

戦略的創造研究推進事業
ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ

研究領域「医療に向けた自己組織化等の分子配列
制御による機能性材料・システムの創製」

研究課題「プログラマブル人工蛋白質からの組織
体構築」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：芝 清隆
((財)癌研究会癌研究所蛋白創製研究部・部長)

1 研究実施の概要

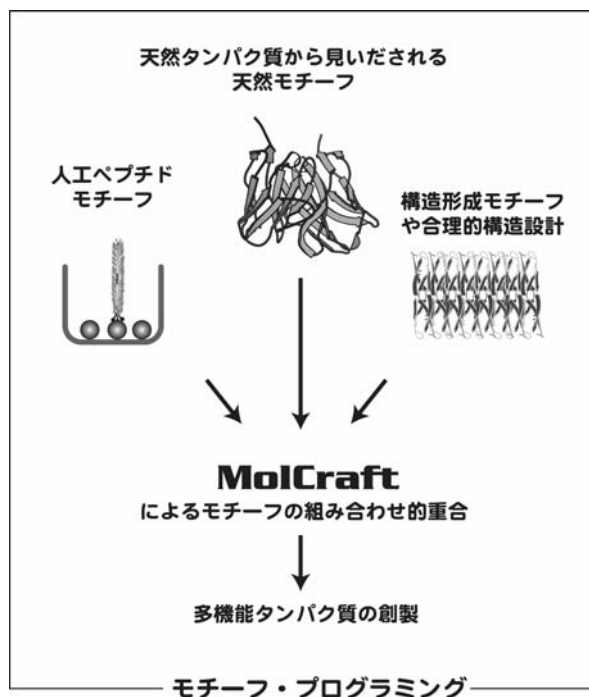
「モチーフ」とは、何らかの機能や構造と関連付けられた短いペプチド配列や核酸配列を意味する。したがって「機能性ペプチド・モチーフ」とは、何らかの機能に対応づけられた短いアミノ酸配列ということになる。

機能性ペプチド・モチーフを組み合わせる事により、複数の機能の組み合わせからなる多機能人工タンパク質の作製が期待できる。機能Aと関連付けられたモチーフと、機能Bで関連付けられたモチーフを組みわせて機能Aと機能Bとをあわせ持つ人工タンパク質を作るわけだ。

確かに2つの機能性ペプチド・モチーフを連結して、2つの機能をもったポリペプチド(タンパク質)を作り出すことができることもある。しかしながら多くの場合、このような単純な加算性はペプチド・モチーフの場合なりたない。モチーフが、タンパク質内で、あるコンテキストで提示された場合には、機能A+Bの二重機能人工タンパク質が得られる。この「あるコンテキスト」の実体がどのようなものなのかは、残念ながらよくわからない。したがって、現実的には、多機能人工タンパク質を機能性モチーフ単位からつくるには、埋め込んだモチーフがいろいろな順番、いろいろな数で連結した「組み合わせ的」な人工タンパク質ライブラリをまず作製し、その中から目的とする多機能人工タンパク質を選択する必要がある。いわゆる進化分子工学、あるいはコンビナトリアルなアプローチである。

複数の機能性ペプチド・モチーフを組み合わせ的に重合するのは、なかなか大変な作業である。幸いなことに、代表者は過去の研究から、**MolCraft** と呼ぶ、独自の人工タンパク質創製手法を開発していた。ここでは、最初に小さなマイクロ遺伝子がデザインされ、これをタンデムに重合することから大きな遺伝子が作られる。重合時にわざと塩基の欠失・挿入変異をランダムに導入することにより、重合体の翻訳産物は1つのマイクロ遺伝子のもつ3つの翻訳読み枠のコンビナトリアルな重合体となる。したがって、1つのマイクロ遺伝子の3つの翻訳読み枠に3つの異なる機能性ペプチド・モチーフをあらかじめ埋め込むことにより、3つのモチーフがコンビナトリアルに出現する人工タンパク質ライブラリを簡単に調製することができる。さらに、**MolCraft** で作製した人工タンパク質は全体的に「繰り返し性」が高く、このことが人工タンパク質にある程度のタンパク質らしさを与えるらしいことも分かりつつあった。

このような背景のもと、本プロジェクトでは、**MolCraft** を用いた機能性ペプチド・モチーフのプログラム機能を利用することにより、天然にはない活性をもった有用人工タンパク質を創製することをめざした。「天然にはなく」「有用である」ことの対象を何に設定するかがポイントであったが、ナノバイオテクノロジーへの展開を念頭におき、「生物が利用したことのない無機材料に特異的に結合する活性」に「天然にはない機能」を求めた。このような無機材料に結合する活性をもつペプチド・モチーフの創製には、90年代に確立したペプチド提示ファージシステムを利用して人工創製することにした。さらに、出口の1つとして、口腔領域



での人工タンパク質の利用を設定した。これは、口腔領域でチタンなどの無機材料が使われていること、骨（歯）誘導能力をもつ天然サイトカインやドラッグなどが比較的よく分かっていること、さらに、人工タンパク質による無機結晶（ヒドロキシアパタイト）の成長制御も視野に入れた実験系が組めることなどを考慮して設定した出口であった。具体的には、最初にインプラント材料であるチタンに特異的に結合する能力をもった人工ペプチド・モチーフをペプチド提示ファージ系で創製することが必要であった。チタン結合モチーフの取得後、**MolCraft** を利用して「チタン結合活性＋種々の生物活性」をもつ人工タンパク質を作製し、モチーフ・プログラミングの概念証明を進めると同時に、口腔領域での実用を念頭においた応用研究を展開していく計画であった。プロジェクトの途中から、派生研究として、チタン結合ペプチドなどの無機材料結合ペプチドを利用したナノ構造形成法の開発に関しても大きな成果をあげることになった。これについても以下に示す。

天然タンパク質にはまねのできない活性として、プロジェクトの開始と共に「チタンに特異的に結合するペプチド」の取得実験を進めた。これは、ペプチド提示ファージシステムと呼ばれる、生物系では広く利用されていた進化分子工学手法の材料科学分野への転用である。予想以上の早さで、われわれはチタン結合ペプチド「TBP-1」を取得することができた。さらに、TBP-1 の変異体の作製とその解析からの結合モデルの提唱、結合特異性の評価、結合能力の定量的解析と、TBP-1 の基礎的性質解析を極めて深いレベルで進めることができた。2000 年以降現在までに、30 近くの無機物結合ペプチドの単離取得が報告されているが、今のところ TBP-1 レベルに詳細に性質解析をおこなったモチーフはまだ存在しない。さらに言うならば、その後のフォロー論文から実際に結合素材としてナノテクノロジー分野で利用できることを示した論文も TBP-1 を含めて数えるほどで、ほとんどの論文は単離されたペプチドの配列を報告することで終わっている。一方で、われわれは TBP-1 の結合能力が十分にチタン表面へのヘテロ分子の配置に利用できることを示すのみならず、後述するような無機物結合ペプチドの結合とミネラル化能力を両方とも活用する全く新しいナノ構造構築法のコンセプトを提出するまでにいたった。現在、数ある無機物結合ペプチドの中で、TBP-1 は実力・知名度においてもトップクラスに位置するものと自負している。

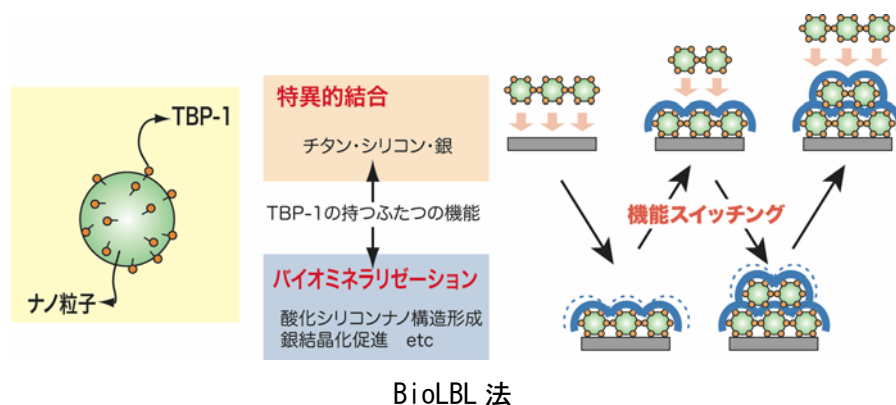
TBP-1 の取得作業と並行して、モチーフ・プログラミングの中心手法となる **MolCraft** の次世代版の開発も進めた。上に述べたようにオリジナルの **MolCraft** では、DNA の片鎖のもつ 3 つの読み枠しか利用していなかったが、両鎖の合計 6 つの読み枠を利用できる **La-MolCraft** を開発した。また、翻訳枠の乗り換えをより高頻度にして、短いペプチド単位での重合体ライブラリを作製する「フレーム・シャッフリング法」も開発した。さらには、理論的にはプログラムするモチーフの数が読み枠の数には制限されない **MolCraft 2.0** も開発することに成功した。

MolCraft によるモチーフ・プログラミングの概念証明を広くおこなうために、「無機材料」とらわれることのない、生物系の機能モチーフのプログラミング実験を積極的に進めた。細胞への自動進入活性をもつモチーフと細胞死を誘導するモチーフのプログラム実験からは、モチーフの潜在的な活性が、それらが提示される人工タンパク質のコンテキストに大きな影響を受けることを示した。また、天然の信号伝達系を形成するタンパク質群に分布する 4 つのモチーフから **MolCraft 2.0** によりモチーフ・シャッフリングをかけると、天然の信号伝達系を正・負にモジュレートする人工的な信号伝達のリワイアリング因子が高頻度で出現することが分かった。信号伝達系の進化に関して示唆を与えると共に、信号伝達系をターゲットとしたタンパク質製剤の開発へ道をつけることができた。

口腔内インプラントの高機能化を念頭においた人工タンパク質のプログラミング実験では、新たに人工進化させたチタン結合ペプチド「TBP-1」を中心に据え、これに種々の生物活性を加算することで、チタン表面の生物機能化を可能とする人工タンパク質の創製を進め

た。1つは、チタンに結合すると同時に、上皮細胞の接着能力をもつ人工タンパク質である。細胞接着能力をもつことで有名な天然タンパク質「フィブロネクチン」とこの人工タンパク質とを比べたところ、人工タンパク質を用いたチタン表面修飾の方が、より早い細胞の定着を観察した。またこの早い細胞定着は細胞斑形成に関わる信号伝達系因子のリン酸化と相関関係があった。「フィブロネクチン」も「人工タンパク質 (TBP-1 + 接着モチーフ)」もどちらもチタン上に結合するが、前者は非可逆的な強い結合に対して、人工タンパク質の場合は、電気的引力を中心とする可逆的な弱い結合である。生体システムが、近傍接合による弱い結合を中心に成立していることを考えると、これまでの基板上への生理活性物質の固相化が強い結合（共有結合や疎水的相互作用）を中心におこなわれていたのに対し、より生体に近いペプチド・アプタマーを用いる固相化が、これまで実現できなかった基板の機能化を実現する可能性を示唆する興味深いデータである。同様の結果が、TBP-1 を用いて MolCraft 法で創製したチタン結合タンパク質と、骨化誘導因子である BMP-2 の融合タンパク質から得られている。すなわち、*in vitro* では、「離れやすい」BMP-2 のチタン板上への固相化の方が「離れにくい」固相化よりも骨化誘導能力が高いという結果である。このような *in vitro* の結果が、どのように臨床へとつながるのかは、*in vivo* 動物実験での評価をまたなければならない。現在、東京歯科大学との共同研究で、「離れやすい」固相化の *in vivo* における効果についてラットを用いて解析を進めている。今後、さらに「可逆的結合を主体とする固相化法」をつきつめていきたいと考えている。

医療分野の人工タンパク質の利用を念頭に開始したこのプロジェクトであるが、その目的のために創製したチタン結合ペプチド(TBP-1)が、デバイス開発分野においても大きな威力を発揮することがわかってきた。すなわち、TBP-1 の特異性と結合能力は、*in aqua* で TBP-1 を提示したナノケー吉安パク質を基板上のナノパターン化したチタン薄膜領域に配置するのに十分であることがわかった。さらに、TBP-1 が結合能力のみならず、シリカ、チタニアなどのミネラル化を促進する能力をもつことが明らかとなった。この事実をもとに、本プロジェクトでは、TBP-1 の結合能力とミネラル化能力を交互にスイッチングしながらナノ多層薄膜を形成していく「BioLBL 法」と名付けた独自の技術を開発するにいたった。水中で生体高分子の特異的結合能力やミネラル化能力を利用して、精緻な高次ナノ構造体を形成することは、ナノバイオテクノロジーの本来の大きな目標である。われわれは、「BioLBL 法」とコンベンショナルなリソグラフ法を組み合わせることにより、*in aqua* で基板上に位置決めした状態で精緻なナノ構造を形成するレベルにまで到達することができた。生体高分子の弱い結合能力を利用し、*in aqua* で複雑な高次自己組織化構造・機能を形成する技術の確立は、バイオナノテクノロジーのもっとも大きな目標であり、省エネルギー、低環境負荷をめざすモノづくりにおいて長期的に取り組んで行かなければならない分野である。今後、本プロジェクトの成果を土台に、弱い相互作用をナノ粒子に人工的に賦与することから、*in aqua* で自己組織化的に高次ナノ構造や時間制御された構造・機能の転移を可能とするようなシステムの確立にむけて進んでいくつもりである。



BioLBL 法

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

機能性モチーフを組み合わせることで多機能人工タンパク質を創製する「プログラマブル人工タンパク質」の概念証明をおこなう。具体的には、複数のモチーフをコンビナトリアルに重合する人工タンパク質創出システムである「**MolCraft**」を用いて、「チタン結合能力」「骨化誘導能力」「ヒドロキシアパタイト誘導能力」などの機能モチーフをもつ多機能人工タンパク質を作製を目指した。最終的な出口として、人工タンパク質の医療分野での利用を意識し、特にチタンインプラント表面の高機能化を可能とする人工タンパク質の創製を目指した。

研究のねらいそのものは「チタンの高機能化」にあるのではなく、機能性モチーフを組み合わせることから複合活性をもつ人工タンパク質を組織するといった、「プログラマブル人工タンパク質」コンセプトの具現化と、この技術をポストゲノム研究、バイオナノ研究のプラットフォーム技術として育てることにあった。また、「チタン」といった無機材料の生物学的な活性化を実現することを通じて、「材料科学」と「生物学」をインターフェイスする新しいサイエンスの確立をめざした。実際、プロジェクト開始後に取得した「チタン結合ペプチド」の研究から、この無機物結合ペプチドを利用したナノ構造形成技術が、派生的な成果として大きく発展し、生体材料を用いたナノデバイスづくり、「バイオナノプロセス」へ大きな貢献を与えることになった。

5年間の研究計画では、(1) 組み合わせの材料となる機能性モチーフを採取する(天然、人工を含む)、(2) モチーフ・プログラミングの主体である「**MolCraft**」を次世代版に進化させる、(3) モチーフ・プログラミングにより多機能人工タンパク質を創製する、(4) 得られた人工タンパク質の機能評価をおこなう、といった研究計画で進めた。また、派生研究として開始した「チタン結合ペプチド」に関しては、(5) 結合機能の解明、(6) チタン結合ペプチドを用いたナノドットの配置、(7) チタン結合ペプチドのミネラル化による活性を利用した新しいナノ構造体形成法の開発、などを新たな目標とした。

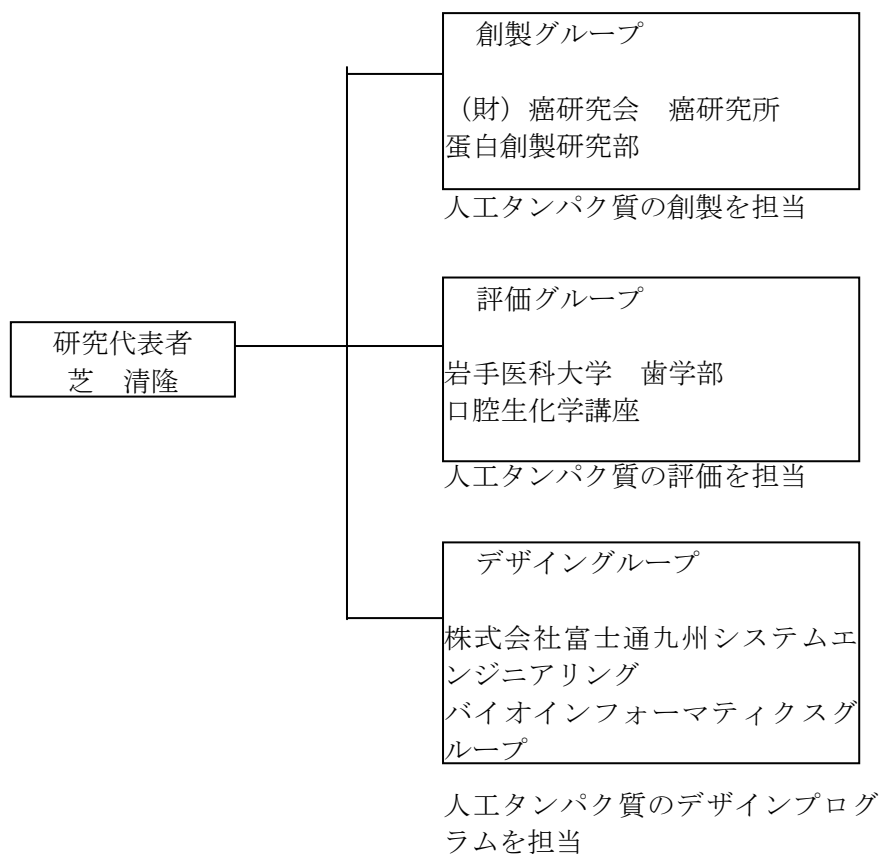
新しいプラットフォーム技術の確立とその応用展開といった基礎と応用の両面をあわせ持つ。次世代版の「**MolCraft**」の開発や、モデルケースとしての多機能人工タンパク質の創製、あるいは「チタン結合ペプチド」の性質解析は「創製チーム」におこない、応用利用を意識した研究を「評価グループ」の仕事と分類した。評価グループの中でも、特に歯科領域に関連した研究は、東京歯科大学との密接な関係で進めた(下に述べるように当初は岩手歯科大学を予定していたが、高岡博士の神戸大学への異動に伴い変更した)。また、デバイス関連への展開研究は CREST 山下一郎博士のチームとの連携で進めた。人工タンパク質の素材となるマイクロ遺伝子のデザインには高機能の計算機を必要とするが、この計算機の維持、およびプログラムの改良は高岡博士の主導による、ネットワーク上での作業を中心とした。

(2) 実施体制

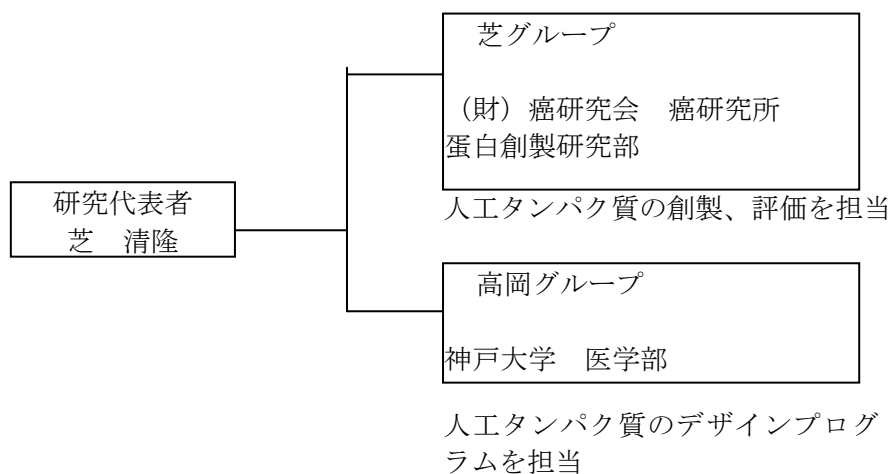
本研究はスタート当時、「創製グループ」「評価グループ」「デザイングループ」と3つのグループに分けてスタートした。研究としては一体化した1つのプロジェクトを推進していくことを前提としていたが、出口の1つとして設定した歯科領域での人工タンパク質の応用研究に対応するため、高岡博士の所属していた岩手歯科大学口腔生化学講座を「評価グループ」として独立させた。また、計算科学関連の開発作業はネットワークを介したヴァーチャルな空間での作業となるので、「デザイングループ」として独立させ、マイクロ遺伝子デザインプログラムの作成実績のある株式会社富士通九州システムエンジニアリングを代表としていた。その後、予算の制限から「デザイングループ」の代表を株式会社富士通九州システムエンジニアリングからサーバーの設置されている癌研究所に変更し、実際の作業は高岡博士とその学生がリモートでおこなう体制に変更した。また、口腔領域での評価研究が始まる前に高岡博士が岩手歯科大学から神戸大学医学部に転職したため、歯科

領域での評価研究を東京歯科大学へと変更した。東京歯科大学は癌研グループのメンバーとして登録し、経緯上、独立した研究グループとしては追加しなかった。その結果、最終的には、人工タンパク質の創製・評価を一体化しておこなう「芝グループ」と計算科学分野の作業を中心に進める「高岡グループ」の2つのグループとなった。予算的、人数的にも「芝グループ」が研究推進の中心グループである。

(2002年) 開始時のグループ編成



(2006年) プロジェクト後半の2グループ体制



3 研究実施内容及び成果

上で説明したように、グループ編成が開始時、3グループであったが、途中で2グループに変更している。ここでは、開始時の体制である3グループに分けて実施内容・成果を記載している。「人工タンパク質の創製」では主に基礎的研究が、「人工タンパク質の評価」では、主に応用指向の研究が進められている。「人工タンパク質のデザインプログラム」は、人工タンパク質作製時の単位となるマイクロ遺伝子のデザインプログラムのネットワーク上での維持、及び改良をおこなわれている。

3.1 人工タンパク質の創製(癌研究会 芝グループ)

(1)研究実施内容及び成果

(i) MolCraft の改良1 : La-MolCraft とフレームシャッフリング

本研究でのプログラマブル人工タンパク質の創出には、既に開発している「MolCraft」と呼ぶ手法を用いている。MolCraft は遺伝子の階層的進化を模倣したユニークな実験室内タンパク質進化系である。すなわち、タンパク質進化の最初の階層として、初歩的な活性をもった小さな機能性ペプチドが、まず誕生し、その次の段階として、これらペプチドが組み合わさることにより、より複雑で大きなタンパク質が進化してくるといったモデルに立脚した試験管内進化システムである。簡単には、階層的進化の第1段階のマイクロ遺伝子ブロックを計算機を用いて合理的にデザインし、次に、このマイクロ遺伝子を重合して第2段階の進化を試験管内で演出するのが MolCraft の実験手順の概要である。

MolCraft の大きな特徴は、重合するマイクロ遺伝子ブロックの数を「1個」に制限することから系を単純化し、汎用性を高めた点である。同時に、得られる人工タンパク質は、「繰り返し性」に富むことになり、この繰り返し性が人工タンパク質に、ある程度の構造、すなわち「タンパク質らしさ」を与えるといった利点がある(文献2)。

