

超低温保存が可能な種子における天然変性蛋白質の
卓越した保護活性の分子機構

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2024-03-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 原, 正和 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10297/0002000417

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02222

研究課題名(和文)超低温保存が可能な種子における天然変性蛋白質の卓越した保護活性の分子機構

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of the superior protective activities of intrinsically disordered proteins in cryo-preservable plant seeds

研究代表者

原 正和 (Hara, Masakazu)

静岡大学・創造科学技術大学院・教授

研究者番号：10293614

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：種子の保存性に関与する天然変性タンパク質デハイドリンに着目し、超低温保護作用のメカニズム解明に取り組んだ。さらに、デハイドリンとは異なる天然変性タンパク質としてダイコンからRVCaBを分離精製し、超低温保護活性を見出して活性セグメントを同定した。その結果、両天然変性タンパク質の作用機構に共通点を見出し、従来の作用モデルを補完する新たなモデルを提案した。天然変性タンパク質には多様な分子種が存在し、それぞれが植物の生育やストレス耐性に重要な役割を担っている可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

天然変性タンパク質は生物界に広く存在するが、その機能と生理学的な意義については多くの場合不明である。本研究は、植物天然変性タンパク質の超低温保護機能に着目し、そのメカニズムを解明した点で学術的な意義がある。植物由来の天然変性タンパク質は未利用素材であり、細胞や臓器の保存、冷凍並びに乾燥食品の製造、遺伝資源の保存など、様々な場面での応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We elucidated the mechanism of cryoprotective activity of dehydrin, an intrinsically disordered protein which is related to the preservation of plant seeds. We also purified another intrinsically disordered protein RVCaB from radish, found the cryoprotective activity, and identified the active segment. As a result, we found a common action mechanism between dehydrin and RVCaB, and proposed a new cryoprotective model which can complement the conventional protective models. It is suggested that there are diverse species of intrinsically disordered proteins in plants which can play an important role in their growth.

研究分野：植物機能生理学

キーワード：超低温保存 タンパク質保護 天然変性タンパク質 デハイドリン

1. 研究開始当初の背景

植物の種子には、超低温保存(液体窒素保存)が可能なものと、冷蔵保温すら不可能なものがある。しかし、この違いがどのような分子的要因によって決定されているのか、未だ解明されていない。代表者は、種子胚に含まれ、種子の低温保存性と関連がある植物固有の天然変性タンパク質(デハイドリン)の保存領域が、低温感受性モデル酵素の超低温失活を僅か 0.001%レベルでほぼ完全に抑止することを報告した。これは、通常の保護物質が%レベルで作用することと比較すると極めて高い活性である。さて、タンパク質保護メカニズムには、選択的相互作用説や分子シールド説があるが、デハイドリンの保護作用には、これらの説では説明できない要素があった。天然変性タンパク質による超低温保護機構を解明し、タンパク質の保存性を合理的に高めるには、従来の説を補完する新たな保護様式を考慮する必要がある。

2. 研究の目的

(目的1)デハイドリンの保存領域によるタンパク質超低温保護作用のメカニズムを、生物物理学的並びに生化学的視点で究明し、種子の超低温保存の仕組みを理解する。

(目的2)デハイドリン以外の超低温保護活性を示す植物天然変性タンパク質の存在を明らかにし、その作用機構を解明する。

(目的3)以上を統合し、植物天然変性タンパク質の作用メカニズムの共通点を見出し、従来の保護理論を補完する新たな仮説を提唱するとともに、植物天然変性タンパク質の生理学的意義を推定する。

3. 研究の方法

3.1. タンパク質超低温保護活性の測定

超低温保護活性の測定には、低温失活モデル酵素であるウサギ筋肉乳酸脱水素酵素(LDH)を用いた。本酵素の水溶液に対して凍結融解を繰り返す(有効最小回数3回)LDHのダメージを失活(酵素活性)凝集(濁度)変性(蛍光色素による疎水性モニタリング)で評価した。超低温保護活性を測定する場合、LDH溶液に試験対象物質(ペプチド)を加えておき、凍結融解を行った。失活、凝集、変性の抑制率を算出して50%阻害濃度(PD₅₀値)を得た。各ペプチド間の活性比較には本値を用いた。

