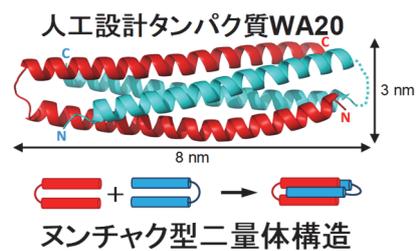


Fig. 1 人工蛋白質WA20立体構造

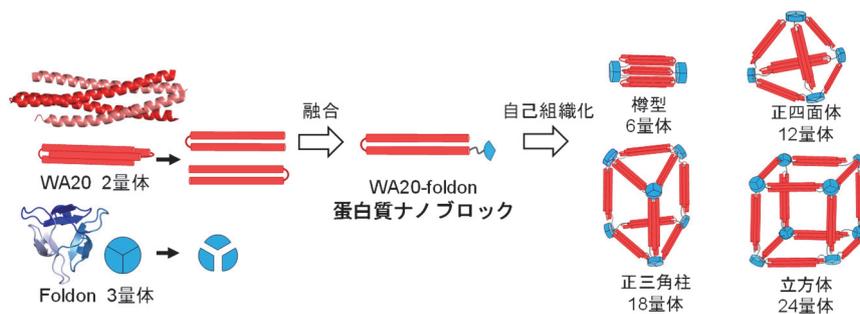


Fig. 2 蛋白質ナノブロックによる自己組織化ナノ構造複合体の構築³

2. 研究の目的

これまでに、独自のヌンチャク型二量体人工蛋白質を利用した蛋白質ナノブロックを開発し、樽型 6 量体及び正四面体型 12 量体等の超分子ナノ構造複合体の構築に成功してきたが、さらに、複雑な構造を構築するためには、段階的に秩序だてて自己組織化させる高度な技術の開発が必要である。そこで、本研究では、異なる温度で可逆的に熱変性・再構成する安定化蛋白質ナノブロックを開発し、温度変化プログラミングにより逐次的に自己組織化させる基盤技術を開発することを目的とした。これにより、蛋白質ナノブロックを利用して、より複雑で高度なナノ構造複合体を作製することが可能となり、独自の分子技術として、ナノテクノロジーの発展への貢献が期待できると考えられる。

3. 研究の方法

蛋白質ナノブロックによるナノ構造構築技術の高度化を目指して、異なる変性温度で可逆的熱変性・再生する蛋白質ナノブロックを構築し、温度変化プログラムにより逐次的に自己組織化する基盤技術を開発するため、以下のような方法により、研究を実施した。

(1) 異なる変性温度で可逆的熱変性するヌンチャク型二量体人工蛋白質の開発及び構造解析

異なる変性温度で可逆的熱変性するヌンチャク型二量体人工蛋白質を開発するために、まず、ヌンチャク型二量体新規人工蛋白質 WA20 の立体構造を基に変異体を合理的に設計した。内側に向いている親水性アミノ酸を疎水性アミノ酸のロイシンに置換することで疎水性コア領域を増強する変異体や α -ヘリックスを安定化する変異体、構造上の比較的大きな空洞部を埋める変異体等を設計した。設計した各変異体をそれぞれ作製し、発現精製後、CD 測定により変性温度の測定を行った。さらに、これらの変異を組み合わせることにより、変性温度が非常に高い変異体 Super WA20 (SUWA) の作製を試みた⁴。また、得られた最も安定性の高い変異体 SUWA の結晶化スクリーニングを行い、X 線結晶構造解析により立体構造を解明した(PDB ID: 6KOS)。

(2) 変性温度の異なるドメインを持つ鎖状蛋白質ナノブロックの開発

まず、2個のWA20を直列にヘリックスリンカー(HL4)やフレキシブルリンカー(FL4)で連結したWA20-HL4-WA20やWA20-FL4-WA20等の鎖状の蛋白質ナノブロックを開発した⁵。次に、これらの異なる変性温度で可逆的に熱変性・再構成する自己組織化蛋白質ナノブロックの開発を目指して、前項(1)において開発した異なる温度で可逆的熱変性するヌンチャク型二量体人工蛋白質安定化変異体を用いて、一つの分子内に変性温度の異なるドメインを持つ鎖状蛋白質ナノブロックSUWA-HL4-WA20やWA20(V71L)-HL4-WA20を構築した。これらの人工蛋白質を大量発現、精製し、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALS)や小角X線散乱(SAXS)などの実験解析を行った。