繰り返しの単位となるマイクロ遺伝子をデザインする際に、機能と関連付けられた短いペプチド・モチーフを埋め込むことにより、特定機能の人工タンパク質へのプログラムを可能とする。1つの DNA 塩基配列が、読み枠をずらすことにより3つのポリペプチドをコードする、すなわち、1つの DNA 配列が3つの読み枠を持つことを利用し、マイクロ遺伝子の重合時に、積極的に挿入・欠失変異を導入することで、3つの読み枠のコンビナトリアルな重合体を作製するのも MolCraft の特徴である。すなわち、1つの DNA のもつ3つの潜在的な翻訳読み枠全てを MolCraft では利用するわけである。

しかしながら、1つの DNA は、逆平行の2本鎖である。したがって、実際には1つの DNA は、順鎖、逆鎖にそれぞれ3つの読み枠、合計6つの翻訳読み枠をもつことになる。この6つの翻訳読み枠を全て利用することは、通常の MolCraft 反応条件では不可能である。そこで、栄研化学の納富らにより開発された LAMP 法を利用することにより、逆鎖の読み枠を利用できる改変 MolCraft 反応条件を確立することをめざした。

遺伝子プログラミング



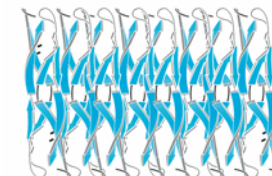
多機能マイクロ遺伝子

```
Q S I A G S Y G K P A S G
A K Y C R V V W K T C K R
R K V L Q G R N E N L Q A S
C C C A A G T A T T C C A G G T C T A T G A A A C T C G A C G C G A G
G C G T T T C A T A A C G T C C C A G C A T A C T T T T G A C G T C G C C T C
```

マイクロ遺伝子重合体



人工タンパク質

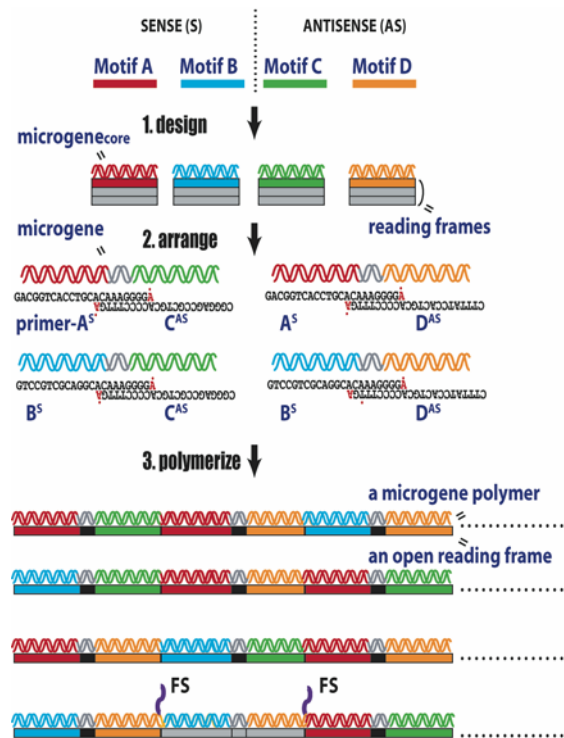


MolCraft によるプログラマブル人工タンパク質の作製

フレームシャッフリングで調製した人工タンパク質ライブラリからは、MolCraft 法で得られるものとは異なる性質をもった人工タンパク質が含まれていることもわかっており、人工タンパク質ライブラリの多様性を増加させる手法として今後の活躍が期待される(文献 21)。

(ii) MolCraft の改良 2 : プログラムモチーフ数の制限から解放

上記で述べた、LA-MolCraft 法を用いることにより、原理的には6つの機能性モチーフを1つのマイクロ遺伝子にプログラムし、6つのモチーフの組み合わせ人工タンパク質ライブラリを調製できるようになった。しかしながら、LA-MolCraft 法では、マイクロ遺伝子のデザインに、LAMP 法の利用からくる制限がかかってしまい、また、反応自体も MolCraft 法のもつ簡便さを犠牲にしなければならない。そこで、MolCraft 法の汎用性を維持しながらも、プログラムできるモチーフの数の制限を受けない新手法の開発に挑戦し、MolCraft 2.0 を完成させた(文献 28)。MolCraft 2.0 では、任意のペプチド・モチーフをコードする「複数種」の一本鎖 DNA をデザインし、これを一つの試験管内で混合することで、確率的に複数のマイクロ遺伝子を形成させる(図参照)。このように改良点はシンプルだが、(1) 任意のペプチド・モチーフを数に制限なく、(2) 翻訳読み枠のフレームシフトに依存せずに、さらに(3) モチーフ出現頻度を調節(一本鎖 DNA の量を調節)しながらライブラリを作製できるといった長所をもつ。この MolCraft 2.0 の実施例を(v)に示してある。



複数のマイクロ遺伝子を確率的に試験管の中で形成させることにほり、埋め込むモチーフの数の制限が理論上なくなる MolCraft 2.0

(iii) モチーフ・プログラミングに用いるモチーフ類の創製・採取

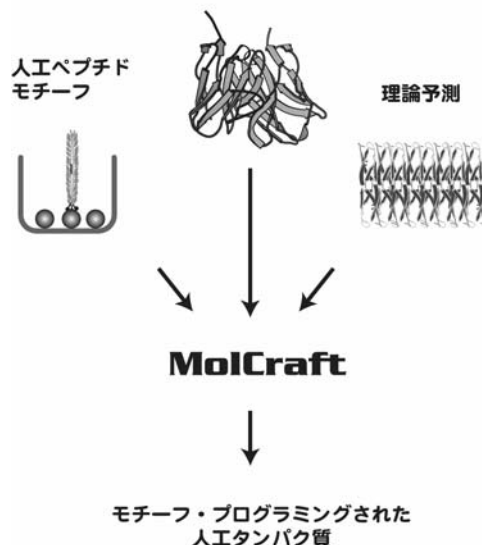
MolCraft やその発展手法を用いることで、機能性モチーフを組み合わせた人工タンパク質ライブラリを作製し、そのライブラリの中から、ねらった機能の組み合わせを持つ人工タンパク質を選択するのが、プログラマブル人工タンパク質の作製方法である。

プログラムする「機能性モチーフ」としては

(1)天然タンパク質の中から既に他の研究者により、同定(あるいは提案)されているモチーフ、(2)天然タンパク質の中から新たに同定する、(3)第1世代の人工進化実験系を用いて創製する機能性ペプチド、(4)物理化学的なタンパク質に関する知識をベースに合理的に設計する、

といった少なくとも4つのものが利用可能である。以下、本プロジェクトで利用したモチーフの数々を紹介しておきたい。

天然タンパク質からの機能モチーフ



モチーフ・プログラミングに利用できる機能性モチーフのいろいろ

(a) チタン結合モチーフ : TBP-1

RKLPDAPGMHTW (minTBP-1 = RKLPDA)

本研究の設定出口の1つとして「チタン材料の人工タンパク質による表面改質」があげられる。ことため、チタンに働きかける機能性モチーフの利用が、本プロジェクトを推進する上で必要不可欠であった。しかしながら、天然タンパク質の中でチタンに何らかのはたらきかけをするものは知られていない。このように、生物が通常利用しない材料に働きかける生体高分子を新たに単離する場合には、いわゆる90年代初頭に確立された、第1世代の進化分子工学の手法をもちいるとよい。すなわち、ランダムなペプチドの中から、チタン表面に特異的に結合するペプチドを選択してくればよい。このような実験には、ペプチド提示ファージ・システムと呼ばれる実験系が用いられる。われわれはプロジェクト開始直後に、ペプチド提示ファージ・システムを利用し、チタンに結合するペプチド・モチーフ「TBP-1」を単離することに成功した(文献 5)。後述するように、TBP-1 はバイオ分野のみならず、デバイス分野でも大きく活躍する、優れた機能性ペプチドであることがわかっている。なお、特異的結合能力をもった人工ペプチドを、「ペプチド・アプタマー」と呼ぶ。

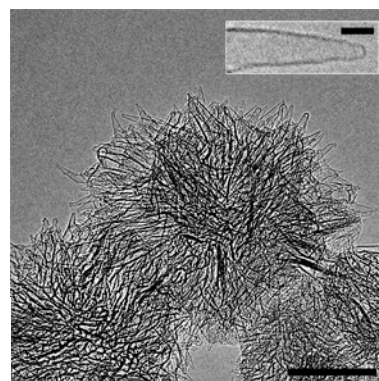
(b) カーボンナノ化合物結合モチーフ : NHBP-1

DYFSSPYEQLF

NHBP-1 は、カーボンナノ化合物の1つであるカーボンナノホーンに対するペプチド・アプタマーとして、やはりペプチド提示ファージ・システムを利用して単離された(文献 13)。後述するように、このペプチドは、高い自己集合能力をもつことが明らかとなっており、この自己集合能力をプログラム

する機能として利用することができる。

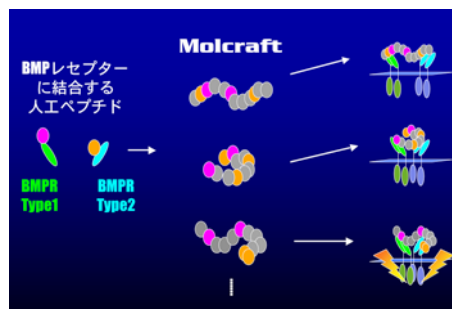
カーボンナノチューブの仲間、カーボンナノホーン。先の閉じたナノチューブの集合物である。



(c) BMP 受容体結合ペプチド

K [I/L] WXLP

サイトカインの受容体に対するペプチド・アプタマーを単離し、アゴニスト、アンタゴニストとして利用しようとする試みは、数多く報告されている。現在までのところ、実用化までにいたったペプチド・アプタマーが存在しないことから考えると、ペプチドレベルでは十分な結合力や特異性が発揮できないのかもしれない。しかも多くのサイトカイン受容体はヘテロ多量体を形成することが信号発生の引きがねとなっているので、短いペプチドでヘテロ多量体形成を誘導するのはなかなか難しいと思われる。われわれは、BMP がタイプ1, タイプ2 ヘテロ受容体複合体に結合する事実を利用し、2つの受容体にそれぞれ結合するペプチド・アプタマーを、ペプチド提示ファージ・システムを利用して取得し、しかる後に、MolCraft を用いてこれら2つの機能性モチーフをプログラムした人工タンパク質ライブラリを調製し、その中から、BMP と同等の活性をもつ人工タンパク質を選びだすことを目指した。まず、2つの受容体にそれぞれ結合するペプチド・アプタマーを取得する実験を開始し、タイプ1に結合するモチーフを単離した。タイプ2受容体に対するペプチド・アプタマーが取得され次第、モチーフ・プログラミングに入る。

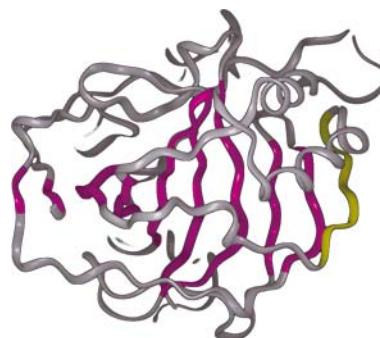


BMP の信号伝達は、タイプ1とタイプ2の受容体が適切な位置関係へと集合させることにより発火する。それぞれの受容体に対するアプタマーをプログラムし、信号伝達を引き起こす人工タンパク質を創製する。

(d) 炭酸カルシウムの結晶化に関する天然モチーフ

NGNNGDNGN

種々の無機物のミネラル化（鉱物化）反応を人工タンパク質で制御する技術を開発することも、本プロジェクトの目標の1つである。モデルケースとしての実験では、真珠層から単離されたナクレインと呼ばれるタンパク質が特徴的に持つグリシンとアスパラギンに富んだモチーフを、ミネラル化に関連した能力を潜在的に持つ天然モチーフとしてプログラム材料にした。



真珠層から単離されたナクレインには炭酸カルシウムの結晶化に関連したモチーフが存在

(e) リン酸カルシウムの結晶化に関する天然モチーフ

ESQES, QESQSEQDS

生物はカルシウム塩をミネラル化の材料として頻繁に用いている。われわれの骨や歯なども、リン酸カルシウムの結晶がその主成分である。本プロジェクトの設定出口には、歯科領域でのプログラマブル人工タンパク質の利用が念頭におかれていることや、リン酸カルシウム結晶を用いた薬剤徐放、医療高分子材料でのリン酸カルシウム沈殿の抑制、といった応用を考えると、炭酸カルシウムよりは、リン酸カルシウムの制御方法の



歯や骨はリン酸カルシウム結晶の1種、ヒドロキシアパタイトが生体高分子の働きによりバイオミネラル化して形成されたものである。その詳細な機構の解明は未だ明らかでない。

確立の方が、より応用的なインパクトが大きいと考えられる。ここでは他の研究グループから報告されている情報を基に、リン酸カルシウムのミネラルゼーションに関連した能力を潜在的に持つ天然モチーフとして、象牙基質タンパク質(DMP-1)由来の酸性アミノ酸に富んだモチーフ2種を用いた。

(f) 細胞接着モチーフ

RGD

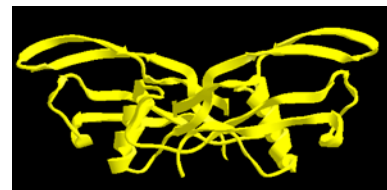
機能性モチーフとして頻用される RGD モチーフを細胞接着活性のプログラムに用いている。RGD は、ファイブネクチンなどの細胞外マトリックスタンパク質に含まれるアミノ酸3残基からなる短いペプチド・モチーフである。インテグリンなど細胞膜タンパク質の結合サイトである。

(g) BMP 断片から BMP 活性をもつモチーフを

KIPKASSVPTELSAISTLYL

天然に存在する大きなタンパク質を一度小さなペプチ

ド断片に仮想的に分解し、次にこれら小さなペプチドをプログラムした人工タンパク質ライブラリを作製し、その中から、天然タンパク質を同じ活性をもつ人工タンパク質を探すことによって、天然タンパク質のもつ機能に関連したペプチド・モチーフを探しだすことができる。すなわち、潜在能力としての機能性ペプチドを、プログラマブル人工タンパク質の創製を通して見いだそうという新しいアプローチである。BMP-2 を4つの仮想モチーフに分解し、それぞれのモチーフをプログラムした人工タンパク質を作製したところ、1つのペプチドから再構成した人工タンパク質に、BMP 様の活性が見いだされた。生理活性タンパク質のダウンサイジングの手法としても使える。

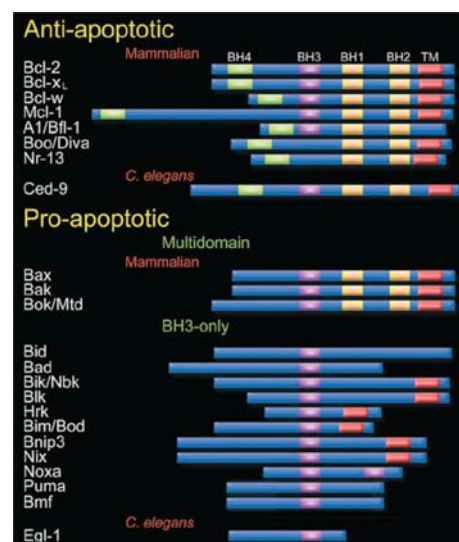


天然のサイトカインを一度仮想ペプチドに分解し、それらを人工タンパク質に再プログラムすることにより親タンパク質と同じ活性を示すペプチドを探索する。

(h) 信号伝達系因子に偏在するモチーフ

BH1 : ELFRDGVN
BH2 : ENGGWDTF
BH3 : LRRFGDKLN
BH4 : RELVVDFL

信号伝達系を形成するタンパク質群の配列をよく見ると、特定のモチーフが、あるグループの中に偏在することが見いだされる。BH1〜BH4 モチーフもそのようなものの1つで、アポトーシス信号伝達系に関わるタンパク質に好んで用いられている。いくつかは機能との対応がついているものもある。基礎、応用の両方に利用可能なモチーフである。

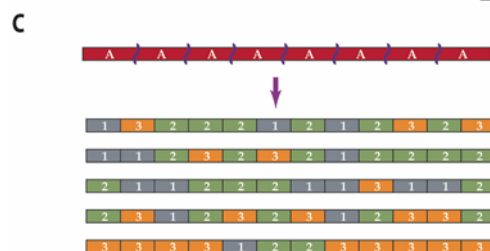
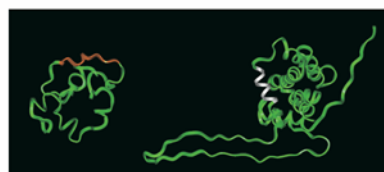


特定の信号伝達関連タンパク質群に、ある種のモチーフが偏在することがある。アポトーシスに関連したタンパク質には、BH1〜BH4 モチーフがコンビナトリアルに出現している。

YGRKKRRQRRR

(iv) モチーフ・プログラミング実施例 1：人工タンパク質製剤

細胞には、不用になった細胞を除去するための自殺機構(アポトーシス)が備わっている。しかしながら多くの癌細胞では、この自殺機構が破綻しており、抗癌剤による DNA 損傷などに応じたアポトーシス誘導プログラムが機能することなく細胞を際限無き増殖へと導いてしまう。このため、癌化細胞に効果的にアポトーシスを誘導する手法開発が、現在の癌研究での大きな目標の1つとなっている。そこでここでは、癌細胞にアポトーシスを誘導できる人工タンパク質の創製を目指して実験を開始した。このような人工タンパク質を創製するためには、「細胞内に侵入し、アポトーシスを誘導する」機能が要求される。よって、天然タンパク質のもつ「細胞内侵入モチーフ：PDT」と「アポトーシス誘導モチーフ：BH3」を一つのマイクロ遺伝子の別々の読み枠に組み込んだ。さらにそれらのモチーフをコードする翻訳読み枠の別の読み枠には、人工タンパク質の構



#284

MRGSHHHHHHGIRRRYPWPQETPTTPPRAEIRRQQLAAIWPQETPTTPPRCGD
SATSSCTGTYGRKKRRORRRAAEIRRQQLAAVYGRKKRRORRRAAEIRRQQLA
AGHAARNAANAANAALRRFGDKLNLRLHVWPQETTPRRRAEIRRQQLAAGMAARN
AANAANAALRRFGDKLNLRLMAARNAANAANAALRRFGDKLNLRLMAARNAAGDLG

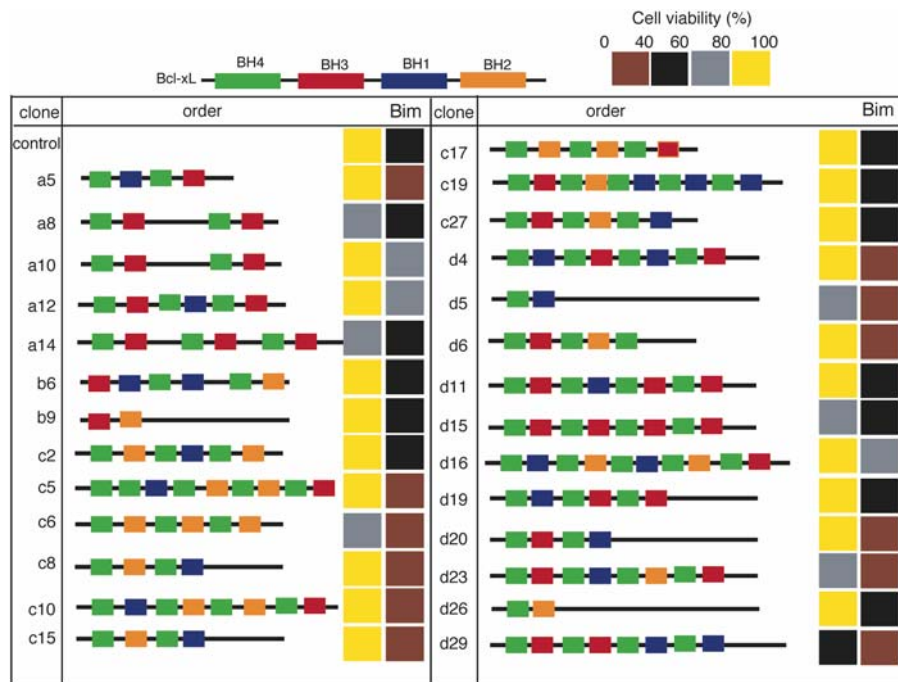
13

造安定化のために「 α ヘリックス形成能力」をもつペプチド配列がコードされるようにマイクロ遺伝子を設計した。このようにして設計されたマイクロ遺伝子から **MolCraft** を用いて、三つの読み枠がランダムに発現する人工タンパク質ライブラリを調製した。このライブラリをスクリーニングし、1つの人工タンパク質 (#284) が、種々の癌細胞株の培地に加えることで細胞内へ侵入し、かつアポトーシスを誘導できることを見いだした (文献 10)。#284 は、MCF-7 や HBC-4 など乳癌細胞に対し増殖阻害活性をもち ($IC_{50}=1 \mu M$)、天然のアポトーシス誘導タンパク質と同様に、ミトコンドリア膜電位の低下やカスパーゼの活性化を伴いアポトーシスを誘導できた。大事なことは、単純なモチーフ連結では多機能性のペプチドは得られなかったことである。すなわち、「細胞内侵入モチーフ」と「アポトーシス誘導モチーフ」を結合した合成ペプチドは、細胞死誘導活性は観察されなかった。さらには、同じ数のモチーフをもつ人工タンパク質の間でも、モチーフの配置や連結の仕方が異なると、その活性は大きく異なった。2つのモチーフが人工タンパク質上にある配置関係で存在することにより初めて多機能性人工タンパク質ができることになる。どのような配置関係が必要条件なのかは今のところ合理的に予測できないので、プログラマブル人工タンパク質の作製には、コンビナトリアルにいろいろ作製してそのなかから選ぶといった、進化分子工学的アプローチが重要であることが確認された。