免疫グロブリンの凍結障害を評価するため、ウシグロブリン(BGG)を用いた凍結凝集系を確立した。BGGをバッファーに溶解し、3回の凍結融解後に濁度を測定した。各ペプチドの保護活性はPD₅₀値で表した。

3.2. タンパク質並びにペプチドの二次構造解析

デハイドリン並びに関連ペプチドの二次構造は、円偏光二色性(CD)スペクトルと二次構造組成解析ソフト(K2D3)によって決定した。ペプチドの三次元構造の予測にはPEP-FOLD3を用い、天然変性状態の判定にはIUPredを用いた。

3.3. タンパク質並びにペプチド間の相互作用

デハイドリン並びに関連ペプチドと、保護対象タンパク質との間の相互作用は、超遠心法、等温滴定型カロリメトリー(ITC)、サイズ排除高速液体クロマトグラフィーによって調べた。

3.4. ハツカダイコン天然変性タンパク質の抽出と精製

ハツカダイコンの天然変性タンパク質の抽出精製は文献[1]に従った。ハツカダイコンの肥大根をすりおろし、可溶性タンパク質画分を得た。これを加熱した後、遠心上清を得てTOYOPEARL SuperQ並びにTOYOPEARL DEAEによってタンパク質を分画した。SDS-PAGEによってタンパク質組成を確認しつつ、LDH凍結失活抑制活性を示すタンパク質を精製した。精製タンパク質はMALDI-TOF/MSによるde novoシーケンスによりデータベースと照合して同定した。

4. 研究成果

4.1. デハイドリン並びに保存領域による超低温保護活性(目的1)

これまでの研究で、デハイドリンの保存領域であるKセグメント(15アミノ酸、典型配列TypK: EKKGIMEKIKEKLPG)が凍結感受性酵素LDHの凍結失活を抑制することが分かっていたが[2]、それ以外の超低温保護活性セグメントについては報告がなかった。そこで、シロイヌナズナのデハイドリンAtHIRD11を用い、新たな超低温保護活性セグメントの探索を試みた。AtHIRD11は全長98アミノ酸の天然変性タンパク質であるが、そのほぼ中央にKセグメントが存在する(Kseg)。活性セグメントを見出すため、KセグメントのN末端からAtHIRD11のN末端までの範囲を3つのセグメントに分割した(NK1~NK3、ここでNKとはKセグメント以外の部位を示す)。さらに、KセグメントのC末端からAtHIRD11のC末端までの範囲を同様に3つのセグメントに分けた(NK4~NK6)。NK1~NK6はいずれも15アミノ酸とし、Ksegのアミノ酸長に合わせた。それぞれ

のセグメントに対し、LDHの凍結失活抑制活性、凍結凝集抑制活性、凍結変性抑制活性を測定した結果、いずれの項目においてもKsegとNK1に活性があることが判明した[3]。NK1の活性は、Ksegに若干劣る程度であった。興味深いことに、活性セグメントであるNK1とKsegには、AtHIRD11に含まれる11個の疎水性アミノ酸のうち、実に10個が集中していた。

さて、AtHIRD11はKS型と呼ばれるデハイドリンで、様々な植物に見出される低温誘導性デハイドリンである。一方、FSKn型もまた植物に広く存在する低温誘導性デハイドリンである。FSKn型は、他のデハイドリングループにはないFセグメントをもつ[4]。FセグメントはFSKn型デハイドリンのN末端側に存在することが指摘されていたがその機能は不明であった。そこで、シロイヌナズナ由来のFSKn型デハイドリンであるCOR47(FSK3)、ERD10(FSK3)、ERD14(FSK2)、At4g38410(慣用名なしFSK2)を選出し、それぞれのFセグメント配列(15アミノ酸)を用いて超低温保護活性を測定した。すると、いずれのFセグメントもLDHの凍結失活並びに凍結変性を抑制することが判明した[5]。それらの活性はKセグメントと同等であった。Fセグメントには5個の疎水性アミノ酸が存在していた。

