

Fig. 3: Intracellular expression of scFv-Venus fusion protein

The left panels depict the fluorescence in the Venus (YFP) channel. The right panels show the bright-field images. The expression plasmids containing the scFv-Venus gene fusions were transiently transfected into the HEp2 cells by lipofection. A. Cells transfected with the scFv clone1-Venus fusion construct. B. Cells transfected with the scFv clone2-Venus fusion construct. C. Cells transfected with the pTriEx vector containing the Venus gene (control)

we will have to assess the binding of scFv to antigen in the cell and the anti-apoptotic property of the anti-Bid intrabody (clone 2) in the near future, our results suggest that we were able to isolate intrabodies from our non-immune phage antibody library.

We believe that intrabody-induced functional inhibition of Bid could be a novel therapeutic method for treating diseases, such as acute hepatitis, for which there are no treatment available (Yin et al. 1999).

It is not known which antibody can be expressed in the cytoplasm. Such fundamentally useful information can be achieved by isolating various antigen specific intrabody candidate clones using our phage library and analyzing their amino acid sequences.

3. Experimental

3.1. Cell

Human pharynx cancer cell line HEp2 cells (TKG0403, Cell Resource Center for Biomedical Research, Tohoku University) were sub-cultured in RPMI-1640 medium containing 10% fetal calf serum, 0.1% 2-mercaptoethanol and 1% sodium pyruvate. TNF- α treatment induces apoptosis in HEp2 cells (Berkova et al. 1999).

3.2. Non-immune phage scFv antibody library

Construction of the non-immune murine scFv phage library was described previously (Imai et al. 2006). The phage display library was prepared from the glycerol stock of *E. coli* TG1 containing the scFv gene library, and was immediately used for affinity panning.

3.3. Affinity panning using BIAcore

Affinity panning of antigens was performed using the microfluidic flow system based BIAcore 3000 instrument (BIAcore International AB., Uppsala,

Sweden) as described previously (Imai et al. 2006). Briefly, 5 μ g His-tagged Bid (Alexis Biochemicals Co., Taejon, Korea) or non-tagged Bid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) was immobilized on the surface of the sensor chip CM3 (BIAcore). The phage library solution was injected onto the sensor chip at flow rate of 3 μ L/min. After injection, the sensor chip was rinsed 10 times with the HBS-EPT (HBS-EP running buffer containing 0.05% Tween 20, BIAcore). The bound phages were eluted with glycine-HCl (pH 2.0), and were treated first with glycine-NaOH (pH 11.0) and then with tris-HCl (pH 8.0) to neutralize. Recovered phages were amplified by infecting log phase TG1 cells for the next round of panning.

3.4. Phage ELISA

Single clones of affinity-panned phages were prepared from the culture supernatant of TG1 in 96 well format plate. These phages were blocked with 2% Block Ace (Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd. Osaka, Japan) at 4 °C for 1 h, and then applied to the antigen-immobilized immuno-assay plate. His-tagged human caspase-8, His-tagged human-importin- β , luciferase, tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2)-Fc-chimera, His-tagged Venus and KDR-Fc-chimera were used as antigens. After shaking for 2~3 h at 250 rpm, the bound phage was detected using the HRP-conjugated anti-M13 monoclonal antibody (GE Healthcare Biosciences AB, Uppsala, Sweden).

3.5. Intracellular expression of scFv-Venus fusion protein

The cDNA of the fluorescent protein Venus was kindly provided by Dr. Miyawaki (Riken Brain Science Institute, Saitama, Japan). The isolated scFv genes were inserted into the NcoI and NotI digested mammalian expression vector pTriEx (Novagen), which contained the Venus gene. The resulted plasmid containing the scFv-Venus fusion protein gene was transfected into the HEp2 cells using the Lipofectamine 2000 reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA). After 24 h incubation at 37 °C, the expression of the scFv-Venus fusion protein in the cells was observed using the Olympus IX-81 fluorescence microscope (Tokyo, Japan).

Acknowledgement: This study was supported in part by a Health and Labor Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan, and in part by a JSPS Research Fellowships for Young Scientists (No. 19-2872) from the Japan Society for the Promotion of Science.