(v) モチーフ・プログラミング実施例 2：ネットワークの進化を考える

**ELFRDGVN+ ENGGWDTF + LRRFGDKLN + RELVVDFL
→ MolCraft**

アポトーシス信号伝達経路の中でもミトコンドリア経路と呼ばれる伝達系では、Bcl-2 ファミリーに属するタンパク質が重要な役割を果たす。この Bcl-2 ファミリータンパク質は「アポトーシス抑制タンパク質群」(Bcl-2 や Bcl-xL)と「アポトーシス促進タンパク質群」(Bax/Bak や BH3-only タンパク質)に分類されている。正常な細胞では、両者が微妙なバランスを保つことでミトコンドリアからのチトクローム c の遊離を介したアポトーシス制御がおこなわれている。この Bcl-2 ファミリータンパク質は、BH1-BH4 と呼ばれる 4 つの短いモチーフをもつのが特徴で、BH3 はアポトーシス促進タンパク質に、BH4 はアポトーシス抑制タンパク質によく保存されていることから、近似的には BH3=アポトーシス促進、BH4=アポトーシス抑制、といった相関関係がある。しかしながら、BH4 をもつタンパク質にもアポトーシスを促進するものがあるなど、例外が多く観察されてきており、一概に BH3 が促進、BH4 が抑制活性をもった必要十分なモチーフだとは言えなくなってきた。モチーフ周辺に存在する配列や 4 つのモチーフの連結の仕方がタンパク質としての機能発現に重要な役割を果たすと推測される。このことから 4 つの BH モチーフをコンビナトリアルに重合した人工タンパク質ライブラリを作製することで、アポトーシス誘導、及び抑制能といった細胞死ネットワークを異なる方向に制御する人工タンパク質を創製できるのではと仮説を立て、それを実験的に検証した。この実験を遂行するに当たり、従来の **MolCraft** では、プログラムできるモチーフの数が 3 に制限されていたため、新たに上記の **MolCraft2.0** を開発する必要がある。天然の細胞死抑制型タンパク質 Bcl-xL から BH1, 2, 4 モチーフ、細胞死促進型タンパク質 Noxa から BH3 モチーフの部分配列を抽出し、コンビナトリアルなライブラリを作製した。哺乳類細胞内で発現が確認できた 28 種類の人工タンパク質の遺伝子を乳癌細胞 MCF-7 や HeLa 細胞に導入した結果、期待通りにアポトーシスを誘導するクローンと抑制するクローンの取得に成功した (文献 35)。このように単一のライブラリから、逆の機能(アポトーシス誘導または抑制)をもつ二つの人工タンパク質を取得できた例は初めてであり、ペプチド・モチーフから構成されるタンパク質ライブラリの潜在能力の高さが示された。



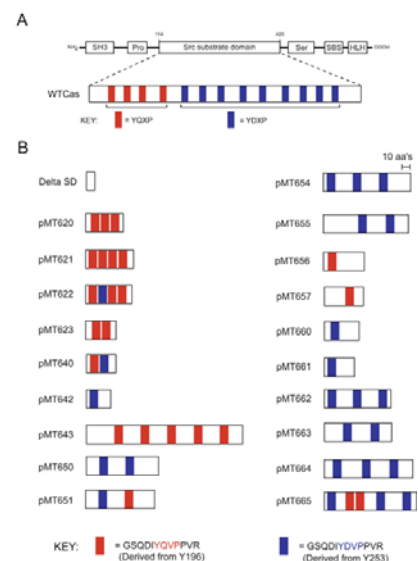
信号伝達系タンパク質に偏在するモチーフのリシャッフリングにより、信号伝達系を李ワイアリングする人工タンパク質が生まれる。信号伝達系をターゲットとしたタンパク質製剤の創製へとつながる技術である。

今後、より複雑なプログラミングと複雑な活性に対するスクリーニング系を開発することによって、天然を凌駕する人工シグナルタンパク質を創出できるのではと期待できる。「天然を凌駕」というと荒唐無稽に聞こえるかもしれないが、精緻な制御能力をもつ天然タンパク質も、意外と単純な原理、すなわちペプチド・モチーフやドメインの組み合わせと自然選択の論理で進化してきたものと考えていいだろう。複雑な生体ネットワーク内での機能をうまく拾い上げるスクリーニング系さえデザインできれば多彩で巧妙な機能をもつ人工タンパク質が創製できるだろうと考えている。

(vi) モチーフ・プログラミング実施例 3：タンパク質研究の材料として

NY 大学 Stony Brook 校の Todd Miller 博士は、細胞接着とがん化の関係、特に Src キナーゼ族による細胞接着斑に局在するタンパク質のリン酸化に焦点をあてた研究を進めている。その中で、Cas と呼ばれる Src キナーゼ族によりリン酸化を受けるタンパク質が、よく似たリン酸化部位をクラスターとしてもつことに注目しており、このクラスターを人為的に大規模に改変する技術を探していた。こういった流れの中、Miller 博士から MolCraft を用いて、お互いに似た2種のリン酸化モチーフをいろいろな順番、いろいろな数でもつような Cas 変異体を

2 種のキナーゼ認識部位を組み合わせたにもつ信号伝達系因子変異体を多量に作製し、タンデムに存在するリン酸化部位の機能との関連を探る。



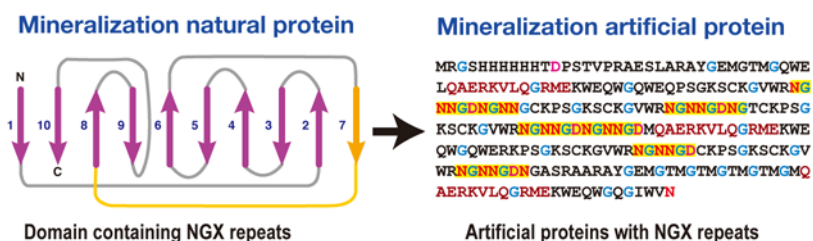
調製できないかとの相談を受け、さっそくライブラリ調製を進めてみた。その結果、Cas 内部に2種のリン酸化モチーフをいろいろな順番、いろいろな数でもつ変異体を多数創製することに成功し、その生物学的な活性測定も共同研究で完了した。現在論文を執筆中である。このように、タンパク質の解析ツールとしても **MolCraft** が利用できることが示された。

(vii) モチーフ・プログラミング実施例 4：バイオミネラリゼーションの研究に

NGNNGDNGN + secondary structure → MolCraft

モチーフの中には、機能との対応がはっきりとしているものもあれば、対応があいまいなものもある。対応があいまいなモチーフに関して、**MolCraft** でプログラムした場合の人工タンパク質の機能を観察することから、その対応付けをはっきりさせていくようなプログラムブル人工タンパク質の利用方法もある。以下のその例を示す。

ここで注目したのは、アコヤガイの真珠層から単離されたナクレインタンパク質がもつ、Asn-Gly-Asx モチーフである。ナクレインは、生物に幅広く存在する炭酸脱水素酵素に Asn-Gly-Asx モチーフの繰り返しが入ったタンパク質であり、この挿入ドメインが炭酸カルシウムの形成に阻害的に働くことが示されている。Asn-Gly-Asx モチーフそのものに関しては、ウェットな実験があまりなく、上で述べたような「機能との対応がはっきりしていないモチーフ」の仲間属する。実際、合成した Asn-Gly-Asx モチーフからなるペプチドでは、明確な活性が検出できなかった。そこで、Asn-Gly-Asx モチーフの機能を調べる目的で、**MolCraft** により、このモチーフを埋め込んだ人工タンパク質を作製し、それらの炭酸カルシウムの形成に与える影響を調べた。特にこの実験では、いろいろな長さの Asn-Gly-Asx の繰り返しをもつ人工タンパク質を、二次構造に富むコンテキストと、二次構造が少ないコンテキストで作製してみた。作製した人工タンパク質の中のいくつかは、期待通り、確かに炭酸カルシウムの形成に阻害的な活性をもっていた(文献 34)。興味深いことに、二次構造をもたないコンテキストで Asn-Gly-Asx モチーフを埋め込んだ場合に、より強く阻害活性が発現されていた。結晶成長制御活性をもつタンパク質は、二次構造を持たないものが多いとする主張があり、二次構造とモチーフの関係は、今後さらに追及していきたいテーマの1つである。



炭酸カルシウムのミネラリゼーションに関与しているかもしれないナクレインタンパク質には、思わせないな繰り返しモチーフが存在する。このモチーフがミネラリゼーションに関与していることを、人工タンパク質へのプログラムを通じて示すことができた。

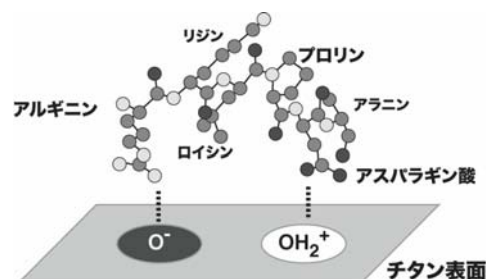
(viii) 無機物結合ペプチドの認識機構の解明：チタン結合ペプチド

既に述べたように、ファージを用いた人工ペプチドの実験手法は、90年代の初頭に完成された。当初、精製した受容体や酵素をターゲットとして、これらタンパク質に特異的に結合するペプチドを取得する実験がペプチド提示ファージ・システムの主な活躍場所であったが、2000年にその適用範囲を大きく広げる、記念碑的な論文が発表された。テキサス大学の A. M. Belcher のグループが発表した、半導体に結合する人工ペプチドの取得実験である。この論文では、ペプチド提示ファージ・システムを用いたパニング実験において、標的分子としてガリウムヒ素(GaAs)、インジウム燐(InP)などの半導体材料が用いられた。Belcherの論文以降、金、銀、プラチナ、パラジウム、ゲルマニウム、酸化亜鉛、酸化クロム、酸化銅、酸化鉛、酸化コバルト、酸化マンガン、酸化アルミニウム、酸化チタン、シリカ、ペロブスカイト類、モリブデン酸カルシウム、ゼオライト、硫化亜鉛、硫化カドミウム、硫化鉛、白金鉄、白金コバルト、炭酸カルシウム、カーボンナノホーン、カーボンナノチューブ、フラーレン、導電性高分子(PPyCl)、ポリメタクリル酸メチルなど数多くの無機材料に結合するペプチドの単離報告が続いている。このように多数の論文が発表されているのだが、その結合機構を掘り下げて研究している例は、未だにわれわれのグループの他には、数える程しかない。無機材料に対するペプチドの・アプタマーを自由自在に使いこなすには、認識機構に対する基礎的な知見を十分に取得する必要があるであろう。本プロジェクトにおいては、このようなペプチド・アプタマーの基礎研究に関しても重点をおいて研究を進めた。

TBP-1 は12残基のペプチドとして単離された。12個のアミノ酸の中で、どの残基がチタン表面との結合に重要な役割をもち、どの残基はそれほど重要でないのかを調べるために、12個のそれぞれのアミノ酸を側鎖の性質が穏やかな、アラニンに変換した変異体を作製し、その結合能力を調べてみ(アラニン・スキニング)。その結果、1番目のアルギニン、4番目のプロリン、5番目のアスパラギン酸が結合に重要なことが明らかとなった(文献 5)。後半の6残基はアラニンに変換しても結合能力への影響は少なく、TBP-1 のチタン結合には関係なさそうに見えたので、前半6残基のみで結合能力を調べたところ、予想通り親ペプチドと変わらない結合能力を保持していた。したがって、チタン結合に必要なペプチド配列は前半の6残基のみで、われわれはこれを minTBP-1 と呼んでいる。

アルギニンは中性付近では側鎖が正に帯電している。アスパラギン酸は反対に負に帯電している。プロリンは、ペプチドの主鎖を折り曲げる性質をもつので、minTBP-1 は、プロリンを介してアルギニンとアスパラギン酸がそれぞれ正、負の側鎖を同じ面に向けている可能性が高い。水中でのチタン表面は酸化膜に覆われている。酸化膜に存在する水酸基の中で、チタン原子間をブリッジする水酸基は中性付近で負に帯電し、一個のチタン原子に結合するターミナル水酸基は正に帯電している。したがって、minTBP-1 は、一番目のアルギニンの側鎖でブリッジ水酸基を、5番目のアスパラギン酸でターミナル水酸基とそれぞれ酸塩基反応により認識・結合していると思われる。すなわち、TBP-1 は、静電気相互作用が主体となり、チタン表面を認識しているわけである。このモデルは、AFM を用いた観察からも支持されている(文献 23)。

TBP-1 はチタン表面の酸化膜に存在する正、負に帯電した水酸基に静電的に結合していると考えられる。それでは、TBP-1 は表面に酸化膜を形成する金属なら、チタン以外にも何にでも結合するのであろうか？そこで、われわれは TBP-1 提示ファージのチタン以外の9種の金属への結合能を調べた。その結果、TBP-1 はチタン以外にも銀、シリコンの表面に結合した。一方で、金、プラ

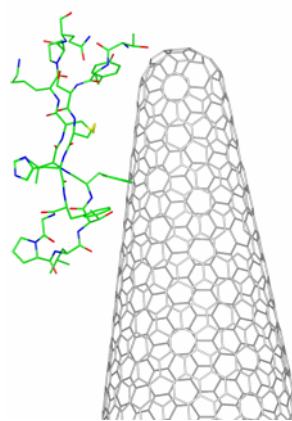


変異体の解析、AFM 解析から、TBP-1 はチタン表面の酸化膜を静電的に認識していることが明らかとなった。

チタ、銅、鉄、クロム、亜鉛、錫の7種の金属には結合能を示さなかった(文献 16)。結合しなかった金属の多くは水中で酸化膜を作ることが知られているので、この実験結果は、単純に酸化膜があれば TBP-1 が何にでも結合するわけではないことを示している。逆に、TBP-1 が結合活性を示したチタン、銀、シリカに目をむけると、それぞれの金属表面の等電点は大きく異なり、また結晶格子も異なる。すなわち、巨視的には共通性がないように見えるチタン、銀、シリカが共有する何らかのナノスケールの微細構造が、TBP-1 のエピトープ(認識部位)と考えられる。今のところ、この共通微細構造がどのようなものなのかは分からないが、TBP-1 や他の金属(無機物)結合ペプチドをツールとした、固体表面に対する、新しい切り込みの観察方法が発展していくのではないかと期待している。

(ix) 無機物結合ペプチドの認識機構の解明: CNH 結合ペプチド

カーボンナノホーン結合ペプチドの関しても、TBP-1 と同じようなアラニン・スキャンニングによる変異体解析や、AFM 測定が進んでいる。また、このペプチドが強い自己集合能力をもつことや、条件によりその2次構造を大きく変えるといった基礎的知見も蓄積している(文献 19、文献 27)。

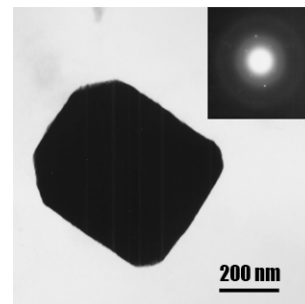


カーボンナノホーンに結合する NHBP-1 の場合、TBP-1 とは異なり、 π - π 結合がその結合の中心であるようだ。ただし、水素結合も何らかの形で結合に関与することが変異体の解析から示されている。

(x) 無機物結合ペプチドのもつミネラル化活性

この数年、無機物に結合するペプチド・アプタマーの取得研究が、一種のブームのように広まった背景には、バイオナノテクノロジーのツールとして期待されていることがその大きな理由にある。ツールとしての使い方は2通り考えられる。1つは選択的な結合能力を利用したパターンニングであり、もう1つはミネラル化活性を利用したナノ結晶の形成である。バイオミネラル化能力の活用については、既に銀や白金合金のナノ結晶の作製に使われている。TBP-1 も例外ではなく、TBP-1 がターゲットするチタン、銀、シリコンのからだミネラル化、すなわちチタニア、銀結晶、シリカの形成を促進することが分かっている(文献 16、文献 36)。またこの TBP-1 のミネラル化活性は、minTBP-1 を通して、他の分子に移植できる(文献 18)。このように、無機物結合ペプチドは、ミネラル化の研究分野にも大きな影響を与えている。このようなバイオミネラル化能力をもったペプチド・アプタマーを何らかの方法(トップダウン的なダイレクトパターンニングを用いるか、ボトムアップ的な自己集合能力を利用するかである)で周期的に配置することにより、金属ナノドットの周期構造を形成するのが、この分野の目標の1つである。また、下記で紹介する、われわれの開発した BioLBL 法は、無機物結合ペプチドのバイオミネラル化能力をナノ構造形成にうまく利用した好例である。

TBP-1 は、結合標的であるチタン、銀、シリコンに関与した、シリカ、銀、チタニアのミネラル化を促進する。



(2)研究成果の今後期待される効果

以上の研究を通じて、機能性モチーフのもつ2面性をアピールしてきたつもりである。すなわち、機能性モチーフはある程度「合理的にプログラムすることができる」という側面と、「モチーフ・プログラミングに単純な加算性は必ずしも成り立たない」という側面である。プロテオーム研究の成果や、進化分子工学などから次々と天然、人工モチーフが発見・創製されてきている。これら機能性モチーフを有効に再構成して利用する研究が今後ますます増えていくものと考えられるが、その時、われわれの発信してきた知見が、モチーフ利用の指針となるものと期待している。機能性モチーフの利用そのものは、メディカル分野のみならず、広く材料科学分野にも広がっており、モチーフを組み合わせる複雑な機能をもった分子を作製する研究は今後、応用方面でも大きな流れとなることは間違いない。

3.2 人工タンパク質の評価(癌研究会 芝グループ)

(1)研究実施内容及び成果

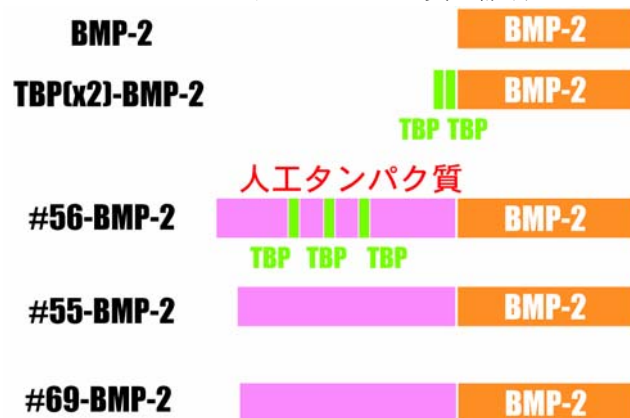
(i) TBP-1 を用いたサイトカインのチタン上の固相化

(RKLPDA → MolCraft) + BMP2

骨誘導活性因子として中心的な役割を持つBMP2をチタン表面に固相化することは、チタンインプラントの早期骨化形成につながると考えられる。従来の金属表面との疎水的な結合を利用した固相法では、吸着にともなうタンパク質変性が誘導され、BMP2 のもつ骨化誘導能力も失われてしまう。そこで、BMP2 に minTBP-1 を融合させ、疎水的結合によらない BMP-2 のチタン表面への固相化法を試みた。minTBP-1 を BMP-2 の N 末に、1 コピー、2 コピー融合した場合には十分なチタン結合能力を BMP-2 に賦与することはできなかった。十分な結合を得るには minTBP-1 を 3 コピー以上連結する必要があると考え、N 末に 3 コピー minTBP-1 を融合した BMP-2 を構築したが、今度はその翻訳効率が著しく低減してしまった。そこで、MolCraft を用いて、minTBP-1 モチーフをいろいろな数、いろいろな順番もつ人工タンパク質を作製し、その中から、チタン結合能力をもつものを選び、これを BMP-2 の N 末に融合させた。得られた人工タンパク質融合 BMP-2 は期待どおりにチタン表面に BMP-2 活性を賦与できる事を、レポーター遺伝子や ALPase 活性の誘導などを指標に培養細胞で確認した。コントロールとして minTBP-1 をもたない人工タンパク質を融合させた場合には、十分な BMP の活性を賦与できなかったことから、TBP-1 のチタン

骨化誘導能力を持つ BMP-2 の N 末にチタン結合能力を持つ人工タンパク質を融合することにより、チタン表面に親和性をもつ BMP-2 を作製できた。ペプチドだけの融合では十分は結合力は賦与できない。

結合能力がチタン上への骨化誘



導活性賦与に重要な役割を果たしていることが分かる。

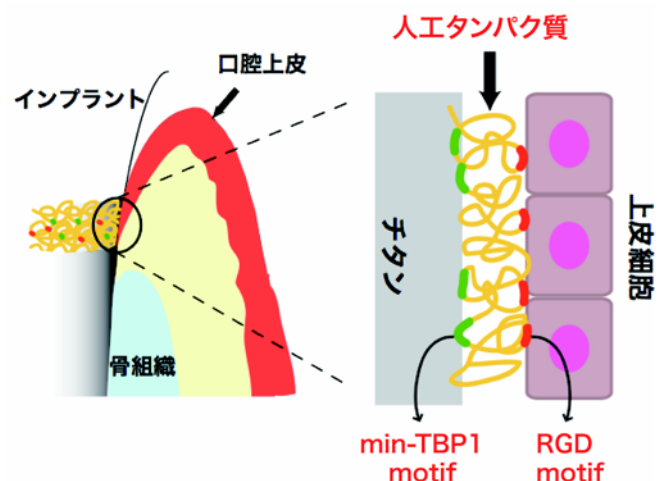
現在、これら改変 BMP-2 を塗布したチタン板をラット腹腔内に移植し、骨化誘導能力に与える in vivo 評価を東京歯科大学との共同研究で進めている。

(ii) 細胞接着能力

RKLPDA + RGD → MolCraft

チタンインプラント上部での、上皮組織との封鎖性を向上させるために、チタン表面に細胞接着活性を賦与する事のできる人工タンパク質の創製を進めた。チタン結合ペプチド(minTBP-1)と上皮細胞接着モチーフ(RGD)をプログラムした人工タンパク質ライブラリを作製し、その中から、両モチーフをいろいろな数、いろいろな順番でもついくつかのクローンを得た。まず、チタンへの結合能力を調べたところ、minTBP-1 モチーフのコピー数に相関した結合が見られた。また、細胞接着能力に関しても確認できたので、次に、このような人工タンパク質を塗布したチタン板上での細胞増殖を観察した。コントロールとしては、強い細胞接着能力をもちフィブロネクチンを用いた。この場合、フィブロネクチンは疎水的相互作用により非可逆的にチタン表面に結合している。接着する細胞数で比較すると、人工タンパク質の中のいくつかは、フィブロネクチンと同程度の細胞接着能力を示した。とことが。タイムラズプ顕微鏡で細胞接着現象を時間軸に沿って観察したところ、フィブロネクチンに比べて、人工タンパク質を塗布したチタン上では、上皮細胞が速やかに細胞間接着を開始していることが分かった。この細胞接着挙動の違いは、チタンと人工タンパク質、あるいはフィブロネクチンの相互作用の強さの違いにその原因があるのではないかと考え、現在その詳細を調べている。これまでの基板表面上への生理活性分子の固相化が、不可逆的な強い結合を中心としていたのに対し、TBP-1 を用いた高層化の場合、静電的相互作用を中心とする可逆的な結合となり、より生物環境に近い相互作用が起っている。この可逆的な固相化方法がバイオマテリアル分野に新しい流れを生み出すのではないかと期待している。

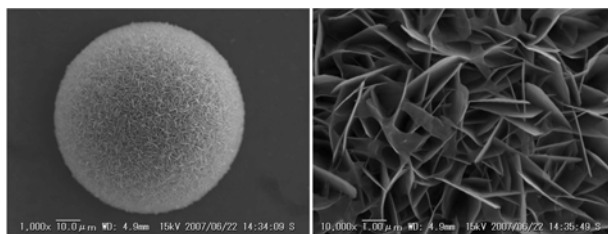
チタンインプラント上部の口腔上皮とチタン表面との結合は弱く、この部分からの最近感染が大きな問題となっている。チタンインプラント上部での封鎖性を向上するために、チタンと上皮細胞を橋渡す人工タンパク質の作製を開始した。口腔上皮の細胞接着に関係するモチーフの情報が不十分であるため、パイロットテストとして、RGD モチーフと TBP-1 をプログラムした人工タンパク質の解析を進めている。