ここまでの実験では、凍結失活モデル酵素のLDHを用いてきた。超低温保護の事例を増やすため、免疫グロブリンのモデルとしてウシのグロブリン(BGG)を用いた。BGGをバッファーに溶解すると溶液はほぼ透明になるが、凍結融解を繰り返すと白濁し、BGGに由来する数十 μm から200 μm 程度の凝集体が観察された。一方、あらかじめBGG溶液にAtHIRD11を加えて凍結融解すると、濁度は大きく低下しBGGの凝集体も見られなくなった[6]。以上の結果から、AtHIRD11はLDHのみならずBGGに対しても超低温保護活性を示すことが分かった。

4.2. デハイドリン並びに超低温保護活性セグメントの作用機構の解明(目的1)

上記の結果から、全長デハイドリン(AtHIRD11)のみならず、セグメント(Kseg、NK1、Fseg)もまたLDHの超低温保護作用を示すことが分かった。デハイドリンは天然変性タンパク質であるため、疎水性アミノ酸の含量は10%程度と低く抑えられている。しかし、3種の活性セグメントには共通して疎水性アミノ酸の集中が見られ、その含量は27~40%に達した。当研究室の既知情報から、Kセグメントの疎水性アミノ酸を親水性の非電荷アミノ酸であるスレオニンに置換すると、LDH凍結失活抑制活性が大幅に低下することが分かっていた[2]。そこでFsegの疎水性アミノ酸をスレオニンに変換したところ活性が消失した[5]。つまり、活性セグメントの超低温保護活性には、疎水性アミノ酸の存在が重要であることが分かった。

こうした活性セグメントに限定した実験では、デハイドリン本体における疎水性アミノ酸の重要性を立証することはできない。そこでデハイドリン本体(ここではAtHIRD11を使用)に存在する11個の疎水性アミノ酸を全てスレオニンに変換したAtHIRD11/Tを作成し、LDHの超低温保護活性を測定した。その結果、凍結失活抑制作用、凍結凝集抑制作用、凍結変性抑制作用の全てにおいて、AtHIRD11/Tの活性は検出できない程度に低下した。つまり、デハイドリン本体の超低温保護活性もまた、疎水性アミノ酸に依存することが確認できた。

以上の結果から、デハイドリンは親水性アミノ酸に富む天然変性タンパク質であるが、一部のセグメントに存在する疎水性アミノ酸が活性発現に不可欠であることが判明した。しかし、疎水性アミノ酸がどのように酵素の凍結ダメージを抑制するのかが不明である。そこで、デハイドリン及び活性セグメントが保護対象タンパク質とどのように相互作用するのかについて調べた。