References

- Alvarez RD, Barnes MN, Gomez-Navarro J, Wang M, Strong TV, Ararat W, Arani RB, Johnson MR, Roberts BL, Siegal GP, Curiel DT (2000) A cancer gene therapy approach utilizing an anti-erbB-2 single-chain antibody-encoding adenovirus (AD21): a phase I trial. *Clin Cancer Res* 6: 3081-3087.
- Berkova N, Lemay A, Korobko V, Shingarova L, Sagaidak L, Goupil S (1999) Tumor necrosis factor mutants with selective cytotoxic activity. *Cancer Detect Prev* 23: 1-7.
- Cattaneo A, Biocca S (1999) The selection of intracellular antibodies. *Trends Biotechnol* 17: 115-121.
- Colby DW, Garg P, Holden T, Chao G, Webster JM, Messer A, Ingram VM, Wittrup KD (2004) Development of a human light chain variable domain (V(L)) intracellular antibody specific for the amino terminus of huntingtin via yeast surface display. *J Mol Biol* 342: 901-912.
- Holler PD, Holman PO, Shusta EV, O'Herrin S, Wittrup KD, Kranz DM (2000) In vitro evolution of a T cell receptor with high affinity for peptide/MHC. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 5387-5392.
- Huston JS, George AJ (2001) Engineered antibodies take center stage. *Hum Antibodies* 10: 127-142.
- Imai S, Mukai Y, Nagano K, Shibata H, Sugita T, Abe Y, Nomura T, Tsutsumi Y, Kamada H, Nakagawa S, Tsunoda S (2006) Quality enhancement of the non-immune phage scFv library to isolate effective antibodies. *Biol Pharm Bull* 29: 1325-1330.
- Miller TW, Messer A (2005) Intrabody applications in neurological disorders: progress and future prospects. *Mol Ther* 12: 394-401.
- Popkov M, Mage RG, Alexander C, Thundivalappil S, Barbas CF 3rd, Rader C (2003) Rabbit immune repertoires as sources for therapeutic monoclonal antibodies: the impact of kappa allotype-correlated variation in cysteine content on antibody libraries selected by phage display. *J Mol Biol* 325: 325-335.
- Popkov M, Jendreyko N, McGavem DB, Rader C, Barbas CF 3rd (2005) Targeting tumor angiogenesis with adenovirus-delivered anti-Tie-2 intrabody. *Cancer Res* 6: 972-981.
- Rajpal A, Turi TG (2001) Intracellular stability of anti-caspase-3 intrabodies determines efficacy in retargeting the antigen. *J Biol Chem* 276: 33139-33146.
- Worn A, Pluckthun A (2001) Stability engineering of antibody single-chain Fv fragments. *J Mol Biol* 305: 989-1010.
- Yin XM, Wang K, Gross A, Zhao Y, Zinkel S, Klocke B, Roth KA, Korsmeyer SJ (1999) Bid-deficient mice are resistant to Fas-induced hepatocellular apoptosis. *Nature* 400: 886-891.