(3) 安定化蛋白質ナノブロックの開発と温度変化による段階的自己組織化ナノ構造構築

蛋白質ナノブロックWA20-foldonにおいて、WA20の代わりに安定化変異体SUWAを用いた蛋白質ナノブロックSUWA-foldonを構築し、大腸菌により大量発現、精製した。これを用いて、サーマルサイクラーを用いた温度変化プログラムにより、蛋白質ナノブロックSUWA-foldonの熱変性及び段階的再構成を検討した。得られた蛋白質複合体サンプルについて、Native PAGEによる複合体の評価や、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALS)分析による分子量測定、小角X線溶液散乱法(SAXS)による分子サイズ及び概形解析を行った。

(4) 機能化蛋白質ナノブロックの開発と温度変化による自己組織化ナノ構造構築

さらに、新たな蛋白質ナノブロックとして、SUWA-foldonのC末端に免疫グロブリン結合Zドメインを融合した機能化蛋白質ナノブロックSUWA-foldon-Zを構築し、大量発現及び精製を行った。これを用いて、小角X線散乱測定(SAXS)、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱測定(SEC-MALS)、円偏光二色性(CD)スペクトル測定や、免疫グロブリン結合活性等を調べた。さらに、クライオ電子顕微鏡観察及び単粒子構造解析を行った。

4. 研究成果

(1) 異なる変性温度で可逆的熱変性するヌンチャク型二量体人工蛋白質の開発及び構造解析

異なる変性温度で可逆的熱変性するヌンチャク型二量体人工蛋白質を開発するために、まず、WA20の安定化変異体を設計構築した。特に、疎水性コア領域を増強する変異体N34L, V71L, H26L/E78Lや α ヘリックスを安定化する変異体G28Sなどを作製し、発現精製後、CD測定により変性温度の測定を行った。その結果、各変性温度(T_m)が85°C、84°C、101°C、83°Cとなり安定性が向上した。さらにこれらの変異を全て組み合わせるところ、 T_m が122°Cにまで飛躍的に上昇した超安定化変異体Super WA20 (SUWA)が得られた(Fig. 3A)⁴。以上より、異なる変性温度で可逆的熱変性が可能なヌンチャク型二量体人工蛋白質の開発に成功した。さらに、超安定化人工蛋白質変異体SUWAのX線結晶構造解析にも成功し(Fig. 3B)、立体構造や分子動力学シミュレーションに基づいて熱安定化機構の理解が大きく進展した⁴。