まず、AtHIRD11とLDHが溶液中で結合している可能性を超遠心法によって調査した。超遠心法では、タンパク質の沈降係数の違いから分子量に基づいた分離が可能である。フルオレセインイソチオシアネート(FITC)で標識したAtHIRD11(F-AtHIRD11)を調製し、LDHと混合した後に超遠心に供したところ、両者は溶液中で結合していないことが判明した[3]。さらに、KセグメントとBGGとの結合の有無を確認するために、サイズ排除高速液体クロマトグラフィーを実施した。N末端にFITC修飾を施したTypK(F-TypK)とBGGと混合してクロマトグラフィーにかけたところ、両者は結合していないことが示唆された[6]。次に、F-TypKとBGGの混合液にクロスリンカーDimethyl pimelimidate(DMP、スペーサー長9.2)を加えて反応させた。DMPは、タンパク質やペプチドのアミノ基と反応するため、BGGとF-TypKが溶液中でごく近傍に存在すれば架橋反応が起こる筈である。クロマトグラフィー分析の結果、F-TypKの一部はBGGとDMPを介して架橋することが判明した。次に、F-TypKの疎水性アミノ酸をスレオニンへ変換したF-TypK/Tを調製した。F-TypKはBGGの凍結凝集を効果的に抑制するが、F-TypK/Tは凍結凝集抑制作用を示さない。F-TypK/TとBGGを混合しても結合しないことを確認した後、上記の条件でDMPを作用させ、クロマトグラフィーで分析したところ、F-TypK/TとBGGとの架橋効率はF-TypKとBGGとの架橋効率に比べて明らかに低かった。F-TypK/Tには、F-TypKと同位置に同数のアミノ基が存在するため、架橋効率の低下は、F-TypK/TとBGGとの距離がF-TypKとBGGとの距離よりも遠いことによると考えられた[6]。

以上の結果を総合すると、TypKは保護対象タンパク質の表面近く(上記の条件では9.2以内)に存在するが、結合せずに一定の距離を保って対象タンパク質を保護する。しかし、TypKの疎水性を低下させたTypK/Tは、TypKよりも対象タンパク質から離れた位置にあり、保護活性は大幅に減少する。すなわち、TypKは対象タンパク質に対してつかず離れずの位置を保ってお

り、このことが対象タンパク質の保護と関連がある可能性が示唆された。

さらに、PEP-FOLD3 を使って TypK の三次元構造を推定したところ、中性水溶液中で両親媒性ヘリックスを形成する可能性が示唆された。両親媒性ヘリックスとは、ペプチドのヘリックス構造を円筒に見立てた場合、側面の一方向側に疎水性アミノ酸が集合し、反対方向側に親水性アミノ酸が集合する構造を示す。つまり K セグメントは、疎水性アミノ酸からなる疎水面を溶媒側に露出した構造をとりうる。一方、凍結融解処理はタンパク質表面に疎水性パッチを生じさせ、これを介してタンパク質は凝集するとされる。恐らく K セグメントは、通常無秩序な構造をとるが、一過的に疎水面を形成して保護対象タンパク質同士の会合に干渉しそれを阻止していると考えられる（一過的疎水性相互作用仮説）。F セグメントにもまた、疎水性アミノ酸が集合して溶媒へ露出する構造が見られたことから、K セグメントと F セグメントは同様のメカニズムによってタンパク質の凍結ダメージを抑制していると考えられる。ここで注目すべきは、PD₅₀ 値を比較した場合、K セグメントや F セグメントの活性は AtHIRD11 の活性に比べて数分の一に過ぎないという点である。デハイドリン本体は、K セグメントや F セグメントを含みながらも、それ以外の大半は親水性領域によって占められており、これが大きな流体力学的半径を生み出すと言われている。これらを総合した作用機構に関する議論は 4.4. で行う。

4.3. デハイドリン以外の植物天然変性タンパク質の超低温保護作用（目的 2）

デハイドリンの超低温保護作用に関する情報が蓄積しつつある中で、他のタンパク質にも超低温保護作用があるか否かについて調査を始めた。以前、ハツカダイコンの肥大根に AtHIRD11 のオーソログ RsDHN を見出したが、その精製過程で、RsDHN を含まない画分に強い超低温保護活性を検出していた。今回、活性物質を精製しマスペクトルによって特定したところ、RVCaB というタンパク質であることが判明した。RVCaB はわが国の研究グループによって発見され特徴付けられたタンパク質であり、ダイコンの液胞に存在するカルシウム結合タンパク質である [7]。RVCaB は天然変性タンパク質であり、液胞においてカルシウムを貯留する機能が推察されていた。今回の知見により、RVCaB にはカルシウム貯留機能の他、タンパク質保護作用をもつことが明らかとなった。精製法を検討した結果、高温処理とカラムクロマトグラフィーを組み合わせ、従来法に比べ数千倍の精製効率を実現した [1]。また RVCaB がダイコン肥大根における主要な可溶性タンパク質であることを示した。