(iii) リン酸カルシウムの結晶制御

RKLPDA + ESQES + QESQSEQDS → MolCraft

象牙質タンパク質である DMP 由来の天然モチーフのもつヒドロキシアパタイト形成能力、あるいは TBP-1 モチーフのもつシリカ形成能力は、MolCraft やフェリチン上への多価提示を利用し強化することができる。これらミネラル化能力をもつ人工タンパク質を用いて、生体高分子によるバイオミネラル化能力の分子機構を探っている。既に、DMP 由来の天然モチーフを埋め込んだ人工タンパク質が試験管内でのヒドロキシアパタイト形成を抑制する事を明らかにしている。同時に、チタン表面にこれら人工タンパク質をコートし、チタン上でのヒドロキシアパタイトの形態形成に影響をもつ人工タンパク質をいくつか同定した。



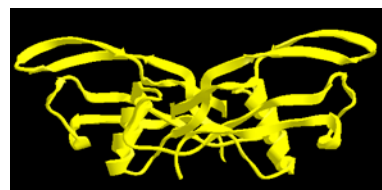
天然に存在するバイオミネラル化関連のモチーフをプログラムすることにより、ミネラル化の促進、抑制、形態を制御できる人工タンパク質を作り出すことができた。次の目標としては合理的に形態制御を可能とする人工タンパク質の作製技術を確立することだ。

(iv) 新規骨誘導人工タンパク質の創製

KIPKASSVPTELSAISTLYL → MolCraft

天然の大きなタンパク質から、そのタンパク質のもつ機能を発揮するペプチド断片を見いだすことは、モチーフ・プログラミングのプログラム材料のレパートリーを拡大する意味で、重要な作業である。従来の方法では、天然タンパク質の部分配列をもつペプチドの機能を解析する、といったアプローチにとどまっていたが、ここでは、それぞれの部分配列から人工タンパク質ライブラリを作製し、その中から活性体を探すといった手順で、機能モチーフを探索した。こうすることにより、潜在的に機能発揮能力を持つモチーフを漏れなく探すことができる。ここでは、BMP-2 を4つの仮想モチーフに分解し、それぞれのモチーフをプログラムした人工タンパク質を作製した。1つのペプチドから再構成した人工タンパク質に、BMP 様の活性が見いだされた。相当する配列のペプチドだけでは活性が見いだされなかったのが、潜在的な機能モチーフを見いだしたことになる。In vivo でも BMP 様の活性を示すかどうかを評価中である。

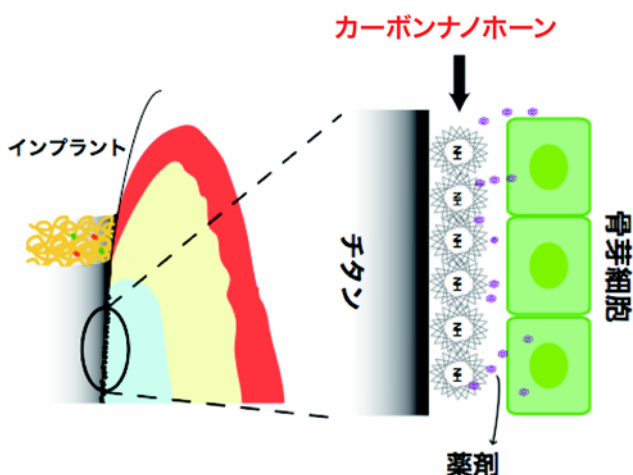
大きな天然タンパク質の中から、プログラムの素材に使うモチーフを探す作業も重要である。



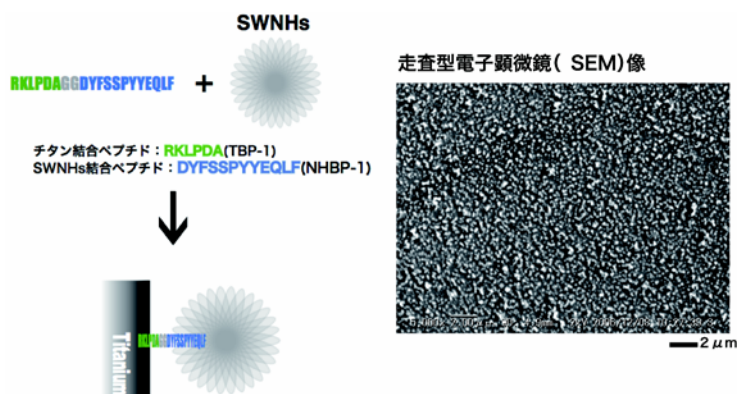
(v) 無機物結合ペプチドを用いた炭素ナノ化合物のチタン上への固定

RKLPDA + DYFSSPYEQLF

チタン表面の高機能化を考える場合、上述したようなサイトカインの固相化、機能モチーフの固相化に加えて、薬物のチタン上からの徐放も確立したい技術の1つである。骨化誘導能力をもつ薬物はいくつか知られている。これら薬物をチタン表面で局所的に長時間放出する方法の確立が求められるところである。われわれは、別プロジェクトでカーボンナノホーンを薬物キャリアとして DDS（薬物送達システム）に利用する研究を進めている。このカーボンナノホーンをチタン表面上に固相化する可能性を探索していたが、そのままでは図のようにカーボンナノホーンが凝集してしまいうまく固相化できなかった。そこで、既已取得しているチタン結合ペプチドとカーボンナノホーン結合ペプチドを連結したペプチドを合成し、この人工ペプチド存在下でカーボンナノホーンとチタンを混合したところ、図のようにうまく分散化された状態でカーボンナノホーンがチタン上に固相された。いくつかのコントロール実験から、人工ペプチドがチタン表面とカーボンナノホーンの界面形成に重要な役割を果たしていることがわかった。無機物結合ペプチドを利用した、新しいバイオマテリアルの表面修飾法として今後発展していくものと期待できる。現在、この手法でチタン表面に固相化したカーボンナノホーンに、骨化誘導能力をもつ薬物を担持させ、骨芽細胞等を与える影響を調べている。



チタンインプラントの顎骨との融合（オッセオインテグレーション）を速めることは、チタンインプラント開発の現在目指す1つの大きな目標である。ここでは、2つの無機物結合モチーフをプログラムし、薬物担持カーボンナノホーンをチタン上に固相化し、固相化薬物徐放系の開発を目指している。

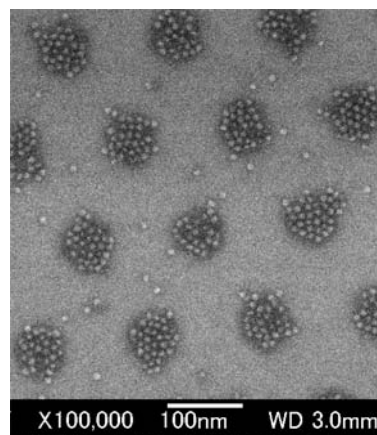


TBP-1 でチタンへの結合を、NHBP-1 でカーボンナノホーンとの結合を実現する。

RKLPDA + nano-caged protein

TBP-1 などのペプチド・アプタマーがもつ特異的結合能力は、他のタンパク質に遺伝子レベルで賦与することができる。例えば、本来ならチタンに結合する能力のないフェリチンの遺伝子の一部に、TBP-1 をコードする DNA 配列を挿入することによって、チタン結合能をもつ改変フェリチンを実現することができる（文献 18）。TBP-1 と同じ配列をもつペプチドを化学合成し、この合成ペプチドを用いてチタン粒子に対する解離平衡定数を求めてみた場合、得られた値は、 $10\ \mu\text{M}$ のオーダーと弱い結合能であった（文献 16）。ところが、多価でチタン結合能力を賦与された改変フェリチンのチタン表面への解離平衡定数を求めところ、 3.8nM といった、抗体・抗原の結合に匹敵する強い結合能力が観察された（文献 18）。わずか 6 残基のペプチドを移植するだけで、フェリチン粒子にチタン表面への十分に強い結合能力を賦与することができたわけだ。われわれは同様に、NHBP-1 を提示する改変フェリチンも作製し、こちらからもカーボンナノホーン表面に結合能力をもつ改変フェリチンの作製に成功している（文献 18）。

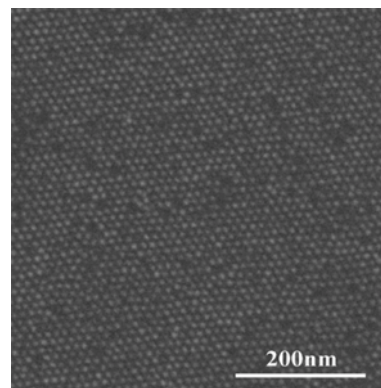
この改変フェリチンの示す強いチタン結合能力は、その特異性とあわせることにより十分にデバイス作製に利用可能なものである。これは、山下 G との共同研究で示した、ナノパターン化されたチタン領域への改変フェリチンの特異的吸着現象からも明らかである（文献 25）。



基板上にチタンのナノパターンニングを形成したのち、チタン部分にのみ選択的にチタン結合能力を賦与したナノ粒子を配置することができる。

DYFSSPYEQLF + nano-caged protein

カーボンナノホーン結合ペプチド NHBP-1 を移植した改変フェリチンは、NHBP-1 がもつ強い自己集合能力（上述）を獲得しており、水溶液中、炭素薄膜上で 2 次元結晶様に整列することが明らかとなっている。これらの結果は、人工ペプチドが、新しい分子間、あるいは分子と無機材料間の相互作用を導入するツールとして非常に魅力的な素材であることを示している、今後、分子間相互作用を操作することから、高次自己組織化能力を獲得したシステムを構築するにあたり、中心的な役割を果たすものと考えている。

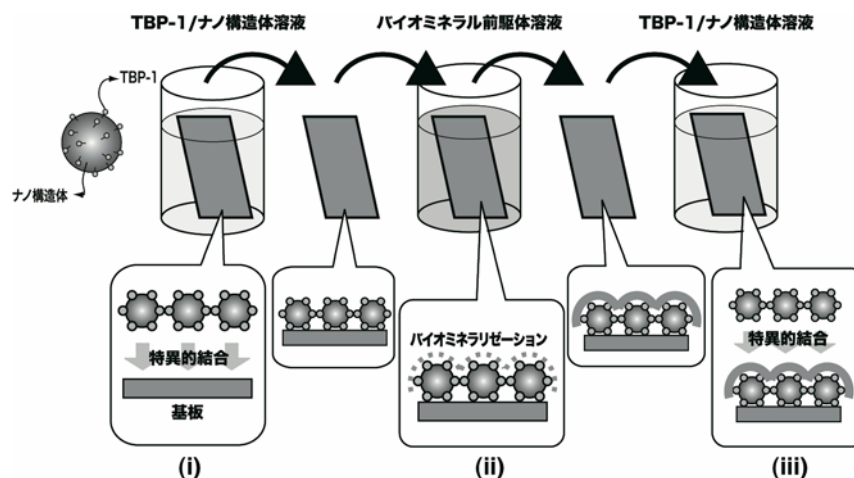


人工ペプチドにより自己集合能力を表面に賦与したフェリチンは二次元結晶様の集合能をもつ。

(vii) 無機物結合ペプチドの多機能性を利用した BioLBL 法の開発

TBP-1 のもつ結合能力は他の分子に移植できることを示したが、さらにわれわれは、「特異的結合能」のみならず、「バイオミネラリゼーション能力」も TBP-1 の移植により他の分子に賦与できることを示した。TBP-1 の移植は、遺伝子レベルの融合でなくとも、化学的な結合でも実現可能であり（未発表）、このことは、タンパク質以外の種々のナノ構造体に TBP-1 の 2 つの機能を賦与できることを意味している。

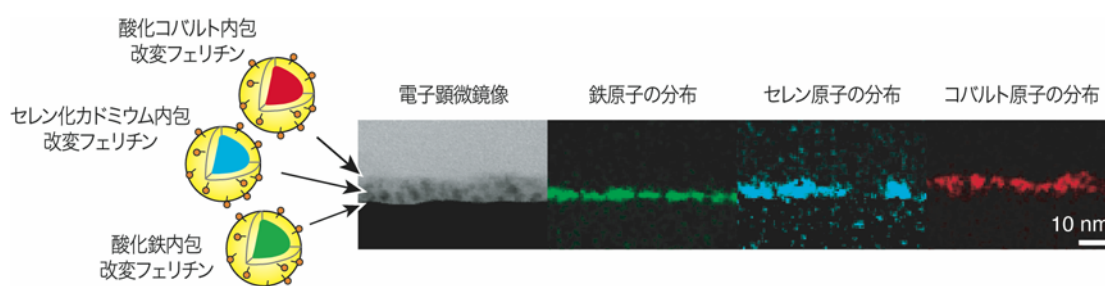
TBP-1 によってナノ構造体に賦与された、この「特異的結合能」・「バイオミネラリゼーション能力」のふたつの機能を交互に利用してナノ多層薄膜を形成させるのが、BioLBL 法（Biomimetic Layer-By-Layer Assembly）である（文献 22）。その概略を図に示す。



ペプチド・アプタマーが同時にもつミネラリゼーション能力を利用し、「結合」活性と「ミネラリゼーション」活性を交互に利用しながらヘテロ多層ナノ膜を形成させる「BioLBL 法」。本プロジェクトで得られた大きな成果の 1 つである。

ここでは、籠状中空ナノ粒子の表面に、TBP-1 が多価に移植された分子が模式化されている。(i) まず、TBP-1 由来の特異的結合能を利用して基板上（チタンなど）にナノ構造体の第 1 層を形成させる。(ii) 次に TBP-1 のもうひとつの機能である「バイオミネラリゼーション能力」を利用して、この第 1 層の表面にバイオミネラル層（シリカ層など）を形成させる。TBP-1 はナノ構造体の表面上に多価に提示されているために、結合にあずからないペプチドが第 1 層表面に存在していることがポイントである。(iii) 新たに形成されたバイオミネラル層は、次の TBP-1 移植ナノ構造体の結合ターゲットである。すなわち、バイオミネラル層上にナノ構造体の第二層を形成することができる。この「結合」「ミネラル層形成」の過程を繰り返すことで、TBP-1 移植ナノ構造体／バイオミネラルの多層薄膜を形成することができる。

この BioLBL 法を用いた、ヘテロナノ金属の多層化例を紹介する。ここでは、ナノ構造体としてフェリチンを用いている。天然フェリチンは、直径 12nm の籠状ナノタンパク質である。試験管内でその内部空間に様々なナノ金属粒子を内包することができることから、フェリチンを用いた半導体デバイス作製を目指した研究が、山下らによって進められている。われわれは、チタン結合能をもつ改変フェリチンに異なるナノ粒子（酸化鉄・セレン化カドミウム・酸化コバルト）を内包させ、これらを BioLBL 法により積層した。積層膜断面の原子分布観察から、3 つのナノ粒子がプログラム順に約 10nm 間隔（フェリチン 1 分子に相当）で精密に積層しているのがわかる。

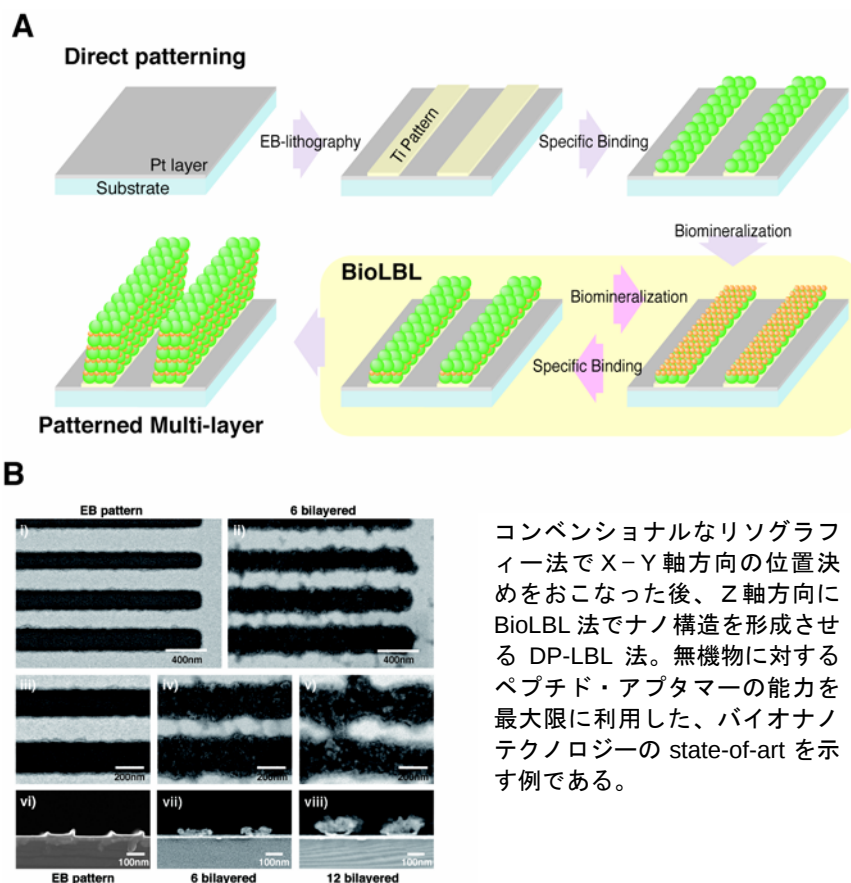


BioLBL 法により、3 種のナノドットを含む改変フェリチン分子を多層化した例。BioLBL 法の特徴は間層であるシリカ層やチタニア層が層間拡散を抑えてくれることにあり、基板頂上でも安定した多層を形成することができる。

また水晶発振質量分析の結果からも、改変フェリチンの積層密度は第一層目から等しく、どの層でも高密度に積層されていることがわかった。従来の対イオン形成に依存した高分子の交互積層法により形成される多層膜は、多くの場合で初めの数十層では層間拡散のため各層の分離状態は不完全なものとなり、結果的に基板表層（特に直上）における積層密度が極端に小さく、また不均一なものになってしまうことが指摘されている。それに対して、BioLBL 法では片方の層がバイオミネラルからなる鉱物層であるため層間拡散が抑えられ、従来の LBL 法では困難であったナノ構造体の基板直上への高密度積層が可能になった。これによって、例えば、シリコン酸化膜直上に積層したナノ金属粒子のヘテロ超薄膜を用いた多値化 MOS デバイスなどの開発が視野に入ってきた。実際、癌研究所では、太陽電池として動作するフェリチン多層体の構築を開始しており、現在、チタニア間層をもつフェリチン層を 500 層積層する段階に進んでいる。また、山下 G との共同研究から、BioLBL で多層化した金属内包フェリチンを用いたメモリーデバイスの作製を進めている。

(viii) BioLBL 法を利用した水中での高次ナノ構造の形成技術の確立

自己組織化によるナノ構造形成における大きな課題の一つに位置決めの問題がある。「必要なところ」に「必要な構造」を自在に造る必要があるわけだ。ここでは、従来のリソグラフィーなどのトップダウン技術で、「必要なところ」に関する位置情報を与え、これに上記の BioLBL 法を組み合わせることにより、水中で高次ナノ構造を形成する方法を開発した。これを DP-BioLBL 法 (Direct Patterning Biomimetic Layer-By-Layer Assembly) と名付けた。ペプチド・アプタマーの特異的な結合能力、ミネラル化能力、そしてトップダウン技術の取り込みより、バイオナノテクノロジーの state-of-art を示す代表例である。



(2)研究成果の今後期待される効果

機能性ペプチド・モチーフをプログラムの素材として用い、その組み合わせから新しい機能の組み合わせをもった人工タンパク質を作製するのがプログラマブル人工タンパク質である。その第一の活躍分野は、何といても医療分野であろう。最終的な出口に合わせて、機能をプログラムできるのが本手法の特徴であるので、疾患治療を意識したタンパク質製剤、細胞分化をコントロールすることによる再生医療分野でのりようなど、その適用範囲は幅広い。また、プログラムした人工タンパク質、あるいは、機能性モチーフそのままをカーボンマテリアルなどと組み合わせることで、これまでにない新しいバイオマテリアルが開発できることも、本プロジェクトの研究を通じて明らかにしてきた。人工タンパク質単独での利用にとらわれずに、いろいろな素材との組み合わせで、新しいハイブリッド素材を開発していくにも今後の大きな流れとなるであろう。

本プロジェクト研究が示したように、無機材料に働きかける人工ペプチド、人工タンパク質は、デバイス開発の分野においても大きな威力をはっきできる。これまで、数多くの無機材料結合ペプチドが単離されているが、その中でも、われわれの単離したチタン結合ペプチド(TBP-1)は、基礎・応用の両面にもっともよく研究されているペプチドの1つである。既に、他の研究グループも TBP-1 を利用した応用研究を開始しており、無機材料結合ペプチドの中で、もっとも広く使われるペプチドになるのではないかと期待している。

プロジェクト開始時の計画にはなかったものの、本研究の大きな成果の1つが「BioLBL法」の発明である。無機物に対するペプチド・アプタマーが同時にミネラル化活性をもった多機能ペプチドである事実を利用し、水中の温和な条件下で、ナノスケールのヘテ

ロ多層薄膜を形成することが可能となった。現在、デバイス、メディカル両方の分野の企業から興味をもたれており、今後「BioLBL 法」を用いたデバイスの作製、あるいは、医療分野での利用が本格化するものと期待している。

3.3 人工タンパク質のデザインプログラム(神戸大学 高岡グループ)

(1)研究実施内容及び成果

MolCraft 実験の取り扱い単位となる多機能マイクロ遺伝子は、複雑な計算でデザインされる。高岡グループは、プロジェクト期間を通じて、遠隔操作で癌研究所にあるマイクロ遺伝子デザインプログラムが動くサーバーの管理をおこなった。また、プログラムの汎用性を高めるため、cgi 版デザインプログラムを作成し、直感的に操作できるプログラムへと改良した。

(2)研究成果の今後期待される効果

マイクロ遺伝子のデザインアルゴリズムには開発の余地がまだまだあり、計算科学的にも魅力的な領域である。今回は、予算の関係上、本格的なアルゴリズム開発を始めるまでにはいたっていないが、高岡グループでは、パイロット的な開発も既にある程度の成果をあげている。今後、予算的裏付けが取れ次第、次世代版のマイクロ遺伝子デザインプログラムを開発していきたい。

4 研究参加者

①創製グループ(人工タンパク質の創製・解析研究)

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
芝 清隆	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	部長	人工タンパク質の創製と評価	平成14年11月～平成20年3月
齋藤 博英	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	CREST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成14年11月～平成17年9月
加瀬 大介	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	研究生	人工タンパク質の創製と評価	平成14年11月～平成20年3月
柏木 健司	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	CREST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成14年11月～平成20年3月
南澤 宝美后	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	研究助手	人工タンパク質の創製と評価	平成14年11月～平成20年3月
佐野 健一	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	CREST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成15年4月～平成20年2月
村上 達也	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	SORST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成15年4月～平成17年6月
佐々木 博之	東京慈恵会医科大学・DNA医学研究所	助教授	人工タンパク質の評価	平成16年4月～平成20年3月
朱 進	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	SORST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成16年9月～平成17年3月
辻 融	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	CREST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成17年4月～平成20年3月
松村 幸子	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	SORST 研究員	人工タンパク質の創製と評価	平成17年4月～平成20年3月
國分 克寿	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	研究生	人工タンパク質の創製と評価	平成17年10月～平成20年3月
井上 孝	東京歯科大学・臨床検査学研究室	教授	人工タンパク質の評価	平成18年4月～平成20年3月
吉成 正雄	東京歯科大学・口腔科学研究センター	准教授	人工タンパク質の評価	平成18年4月～平成20年3月