平成 20 年度 薬学研究ビジョン部会 部会賞

癌治療最適化のための細胞内薬物ターゲティング技術の研究

角田 慎一（独立行政法人医薬基盤研究所 創薬プロテオミクスプロジェクト）

1. はじめに

近年、各種疾患に関するプロテオミクス研究の進展に伴って、創薬ターゲット、あるいは医薬品シーズとなりうる蛋白質が次々と同定され、また、それら蛋白質の機能も解明されつつある。これら標的蛋白質の中で、細胞膜上、あるいは細胞外で機能する分子に対しては、既に抗体医薬やサイトカイン医薬が、様々な難治性疾患に対する特効薬として台頭しているように、生理活性ペプチド・蛋白質等の高分子物質を医薬品として積極的に活用しようとする流れが加速している。一方で、細胞内で機能する疾患関連蛋白質を標的とする場合においては、同じくペプチドや蛋白質、あるいは核酸といった高分子薬物の応用が期待されるものの、一般に高分子薬物は細胞膜透過性や標的蛋白質が局在する特定オルガネラへの移行性に乏しいという問題を抱えている。したがって、高分子薬物を細胞内に効率よく送達した上で、細胞内での薬物動態をも緻密に制御可能な新規 Drug Delivery System (DDS) を開発することができれば、細胞内蛋白質を標的とした次世代の薬物治療法が確立できるものと考えられる。本観点から著者らは、近年見出された、細胞内移行活性を有するペプチド、protein transduction domain (PTD)、あるいは cell penetrating peptide (CPP) を応用した細胞内 DDS 技術の開発を試みている。本稿では、種々の PTD の細胞内高分子導入キャリアーとしての特性について、また、それら情報を基に我々が考案した、フェージ表面提示法を基盤とした改良型 PTD 創出技術、ならびに細胞内薬物ターゲティング技術について紹介させていただきたい。

2. PTD の細胞内 DDS キャリアーとしての特性評価

1988 年に Green や Frankel らによって、ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) の転写因子である Tat

蛋白質が細胞膜を透過し、細胞内で転写活性を発揮するという報告がなされた。この Tat 蛋白質は自然界に存在する細胞膜透過性蛋白質として注目され、膜透過機序の解析から Tat 蛋白質中のアミノ酸 10-16 残基よりなる領域が膜透過に必須の領域 (Protein transduction domain: PTD) であることが明らかにされている。このような PTD は、ショウジョウバエのホメオドメイン蛋白質、HIV-1 の mRNA 核外輸送蛋白質、単純ヘルペスウイルス (HSV) の構造蛋白質等にも存在し、それぞれ Antp, Rev, VP22 と命名されている。PTD の発見は蛋白質の細胞膜“非”透過性という既存の常識を覆し、細胞内薬物導入技術に新たな活路を開く画期的方法論として期待を集めることとなり、既に化学的架橋や遺伝子操作によって、これらの配列を導入することで、ペプチドや蛋白質等の高分子物質を細胞内に容易に導入できることが明らかとされている。しかし、PTD をもってしても、蛋白質が本来有する機能・薬効を十分に引き出せないことが明らかにされており、本手法をより汎用的な手法として確立するための改良/最適化が求められている。

そこで我々は、まず PTD の細胞内 DDS キャリアーとしての特性を解析/検証するため、代表的な 4 種類の PTD の細胞内移行特性の比較解析、ならびに克服すべき課題の抽出を試みた (Table 1)。

PTD	origin	sequence
Tat	HIV-1	YGRKKRRQRRR
Antp	Drosophila	RQIKIWFQNRRMKWKK
Rev	HIV-1	TQRRARRRRRWRERQR
VP22	HSV	NAKTRRHERRRKLAIER

Table 1 Amino acids sequence of PTD.

PTD 自身の細胞内移行特性を細胞内移行活性及び細胞傷害性の観点から評価するため、接着細

胞として、HeLa 細胞、HaCaT 細胞、A431 細胞を、浮遊細胞として Jurkat 細胞、MOLT-4 細胞、HL60 細胞を用い、これらの細胞における蛍光標識 PTD (PTD-FAM) の移行量を Flow cytometry により定量化した (Fig. 1)。

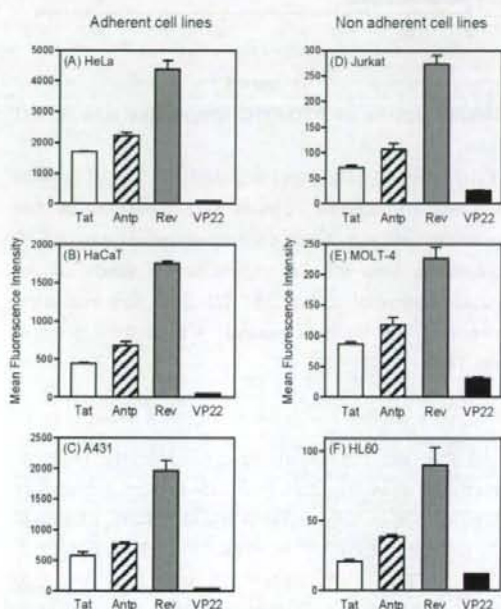


Figure 1.