RVCaB は 248 アミノ酸からなるポリペプチドであり、酸性アミノ酸に富む高親水性タンパク質である。配列全体に渡り親水性アミノ酸が多く存在する一方、一部に疎水性アミノ酸の存在率が高い箇所が見られる。そこで、RVCaB の配列を 15 アミノ酸ずつ 15 セグメント (Seg01 ~ Seg15) に分割した。なお、Seg07 と Seg08 はそれぞれ全く同じ配列がタンデムに 2 回繰り返されていたため、重複箇所は Seg07 と Seg08 で代用した。15 セグメントの LDH 凍結失活抑制活性を測定したところ、Seg03 に活性が集中することが分かった [1]。Seg03 の配列は K セグメントや F セグメントの配列と全く異なるものの、疎水性アミノ酸を多く含む点で共通していた。さて、RVCaB の PD₅₀ 値は Seg03 の値の 1/10 であり、デハイドリンと活性セグメントとの関係と類似していた。

4.4. 植物天然変性タンパク質の超低温保護機構の提案と生理学的な意義（目的 3）

タンパク質の保護機構についてはいくつかの理論が提唱されている。最も知られた理論は選択的相互作用説である [8]。保護物質である糖類やポリオールは、タンパク質表面から距離を置いて存在するため、水分子がタンパク質表面に集められてタンパク質は安定化する（選択的水和）。この効果が十分発揮されるためには、高濃度（%オーダー）の保護物質を必要とする。一方、タンパク質を保護する高分子の作用理論として、分子シールド説がある [9]。この説では、保護活性を有する高分子は高い親水性と大きな流体力学的半径をもつため、保護対象タンパク質の間を盾のように埋め変性凝集を防ぐとされる。

デハイドリンや RVCaB の作用機構を、選択的相互作用説並びに分子シールド説と関連付けて議論した場合、いずれの説による考察にも矛盾が残る。選択的相互作用説では、高濃度の保護物質を想定しているが、デハイドリンや RVCaB はごく低濃度（ppm オーダー）で作用した。一方、分子シールド説では、保護物質の高い親水性を重視するが、デハイドリンと RVCaB の活性には疎水性アミノ酸が重要であった。しかし、上述の一過的疎水性相互作用仮説を考慮することにより、こうした矛盾を最小化する考察は可能である。

ここに、本研究の結果想定した一過的疎水性相互作用仮説と、選択的相互作用説並びに分子シールド説とを関連付け、植物天然変性タンパク質の超低温保護機構について提案する。植物天然変性タンパク質には、超低温保護作用を示す活性セグメントがあり、そのセグメントが保護対象タンパク質の表面に近接しつつも結合しないという位置を維持している。この絶妙な位置関係には、活性セグメントに生じる疎水面と保護対象タンパク質表面の疎水性パッチとの相互作用が関係すると推察されるが、詳細は不明である。ともあれ保護対象タンパク質の表面付近に結合することなく近接することは、選択的相互作用説における選択的水和に近い効果をもたらしている可能性がある。一方、天然変性タンパク質は大きな流体力学的半径をもつため、分子シールド説に基づき、保護対象タンパク質と隣接するタンパク質との衝突を効果的に防ぐと考えられ

る。この時、活性セグメントによる保護対象タンパク質表面への近接効果が、分子シールド作用の持続性を高めている可能性がある。つまり植物天然変性タンパク質は、上記のモデルに基づき、低濃度で最大の保護効果を発揮するように進化した可能性がある。