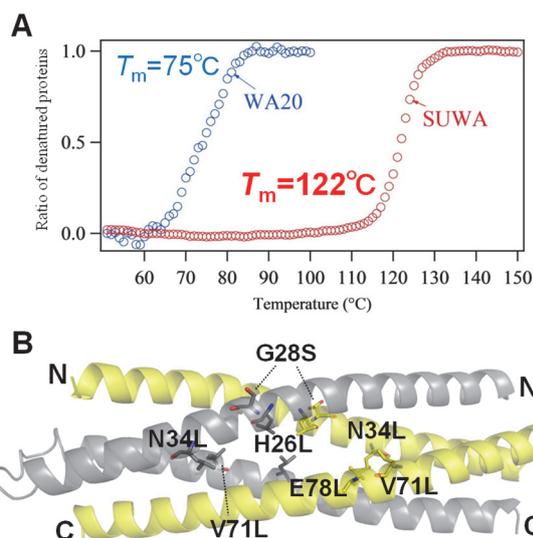


Fig. 3 超安定化変異体SUWAの変性曲線と結晶構造⁴

(2) 変性温度の異なるドメインを持つ鎖状蛋白質ナノブロックの開発

まず、2個のWA20をヘリックスリンカー(HL4)やフレキシブルリンカー(FL4)で直列に連結したWA20-HL4-WA20等の鎖状蛋白質ナノブロックを開発した⁵。次に、これを基に異なる変性温度で可逆的に熱変性・再構成する自己組織化蛋白質ナノブロックの開発するために、一つの分子内に変性温度の異なるドメインを持つ鎖状蛋白質ナノブロックを構築した。Native PAGEを行うと各サンプルともラダー状に複数のバンドが見られ、複数の複合体形成が示された。次に、熱変性・再構成実験を行うと泳動バンドパターンが変化した。また、加熱CDスペクトル測定の結果、SUWA-HL4-WA20とWA20(V71L)-HL4-WA20の各 T_m は、それぞれWA20とSUWAの間の T_m 、WA20とWA20(V71L)の間の T_m を持つことが分かった。また、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱(SEC-MALS)実験の結果、1~6量体を形成しており、変性温度の異なるドメイン間の異種の会合も起こっていることが示唆された。さらに、これらの蛋白質ナノブロックの溶液中での分子サイズと概形構造を調べるために、加熱前後のサンプルについてサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)と小角X線散乱解析(SAXS)を組み合わせるSEC-SAXS実験も行った。その結果、加熱の前後で分子サイズの分布が変化することが示された。

(3) 安定化蛋白質ナノブロックの開発と温度変化による段階的自己組織化ナノ構造構築

上述の超安定化人工蛋白質変異体SUWAを用いて、温度変化により可逆的に熱変性・再構成する蛋白質ナノブロックSUWA-foldonを開発した。SUWA-foldonの部分的熱変性及び再構成の後に、Native PAGEにより複数の自己組織化ナノ構造複合体を検出した。特に再構成前には

見られなかった複合体のバンドが出現したことや、再構成されたサンプルの泳動バンドパターンが熱変性温度に応じて特徴的なバンドが優先的に見られたことから、温度変化プログラムによる部分的熱変性及び段階的再構成、つまり特徴的複合体の選択的形成制御が示唆された。さらに、形成された複合体を SEC-MALS と SAXS により分子量を測定したところ、高温(約 80~90°C)の場合は樽型 6 量体、中程度の温度(約 65~75°C)の場合は正四面体型 12 量体の複合体の選択的形成が示唆された(Fig. 4)。つまり、温度変化プログラムにより、6 量体または 12 量体の複合体再構成をコントロールできる可能性を見出し、温度変化(サーマルプログラミング)による蛋白質ナノブロックの逐次的自己組織化制御の基盤技術の開発において一定の成果が得られたと考えられる。

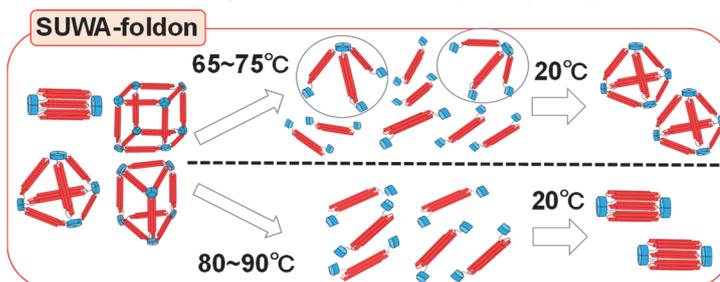


Fig. 4 温度変化による蛋白質ナノブロック複合体選択的形成

(4) 機能化蛋白質ナノブロックの開発と温度変化による自己組織化ナノ構造構築

新たな蛋白質ナノブロックとして、SUWA-foldon の C 末端に免疫グロブリン結合 Z ドメインを融合した機能化蛋白質ナノブロック SUWA-foldon-Z を構築し、小角 X 線散乱測定(SAXS)、サイズ排除クロマトグラフィー-多角度光散乱測定(SEC-MALS)、円偏光二色性(CD)スペクトル測定や、免疫グロブリン結合活性等を調べた。SEC-MALS の結果、SUWA-foldon-Z は 6 量体、9 量体、12 量体、18 量体以上の複合体を形成することがわかった。また、SAXS の結果から、概形構造としては、6 量体は細長い樽型の形状を、9 量体は三角形の板状の形状をしていることが示唆された。さらに、加熱・冷却後によって、複合体を可逆的に熱変性及び再構成することに成功し、各複合体の割合が変化するという興味深い結果が得られた。