Comparison of the cellular uptake of PTDs.

Various cell lines were incubated with FAM-labeled Tat (white column), Antp (hatched column), Rev (gray column), and VP22 (black column): HeLa (A), HaCaT (B), A431 (C), Jurkat (D), MOLT-4 (E) and HL60 (F) at 10 μ M for 3 h. After trypsin treatment to digest PTDs adsorbed on the cell surface, the PTD-transduced cells were harvested and analyzed by flow cytometry. Error bars indicate the mean \pm S.D. of triplicate assays.

その結果、Rev は今回用いた全ての細胞種に対して優れた細胞内移行活性を示し、以下、Antp・Tat・VP22 の順で高い細胞内移行能を示した。一方、安全性を検証するため各 PTD の細胞傷害活性を検討したところ、Rev 及び Antp 作用群において濃度依存的な細胞増殖阻害が認められた。さらに、LDH leakage assay によって各 PTD の細胞膜に対する傷害性を評価したところ、Rev 及

び Antp 作用群においてのみ顕著な細胞膜傷害性が認められた。したがって、毒性発現メカニズムについては明らかでないものの、Rev や Antp は細胞膜に影響を与え、最終的に細胞傷害性を示すことが示唆された。

次に PTD の細胞内移行機序を解析するため、各 PTD-FAM の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡観察により解析した。その結果、いずれの PTD を作用させた細胞においても、細胞内にドット状の蛍光が認められた。Tat はクラスリン非依存性エンドサイトーシスの一つであるマクロピノサイトーシスによって細胞内に移行することが報告されていることも考慮すると、細胞内へ移行した PTD の大部分は、エンドソーム小胞内に蓄積し、細胞内に導入された薬物の薬効を大きく制限されてしまうものと考えられた。

以上の特性評価の結果から、PTD を用いた有効かつ安全な細胞内薬物療法を実現するためには、細胞内移行活性/安全性を両立した PTD の創出と、エンドソーム捕捉性の克服が課題であるものと考えられた。

3. ファージ表面提示法を駆使した改良型 PTD 創出技術の開発

上述のように、細胞内薬物療法を達成するためには、細胞内に安全かつ高効率に薬物を導入可能な PTD を創出する必要がある。そこで、これら課題を達成しうる新規 PTD を創出するための方法として、ファージ表面提示法の応用を試みた。ファージ表面提示法は、約 1 億種類もの多様性を有したアミノ酸置換体ライブラリの中から、結合親和性に基づく選別 (パンニング) によって、標的とする蛋白質や細胞に対して結合活性を示す新規蛋白質あるいはペプチドを迅速に単離可能な方法論である。我々は、細胞に対する結合親和性に基づく PTD 候補分子の選別 (セルパンニング) と、細胞内に導入された場合にのみ細胞傷害性を発揮する蛋白質合成阻害因子 (protein synthesis inhibitory factor: PSIF) を利用した独自の細胞内移行活性評価を組み合わせることで、改良型 PTD をハイスループットに同定できる新たなスクリーニング法を考案した (2-step スクリーニング) (Fig. 2)。

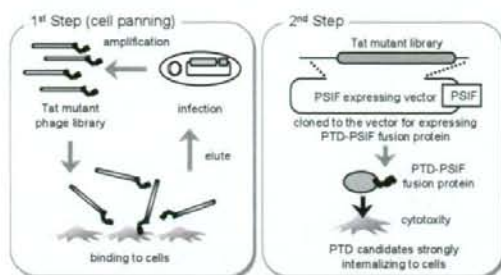


Figure 2.
Scheme of 2-step screening

本手法は、まず①セルパニングにより改変 PTD 発現ファージライブラリの中から細胞に強く結合、もしくは細胞内に移行するファージを濃縮してくる。続いて、②濃縮 PTD ライブラリと PSIF を遺伝子工学的に連結して大腸菌を形質転換し、PTD-PSIF 融合体を含む大腸菌培養上清を標的細胞に添加する。そして、細胞傷害活性に基づくスクリーニングを行うことで、最終的に細胞内移行活性を有する改変型 PTD クローンを迅速かつ簡便に選別可能とするものである。そこで、本スクリーニングの有用性を評価するため、これまでの検討で安全性/移行効率バランスに最も優れていた Tat をリード PTD として用い、安全性を保持しつつ細胞内移行効率のみを選択的に向上させた改良型 Tat の創製を試みた。