デハイドリンや RVCaB にはどのような生理的な意義があるのだろうか。本研究により、両者は高い超低温保護作用を有するため、植物の低温耐性への関与が示唆される。デハイドリンは主に完熟種子の胚に含まれる。種子には超低温保存が可能なものとは不可能なものがある。前者にはデハイドリンが多く含まれるとの報告がある。種子胚は多くのタンパク質を含むことから、デハイドリンは、上述した機構によって胚のタンパク質を保護し、結果として種子の保存性を高められていると考えられる。また、デハイドリンは低温や乾燥ストレスで発現することが知られており、上述のメカニズムによって植物体のストレス耐性に関わると思われる。一方、RVCaB はダイコンの肥大根という特徴的な組織に多量に蓄積している。RVCaB はカルシウムイオンの貯蔵とタンパク質の凍結ダメージ抑制というマルチファンクショナルな特性を持つ。ダイコンの肥大根は養分の貯蔵器官であるので、RVCaB の蓄積は貯蔵器官の保護に役立つと考えられる。また、肥大根における貯蔵タンパク質としての役割も想定される。

植物の天然変性タンパク質研究は、デハイドリンを含む Late embryogenesis abundant (LEA) タンパク質を中心に進められてきた。しかし、植物天然変性タンパク質の研究は緒に就いたばかりであり、全容の解明にはほど遠い。デハイドリンと RVCaB を例にとっても、アミノ酸配列の相同性は極めて低く、植物における働きも異なっている。植物界において、どのような天然変性タンパク質がどの程度発現し、いかなる機能をもつのかはほとんどわかっていない。本研究では、種子の保存性に関与するデハイドリンに着目し、その機能を解明することによって、植物天然変性タンパク質の世界の一端を垣間見ることができた。今後は、植物天然変性タンパク質を丹念に研究し、その存在意義に迫りたい。