さらに、これらの蛋白質ナノブロック複合体をクライオ電子顕微鏡で観察した結果、三角形の粒子が多数観察された。低分解能であったため原子モデルの構築には至らなかったが、ドメイン配置を推定したところ、三角柱状複合体構造の 18 量体である可能性が示唆された。今後の研究の進展が期待される。

<引用文献>

- 1 Hecht, M. H., Das, A., Go, A., Bradley, L. H. & Wei, Y. *De novo* proteins from designed combinatorial libraries. *Protein Sci.* **13**, 1711-1723, (2004).
- 2 Arai, R., Kobayashi, N., Kimura, A., Sato, T., Matsuo, K., Wang, A. F., Platt, J. M., Bradley, L. H. & Hecht, M. H. Domain-swapped dimeric structure of a stable and functional *de novo* four-helix bundle protein, WA20. *J. Phys. Chem. B* **116**, 6789-6797, (2012).
- 3 Kobayashi, N., Yanase, K., Sato, T., Unzai, S., Hecht, M. H. & Arai, R. Self-assembling nano-architectures created from a protein nano-building block using an intermolecularly folded dimeric *de novo* protein. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 11285-11293, (2015).
- 4 Kimura, N., Mochizuki, K., Umezawa, K., Hecht, M. H. & Arai, R. Hyperstable *de novo* protein with a dimeric bisecting topology. *ACS Synth. Biol.* **9**, 254-259, (2020).
- 5 Kobayashi, N., Inano, K., Sasahara, K., Sato, T., Miyazawa, K., Fukuma, T., Hecht, M. H., Song, C., Murata, K. & Arai, R. Self-assembling supramolecular nanostructures constructed from *de novo* extender protein nanobuilding blocks. *ACS Synth. Biol.* **7**, 1381-1394, (2018).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Kimura Naoya, Mochizuki Kenji, Umezawa Koji, Hecht Michael H., Arai Ryoichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Hyperstable De Novo Protein with a Dimeric Bisecting Topology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 254 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.9b00501	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 Kawakami Norifumi, Kondo Hiroki, Matsuzawa Yuki, Hayasaka Kaoru, Nasu Erika, Sasahara Kenji, Arai Ryoichi, Miyamoto Kenji	4. 巻 57
2. 論文標題 Design of Hollow Protein Nanoparticles with Modifiable Interior and Exterior Surfaces	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 12400 ~ 12404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201805565	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 小林直也、新井亮一	4. 巻 58
2. 論文標題 人工タンパク質ナノブロックによる多様な自己組織化ナノ構造複合体の創出	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 313 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.58.313	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 Hirabayashi Jun, Arai Ryoichi	4. 巻 9
2. 論文標題 Lectin engineering: the possible and the actual	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Interface Focus	6. 最初と最後の頁 20180068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsfs.2018.0068	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 小林 直也、川上 了史、新井 亮一	4. 巻 91
2. 論文標題 人工タンパク質ナノブロック複合体の設計開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 255 ~ 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910255	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 -

1. 著者名 入間川伸、新井亮一	4. 巻 269
2. 論文標題 蛋白質ナノブロックによるレクチン超分子複合体の創出戦略	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 690 ~ 696
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 無
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 Arai Ryoichi	4. 巻 10
2. 論文標題 Hierarchical design of artificial proteins and complexes toward synthetic structural biology	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 391 ~ 410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-017-0376-1	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 Kobayashi Naoya, Inano Kouichi, Sasahara Kenji, Sato Takaaki, Miyazawa Keisuke, Fukuma Takeshi, Hecht Michael H, Song Chihong, Murata Kazuyoshi, Arai Ryoichi	4. 巻 7
2. 論文標題 Self-Assembling Supramolecular Nanostructures Constructed from de Novo Extender Protein Nanobuilding Blocks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 1381 ~ 1394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.8b00007	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 小林直也, 新井亮一	4. 巻 94
2. 論文標題 人工蛋白質で「かたち」をつくらう ブロック遊びしようよ!	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 270
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 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 -