松坂 賢一	東京歯科大学・臨床検査学研究室	准教授	人工タンパク質の評価	平成18年4月～平成20年3月
永吉 美穂	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	研究助手	人工タンパク質の創製	平成19年2月～平成19年3月
菅 加奈子	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	研究助手	人工タンパク質の創製	平成19年8月～平成20年3月
ヴァンターベルク 久美子	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	チーム事務員	事務	平成15年9月～平成20年3月

②評価グループ(人工タンパク質を利用した新しい顎口領域インプラント素材の開発研究)

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
高岡 裕	神戸大学大学院・医学系研究科	特務准教授	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成20年3月
三浦 研爾	神戸大学大学院・医学系研究科	大学院生	人工タンパク質のデザインプログラム	平成17年4月～平成20年3月
石川 文啓	神戸大学大学院・医学系研究科	教務補佐員	人工タンパク質のデザインプログラム	平成17年4月～平成20年3月
佐藤 詔子	岩手医科大学・歯学部	教授	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年4月～平成17年3月
帖佐 直幸	岩手医科大学・歯学部	助手	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年4月～平成17年3月

③デザイングループ(人工タンパク質のデザインプログラム)

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
芝 清隆	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	部長	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成20年3月
柏木 健司	財団法人癌研究会・蛋白創製研究部	CREST 研究員	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成20年3月
高岡 裕	岩手医科大学・歯学部(神戸大学大学院・医学系研究科)	助手	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成20年3月
北島 直人	(株)富士通九州 SE	リーダー	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成17年3月

佐藤 陽子	(株)富士通九州 SE	研究員	人工タンパク質のデザインプログラム	平成14年11月～平成17年3月
尾西 恭亮	東京大学・工学部	大学院生	人工タンパク質のデザインプログラム	平成15年4月～平成17年3月
船越 孝太郎	東京工業大学・工学部	大学院生	人工タンパク質のデザインプログラム	平成15年4月～平成17年3月

5 招聘した研究者等

特になし

6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌0件、国際誌35件)

1. Shiba K, Honma T, Minamisawa T, Nishiguchi K, Noda T. **Distinct macroscopic structures developed from solutions of chemical compounds and periodic proteins.** *EMBO Reports* 4(2): 148-153 (2003)
2. Shiba K, Shirai T, Honma T, Noda T. **Translated products of tandem microgene repeats exhibit diverse properties also seen in natural proteins.** *Protein Engn* 16(1): 57-63 (2003)
3. Kashiwagi K, Shiba K, Fukami-Kobayashi K, Noda T, Nishikawa K, Noguchi H. **Characterization of folding pathways of the type-1 and type-2 periplasmic binding proteins MglB and ArgT.** *J Biochem* 133(3): 371-376(2003)
4. Zhu J, Kase D, Shiba K, Kasuya D, Yudasaka M, Iijima S. **Binary nanomaterials based on nanocarbons: a case for probing carbon nanohorns' biorecognition properties.** *Nano Lett* 3(8): 1033-1038 (2003)
5. Sano K, Shiba K. **A hexapeptide motif that electrostatically binds to the surface of titanium.** *J Am Chem Soc* 125(47): 14234-14235 (2003)
6. Kase D, Shiba K, Jin Zhu, Kasuya D, Yudasaka M, Iijima S. **Toward development of nano-materials composed of artificial proteins and nano-carbons.** *Nanotechnology, 2003. IEEE-NANO 2003. 2003 Third IEEE Conference on 2003* 1(2): 386- 389 (2003)
7. Kashiwagi K, Fukami-Kobayashi K, Shiba K, Nishikawa K. **Construction and characterization of chimeric proteins composed of type-1 and type-2 periplasmic binding proteins MglB and ArgT.** *Biosci Biotec Biochem* 68(4): 808-813 (2004)
8. Kashiwagi K, Shiba K. **Combinatorics of peptide sextets encoded by a single microgene.** *J Mol Catal B* 28(4-6): 215-221 (2004)
9. Shiba K. **Molcraft: a hierarchical approach to the synthesis of artificial proteins.** *J Mol Catal B* 28(4-6): 145-153 (2004)
10. Saito H, Honma T, Minamisawa T, Yamazaki K, Noda T, Yamori T, Shiba K. **Synthesis of functional proteins by mixing peptide motifs.** *Chem Biol* 11(6): 765-773 (2004)
11. Halwani R, Cen S, Javanbakht H, Saadatmand J, Kim S, Shiba K, Kleiman L. **Cellular distribution of lysyl-tRNA synthetase and its interaction with gag during human immunodeficiency virus type 1 assembly.** *J Virol* 78(14): 7553-7564 (2004)
12. Ramaswamy K, Saito H, Murakami H, Shiba K, Suga H. **Designer ribozymes: programming the tRNA specificity into flexizyme.** *J Am Chem Soc* 126(37): 11454-11455 (2004)
13. Kase D, Kulp III JL, Yudasaka M, Evans JS, Iijima S, Shiba K. **Affinity selection of peptide phage libraries against single-wall carbon nanohorns identifies a peptide aptamer with conformational variability.** *Langmuir* 20(20): 8939-8941 (2004)
14. Murakami T, Ajima K, Miyawaki J, Yudasaka M, Iijima S, Shiba K. **Drug-loaded carbon nanohorns: adsorption and release of dexamethasone in vitro.** *Mol Pharmaceutics* 1(6): 399-405 (2004)
15. Takaoka Y, Ohta M, Miyakawa K, Nakamura O, Suzuki M, Takahashi K, Yamamura K, Sakaki

- Y. **Cysteine 10 is a key residue in amyloidogenesis of human transthyretin Val30Met.** *Am J Pathology* 164(1): 337-345 (2004)
16. Sano K, Sasaki H, Shiba K. **Specificity and biomineralization activities of Ti-binding peptide-1 (TBP-1).** *Langmuir* 21(7): 3090-3095 (2005)
 17. Sano K, Ajima K, Iwahori K, Yudasaka M, Iijima S, Yamashita I, Shiba K. **Endowing a ferritin-like cage protein with high affinity and selectivity for certain inorganic materials.** *Small* 1 (8-9): 826-832 (2005)
 18. Kulp JL III, Shiba K, Evans JS. **Probing the conformational features of a phage display polypeptide sequence directed against single wall carbon nanohorn surfaces.** *Langmuir* 21(25): 11907-11914 (2005)
 19. Ajima K, Yudasaka M, Murakami T, Maigne A, Shiba K, Iijima S. **Carbon nanohorns as anticancer drug carriers.** *Mol Pharmaceutics* 2(6): 475-480 (2005)
 20. Kashiwagi K, Isogai Y, Nishiguchi K, Shiba K. **Frame shuffling: a novel method for in vitro protein evolution.** *Protein Eng Des Sel* 19(3): 135-140 (2006)
 21. Sano K, Sasaki H, Shiba K. **Utilization of the pleiotropy of a peptidic aptamer to fabricate heterogeneous nano-dot-containing multilayer nanostructures.** *J Am Chem Soc* 128(5): 1717-1722 (2006)
 22. Hayashi T, Sano K, Shiba K, Kumashiro Y, Iwahori K, Yamashita I, Hara M. **Mechanism underlying specificity of proteins targeting inorganic materials.** *Nano Lett* 6(3): 515-519 (2006)
 23. Murakami T, Fan J, Yudasaka M, Iijima S, Shiba K. **Solubilization of single-wall carbon nanohorns using a PEG-doxorubicin conjugate.** *Mol Pharmaceutics* 3(4): 407-414 (2006)
 24. Yamashita I, Kirimura H, Okuda M, Nishio K, Sano K, Shiba K, Hayashi T, Hara M, Mishima Y. **Selective nanoscale positioning of ferritin and nanoparticles by means of target-specific peptides.** *Small* 2(10): 1148-1152 (2006)
 25. Matsui T, Matsukawa N, Iwahori K, Sano K, Shiba K, Yamashita I. **Realizing a two-dimensional ordered array of ferritin molecules directly on a solid surface utilizing carbonaceous materials-affinity peptides.** *Langmuir* 23(4): 1615 -1618 (2007)
 26. Sano K, Sasaki H, Shiba K. **Conversion of a monodispersed globular protein into an amyloid-like filament by appending an artificial peptide at the N-terminal.** *Protein Eng Des Sel* 20(3): 109-116 (2007)
 27. Saito H, Minamisawa T, Shiba K. **Motif programming: A microgene-based method for creating synthetic proteins containing multiple functional motifs.** *Nucl Acid Res* 35(6): e38 (2007)
 28. Kulp JL III, Minamisawa T, Shiba K, Tejani M, Evans JS. **Structural properties of an artificial protein that regulates the nucleation of inorganic and organic crystals.** *Langmuir* 23(7): 3857-3863 (2007)
 29. Matsui T, Matsukawa N, Iwahori K, Sano K, Shiba K, Yamashita I. **Direct production of a two-dimensional ordered array of ferritin-nanoparticles on a silicon substrate.** *Jpn J Appl Phys* 46(28): L713-L715 (2007)

30. Takaoka Y, Ohta M, Ito A, Takamatsu K, Sugano A, Funakoshi K, Takaoka N, Sato N, Yokozaki H, Arizono N, Goto S, Maeda E. **Electroacupuncture suppresses myostatin gene expression: Cell proliferative reaction in mouse skeletal muscle.** *Physiol Genomics* 30(2): 102-110 (2007)
31. Matsumura S, Ajima K, Yudasaka M, Iijima S, Shiba K. **Dispersion of cisplatin-loaded carbon nanohorns with a conjugate comprised of an artificial peptide aptamer and polyethylene glycol.** *Mol Pharm* 4(5): 723-729 (2007)
32. Shiba K, Minamisawa T. **A synthesis approach to understanding repeated peptides conserved in mineralization proteins.** *Biomacromolecules* 8(9) : 2659-2664 (2007)
33. Saito H, Kashida S, Inoue T, Shiba K. **The role of peptide motifs in the evolution of a protein network.** *Nucl Acid Res* 35(19): 6357-6366 (2007)
34. Sano K, Yoshii S, Yamashita I, Shiba K. **In aqua structuralization of a 3-Dimensional configuration using biomolecules.** *Nano Lett* 7(10) : 3200-3202 (2007)
35. Saito H, Minamisawa T, Yamori T, Shiba K. **A motif-programmed artificial protein induces apoptosis in several cancer cells by disrupting mitochondria.** *Cancer Science* 99(2): 398 (2008, in press)

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 芝 清隆. ナノカーボン分子のバイオ分野への応用. 特集 カーボンナノチューブが拓く新世界ー挑戦と創造ー 工業材料 51(1): 47-50(2003)
2. 芝 清隆. マイクロ遺伝子のタンデム重合. 化学フロンティア 9 コンビナトリアル・バイオエンジニアリング-情報から機能の創造をめざして 植田・近藤編 化学同人 pp67-71 (2003)
3. 芝 清隆. アミノアシル tRNA 合成酵素の進化. シュプリンガーレビュー ゲノムからみた生物の多様性と進化 五條堀孝編 8-15、シュプリンガー・フェアラーク東京 (2003)
4. 芝 清隆. ゲノム時代の人工タンパク質研究. 日本農芸化学会誌 77 (7): 13-16 (2003)
5. 芝 清隆. Molcraft:階層的進化を模した人工蛋白質創出法. 蛋白質核酸酵素 8月号増刊 化学と生物学の接点がつくる New バイオテクノロジー 多比良和誠・菅 裕明編 共立出版 48(11): 1503-1510 (2003)
6. Shiba K. **Glycyl-tRNA synthetase.** in Aminoacyl-tRNA Synthetases eds. Ibba M, Francklyn C, Cusack S. Eureka/Landes Bioscience (2003)
7. 芝 清隆. 遺伝子を利用したバイオナノテクノロジー:天然遺伝子、人工遺伝子を用いた結晶成長制御. 現代化学 9月号(No. 390) 12-18 (2003)
8. 芝 清隆. 無機マテリアルに働きかけるタンパク質. ナノバイオテクノロジーの最前線 植田充美 監修 シーエムシー出版 125-136 (2003)
9. 芝 清隆. 汎用性高い人工たんぱく質合成技術『Molcraft』. 日経先端技術 no 50 18-21 (2003)

10. 芝 清隆. 進化分子工学に基づいた人工蛋白の創出と創薬への展開. *Drug Delivery System* 18(6): 511-518 (2003)
11. 芝 清隆. 使える人工タンパク質をめざして. *バイオベンチャー* 4(1): 12-16 (2004)
12. 齊藤 博英、芝 清隆. 創薬に向けた人工タンパク質研究の展開. *バイオベンチャー* 4(1): 27-31 (2004)
13. 芝 清隆. タンパク質がつなぐバイオロジーと無機マテリアルの世界. *未来材料* 4(1): 8-15 (2004)
14. 芝 清隆. 人工タンパク質の創薬への応用. *OHM* 8月号: 12-13 (2004)
15. 齊藤 博英、芝 清隆. システムバイオロジーとコンビナトリアル・バイオエンジニアリングの融合 -コンビナトリアル・システムエンジニアリングにむけて-. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* 植田充美 監修 シーエムシー出版: 324-335 (2004)
16. 佐野 健一、芝 清隆. 無機マテリアルを認識するペプチドモチーフ. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* 植田充美 監修 シーエムシー出版: 34-45 (2004)
17. 芝 清隆. コンビナトリアルライブラリーの階層性. *コンビナトリアル・バイオエンジニアリングの最前線* 植田充美監修 シーエムシー出版: 223-235 (2004)
18. Shiba K. **Artificial proteins that interface between biological and inorganic materials.** *J Photopolymer Science and Technology* 17(3): 409-410 (2004)
19. 佐野健一、上塚 洋、大西 洋、芝 清隆. **AFM と QCM-D を用いたチタン結合ペプチドのチタン表面への結合の観察.** *表面科学* 26(7): 428-431 (2005)
20. 佐野健一、芝 清隆. 人工ペプチドによる機能性分子配列制御. *BIO INDUSTRY* 10月号: 33-39 (2005)
21. 齊藤博英、芝 清隆. **モチーフ・プログラミング -ペプチドモチーフの組み合わせから人工タンパク質を創出する第二世代進化分子工学-.** *BIO INDUSTRY* 11月号: 15-21 (2005)
22. 村上達也、湯田坂雅子、飯島澄男、芝 清隆. **カーボンナノ化合物とペプチド・人工タンパク質複合体素の開発と DDS への利用.** *BIO INDUSTRY* 11月号: 28-33 (2005)
23. 芝 清隆. **遺伝子はどこまで創れるか?.** *生命化学研究レター* 19: 3-8 (2005)
24. 佐野健一、芝 清隆. **チタン表面に特異的に吸着するペプチド TBP-1 の創出とその利用.** *まてりあ* 44: 799-803 (2005)
25. 芝 清隆. **プログラマブル人工タンパク質創製.** *酵素工学ニュース* 54: 11-15 (2005)
26. 湯田坂雅子、村上達也、安嶋久美子、宮脇 仁、芝 清隆、飯島澄男. **カーボンナノチューブとカーボンナノホーンの DDS 応用.** *PHARM TECH JAPAN* 21(12): 2108-2112 (2005)

27. Patwardhan SV, Shiba K, Raab C, Huesing N, Clarson SJ. **Protein-mediated bioinspired mineralization.** *Polymer biocatalysis and biomaterials in ACS symposium series 900 ed.* Chang H N and Gross R A, pp150-163 American Chemical Society (2005)
28. 高岡 裕、前田英一：[使ってみようバイオデータベース] OMIM, 細胞工学 25(5): 533-537 (2006)
29. 芝 清隆、湯田坂雅子、飯島澄男. 新規ナノ粒子による薬物担体. 日本臨床 64(2): 239-246 (2006)
30. 齊藤博英、芝 清隆. 合成生物学の医療展開. Bionics 3(3): 40-45 (2006)
31. 佐野健一、芝 清隆. 人工ペプチドを利用したナノ多層薄膜形成法. Bionics 3(4): 72-73 (2006)
32. 芝 清隆. バイオと無機マテリアルの結合-分子進化工学で得られた無機材料結合性ペプチド-. 表面科学 27(3): 164-169 (2006)
33. 佐野健一、芝 清隆. バイオミネラライゼーションを利用したナノ多層薄膜作製法「BioLBL」. 工業材料 54(5): 78-81 (2006)
34. 芝 清隆. 進化分子工学的手法による機能の創出—無機物結合ペプチド・アプタマーとバイオナノテクノロジー. 化学と工業 59(8): 852-855 (2006)
35. Shiba K. **Functionalization of carbon nanomaterials by evolutionary molecular engineering: potential application in drug delivery system.** *J Drug Target* 14(7): 512-8 (2006)
36. 芝 清隆. 人工タンパク質の創製. ゲノム情報による医療材料の設計と開発 谷原正夫監修 シーエムシー出版: 11-30 (2006)
37. 芝 清隆. 結晶成長を人工タンパク質で制御する. 日本結晶成長学会誌 33(5): 381-387 (2006)
38. 高岡 裕. ゲノム医療時代の鍼灸に向けて -ゲノム医学からのエビデンス-. 全日本鍼灸学会雑誌 57(2): 94-109 (2007)
39. Shiba K. **Nanotubes, nanowires, nanocantilevers and nanorods in cancer treatment and diagnosis.** *Nanomaterials for cancer diagnosis- Nanotechnologies for the life sciences vol 7-* Challa SSR Kumar ed. 285-303 (2007)
40. 佐野健一、芝 清隆. ペプチドアプタマーを用いたナノ構造体形成. 『自己組織化ナノマテリアル』フロンティア出版: 267-272 (2007)
41. 芝 清隆、佐野健一. 金属結合ペプチドのミネラライゼーション活性を利用したナノ構造形成. 『バイオミネラライゼーションとそれに倣う新機能材料の創製』シーエムシー出版: 273-287 (2007)
42. 佐野健一、芝 清隆. ペプチド-無機材料異種界面構造解析が拓くナノバイオテクノロジー. 生物物理 47(2): 139-144 (2007)
43. 芝 清隆、佐野健一. 無機物結合ペプチド. 高分子 56(4): 182-186 (2007)

44. 芝 清隆. 人工タンパク質のナノバイオテクノロジーでの利用. ケミカルエンジニアリング 52(7): 534-538 (2007)
45. 芝 清隆. カーボンナノホーンへの薬剤担持とペプチドによる機能化. ナノカーボンハンドブック 遠藤守信／飯島澄夫 (監修) エヌ・ティー・エス: 282-288 (2007)
46. 芝 清隆. 無機材料結合ペプチド. 表面 45(6): 185-199 (2007)
47. Patwardhan SV, Shiba K, Schroeder HC, Mueller WEG, Clarson SJ, Perry CC. **The role of bioinspired peptide and recombinant proteins in silica polymerization.** *The interaction of 'Silicon' with proteins: Part 2, Science and technology of silicones and silicone-modified materials*, Clarson SJ et al ed. 328-347 (2007)
48. 林智広、佐野健一、芝 清隆、岩堀健治、山下一郎、原正彦. 原子間力顕微鏡を用いた無機物認識ペプチドのターゲット認識メカニズムの解明. 表面科学 28(7): 391-396 (2007)

(3)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議32件、国際会議9件)

【国内会議】

1. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). テーラーメイド蛋白質進化. 特別企画テーマ「テーラーメイド生命化学」日本化学会第 83 春季年会 平成 15 年 3 月 18 日 (東京)
2. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). 人工タンパク質とナノバイオ. 先端技術フォーラム「バイオテクノロジーとナノテクノロジーとの融合」日本機械学会 2003 年度年次大会平成 15 年 (2003) 8 月 8 日 (徳島)
3. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). 人工タンパク質のナノバイオでの利用. 日本学術振興会産学協力研究「分子ナノテクノロジー」第 174 委員会「ナノバイオテクノロジー」ワークショップ 平成 15 年 12 月 8 日 (京都)
4. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). 無機材料表面を認識するペプチド. 第 27 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 平成 16 年 7 月 29 日 (東京)
5. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). ゲノムワールドとマテリアルワールドを橋渡しする人工タンパク質. 第 8 回ポストゲノム+物質科学融合材料研究会 平成 16 年 (2004)8 月 18 日 (奈良)
6. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). ナノホーンのバイオ分野での応用可能性. ナノホーンワークショップ 2004 平成 16 年 12 月 26 日 (東京)
7. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所), 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST). チタン表面に静電的に結合する人工ペプチドの創出とその利用. 日本金属学会 2005 年春期大会 平成 17 年 3 月 30 日 (横浜)
8. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). バイオロジーとマテリアルサイエンスを橋渡しする人工タンパク質. 第 1 回ケミカルバイオロジーフロンティアシンポジウム 平成 17 年 4 月 21 日 (東京)

9. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST) . **人工タンパク質を用いたバイオミネラリゼーション研究**. 第35回結晶成長国内会議 平成17年8月17日 (東広島)
10. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Kase D (Cancer Institute, JFCR), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Multi-functionality of peptide aptamers and its application to nanofabrication**. 第2回オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」 平成17年10月6日 (大阪)
11. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **バイオミネラリゼーションとナノテクノロジー**. 平成17年度マリンバイオテクノロジー学会懇談会 平成17年11月15日 (東京)
12. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **モチーフ・プログラミングによる人工タンパク質創製**. バイオロジクスフォーラム第3回学術集会 平成17年12月14日 (東京)
13. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **指向性ケージ状分子の医療分野への応用**. 第9回ナノメディシン研究会・第3回 次世代治療技術開発のための細胞組織・分子機能の計測・制御研究会 平成18年2月4日 (東京)
14. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **ナノメディシンにおける人工タンパク質の役目**. 分子研研究会 第1回ナノメディシン討論会 平成18年2月13日 (岡崎)
15. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **ナノサイエンスにおける人工タンパク質の役割**. 東京医科歯科大学 21世紀 COE プログラム 歯と骨の分子破壊と再構築のフロンティア 平成18年2月16日 (東京)
16. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **モチーフをブロック単位とした人工タンパク質創製-シンポジウム「プロテインデザイナー: タンパク質の多様性獲得の知恵とその創出」**. 日本農園芸化学会大会 2006 平成18年3月28日 (京都)
17. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ペプチドアプタマーの機能スイッチングを利用したナノ構造作成技術: BioLBL 法**. 第9回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成18年5月27日 (東京)
18. 高岡裕 (神戸大学) **ゲノム医療時代の鍼灸に向けて -ゲノム医学からのエビデンス-**. 第55回全日本鍼灸学会学術大会 平成18年6月17日 (金沢観光会館)
19. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **生体模倣による自己組織化ナノ多層薄膜作製法 BioLBL**. 第59回コロイドおよび界面化学討論会 平成18年9月13日 (札幌)
20. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **プログラマブル人工蛋白質の創製とナノへの応用**. バイオ・ナノテクフォーラム 平成18年12月6日 (東京)
21. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST) . **無機表面を認識する人工ペプチドとナノ構造の作製**. バイオ・ナノテクフォーラム 平成18年12月6日 (東京)
22. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST) . **人工ペプチドのバイオミネラリゼーションとクラスター効果**. 北海道大学低温科学研究所共同利用研究会「分子自己集