<引用文献>

1. Osuda, H., Sunano, Y., & Hara, M. (2021). An intrinsically disordered radish vacuolar calcium-binding protein (RVCaB) showed cryoprotective activity for lactate dehydrogenase with its hydrophobic region. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1130-1137.
2. Hara, M., Endo, T., Kamiya, K., & Kameyama, A. (2017). The role of hydrophobic amino acids of K-segments in the cryoprotection of lactate dehydrogenase by dehydrins. *Journal of plant physiology*, 210, 18-23.
3. Yokoyama, T., Ohkubo, T., Kamiya, K., & Hara, M. (2020). Cryoprotective activity of Arabidopsis KS-type dehydrin depends on the hydrophobic amino acids of two active segments. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 691, 108510.
4. Richard Strimbeck, G. (2017). Hiding in plain sight: the F segment and other conserved features of seed plant SK n dehydrins. *Planta*, 245, 1061-1066.
5. Ohkubo, T., Kameyama, A., Kamiya, K., Kondo, M., & Hara, M. (2020). F-segments of Arabidopsis dehydrins show cryoprotective activities for lactate dehydrogenase depending on the hydrophobic residues. *Phytochemistry*, 173, 112300.
6. Osuda, H., Kimura, Y., & Hara, M. (2023). Freeze-thaw-induced aggregation of bovine gamma globulin was efficiently inhibited by an intrinsically disordered plant protein dehydrin. *Food Hydrocolloids for Health*, 3, 100108.
7. Yuasa, K., & Maeshima, M. (2000). Purification, properties, and molecular cloning of a novel Ca²⁺-binding protein in radish vacuoles. *Plant Physiology*, 124(3), 1069-1078.
8. Ohtake, S., Kita, Y., & Arakawa, T. (2011). Interactions of formulation excipients with proteins in solution and in the dried state. *Advanced drug delivery reviews*, 63(13), 1053-1073.
9. Chakrabortee, S., Tripathi, R., Watson, M., Schierle, G. S. K., Kurniawan, D. P., Kaminski, C. F., ... & Tunnacliffe, A. (2012). Intrinsically disordered proteins as molecular shields. *Molecular biosystems*, 8(1), 210-219.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kimura Y, Ohkubo T, Shimizu K, Magata Y, Park EY, Hara M	4. 巻 211
2. 論文標題 Inhibition of cryoaggregation of phospholipid liposomes by an Arabidopsis intrinsically disordered dehydrin and its K-segment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Colloids and Surfaces B: Biointerfaces	6. 最初と最後の頁 112286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.colsurfb.2021.112286	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Osuda H, Sunano Y, Hara M	4. 巻 182
2. 論文標題 An intrinsically disordered radish vacuolar calcium-binding protein (RVCaB) showed cryoprotective activity for lactate dehydrogenase with its hydrophobic region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Macromolecules	6. 最初と最後の頁 1130-1137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tomoka Yokoyama, Tomohiro Ohkubo, Keita Kamiya, Masakazu Hara	4. 巻 691
2. 論文標題 Cryoprotective activity of Arabidopsis KS-type dehydrin depends on the hydrophobic amino acids of two active segments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 #108510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2020.108510	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tomohiro Ohkubo, Ayuko Kameyama, Keita Kamiya, Mitsuru Kondo, Masakazu Hara	4. 巻 173
2. 論文標題 F-segments of Arabidopsis dehydrins show cryoprotective activities for lactate dehydrogenase depending on the hydrophobic residues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Phytochemistry	6. 最初と最後の頁 112300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytochem.2020.112300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honami Osuda, Yuki Kimura, Masakazu Hara	4. 巻 3
2. 論文標題 Freeze-thaw-induced aggregation of bovine gamma globulin was efficiently inhibited by an intrinsically disordered plant protein dehydrin	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food Hydrocolloids for Health	6. 最初と最後の頁 100108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fhfh.2022.100108	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 4件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 木村 友紀、大久保 智博、清水 広介、間賀田 泰寛、朴 龍洙、原 正和
2. 発表標題 デハイドリンおよび保存配列のリポソーム凍結凝集抑制に関する研究
3. 学会等名 第38回日本植物バイオテクノロジー(つくば)学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横山 知佳、大久保 智博、神谷 慶太、原 正和
2. 発表標題 シロイヌナズナデハイドリンの乳酸脱水素酵素凍結保護活性における疎水性アミノ酸の役割
3. 学会等名 第37回日本植物細胞分子生物学会(京都)大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大久保 智博、神谷 慶太、亀山 阿由子、原 正和
2. 発表標題 デハイドリンの凍結保護活性に対する疎水性アミノ酸の重要性
3. 学会等名 第37回日本植物細胞分子生物学会(京都)大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masakazu Hara
2. 発表標題 Proteins in seeds for surviving under deep freeze conditions
3. 学会等名 2019 National Tsing Hua University-Shizuoka University Bilateral Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masakazu HARA
2. 発表標題 Adaptation of plants to extreme temperatures -Key proteins in seeds for surviving under deep freeze conditions-
3. 学会等名 Universiti Teknologi Malaysia, 2nd International Postgraduate Symposium in Biotechnology 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大久保智博、神谷慶太、亀山阿由子、原正和
2. 発表標題 シロイヌナズナデハイドリンのnon-Kセグメントの酵素凍結保護活性における役割
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会[東京]
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大久保智博、神谷慶太、亀山阿由子、原正和
2. 発表標題 デハイドリンCOR47の非Kセグメント領域の酵素凍結保護活性に関する研究
3. 学会等名 日本農芸化学会中部支部第183回例会[名古屋]
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masakazu Hara
2. 発表標題 Functions and Applications of Intrinsically Disordered Proteins in Plant Seeds
3. 学会等名 ICONN2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masakazu Hara
2. 発表標題 Dehydrins: Stress-Responsive Intrinsically Disordered Proteins in Plants
3. 学会等名 2023 4th International Conference of the Brain Korea21 FOUR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>リサーチマップ https://researchmap.jp/read0190436/</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今井 亮三 (Imai Ryozo) (90291913)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・グループ長 (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------