1. 著者名 小林直也, 木村尚弥, 新井亮一	4. 巻 94
2. 論文標題 バイナリーパターン配列デザインによるデノボ蛋白質の創出と蛋白質ナノブロックによる超分子複合体の創生	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 485-488
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 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 -

1. 著者名 Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai	4. 巻 46
2. 論文標題 Design and construction of self-assembling supramolecular protein complexes using artificial and fusion proteins as nanoscale building blocks	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Current Opinion in Biotechnology	6. 最初と最後の頁 57-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.copbio.2017.01.001	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61件(うち招待講演 23件/うち国際学会 19件)

1. 発表者名 小幡 隼也, 川上 了史, 包 明久, 宮本 憲二, 吉川 雅英, 新井 亮一
2. 発表標題 切頂二十面体型人工タンパク質ナノ粒子TIP60のクライオ電子顕微鏡解析
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原 航大、Michael H. Hecht、新井 亮一
2. 発表標題 新規人工酵素Syn-F4エンテロバクチンエステラーゼのX線結晶構造解析
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 Gordon Research Conference, Proteins (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nano-building Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 The Protein Society, 33rd Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 RosettaCON 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Thermal Reconstruction of Protein Nanobuilding Block Complexes Using an Ultra-Stable de Novo Protein Domain
3. 学会等名 Innovations in Imaging for the Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井 亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる自己組織化ナノ構造複合体の創製
3. 学会等名 第26回ペプチドフォーラム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-Assembling Supramolecular Nanostructures Constructed from Protein Nano-Building Blocks
3. 学会等名 IPNF 2019 (International Powder and Nanotechnology Forum) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロックによる多様な自己組織化超分子ナノ構造複合体の創出：ネオバイオ超分子の創生を目指して
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笹原健嗣、川上了史、宮本憲二、新井亮一
2. 発表標題 切頂二十面体型人工タンパク質ナノ超分子TIP60のX線小角散乱解析
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、稲野紘一、笹原健嗣、佐藤高彰、宮澤 佳甫、福間 剛士、Michael H. Hecht、ソチホン、村田和義、新井亮一
2. 発表標題 蛋白質ナノブロックePN-Blocksによる自己集合超分子ナノ構造の創製と解析
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Kouichi Inano, Kenji Sasahara, Takaaki Sato, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, Michael H. Hecht, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures constructed from de novo extender protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 The 79th Okazaki Conference Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、稲野紘一、笹原健嗣、佐藤高彰、宮澤 佳甫、福間 剛士、Michael H. Hecht、ソチホン、村田和義、新井亮一
2. 発表標題 デノボタンパク質ナノブロックePN-Blocksによる自己集合超分子ナノ構造の創製と解析
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、稲野紘一、笹原健嗣、佐藤高彰、宮澤 佳甫、福間 剛士、Michael H. Hecht、ソチホン、村田和義、新井亮一
2. 発表標題 デノタンパク質ナノブロックePN-Blocksによる自己集合超分子ナノ構造の創製と解析
3. 学会等名 第6回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、稲野紘一、笹原健嗣、佐藤高彰、宮澤 佳甫、福間 剛士、Michael H. Hecht、ソチホン、村田和義、新井亮一
2. 発表標題 デノタンパク質ナノブロックePN-Blocksによる自己集合超分子ナノ構造の創製と解析
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質ナノブロックによる自己集合超分子複合体ナノ構造の創製と解析、
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Kouichi Inano, Kenji Sasahara, Takaaki Sato, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, Michael H. Hecht, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures constructed from de novo extender protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 Textile Summit 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、稲野紘一、笹原健嗣、佐藤高彰、宮澤 佳甫、福間 剛士、Michael H. Hecht、ソチホン、村田和義、新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックePN-Blocksによる自己集合超分子ナノ構造の創製と解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる自己組織化ナノ構造複合体の創製と解析
3. 学会等名 PF研究会「多様な物質・生命科学研究に広がる小角散乱? 多(他)分野の小角散乱を学ぼう!」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 超安定化人工蛋白質を利用した蛋白質ナノブロック複合体の熱再構成
3. 学会等名 第4回デザイン生命工学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-Assembling Supramolecular Nanostructures Constructed from de Novo Protein Nanobuilding Blocks