合化過程のダイナミクス」 平成 19 年 2 月 24 日（札幌）

23. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **人工タンパク質を用いたナノマテリアル構築**. 第 57 回医用高分子研究会 平成 19 年 3 月 7 日（東京）
24. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **人工タンパク質の創出と機能化**. 理研シンポジウム 第二回バイオ医工学シンポジウム シンセチック・バイオロジーの潮流 -化学進化から生物進化へ- 平成 19 年 3 月 9 日（埼玉）
25. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **基礎研究、応用研究としての人工タンパク質創製**. 東洋紡バイオ財団設立 25 周年記念シンポジウム 次世代へのメッセージ『生命科学- 世界に羽ばたいた若手の歩み』 平成 19 年 6 月 1 日（大阪）
26. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **人工タンパク質とナノテクノロジー**. 第 19 回生体機能関連化学若手の会サマースクール 平成 19 年 8 月 6 日（東京）
27. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **バイオ分子で作るナノ構造体：タンパク質の特異的結合能、ミネラル化能、自己集合能の利用**. 第 34 回アモルファスセミナー 平成 19 年 9 月 29 日（蔵王）
28. 佐野健一（（財）癌研究会癌研究所、JST/CREST）. **人工ペプチドの自己組織化を利用したナノ構造形成とデバイス開発**. （社）新化学発展協会新素材技術部会・ライフサイエンス技術部会協賛講演会 平成 19 年 10 月 5 日（東京）
29. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **Artificial peptides and proteins for bionanotechnology**. 第 4 回オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」平成 19 年 11 月 9 日（東京）
30. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **バイオ分子を利用した水中高次ナノ構造形成**. 第 6 回ナノテクノロジー総合シンポジウム（JAPAN NANO 2008） 平成 20 年 2 月 15 日（東京）
31. 辻 融（（財）癌研究会癌研究所、JST/CREST）. **人工タンパク質によるリン酸カルシウムのバイオミネラル化**. 平成 19 年度北海道大学低温科学研究所共同利用研究会 平成 20 年 2 月 21 日（札幌）
32. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **無機材料認識ペプチドとタンパク質の人工的進化**. 第 55 回応用物理学関係連合講演会 平成 20 年 3 月 29 日（船橋）

【国際会議】

1. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Evolutionary molecular engineering fusing inorganic and biological materials**. *International Forum on Nano and Bio-Tec technology for Future Info-Communications*. March 20, 2003 (Osaka)
2. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Artificial protein that interface between biological and inorganic materials**. *The 21st conference of photopolymer science and technology*. June 23, 2004 (Chiba)
3. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Motifs as building blocks: from ARSs to artificial proteins**. *2004 International Conference on Aminoacyl-tRNA synthetases*. July 7, 2004 (Seoul)

4. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Minamisawa T (Cancer Institute, JFCR). **Mineralization by artificial peptides and proteins.** *First Annual Meeting on the Fusion of Biotechnology, Nanotechnology and Semiconductor technology.* October 10, 2004 (Kyoto)
5. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Peptides that recognize the surface of carbon nanohorns and titanium.** *International Symposium of Tissue Response and Biomedical Application of Carbon nanotubes, Nanofibers, and Nanoparticles.* December 20, 2004 (Matsushima)
6. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Synthesis of functional genes by mixing microgenes.** *ISOLAB '05.* June 29, 2005 (Niigata)
7. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Biomining using artificial peptide aptamers against inorganic materials.** *Frontier of Crystal Growth Science.* February 22, 2007 (Sendai)
8. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **A synthesis approach to understand the role of peptide motifs in mineralization.** *American Chemical Society 234th National Meeting & Exposition.* August 20, 2007 (Boston)
9. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Peptide motifs and motif programming.** *Material Science Society Fall Meeting.* November 27, 2007 (Boston)

② 口頭発表 (国内会議54件、国際会議18件)

【国内会議】

1. 中村 真理子 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、大野 典也 (東京慈恵会医科大学) . **人工タンパク質を用いた HIV gp120 に対する中和抗体作製法の開発.** 第 16 回 日本エイズ学会学術集会・総会 平成 14 年 11 月 29 日 (名古屋)
2. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、山崎 佳波 ((財) 癌研究会癌研究所)、南澤 宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、矢守 隆夫 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **癌細胞にアポトーシスを誘導する人工シグナル蛋白質の創製にむけて.** ワークショップ「ポストシーケンス時代のタンパク質の発現・提示系」 第 25 回 日本分子生物学会年会 平成 14 年 12 月 12 日 (横浜)
3. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所) . **癌細胞にアポトーシスを誘導する人工シグナル蛋白質の創製：一癌制圧に向けたポストゲノム時代の新戦略一.** 第 1 回 口腔生化学 CREST バイオナノテクセミナー 平成 15 年 5 月 16 日 (岩手医科大学)
4. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **タンパク質・ナノ黒鉛化合物の複合素材の開発にむけて.** 2003 年度第 1 回 C P C 研究会 平成 15 年 5 月 30 日 (東京)
5. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **Artificial proteins that interface inorganic materials and biological activities.** シンポジウム「生体高分子と無機化合物の融合が拓くナノサイエンス」 第 76 回 日本生化学会大会 平成 15 年 10 月 15 日 (横浜)
6. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、南澤 宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、山崎 佳波 ((財) 癌研究会癌研究所)、矢守 隆夫 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **Synthesis of novel proteins from functional motifs : Signal proteins that induce apoptosis in cancer cells.** 第 76 回 日本生化学会大会 平成 15 年 10 月 18 日 (横浜)

7. 中村 真理子（東京慈恵会医科大学）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）、大野 典也（東京慈恵会医科大学）. **分子内提示法による HIV エピトープ免疫原性増強現象の分子解析**. 第 51 回 日本ウイルス学会学術集会 平成 15 年 10 月 27 日（大阪）
8. 中村 真理子（東京慈恵会医科大学）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）、大野 典也（東京慈恵会医科大学）. **HIV V3 エピトープを分子内提示した人工タンパク質の示す強い免疫誘導現象**. 第 17 回日本エイズ学会学術集会・総会 平成 15 年 11 月 29 日（神戸）
9. 村上 達也（（財）癌研究会癌研究所、JST/SORST）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **骨形成誘導人工サイトカイン創製の試み**. 第 25 回 日本バイオマテリアル学会大会 平成 15 年 12 月 17 日（大阪）
10. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **階層的な人工タンパク質創製手法とバイオナノテクノロジーへの応用**. 国立循環器病センター研究所 萌芽的先端医療技術推進研究事業ナノメディシン分野特別セミナー 平成 16 年 2 月 16 日（千里）
11. 佐野 健一（（財）癌研究会癌研究所、JST/CREST）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **マテリアルとバイオをインターフェイスする人工タンパク質**. ナノテクノロジー総合シンポジウム 平成 16 年 3 月 17 日（東京）
12. 佐野 健一（（財）癌研究会癌研究所、JST/CREST）. **インプラントと骨組織をインターフェイスする人工タンパク質の創出：ヘコンビナトリアルエンジニアリングが拓く、ボトムアップナノテクノロジーへ**. 第 2 回口腔生化学 CREST バイオナノテクセミナー 平成 16 年 3 月 19 日（岩手）
13. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **人工タンパク質とバイオミネラリゼーション**. 第 7 回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成 16 年 6 月 17 日（札幌）
14. 村上 達也（（財）癌研究会癌研究所、JST/SORST）、安嶋久美子（（株）日本電気、JST/SORST）、湯田坂雅子（（株）日本電気、JST/SORST）、飯島澄男（名城大学）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **新しいナノ粒子カーボンナノホーンの薬物担体としての可能性**. 第 20 回日本 DDS 学会 平成 16 年 7 月 16 日（東京）
15. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **機能モチーフを組み合わせてタンパク質を創る**. 第 14 回バイオ・高分子シンポジウム 平成 16 年 7 月 27 日（東京）
16. 齊藤 博英（（財）癌研究会癌研究所）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **モチーフシャッフリング：アポトーシス誘導回路を制御する人工シグナルタンパク質の創製**. 第 13 回アポトーシス研究会学術集会 平成 16 年 7 月 30 日（名古屋）
17. 芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **人工タンパク質のバイオナノ分野での利用**. 第 53 回高分子討論会 平成 16 年 9 月 15 日（札幌）
18. 佐野 健一（（財）癌研究会癌研究所、JST/CREST）、佐々木 博之（東京慈恵会医科大学）、芝 清隆（（財）癌研究会癌研究所）. **チタン結合ペプチドの標的特異性とバイオミネラリゼーション活性、ワークショップ「タンパク質工学」**. 第 77 回 日本生化学会大会 平成 16 年 10 月 14 日（横浜）

19. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質を利用した細胞死誘導回路のリワイアリング、ワークショップ「タンパク質工学」**. 第 77 回 日本生化学会大会 平成 16 年 10 月 15 日 (横浜)
20. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木 博之 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工ペプチドが認識する無機材料表面のサブナノ構造**. 第 24 回表面科学講演大会 平成 16 年 11 月 9 日 (東京)
21. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、加瀬大介 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **生物活性と無機材料のインターフェイスとしての人工タンパク質の利用法**. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 平成 16 年 11 月 16 日 (つくば)
22. 中村 真理子 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **Gp120 V3 エピトープ分子内提示法により惹起される免疫の抗原特異性**. 第 52 回 日本ウイルス学会学術集会 平成 16 年 11 月 23 日 (横浜)
23. 中村 真理子 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **「分子内提示法」により惹起される免疫反応の抗原特異性**. 第 18 回日本エイズ学会学術集会 平成 16 年 12 月 9 日 (静岡)
24. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **モチーフ配列を埋め込んだ人工タンパク質による癌細胞死誘導経路のリプログラミング、ワークショップ「合理的な作用機序をもった人工タンパク質製剤の開発」**. 第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 9 日 (神戸)
25. 山本 誠司 (扶桑薬品工業 (株))、朝倉 昌博 (扶桑薬品工業 (株))、江田 宗司 (扶桑薬品工業 (株))、山崎 伸二 (扶桑薬品工業 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、松久 明生 (扶桑薬品工業 (株)) . **イノシトールモノフォスファターゼ(IMPase)族のゲノム横断的な比較生化学的試み**. 第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 10 日 (神戸)
26. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工モノ研究の可能性と限界**. JST さきがけ研究 21「遺伝と変化」領域 発足 10 周年記念公開シンポジウム 平成 16 年 12 月 18 日 (千里)
27. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、安嶋 久美子 (株) 日本電気、JST/SORST)、岩堀 健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、湯田坂 雅子 (株) 日本電気、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、山下 一郎 (奈良先端技術大学院大学、(株) 松下電器)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ケージタンパク質を介したカーボンナノホーン表面への金属ナノ粒子の担持**. 第 28 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 平成 17 年 1 月 7 日 (名古屋)
28. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **遺伝子進化実験と自己組織化**. JST/CREST 茅研究領域第 1 回公開シンポジウム 平成 17 年 2 月 1 日 (東京)
29. 村上達也 (藤田保健衛生大学、JST/SORST)、范 晶 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **高分散型カーボンナノホーンの調製と抗癌剤の担持**. 第 21 回日本 DDS 学会 平成 17 年 7 月 23 日 (長崎)

30. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木 博之 (東京慈恵会医科大学)、岩堀 健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、山下 一郎 (奈良先端技術大学院大学、(株) 松下電器)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合ペプチド TBP-1 の多機能性を賦与されたナノ分子**. 第 78 回日本生化学大会 平成 17 年 10 月 21 日 (神戸)
31. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、湯田坂雅子 ((株) 日本電器、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ペプチド・モチーフを利用したナノ炭素化合物の機能化と DDS への利用**. 第 22 回日本 DDS 学会平成 18 年 7 月 8 日 (東京)
32. 安嶋久美子 ((株) 日本電器、JST/SORST)、湯田坂雅子 ((株) 日本電器、JST/SORST)、アランメニエ ((株) 日本電器、JST/SORST)、村上達也 (藤田保健衛生大学、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、飯島澄男 (名城大学) . **抗癌剤内包単層カーボンナノホーン**. 第 22 回日本 DDS 学会平成 18 年 7 月 8 日 (東京)
33. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、山本晃 (ペンタックス (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質を用いたリン酸カルシウムの結晶成長制御**. 第 36 回結晶成長国内会議 平成 18 年 11 月 2 日 (大阪)
34. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、山本 晃 (ペンタックス (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質を用いたチタン表面のハイドロキシアパタイトコーティング**. 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 18 年 11 月 27 日 (東京)
35. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 ((株) 日本電器、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工ペプチドを用いた単層カーボンナノホーンの機能化と DDS への応用**. 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 18 年 11 月 28 日 (東京)
36. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質を用いたバイオミネラル研究**. 第 46 回バイオミネラルゼミ 平成 19 年 2 月 21 日 (東京)
37. 柏木健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質融合 BMP-2 を利用したチタン表面への骨分化誘導活性の賦与**. 国立遺伝学研究所研究会「タンパク質の構造からゲノム情報解析まで」 平成 19 年 3 月 23 日 (三島)
38. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **自己組織化ナノ素子としての蛋白質**. 第 7 回日本蛋白質科学会年会 平成 19 年 5 月 24 日 (仙台)
39. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **特異的結合とバイオミネラリゼーションのクロノロジカルな自己組織化; BioLBL**. 第 7 回日本蛋白質科学会年会 平成 19 年 5 月 24 日 (仙台)
40. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST) . **無機材料結合人工ペプチドとナノテクノロジーへの応用**. バイオミネラリゼーション研究会 平成 19 年 7 月 24 日 (東京)

41. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **進化に学ぶ自己組織化テクノロジー**. 「バイオに学ぶ高次自己組織化ナノテクノロジー」シンポジウム 平成 19 年 9 月 12 日 (東京)
42. 國分克寿 ((財) 癌研究会癌研究所)、吉成正雄 (東京歯科大学)、井上孝 (東京歯科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質とナノマテリアルを用いたチタンインプラントの高機能化**. 第 37 回 (社) 日本口腔インプラント学会・学術大会 平成 19 年 9 月 15 日 (熊本)
43. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **モチーフ・プログラミングによる人工タンパク質創製とその利用**. 第 56 回高分子討論会 平成 19 年 9 月 19 日 (名古屋)
44. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質の医療利用**. 第 66 回日本癌学会学術総会 平成 19 年 10 月 4 日 (横浜)
45. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、小沼一雄 ((独) 産業技術総合研究所)、山本晃 (ペンタックス (株))、飯島まゆみ (朝日大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質によるリン酸カルシウムの析出および形態の制御**. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 19 年 11 月 27 日 (豊中)
46. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、小沼一雄 ((独) 産業技術総合研究所)、山本晃 (ペンタックス (株))、飯島まゆみ (朝日大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **リン酸カルシウム結晶形成を促進する人工タンパク質の創出**. バイオミネラリゼーションワークショップ 平成 19 年 12 月 1 日 (東京)
47. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工ペプチドのバイオミネラリゼーション活性とナノテクノロジー分野への応用**. バイオミネラリゼーションワークショップ 平成 19 年 12 月 1 日 (東京)
48. 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ナノテクノロジーで利用すべきタンパク質の特性**. BMB2007 ワークショップ「生物学はナノテクノロジーに何を貢献できるか？」 平成 19 年 12 月 11 日 (横浜)
49. 齊藤博英 (京都大学)、井上 丹 (京都大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **生命システムの制御・再構成にむけた合成的アプローチ**. BMB2007 平成 19 年 12 月 12 日 (横浜)
50. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、小沼一雄 ((独) 産業技術総合研究所)、山本 晃 (ペンタックス (株))、飯島まゆみ (朝日大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質を用いてバイオミネラリゼーション機構を解明する**. BMB2007 平成 19 年 12 月 14 日 (横浜)
51. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、吉井重雄 (奈良先端技術大学院大学、(株) 松下電器)、山下一郎 (奈良先端技術大学院大学、(株) 松下電器)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ペプチドアダプターの特異性を利用した「位置決め」ができるナノ構造形成法の開発**. BMB2007 平成 19 年 12 月 14 日 (横浜)
52. 柏木健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合人工タンパク質を融合した骨分化誘導タンパク質 (BMP-2) によるチタン表面への生物活性の賦与**. BMB2007 平成 19 年 12 月 14 日 (横浜)

53. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、小沼一雄 ((独) 産業技術総合研究所)、山本 晃 (ペンタックス (株))、飯島まゆみ (朝日大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)。 **ハイドロキシアパタイト結晶の形成を促進する人工タンパク質の構築**. 日本生物物理学会第 45 回年会 平成 19 年 12 月 21 日 (横浜)
54. 松井拓郎 ((株) 松下電器)、松川望 ((株) 松下電器)、西尾和晃 ((株) 松下電器)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、山下一郎 ((株) 松下電器、JST/CREST) 第 55 回応用物理学関係連合講演会 平成 20 年 3 月 28 日 (船橋)

【国際会議】

1. Kase D (Cancer Institute, JFCR), Zhu J (NEC, JST/SORST), Kasuya D (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Toward development of nano-materials composed of artificial protein and nano-carbon**. *IEEE-Nano' 2003*. August 13, 2003 (San Francisco)
2. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Minamisawa T (Cancer Institute, JFCR). **Development of macro-structures from minerals induced by genetically engineered repetitive proteins and implications for evolution of biomineralization genes**. *Marine Biotechnology Conference 2003 (MBC2003)*. September 24, 2003 (Chiba)
3. Saito H (Cancer Institute, JFCR), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Synthetic Approach for Protein Evolution and Biopharmaceutical**. *New Horizons in Molecular Sciences and Systems: An Integrated Approach*. October 18, 2003 (Okinawa)
4. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Development of Nano-Materials Composed of Artificial Protein And Inorganic Substances**. *New Horizons in Molecular Sciences and Systems: An Integrated Approach*. October 18, 2003 (Okinawa)
5. Patwardhan SV (Cincinnati University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Clarson SJ (Cincinnati University). **Synthetic routes to bioinspired silica utilizing macromolecules and biomacromolecules**. *ACS Anaheim National Meeting & Exposition*. March 31, 2004 (Anaheim, CA)
6. Nakamura M (The Jikei University School of Medicine), Ohno T (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **A novel method (Craft・gen) for induction of strong humoral and cellular immune responses by using artificial proteins - application to the HIV gp120 V3 epitope**. *The XV International AIDS Conference*. July 14, 2004 (Bangkok)
7. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine). **Target specificity of a peptide aptamer selected against titanium**. *The 5th International Conference on Biological Physics*. August 23, 2004 (Gothenburg)
8. Murakami T (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Reductionist approach to obtain peptide motifs that have BMP-like activity**. *The 5th International Conference on BMP*. Sep 13, 2004 (Nagoya)
9. Kashiwagi K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Murakami T (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Synthetic approach to obtain peptide motifs that have BMP-like activity**. *The 5th International Conference on BMP*. September 15,

2004 (Nagoya)

10. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Mineralization by the peptide aptamer against Ti.** 229th ACS National Meeting. March 14, 2005 (San Diego)
11. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Kase D (Cancer Institute, JFCR), Iwahori K (NAIST, JST/CREST), Ajima K (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute JFCR). **Nano-fabrication by using peptide aptamers against inorganic materials.** The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems (ICIM'05). July 5, 2005 (Tokyo)
12. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Nano-fabrications by artificial peptides and proteins.** International Symposium on EcoTopia Science 2005. August 9, 2005 (Nagoya)
13. Matsumura S (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Modification of the surfaces of single-walled carbon nanohorns using a conjugate between polyethylene glycol and a peptide aptamer, NHBP-1.** The 31th Fullerene-NanotubesGeneral Symposium. July13, 2006 (Tsu)
14. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Utilization of multi-functionality of a peptide aptamer enables biomimetic nano-fabrication.** 43JPS ・ PEM4. November 7, 2006 (Yokohama)
15. Kokubun K (Cancer Institute, JFCR), Yoshinari M (Tokyo Dental College), Inoue T (Tokyo Dental College), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Artificial proteins for functionalization of the surfaces of titanium implant.** 85th IADR. March 22, 2007 (New Orleans)
16. Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Artificial proteins having mineralization motifs.** 2007 MRS Spring Meeting. April 10, 2007 (San Francisco)
17. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Iimori Y (Pentax), Yamamoto A (Pentax), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Biomimetic Layer-by-Layer (BioLBL) assembly of nanoparticles and metal-oxides.** 2007 MRS Spring Meeting. April 11, 2007 (San Francisco)
18. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Utilizing two capabilities of a single peptide aptamer for constructing nanostructures.** American Chemical Society 234th National Meeting & Exposition. August 20, 2007 (Boston)

③ ポスター発表 (国内会議 5 4 件、国際会議 3 6 件)

【国内会議】

1. 加瀬 大介 ((財) 癌研究会癌研究所)、朱 進 ((株) 日本電気、JST/SORST)、糟谷 大介 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂 雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . フェージ提示系によるナノカーボン化合物認識ペプチド配列情報の取得. 第 25 回 日本分子生物学会年会 平成 14 年 12 月 11 日 (横浜)
2. 柏木 健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . 天然配列と非天然配列のリミックスから創製した人工タンパク質：その性質解析. 日本生物物理学会第 41 回年会 平成 15 年 9 月 23 日 (新潟)

3. 柏木 健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **Frame shuffling: a novel method for in vitro protein evolution.** 第 76 回 日本生化学会大会 平成 15 年 10 月 18 日 (横浜)
4. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **チタン表面に静電的に結合するヘキサペプチドモチーフの単離.** 第 26 回 日本分子生物学会年会 平成 15 年 12 月 12 日 (神戸)
5. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **骨・歯再生医療に向けた機能化タンパク質性材料の開発.** 第 25 回 第 3 回日本再生医療学会総会 平成 16 年 3 月 24 日 (千葉)
6. 山本 誠司 (扶桑薬品工業 (株))、朝倉 昌博 (扶桑薬品工業 (株))、江田 宗司 (扶桑薬品工業 (株))、山崎 伸二 (扶桑薬品工業 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、松久 明生 (扶桑薬品工業 (株)). **イノシトールモノフォスファターゼ (IMPase) 族のゲノム横断的な比較生化学的な解析の試み.** 第 77 回日本細菌学会総会 平成 16 年 4 月 1 日 (大阪)
7. 南澤 宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **人工タンパク質を利用したアコヤ貝 NGX モチーフの機能解析.** 第 7 回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成 16 年 6 月 18 日 (札幌)
8. 加瀬 大介 ((財) 癌研究会癌研究所)、Kulp JL III (New York University)、朱 進 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂 雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、Evans JS (New York University)、飯島 澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **カーボンナノホーン認識ペプチドアプタマーの特性評価.** 第 27 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 平成 16 年 7 月 29 日 (東京)
9. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、安嶋 久美子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂 雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) **ドラッグデリバリーシステムにおけるカーボンナノホーンのバイオ応用.** 第 27 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 平成 16 年 7 月 29 日 (東京)
10. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **骨再生医療に向けた骨形成促進タンパク質性材料の創製.** 第 22 回日本骨代謝学会 平成 16 年 8 月 6 日 (大阪)
11. 高岡 裕 (岩手医科大学)、佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、大田 美香 (京都大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、佐藤 詔子 (岩手医科大学). **チタン材料表面に吸着し骨細胞接着に影響を与える人工ペプチド.** 第 46 回歯科基礎医学会学術大会 平成 16 年 9 月 24 日 (広島)
12. 齊藤 博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **人工タンパク質を利用したアポトーシス誘導回路のリワイアリング.** 第 63 回日本癌学会学術総会 平成 16 年 9 月 30 日 (福岡)
13. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、安嶋 久美子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂 雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、