3. 学会等名 Research Center for Fungal and Microbial Dynamism (CFMD) International Symposium: New Frontiers in Chemistry and Synthetic Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Naoya Kimura, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructure complexes constructed from protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 The 31st Annual Symposium of the Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Naoya Kimura, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructure complexes constructed from protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 Gordon Research Conference, Synthetic Biology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質ナノブロック(PN-Block)による自己組織化超分子ナノ構造複合体の創出
3. 学会等名 第17回リング・チューブ超分子研究会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる動的秩序構造形成
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 超安定化人工蛋白質SUWAのX線結晶構造解析及び蛋白質ナノブロック動的秩序構造形成への応用
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林直也、仙石琢也、佐藤高彰、新井亮一
2. 発表標題 二量体人工蛋白質WA20のpH依存性構造変化と人工蛋白質ナノブロック複合体の再構成
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質ナノブロックによる超分子複合体ナノ構造の創製
3. 学会等名 バイオ工学シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructure complexes constructed from protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 第5回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロック (PN-Blocks) による自己組織化超分子ナノ構造複合体の創出
3. 学会等名 第11回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 超安定化人工蛋白質SUWAのX線結晶構造解析及び蛋白質ナノブロック動的秩序構造形成への応用
3. 学会等名 第69回日本生物工学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質ナノブロックによる超分子複合体ナノ構造の創出
3. 学会等名 第6回CHUBU懇話会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロック戦略によるネオ・レクチン超分子複合体の創出を目指して
3. 学会等名 生命科学系合同年次大会ConBio2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 笹原 健嗣、木村 尚弥、小林 直也、新井亮一
2. 発表標題 変性温度の異なるドメインを持つタンパク質ナノブロックの構築と解析
3. 学会等名 生命科学系合同年次大会ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 入間川 伸、館野 浩章、平林 淳、新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロック戦略による人工レクチン超分子複合体の創出を目指して
3. 学会等名 生命科学系合同年次大会ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Naoya Kimura, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructure complexes constructed from protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 The 6th International Symposium of Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林直也、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロックの設計開発による自己組織化超分子ナノ構造複合体の創出
3. 学会等名 第16回日本蛋白質科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 超安定化二量体人工蛋白質Super WA20 (SUWA)の安定化機構解析と蛋白質ナノブロックへの応用
3. 学会等名 第16回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロック(PN-Block)による自己組織化ナノ構造創製：“ネオバイオ分子”創出へ向けて
3. 学会等名 第16回日本蛋白質科学会年会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 ネオバイオ分子の構造機能解析及び設計基盤技術（X線結晶構造解析、タンパク質工学 編）
3. 学会等名 第5回ネオバイオ分子研究会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures created from de novo protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 分子研研究会 超機能分子の創成（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Keiichi Yanase, Takaaki Sato, Satoru Unzai, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling nano-architectures created from a protein nano-building block using an intermolecularly folded dimeric de novo protein
3. 学会等名 The 30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Kouichi Inano, Takaaki Sato, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures created by de novo extender protein nano-building blocks
3. 学会等名 The 30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Super WA20 (SUWA), an ultra-stabilized dimeric de novo protein for self-assembling protein nano-building blocks
3. 学会等名 The 30th Anniversary Symposium of the Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる自己組織化超分子複合体の創製
3. 学会等名 第48回若手ペプチド夏の勉強会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 超安定化二量体デノボ蛋白質SUWAの創製と蛋白質ナノブロック複合体構築
3. 学会等名 第48回若手ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロックの設計開発による自己組織化超分子ナノ構造複合体の創出