- 芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **カーボンナノホーン：ドラッグデリバリーシステム構築に向けた新しいナノ粒子**. 第 77 回 日本生化学会大会 平成 16 年 10 月 15 日 (横浜)
14. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、安嶋 久美子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、湯田坂 雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **カーボンナノホーンを DDS の新しい担体として用いる試み**. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 平成 16 年 11 月 15 日 (つくば)
 15. 柏木 健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **フレームシャッフリング：試験管内進化のための新たなライブラリ作成法**. 第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 10 日 (神戸)
 16. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木 博之 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **Genetic Chemistry による無機材料表面のサブナノ構造解析**. 第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 10 日 (神戸)
 17. 高岡 裕 (岩手医科大学)、佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、大田 美香 (京都大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、佐藤 詔子 (岩手医科大学) . **チタン材料表面に吸着し骨細胞接着に影響を与える人工ペプチド**. 第 27 回日本分子生物学会年会 平成 16 年 12 月 10 日 (神戸)
 18. 村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、安嶋 久美子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、宮脇 仁 (日本電気 (株)、JST/SORST)、湯田坂 雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ドラッグデリバリーシステムにおけるカーボンナノホーンの可能性**. ナノホーンワークショップ 2004 平成 16 年 12 月 25 日 (東京)
 19. 加瀬 大介 ((財) 癌研究会癌研究所)、他. **人工タンパク質とナノホーンの複合体の創製**. ナノホーンワークショップ 2004 平成 16 年 12 月 26 日 (東京)
 20. Jin Zhu ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、他. **Screening for CNH dispersants**. ナノホーンワークショップ 2004 平成 16 年 12 月 26 日 (東京)
 21. 佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、安嶋 久美子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、岩堀 健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/SORST)、湯田坂 雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島 澄男 (名城大学)、山下 一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ケージタンパク質を介したカーボンナノホーン表面への金属ナノ粒子の担持**. ナノホーンワークショップ 2004 平成 16 年(2004)12 月 26 日 (東京)
 22. 安嶋 久美子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、湯田坂 雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、Alan Magine (日本電気 (株)、JST/SORST)、村上 達也 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、飯島 澄男 (名城大学) . **抗癌剤内包単層カーボンナノホーン**. 第 28 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 平成 17 年 1 月 9 日 (名古屋)
 23. 山田 圭佑 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、桐村 浩哉 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、山下 一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器 (株))、芝 清隆

- ((財) 癌研究会癌研究所)、佐野 健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST) . **無機材料認識ペプチドを修飾した Ferritin の選択吸着を用いたパターン形成**. 平成 17 年春季第 52 回応用物理学関係連合講演会 平成 17 年 3 月 29 日 (さいたま)
24. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **無機材料を標的にしたペプチドアダプターの取得とその応用**. 第 20 回バイオハイブリッド研究会 平成 17 年 5 月 19 日 (横浜)
 25. 齊藤博英 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **新しいコンビナトリアル人工タンパク質創出法を利用した細胞死ネットワークの制御**. 第 14 回日本アポトーシス研究会学術集会 平成 17 年 7 月 30 日 (倉敷)
 26. 湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、飯島澄男 (名城大学) . **ナノホーンのドラッグキャリアーへの応用**. 第 43 回茅コンファレンス「ナノとバイオの融合が拓く新展開」 平成 17 年 8 月 22 日 (八ヶ岳)
 27. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ペプチドアダプターを利用した炭素ナノ化合物の親水化**. 第 43 回茅コンファレンス「ナノとバイオの融合が拓く新展開」 平成 17 年 8 月 22 日 (八ヶ岳)
 28. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質によるバイオミネラリゼーション**. 第 43 回茅コンファレンス「ナノとバイオの融合が拓く新展開」 平成 17 年 8 月 22 日 (八ヶ岳)
 29. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木博之 (東京慈恵会医科大学)、岩堀健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、山下一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器産業 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合ペプチド TBP-1 の多機能性を賦与されたナノ分子**. 第 78 回日本生化学大会 平成 17 年 10 月 21 日 (神戸)
 30. 高岡裕 (神戸大学)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、太田美香 (神戸大学)、前田英一 (神戸大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、佐藤詔子 (岩手医科大学) . **チタン材料表面に吸着し骨細胞と材料をブリッジする人工ペプチド**. 第 27 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 17 年 11 月 28 日 (京都)
 31. 村上達也 (藤田保健衛生大学、JST/SORST)、范晶 (日本電気 (株)、JST/SORST)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **新奇ナノ粒子カーボンナノホーンへの抗癌剤の担持**. 第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 7 日 (福岡)
 32. 山本誠司 (扶桑薬品工業 (株))、朝倉昌博 (扶桑薬品工業 (株))、江田宗司 (扶桑薬品工業 (株))、山崎伸二 (扶桑薬品工業 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、松久明生 (扶桑薬品工業 (株)) . **大腸菌イノシトールモノホスファターゼ様蛋白質 SuhB は低温下でストレス応答遺伝子の発現を制御する**. 第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 7 日 (福岡)
 33. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木博之 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工ペプチドの「機能スイッチング」によるヘテロナノ多層構造形成**. 第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 9 日 (福岡)

34. 辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質による無機結晶形成制御**. 第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 9 日 (福岡)
35. 齊藤博英 (京都大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **プログラマブル人工タンパク質: 細胞死ネットワークの制御と進化を考える**. 第 28 回日本分子生物学会年会 平成 17 年 12 月 10 日 (福岡)
36. 村上達也 (藤田保健衛生大学、JST/SORST)、范 晶 (日本電気 (株)、JST/SORST)、澤田浩秀 (藤田保健衛生大学)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、土田邦博 (藤田保健衛生大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **水分散化カーボンナノ粒子とその薬物輸送担体としての可能性**. 第 4 回ナノテクノロジー総合シンポジウム(JAPAN NANO 2006) 平成 18 年 2 月 20 日 (東京)
37. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、佐々木博之 (東京慈恵会医科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合ペプチドの多機能性を利用したナノ粒子のヘテロ多層構造形成**. 第 4 回ナノテクノロジー総合シンポジウム(JAPAN NANO 2006) 平成 18 年 2 月 20 日 (東京)
38. 松井拓郎 (松下電器産業 (株))、松川 望 (松下電器産業 (株))、奥田充宏 (奈良先端技術大学院大学、JST/SORST)、岩堀健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/SORST)、加瀬大介 ((財) 癌研究会癌研究所)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、山下一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器産業 (株)) . **カーボンナノ材料認識フェリチンを用いたナノ粒子二次元規則配列の作製**. 2006 年春季第 53 回応用物理学関係連合講演会 平成 18 年 3 月 22 日 (東京)
39. 林 智広 (東京工業大学)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、熊代喜一 (東京工業大学)、岩堀健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、山下一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器産業 (株))、原正彦 (東京工業大学) . **AFM を用いた Ti 認識フェリチンの選択性の直接計測**. 2006 年春季第 53 回応用物理学関係連合講演会 平成 18 年 3 月 24 日 (東京)
40. 安嶋久美子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、アランメニエ (日本電気 (株)、JST/SORST)、村上達也 (藤田保健衛生大学、JST/SORST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、飯島澄男 (名城大学) . **抗癌剤内包単層カーボンナノホーン**. 2006 年春季第 53 回応用物理学関係連合講演会 平成 18 年 3 月 25 日 (東京)
41. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **ペプチドアダプターを用いた炭素ナノ化合物の機能化**. 日本化学会第 86 春季年会 平成 18 年 3 月 27 日 (船橋)
42. 山本誠司 (扶桑薬品工業 (株))、朝倉昌博 (扶桑薬品工業 (株))、江田宗司 (扶桑薬品工業 (株))、山崎伸二 (扶桑薬品工業 (株))、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、松久明生 (扶桑薬品工業 (株)) . **大腸菌イノシトールモノホスファターゼ様蛋白質 SuhB は低温下でストレス応答遺伝子を制御する**. 第 79 回日本細菌学会総会 平成 18 年 3 月 29 日 (金沢)

43. 南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **バイオミネラルリゼーション能力を賦与した人工タンパク質の創製**. 第 9 回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成 18 年 5 月 28 日 (東京)
44. 漆田洋平 ((株) 海洋バイオ研究所)、中野雅博 ((株) 海洋バイオ研究所)、森洋一 ((株) 海洋バイオ研究所)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、紙野 圭 ((株) 海洋バイオ研究所) . **マルチ吸着蛋白質 Megabalanus rosa cp-19k の吸着層の解析**. 第 9 回マリンバイオテクノロジー学会大会 平成 18 年 5 月 28 日 (東京)
45. 南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 (日本電気 (株)、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **水溶液系でのカーボンナノホーンの化学化合物吸着特性**. 第 22 回日本 DDS 学会平成 18 年 7 月 7 日 (東京)
46. 佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **バイオミネラルリゼーションを利用した新規薬物送達システムの開発**. 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 18 年 11 月 27 日 (東京)
47. 柏木健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、辻 融 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合人工タンパク質を連結した BMP-2 によるチタン表面への骨分化誘導活性の賦与**. 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 18 年 11 月 28 日 (東京)
48. 國分克寿 ((財) 癌研究会癌研究所)、吉成正雄 (東京歯科大学)、井上 孝 (東京歯科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **チタン結合モチーフと細胞接着モチーフを持つ人工タンパク質**. 第 28 回日本バイオマテリアル学会大会 平成 18 年 11 月 28 日 (東京)
49. 南澤宝美后 ((財) 癌研究会癌研究所)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **人工タンパク質・人工ペプチドによるミネラルリゼーション**. バイオミネラルリゼーションワークショップ 平成 18 年 12 月 13 日 (東京)
50. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **分散性薬剤担持カーボンナノホーンの調製と DDS 応用**. 第 5 回ナノテクノロジー総合シンポジウム 平成 19 年 2 月 20 日 (東京)
51. 松村幸子 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/SORST)、湯田坂雅子 ((株) 日本電気、JST/SORST)、飯島澄男 (名城大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所) . **DDS キャリアとしての単層カーボンナノホーンの分散化と薬剤担持**. 日本化学会第 87 春季年会 平成 19 年 3 月 26 日 (吹田)
52. 松井拓郎 (松下電器産業 (株))、松川望 (松下電器産業 (株))、岩堀健治 (奈良先端技術大学院大学、JST/CREST)、佐野健一 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所)、山下一郎 (奈良先端技術大学院大学、松下電器産業 (株)) . **熱酸化シリコン基板上への直接フェリチンナノ粒子二次元規則配列の作製**. 第 54 回応用物理学関係連合講演会 平成 19 年 3 月 29 日 (東京)

53. 國分克寿 ((財) 癌研究会癌研究所)、柏木健司 ((財) 癌研究会癌研究所、JST/CREST)、吉成正雄 (東京歯科大学)、井上孝 (東京歯科大学)、芝 清隆 ((財) 癌研究会癌研究所). **人工タンパク質を用いた生物活性固相化チタンインプラントの開発**. 第5回日本再生歯科医学会学術大会および総会 平成 19 年 9 月 22-23 日 (東京)
54. 高岡 裕 (神戸大学) 三浦研爾 (神戸大学)、西尾久英 (神戸大学)、竹内敦子 (神戸薬科大学)、塚田雅子 (神戸薬科大学)、菅野亜紀 (神戸大学)、大田美香 (神戸大学) **変異型 UDP-グルクロン酸転移酵素の構造および基質との相互作用の in silico 解析**. 第 30 回日本分子生物学会・第 80 回日本生化学会 合同大会 (BMB2007) 平成 19 年 12 月 14 日 (横浜)

【国際会議】

1. Kase D (Cancer Institute, JFCR), Zhu J (NEC, JST/SORST), Kasuya D (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Construction of nano-composites based on artificial proteins and carbon nanohorns**. *International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB 2003)*. March 9-10, 2003 (Tsukuba)
2. Kase D (Cancer Institute, JFCR), Zhu J (NEC, JST/SORST), Kasuya D (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Isolation of peptide-phages that specifically bind to carbon nanohorn**. *Molecular Display*. May 12-13, 2003 (Boston)
3. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Kase D (Cancer Institute, JFCR), Kasuya D (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University). **Isolation of peptide-phages that specifically bind to carbon nanohorn**. *ICBN 2003*. May 21, 2003 (Tokyo)
4. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Characterization of peptides that bind to titanium particles selected from phage display libraries**. *Third workshop on Self-Assembling Peptide and Protein Systems in Biology, Medicine, Materials, and Engineering*. August 1-5, 2003 (Crete)
5. Saito H (Cancer Institute, JFCR), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Rewiring genetic network by artificial proteins**. *4th International Conference on Systems Biology*. November 8, 2003 (St. Louis)
6. Kashiwagi K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Exploring molecular diversity of repetitious artificial proteins created by a "frame shuffling" method**. *2003 Material Research Society Fall Meeting*. December 1, 2003 (Boston)
7. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST). **Peptide aptamer that recognizes the surface of titanium**. *Phage display technologies: engineering protein therapeutics*. April 26, 2004 (Boston)
8. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Suga H (State University of New York at Buffalo), Szostak JW (Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School). **In vitro evolution: from biotechnology to the origin of life**. *HFSP Fourth Annual Awardees meeting in Hakone*. May 16, 2004 (Hakone)
9. Saito H (Cancer Institute, JFCR), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **A synthetic approach for rewiring cell death pathways**. *Synthetic Biology 1.0*. June 10, 2004 (Boston)

10. Kase D (Cancer Institute, JFCR), Kulp JLIII (New York University), Zhu J (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Evans JS (New York University), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Identification and characterization of a peptide aptamer for single-wall carbon nanohorn.** *International Conference on the Science and Application of Nanotubes.* July 20, 2004 (Mexico)
11. Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Kase D (Cancer Institute, JFCR). **Peptide aptamers to inorganic materials: their specificities and biomineralizing abilities.** *Gordon Research Conference.* August 9, 2004 (New London)
12. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Characterization and applications of peptide aptamers against inorganic materials.** *"Nano@Micro: Innovations for Nanoarchitectonics" Nanoarchitectonics Workshop 2005.* March 4, 2005 (Tsukuba)
13. Murakami T (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Ajima K (NEC, JST/SORST), Miyawaki J (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Drug-loaded single-wall carbon nanohorns: adsorption and release of dexamethasone in vitro.** *APS March Meeting 2005.* March 23, 2005 (Los Angeles)
14. Ajima K (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Maigne' A (NEC, JST/SORST), Murakami T (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Iijima S (Meijyo University). **Drugs incorporation in single-wall carbon nanohorns.** *APS March Meeting 2005.* March 25, 2005 (Los Angeles)
15. Murakami T (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Ajima K (NEC, JST/SORST), Miyawaki J (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Carbon nanohorns: a potential tool for drug delivery systems.** *The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems (ICIM'05).* July 6, 2005 (Tokyo)
16. Ajima K (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Iijima S (Meijyo University). **Analysis of drug-release kinetics from SWNHs for purification and determination of loaded quantities.** *The 29th Fullerene Nanotubes General Symposium.* July 26, 2005 (Kyoto)
17. Matsui T (Panasonic), Matsukuwa N (Panasonic), Okuda M (NAIST, JST/CREST), Iwahori K (NAIST, JST/CREST), Kase K (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Yamashita I (NAIST, Panasonic). **2D crystallization of ferritin molecules by means of target-specific affinity peptides.** *15th IUPAB & 5th EBSA International Biophysics Congress.* August 27, 2005 (Montpellier)
18. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Fabrication of heterologous inorganic multi-layers by using Ti-binding peptide-1.** *International Symposium on Surface Science and Nanotechnology (ISSS-4).* November 14, 2005 (Omiya)
19. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Bi-functionality of TBP-1 (Ti-binding peptide-1) facilitates nano-fabrication of heterologous multi-layers composed of inorganic nano-particles.** *2005 MRS Fall Meeting.* November 29, 2005 (Boston)
20. Saito H (Kyoto University), Inoue T (Kyoto University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **The emergence of novel proteins with disparate biological functions in motif mixing**

experiments. *Synthetic Biology 2.0*. May 20, 2006 (Berkeley)

21. Ajima K (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Maigne A (NEC, JST/SORST), Murakami T (Fujita Helth University, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Iijima S (Meijyo University). **Carbon Nanohorns as Anticancer Drug Carriers.** *CIMTEC*. June 5, 2006 (Italy)
22. Takaoka Y (Kobe University), Ohta M (Kyoto University), Maeda E (Kobe University). **An Evaluation method for the effect of complementary and alternative medicine by molecular biology via bioinformatics.** *The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and the 11th FAOBMB Congress*. June 18-23, 2006 (Kyoto)
23. Sano K (Cancer Institute JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **BioLBL: a novel technique for the fabrication of heterogeneous multilayer nanostructures by using an in vitro evolved peptide aptamer.** *IUBMB 2006*. June 18, 2007 (Kyoto)
24. Matsumura S (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Application of a peptide aptamer to functionalization of single-wall carbon nanohorns.** *NT06*. June 20, 2007 (Nagano)
25. Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Ajima K (NEC, JST/SORST), Murakami T (Fujita Helth University, JST/SORST), Miyawaki J (NEC, JST/SORST), Murata K (NEC, JST/SORST), Tagmatarchis N (NEC, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Kubo Y (Fujita Helth University), Iijima S (Meijyo University). **Single-wall carbon nanohorns for various applications.** *NT06*. June 20, 2006 (Nagano)
26. Murakami T (Fujita Helth University, JST/SORST), Fan J (NEC, JST/SORST), Sawada H (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Tsuchida K (Fujita Helth University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Water-dispersed carbon nanohorns as a potential drug carrier for cancer chemotherapy.** *IUBMB 2006*. June 22, 2006 (Kyoto)
27. Murakami T (Fujita Helth University, JST/SORST), Fan J (NEC, JST/SORST), Sawada H (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Tsuchida K (Fujita Helth University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Solubilization of single-wall carbon nanohorns with an anticancer drug-polymer conjugate.** *The 31th Fullerene Nanotubes General Symposium*. July 12, 2006 (Tsu)
28. Matsui T (Panasonic), Matsukawa N (Panasonic), Okuda M (NAIST, JST/CREST), Iwahori K (NAIST, JST/CREST), Kase D (Cancer Institute, JFCR), Sano K (Cancer Institute, JFCR), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Yamashita I (NAIST, Panasonic). **2D-ordered array of nanoparticles with ferritin modified by carbonaceous nanomaterials-affinity peptides.** *11th International Conference on Crystallization of BioMacromolecules*. August 18, 2006 (Quebec City)
29. Kokubun K (Cancer Institute, JFCR), Kashiwagi K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Yoshinari M (Tokyo Dental College), Inoue T (Tokyo Dental College), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Synthesis of artificial proteins that have cell attaching motif and titanium binding motif.** *43JPS • PEM4*. November 5, 2006 (Yokohama)
30. Tsuji T (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Yamamoto A (Pentax), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Creation of artificial proteins that induce hydroxyapatite crystallization on the titanium surface.** *43JPS • PEM4*. November 5, 2006 (Yokohama)

31. Kashiwagi K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Tsuji T (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Biological functionalization of the surfaces of titanium by the fusion proteins between BMP-2 and artificial proteins composed of titanium binding peptide motifs.** 43JPS・PEM4. November 6, 2006 (Yokohama)
32. Matsumura S (Cancer Institute, JFCR, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **A peptide aptamer-polyethylene glycol conjugate acts as a dispersant for carbon nano-materials.** 43JPS・PEM4. November 6, 2006 (Yokohama)
33. Sano K (Cancer Institute, JFCR, JST/CREST), Sasaki H (The Jikei University School of Medicine), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Utilization of multi-functionality of a peptide aptamer enables biomimetic nano-fabrication.** 43JPS・PEM4. November 7, 2006 (Yokohama)
34. Ajima K (NEC, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Maigne A (NEC, JST/SORST), Murakami T (Fujita Health University, JST/SORST), Shiba K (Cancer Institute, JFCR), Iijima S (Meijyo University). **Single-wall carbon nanohorns as cisplatin carriers.** NANO-BIO-TOKYO 2006 UT Symposium on NanoBio Integration. December 6, 2006 (Tokyo)
35. Matsumura S (Cancer Institute JFCR, JST/SORST), Yudasaka M (NEC, JST/SORST), Iijima S (Meijyo University), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Drug-loaded single-wall carbon nanohorns dispersed with a polyethylene glycol-peptide conjugate.** The 32th Fullerene Nanotubes General Symposium. February 13, 2007 (Nagoya)
36. Kokubun K (Cancer Institute, JFCR), Yoshinari M (Tokyo Dental College), Inoue T (Tokyo Dental College), Shiba K (Cancer Institute, JFCR). **Functionalization of the surface of titanium implant by artificial proteins.** 6th International Symposium on Titanium in Dentistry. June 5, 2007 (Kyoto)

(4)特許出願

① 国内出願 (9 件)

1. [公開番号]W02005/010031 [発明者]芝 清隆、佐野健一
[発明の名称]チタン、銀、シリコンに結合能を有するペプチド
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 15 年 7 月 30 日
2. [公開番号]特開 2005-065575 [発明者]芝 清隆、柏木健一
[発明の名称]フレームシャッフリングによるタンパク質分子多様性集団の作製
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 15 年 8 月 22 日
3. [公開番号]特開 2005-343885
[発明者]飯島澄男、湯田坂雅子、安嶋久美子、村上達也、芝 清隆
[発明の名称]薬物カーボンナノホーン複合体とその製造方法
[出願人]日本電気株式会社 [出願日]平成 16 年 5 月 7 日
4. [出願番号]特願 2004-224554 [発明者]齋藤博英、芝 清隆
[発明の名称]多数種モチーフ配列のランダム重合による人工遺伝子及び人工タンパク質集団の作製法
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 16 年 7 月 30 日

5. [出願番号]特願 2004-374093 [発明者]芝 清隆、佐野健一、岩堀健治
[発明の名称]ナノ黒鉛構造体-金属ナノ粒子複合体
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 16 年 12 月 24 日
6. [出願番号]特願 2005-006720 [発明者]山下一郎、芝 清隆
[発明の名称]特定無機材料結合性フェリチンタンパク質及び無機微粒子の配置
方法、並びにバイオデバイス [出願人]松下電器産業株式会社
[出願日]平成 17 年 1 月 13 日
7. [出願番号]特願 2005-155438 [発明者]芝 清隆、佐野健一
[発明の名称]機能性材料の三次元構造体
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 17 年 5 月 27 日
8. [出願番号]特願 2004-139247
[発明者]飯島澄男、湯田坂雅子、安嶋久美子、村上達也、芝 清隆
[発明の名称]シスプラチンおよびデキサメタゾン内包ナノホーンとその生成法
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構、日本電気株式会社
[出願日]平成 17 年 4 月 19 日
9. [出願番号]特願 2007-242851
[発明者]高岡 裕、細川陽一郎、大田美香、伊藤 彰彦、増原 宏、岡野和宣
[発明の名称]生体刺激装置、遺伝子制御装置および筋肉関連疾患治療装置
[出願人]神戸大学、財団法人濱野研究財団、科学技術振興機構
[出願日]平成 19 年 9 月 19 日

②海外出願 (6件)

1. [特許番号]USPatentNo.7243031 [発明者]佐藤洋子、北島正人、芝 清隆
[発明の名称]多機能塩基配列の設計方法
[出願人]富士通株式会社・芝 清隆 [出願日]平成 17 年 9 月 12 日
2. [出願番号]PCT/JP2004/011319 [発明者]芝 清隆、佐野健一
[発明の名称]チタン、銀、シリコンに結合能を有するペプチド
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 16 年 7 月 30 日
3. [出願番号] PCT/JP2004/011719 [発明者]芝 清隆、柏木健司
[発明の名称]フレームシャッフリングによるタンパク質分子多様性集団の作製
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 16 年 8 月 9 日
4. [出願番号]PCT/JP2005/13913 [発明者]芝 清隆、斉藤博英
[発明の名称]多数体モチーフ配列のランダム集合による人工遺伝子及び人工タン
パク質集団の作製法
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 17 年 7 月 29 日
5. [出願番号]PCT/JP2005/23675 [発明者]芝 清隆、佐野健一、岩堀健治
[発明の名称]ナノ黒鉛構造体-金属ナノ粒子複合体
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 17 年 12 月 22 日

6. [出願番号]PCT/JP2006/310367 [発明者]芝 清隆、佐野健一
[発明の名称]**機能性材料の三次元構造体**
[出願人]独立行政法人科学技術振興機構 [出願日]平成 18 年 5 月 24 日

(5)受賞等

①受賞

- 平成14年 東京テクノ・フォーラム21ゴールドメダル受賞(芝 清隆)
- 平成18年 癌研究会学術賞受賞(芝 清隆)
4th Peptide Engineering Meeting で発表し Award for Young Investigator's Symposium 受賞(佐野健一)
- 平成19年 第18回加藤記念研究助成・奨励研究助成受賞(佐野健一)
平成19年度村田学術振興財団研究助成受賞(佐野健一)

②新聞報道

- 平成16年 村上研究員がSORST(飯島澄男代表)で進めるカーボンナノホ ーンのDDS への応用研究について(日経産業新聞)
- 平成18年 佐野研究員の論文発表したBioLBL法について(化学工業日報)
佐野研究員の論文発表したBioLBL法について(科学新聞)

③その他

- 平成15年 週間ダイヤモンド 2003 年 3 月 22 日号の特集「二重らせん発見50周年:DNA の未来」で「進化を模倣する人工遺伝子・人工タンパク質」で **Molcraft** の紹介される。
日経バイオビジネス6月号の特集、「5年後、10年後の日本を牽引する注目のバイオ技術33」で **Molcraft** が紹介される。
9月号の現代化学の表紙に人工タンパク質#288 で形成された蔗糖の結晶が使用される。
- 平成16年 バイオベンチャー誌1-2月号には、芝部長企画による「人工タンパク質・ペプチドの威力」と題した特集が組まれている。芝部長の「使える人工タンパク質をめざして」齋藤研究員の「創薬に向けた人工タンパク質研究の展開」その他の解説から構成されています。
村上研究員の第20回DDS学会での発表が日経ナノテクノロジーで取り上げられる。
芝部長の第27回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウムでの特別講演が日経ナノテクノロジーで取り上げられる。
齋藤研究員の Synthetic Biology 1.0 の現地レポートが Bio ベンチャー誌9,10月号に掲載される。
佐野研究員のチタン結合ペプチドの実験が“qnews”に取り上げられる。
- 平成17年 芝部長が発表したCREST第1回公開シンポジウム「自己組織化の本質」が日経ナノテクノロジーで紹介される。
BIO INDUSTRY10月号には、芝部長企画による「マテリアルサイエンスで活躍するタンパク質/Part1」と題した特集が組まれている。佐野研究員の「人工ペプチドによる機能性分子配列制御」その他の解説から構成される。
BIO INDUSTRY11月号には、芝部長企画による「マテリアルサイエンスで活躍するタンパク質/Part2」と題した特集が組まれる。齋藤研究員の「モチーフ・プログラミング-ペプチドモチーフの組み合わせから人工タンパク質を創出する第二世代進化分子工学-」、村上研究員の「カーボンナノ化合物とペプチド・人工タンパク質複合体素」その他の解説から構成される。
飯島澄男グループと共同で進めるカーボンナノホーンの研究が読売オンライン、Tech-On 等で紹介される。

7 研究期間中の主な活動(ワークショップ・シンポジウム等)

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H15.08.22	第1回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「大型放射光施設 SPring8 における大規模蛋白質結 晶化の試み」 菅原 光明 (理研播磨・構 造生物物理・研究員)
H15.12.26	第2回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「人工ペプチド研究のナ ノ材料分野への応用」 松井 宏 (NY市立大・ハ ンター校化学科・助教授)
H16.01.14	第3回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「A DNA computing-based genetic program for in vitro protein evolution」 John A. Rose (東大院・情報 理工学・講師)
H16.02.25	第4回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「バクテリオファージの 尾部構成タンパクに見ら れる β -ヘリックス構造と その配列」 金丸 周司 (東工大・生命 理工・助手)
H16.04.06	第5回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「『細胞の品質管理機構』 スクリーニングの蛋白質 科学への応用」 萩原 義久 (産総研・関西 セ・研究員)
H16.05.11	第6回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「ブロックシャッフリン グによる新規タンパク質 の創出」 辻 融 (慶応・理工情報・ 助手)
H16.05.21	第7回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「A combinatorial and evolutionary approach to novel proteins」 松浦 友亮 (阪大院・情報 科学・助手)
H16.06.04	第8回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「タンパク質の構造多様 性：部分と全体のルール」

		所		本田 真也（産総研・生物機能工学・主任研究員）
H16.06.25	第 9 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「RNA 結合タンパク質を用いた改良型リボソームディスプレイ法の開発と、ペプチド性リガンド選択システムへの発展」 澤田 慎矢（産総研・ジーンディスカバリー・研究員）
H16.07.13	第 1 0 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「機能性 RNA 会合体の構築」 原田 和雄（学芸大・教育・助教授）
H16.08.17	第 1 1 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「海洋生物の水中接着蛋白質複合体から学ぶこと」 紙野 圭（海洋バイオ研・主任研究員）
H16.09.21	第 1 2 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「Leucine-rich repeat と immunoglobulin-like fold」 畠中 秀樹（九大院・システム生命科学・助教授）
H16.10.02	第 1 3 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「磁石の種入りフラーレンの話」 加藤 立久（城西大・理・教授）
H16.11.05	第 1 4 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「スパイダーシルクと繰り返し配列を持つタンパク質の合成」 福島康正（東洋大・工・教授）
H16.11.25	第 1 5 回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「Interaction of recombinant ferritins with solid surfaces measured with an atomic force microscopy: an effect of the sequence in the N-terminal domain」 林 智広（東工大・総合理工・研究員）

H17.1.28-29	有機・バイオ超分子研究意見交換会議 第1回山下グループ&芝グループ合同研究会	ラフォーレ強羅（神奈川県足柄下郡箱根町）	25	有機・バイオ超分子研究についての意見交換
H17.5.13	第16回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「電子線と X 線で解き明かす、超分子ナノマシン細菌べん毛の作動機構」 今田勝巳（阪大・生命機能・助教授）
H17.05.20	第17回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「ハイドロキシアパタイトの表面性質と医療産業への応用」 山本 晃（ペンタックス（株）・インキュベーションセンター・研究員）
H17.06.03	第18回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「ポリメタル化ペプチド創製を目指した遷移金属結合型アミノ酸の開発」 高谷 光（大阪大・工・助手）
H17.06.17	第19回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「表面改質によるチタン人工歯根の生体機能化」 吉成 正雄（東京歯科大・歯科理工学・助教授）
H17.06.24	第20回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「タンパク質合成開始因子の構造、機能とリン酸化による転写プログラム制御」 浅野桂（カンザス州大・生・助教授）
H17.07.08	第21回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「HIF-1 を利用した低酸素がん細胞のイメージング・ターゲティング」 近藤科江（京都大・医 COE・助教授）
H17.08.10	第22回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「エナメル質形成のモデル実験系におけるエナメル質様結晶の育成」 飯島まゆみ（朝日大・歯・助手）

H17.08.25	第 2 3 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「ナノ炭素材料の生体親和性」 佐藤義倫 (東北大・環境・助手)
H17.8.26	第 2 4 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「枯草菌ゲノムベクターを用いたオペロンデザイン・ゲノムデザイン」 柘植謙爾 (三菱化学生命科学研・特別研究員)
H17.12.05	第 2 5 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「 Rounding Up: Entropically engineering 12-membered rings from the cyclic 11-mer TRAP」 Jonathan Heddle (Protein Design Laboratory, Yokohama City University)
H17.12.19	第 2 6 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「シリコン基板上への単一フェリチン分子配置」 熊谷慎也 (松下電器・先端研・研究員)
H18.2.23-24	有機・バイオ超分子研究意見交換会議 第 2 回山下グループ & 芝グループ合同研究会	サンヒルズ三河湾 (愛知県蒲郡市)	25	有機・バイオ超分子研究についての意見交換
H18.5.27-28	第 9 回マリンバイオテクノロジー学会	東京海洋大学	80	紙野圭博士と芝がシンポジウム「マリンバイオマテリアル: 材料研究の先端と接する海洋生物の多様な生体分子」をオーガナイズ
H18.5.29	第 2 7 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「単粒子トモグラフィー法によるインテグリンの構造解析」 岩崎憲治 (大阪大・蛋白質研・助教授)
H18.6.26	第 2 8 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「新規機能性蛋白質の探索と創製」 若杉桂輔 (東京大・生命環境・助教授)
H18.7.28	第 2 9 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「In vitro virus 法および Display-on-chip 法による蛋白質間相互作用解析」 堀澤健一 (慶応大・理工情報・助手)

H18.9.1	第 3 0 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「バイオマテリアル: 生命の起源からハイブリッド材料まで」 梅津光央 (東北大・工学研究科・助教授)
H18.9.8	第 3 1 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「高分子と生体分子のインターフェイシャルエンジニアリング」 芹澤 武 (東京大・先端研・助教授)
H18.10.5	第 3 2 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「DNA やペプチドの自己集合によるナノ構造体の構築」 松浦和則 (九州大学大学院・工学研究院・助教授)
H18.11.24	第 3 3 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「CdTe, CdSe ナノ微粒子の微生物合成の可能性」 阪口利文 (県立広島大学・生命環境学部・助教授)
H19.2.9-10	有機・バイオ超分子研究意見交換会議 第 3 回山下グループ & 芝グループ合同研究会	ホテル伊東パウエル (静岡県伊東市)	25	有機・バイオ超分子研究についての意見交換
H19.3.6	第 3 4 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「自己組織化と結晶成長: 生物に学ぶナノからマクロの階層的形態制御」 今井宏明 (慶應大・理工応化・助教授)
H19.3.20	第 3 5 回 Craftie Salon	(財) 癌研究会癌研究所	10	「Design on functional colloidal nanostructures: M@ZnO, M@SiO ₂ and g-Fe ₂ O ₃ 」 Fabien Grasset (Unite Sciences Chimiques de Rennes)
H19.4.10-13	米国材料学会(MRS)	サンフランシスコマリオットホテル (米国サンフランシスコ)	150	芝 が Carole Perry, Rajesh Naik, Rein Ulijn と共にシンポジウム: The Nature of Design - Utilizing Biology's Portfolio をオーガナイズ

H19.5.24-26	第7回日本蛋白質科学会年会	仙台国際センター（宮城県仙台市）	150	芝と山下一郎博士がワークショップ「自己組織化ナノ素子としての蛋白質」をオーガナイズ
H19.6.11	第36回 Craftie Salon	（財）癌研究会癌研究所	10	「蛋白質と金属化合物複合化の分子設計図」 上野隆史（名古屋大・物質理学・助手）
H19.8.19-23	米国化学会 (ACS)234回大会	Boston Convention & Exhibition Center（米国ボストン）	50	芝が S. J. Clarson 他と共にシンポジウム：Synthetic and Biological Macromolecules for Emerging Nanotechnologies をオーガナイズ
H19.9.12	「バイオに学ぶ高次自己組織化ナノテクノロジー」シンポジウム	品川プリンスホテル（東京都港区）	250	自己組織化研究を俯瞰しつつ、これからのバイオに学ぶ高次自己組織化ナノテクノロジー研究がどのように進むべきかを考える。芝、山下一郎博士、川合知二博士の企画。

8 研究成果の展開

(1)他の研究事業への展開

(該当なし)

(2)実用化に向けた展開

人工タンパク質・ペプチドを利用したナノデバイス作製の潜在能力を開発し、将来の新しいナノ構造作製法を確立する目的で、(株)村田製作所との共同研究が平成15年からスタートした。現在、研究員1名、研究補助員1名の規模での研究が進行中である。

山下一郎博士の所属する松下電器産業株式会社とはバイオナノプロセスによるデバイス開発で密接な共同研究体制を構築している。

ペンタックス研究所とヒドロキシアパタイトの人工タンパク質による形態制御に関する共同研究を進めている。

オーストラリアの Queensland Eye Institute とは、バイオマテリアルへのリン酸カルシウムの沈着を人工タンパク質を用いて抑制する可能性を検討している。

癌研究会癌化学療法センター、NEC とはカーボンナノホーン結合ペプチドを利用したカーボンナノ材料の親水化と、それを用いた抗癌剤の送達システムの開発を共同開発している。

他にも、いくつかの企業から主に、BioLBL 法に関して問い合わせがきている状態である。

アカデミックレベルでの実用化に向けた取り組みでは TBP-1 の歯科領域での利用に関して、東京歯科大学と、顎骨再生領域では、北海道大学歯学部と共同研究が進行中で、臨床での活用を目指している。

9 他チーム、他領域との活動とその効果

(1)領域内の活動とその効果

領域内の山下グループとは、無機物結合ペプチドのデバイス分野での利用に関して、早い段階から共同研究を開始した。デバイス方面への展開は、当初の研究計画には含まれていなかったが、中間評価での助言を得て、後半はかなりの勢力を注ぎ、大きな成果を挙げることに成功した。

伊藤チームとは AFM を用いた TBP-1 の結合力の測定で共同研究を進めた。

(2)領域横断的活動とその効果

シンポジウムに参加いただいた複数の企業から、個別に共同研究の相談を受けた。そのうちのいくつかは現在も話が進行中である。

10 研究成果の今後の貢献について

(1)科学技術の進歩が期待される成果

《プログラマブル人工タンパク質》 90年代に確立した第1世代の人工タンパク質創製技術では、結合活性などをもった人工ペプチドを自由に作り出せるようになった。プログラマブル人工タンパク質で用いて、チタンに結合するペプチドなども、この第1世代の人工タンパク質創製技術で創製したものである。これに対して、本プロジェクトの中心であるプログラマブル人工タンパク質の創製技術は、活性をもった短いタンパク質を組み合わせ、さらに高機能のタンパク質をそうしようとする技術であり、第2世代の人工タンパク質創製技術であるといえる。第1世代の人工タンパク質創製技術で続々と作り出されたペプチド・アプタマーに加え、ポストゲノム計画やプロテ

オーム研究から明らかにされる天然の機能性をモチーフを資源としながら、さらにこれら資源を有効に活用することのできる技術であり、進化分子工学とゲノム研究を融合させる研究とも捉えることができる。

《生物学と材料科学のインターフェイス》現在、第1世代の人工タンパク質創製技術から、続々と無機材料に働きかける(主に結合)人工ペプチドが創製されている。これらのペプチド・アプタマーは結合活性のみならず、無機材料の結晶化にも関わることが分かってきており、今後ますますナノテクノロジー分野で活躍することは間違いない。プログラマブル人工タンパク質研究では、これら無機材料に働きかける機能性モチーフと、各種生物活性をもつ機能性モチーフの組み合わせに特に焦点を当てた。これは、生物学と材料科学のインターフェイスする人工タンパク質の位置づけを確かなものにする、および、医療分野での無機材料系バイオマテリアルの生物学的機能化にプログラマブル人工タンパク質を利用することをめざしたものであり、期待どおりの成果をあげることができた。

《BioLBL 法のメディカル・デバイス分野での利用》当初予想していなかった大きな成果として「BioLBL 法」の確立がある。これは、無機材料に働きかける人工ペプチドが、「結合活性」と「ミネラル化活性」といった2つの活性を同時にもつことに注目し、この2つの活性を交互に利用することから、無機材料薄膜とナノ粒子の交互ヘテロ多層膜を形成する技術である、これまでにない発想に基づく極めてユニークな手法である。類似手法として、電気的性質の異なる物質を多層化する layer-by-layer 法が既に存在するが、この従来法に比べて、電荷的性質に依存しない、温和な条件で反応が進む、2次元での位置決めをしたのちに3次元に積み重ねられる、層間拡散を抑制できる、などといったいくつかの長所をもっており、今後多層化技術として広い分野で発展していくものと思われる。特に抗体や酵素などといった生体高分子との相性がいいために、センサー、薬物徐放、酵素の多層化などといったバイオ分野での実用化が近いものと考えている。

《水中高次自己組織化》

人工タンパク質、人工ペプチドを利用した水中でのナノ粒子の配列、ナノ粒子の3次元ナノ構造形成、ミネラル化の制御など、水中高次自己組織化につながる要素技術を確認することができた。その総決算として、基板上へのナノパターンニングと BioLBL とを組み合わせ、位置決めした状態でのナノ粒子3次構造体形成に成功した。今後、これら水中ナノ構造体形成技術をさらに発展させ、バイオナノプロセスによるボトム・アップなナノ構造形成が本格化するものと思われる。

(2)社会・経済の発展が期待される成果

生体高分子を用いたボトム・アップなナノ構造形成法の経済的な大きな利点は、従来のトップ・ダウン法で必要としていた大きな施設、大量のエネルギーを必要としないことである。全て、水中の温和な条件でナノ構造構築が進む。したがって、エネルギー、環境の観点から、その確立は社会・経済の発展に大きな影響を与える。また、無機材料と生体高分子のインターフェイスングが実現したため、光合成関連酵素と電気系が一体化した全く新しいエネルギー分野でのデバイス開発などへの貢献がきたいできる。

上の例はいずれも長期的な視点にたった社会・経済への貢献であるが、短いスパンでは、チタン表面への生物機能の付与、BioLBL 法を用いた時間制御的な薬物・サイトカイン放出システムとして新しい分野を形成し、医療技術の進展を通して社会・経済への発展に貢献できる。

11 結び

プログラマブル人工タンパク質の中核となる技術「MolCraft」そのものは、本プロジェクト開始前の基礎研究で既に基本骨格は確立されていた。本プロジェクトの大きな目標は、このような基礎科学分野で確立された新しい技術を、応用展開につなげていくことにあった。しかも生物系での応用展開のみならず、材料分野での展開も視野に入れていたので、「基礎と応用」「生物と材料科学」といった2つの切り口からの分野横断的な研究展開を進めなければならなかった。この目標の達成ために、本プロジェクトでは、代表者がこれまで全く踏み込んだことのなかった、歯科領域、材料科学、電子デバイスの研究者とのコラボレーションを進めなければならなかった。新しく学ぶことが多く、大変な作業かと思われたが、新しいことを学ぶ喜びといった、サイエンスの根本的な部分に久方ぶりに接することができる結果となり、楽しく5年間の研究を進めることができた。現在、歯科領域、材料科学、電子デバイスの研究者との密接な関係を構築することができ、それぞれ分野横断的な新しい研究の成果が着実に実りつつある。積極的な研究内容の発表のおかげか、あるいは時代の流れが、最近では異分野の研究者や企業の方かわれわれの方にアプローチしてくださることも多くなってきた。こういった意味では、「基礎と応用」「生物と材料科学」のつながりを構築する目標はほぼ達成したものと考えている。この成功は、人工タンパク質研究そのものに「基礎と応用」の両面性があらかじめ内包されていたことに加え、積極的に「生物と材料科学」を結びつける出口目標を設定したことに拠るものと考えている。今後は、これら芽の出た人工タンパク質の応用利用を育てていくこととともに、本プロジェクト期間中、ずっと気になっていた「自己組織化」の問題に正面から取り組んでいきたい。そもそも人工タンパク質研究の出発点は、タンパク質（遺伝子）がどのような原理に基づき生まれ、生長してきたかを知りたいという知的好奇心であった。これはタンパク質（遺伝子）の自己組織化機構の理解そのものにほかならない。現存の実験室内進化系は、MolCraft を含めて、正直なところ「自己組織化」的なシステムとはとても言い難い。合成生物学やシステム生物学から得られつつある最新知見をうまく取り入れながら、自己組織化的要素を取り入れた第3世代の進化分子工学システムを確立し、これをいち早くナノテクノロジー分野での高次構造形成技術に取り入れることが、次の私の科学的な挑戦である。

バイオナノテクノロジーは今世紀に入って勃興した新しい学問分野である。えてしてこのような新しい学問分野では、従来科学の看板の掛け替えだけの研究が多いが、積極果敢に分野横断的な新研究領域の開拓に挑戦できたのは、いろいろな側面でのJST、領域代表、領域事務所による研究支援体制のおかげと感謝している。

5年間の研究期間を通じ、本プロジェクトに参加したJST研究員は「基礎と応用」「生物と材料科学」を幅広く見渡すことのできる研究者に成長した。今後、これらの若手研究者がバイオナノテクノロジーを牽引していくことを期待している。なんとかうまく、スムーズにこれら若手研究者を引き続き伸ばしていく制度が整っていればという残念な気持ちがある。既存のさきがけ制度のみだけでは、規模的にCREST 育った若手研究員を受け入れるには限度があると思える。

新しい分野の研究は、既存分野の研究者がボトム・アップで作り上げる科学研究費のシステムではなかなか拾い上げてもらえない。新しい研究領域の開拓には、CREST や ERATO といったトップ・ダウンの制度が不可欠である。今後とも、引き続き戦略的想像研究推進事業を推進していただきたい。



(財) 癌研究会癌研究所
蛋白創製研究部

Japanese | English

DEPARTMENT OF PROTEIN ENGINEERING,
THE CANCER INSTITUTE OF THE JAPANESE FOUNDATION FOR CANCER RESEARCH



HOME 研究紹介 メンバー紹介 Craftie Salon 論文発表 学会発表 リンク

SOUND OFF TOP



メンバー紹介

現在のメンバー

- ☑ 芝 清隆
- ☑ 柏木 健司
- ☑ 佐野 健一
- ☑ 辻 融
- ☑ 松村 幸子
- ☑ 河村 秀樹
- ☑ 國分克寿
- ☑ 加瀬 大介
- ☑ 南澤 宝美后
- ☑ 高橋 久美子

過去のメンバー

- ☑ 鈴木 則子
- ☑ 照沼 篤
- ☑ 茂木 浩未
- ☑ 永井 誠
- ☑ 大谷 真也
- ☑ 畑田 智子
- ☑ 高橋 由貴
- ☑ 藤田 三紀子
- ☑ 金 聖勲
- ☑ 西口 慶一
- ☑ 本間 貴子
- ☑ 朱 進
- ☑ 村上 達也
- ☑ 齋藤 博英

メンバー紹介のトップへ戻る