3. 学会等名 2016年度日本生物工学会中部支部例会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロック (PN-Block) による自己組織化超分子ナノ構造の創製：“合成構造生物学”を目指して
3. 学会等名 第28回高遠・分子細胞生物学シンポジウム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 蛋白質ナノブロック用超安定化人工蛋白質SUWA (Super WA20) の特性解析及び構造解析
3. 学会等名 第68回日本生物工学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nano-architectures created from de novo protein nano-building blocks
3. 学会等名 第68回日本生物工学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Kouichi Inano, Takaaki Sato, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, Michael H. Hecht, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures created by de novo extender protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 第68回日本生物工学会大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Ryoichi Arai, Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Michael H. Hecht
2. 発表標題 De Novo Protein Nano-Building Block Approach for "Synthetic Structural Biology" to Create Artificial Supramolecular Protein Complexes
3. 学会等名 THE 42nd NAITO CONFERENCE ON In the Vanguard of Structural Biology: Revolutionizing Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質をブロックに見立てた超分子ナノ構造複合体の設計構築
3. 学会等名 第54回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 蛋白質ナノブロック用超安定化人工蛋白質SUWA (Super WA20)の特性解析及び構造解析
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林直也、木村尚弥、新井亮一
2. 発表標題 人工蛋白質ナノブロックによる多様な自己組織化超分子ナノ構造複合体：ネオバイオ超分子の創生を目指して
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Dynamical Ordering Nanostructures Constructed from Protein Nanobuilding Blocks
3. 学会等名 The 5th International Symposium of Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井亮一
2. 発表標題 人工タンパク質ナノブロック (PN-Block) による自己組織化超分子ナノ構造複合体の創製：“ネオバイオ分子”創出へ向けて
3. 学会等名 平成28年度第3回富山大学テニュアトラックセミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures created from de novo protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 11th Annual Symposium on Nanobiotechnology 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村尚弥、小林直也、新井亮一
2. 発表標題 タンパク質ナノブロックによる動的秩序構造形成
3. 学会等名 日本化学会第97春季年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Kobayashi, Takuya Sengoku, Takaaki Sato, Ryoichi Arai
2. 発表標題 pH-dependent structural transition of self-assembling nanostructures constructed from protein nanobuilding blocks using a dimeric de novo protein
3. 学会等名 Okazaki Conference 2017 on Grand Challenges in Small-angle Scattering (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Kimura, Naoya Kobayashi, Ryoichi Arai
2. 発表標題 Self-assembling supramolecular nanostructures created from de novo protein nanobuilding blocks
3. 学会等名 Okazaki Conference 2017 on Grand Challenges in Small-angle Scattering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ドメインスワップ二量体人工タンパク質	発明者 新井亮一, 木村尚 弥, 小林直也	権利者 信州大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2016-101203	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>応用生物科学科 新井 亮一 准教授の研究グループ、100 でも変性しない人工タンパク質を開発 http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2020/02/140471.html 高温環境下でも変性しない超安定化人工タンパク質を開発 https://www.shinshu-u.ac.jp/institution/ibs/topics/cat15431/post-35.html SUWA: A hyperstable artificial protein that does not denature in high temperatures above 100 °C https://eurekaalert.org/pub_releases/2020-02/su-sah022820.php 菌類・微生物ダイナミズム創発研究センター新井 亮一 部門長が新たな鎖状連結タンパク質ナノブロックを開発 https://www.shinshu-u.ac.jp/topics/2018/05/post-58.html 応用生物科学科 新井 亮一 准教授ら、新たな鎖状連結タンパク質ナノブロックを開発 http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2018/05/115879.html 小林直也研究員が日本蛋白質科学会で若手奨励賞を受賞 http://www.shinshu-u.ac.jp/institution/iccer/topics/iccer/post-29.html 木村尚弥さん (M2) が分子生物学会で優秀ポスター賞 http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/news/2016/12/76140.html 繊維学部 新井亮一准教授らがまとめた、人工タンパク質超分子複合体構築に関する総説が掲載 http://www.shinshu-u.ac.jp/topics/2017/02/-current-opinion-in-biotechnology.html 新井研究室ホームページ http://fiber.shinshu-u.ac.jp/arai/index.html</p>

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
連携研究者	佐藤 高彰 (SATO Takaaki) (20373029)	信州大学・学術研究院繊維学系・教授 (13601)	