まず、ランダムな NNS 塩基配列 (N = A/T/G/C, S = G/C) を含む degenerate primer を用いた PCR 法によって、Tat 配列中の細胞内移行活性に重要と考えられているアルギニン以外の 5 個のアミノ酸をランダムなアミノ酸に置換した Tat 改変体遺伝子ライブラリを作製した。モデル細胞である HaCaT 細胞に対し、本ライブラリを用いて 2-step スクリーニングを実施したところ、Tat よりも強い細胞傷害活性を示すクロンが多数得られてきた。その中で、特に強い細胞傷害活性を示した 6 クロン (mT1~mT6) の細胞内移行活性を蛍光標識ペプチドを用いて定量的に評価したところ、mT5 ならびに mT6 は Tat よりも 2.5~3 倍以上優れた細胞内移行活性を示すことが明らかとなった (Fig. 3)。

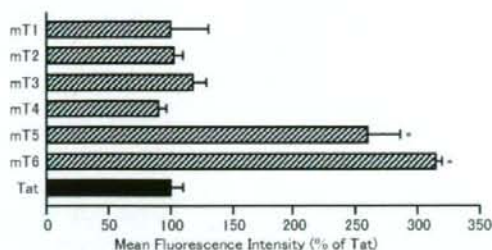


Figure 3.

Cellular uptake of PTD-FITC conjugates into HaCaT cells.

FITC labeled PTDs were incubated with HaCaT cells for 3 h and their cellular uptakes were measured by flow cytometry analysis. Stripy columns show uptakes of PTD candidates from the Tat mutant library. Black column shows uptake of control Tat-FITC. Error bars indicate the mean \pm S.D. of triplicate assays. * $p < 0.01$, compared with Tat.

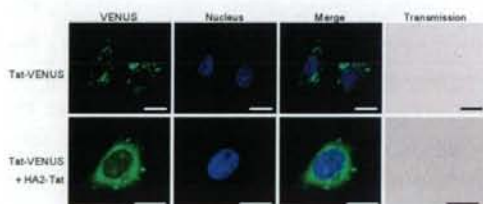
また、WST-8 assay ならびに LDH leakage assay によって、これら PTD クロンの安全性を検証したところ、mT6 作用群においては細胞膜傷害に伴う細胞傷害性がわずかに認められたものの、mT5 作用群においては 100 μ M という高濃度のペプチドを作用させた場合でも細胞傷害性が全く認められなかった。これらの結果から、2-step スクリーニングを用いることで、目的とする機能を有した改良型 PTD を迅速に創出可能であること、また mT5 は Tat と同等の安全性を保持しつつ、細胞内移行活性が増強された優れた PTD であることが示された。以上の結果は、我々が考案した 2-step スクリーニングが新規 PTD 創製法として非常に有効な方法論であることを示すものである。本手法は、PTD の細胞内移行活性増強体のみならず、細胞特異性を有するような改変型 PTD のスクリーニングにも応用可能であると考えられ、それら細胞選択的な PTD を用いれば、蛋白性医薬品を標的組織/細胞へと選択的に送達したうえで細胞内へと導入可能な、より高度な細胞内薬物療法が確立できるものと期待される。

4. PTD を基盤とした細胞内ターゲティング技術の確立

有効かつ安全な細胞内薬物療法を確立するた

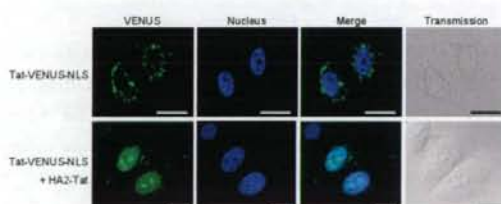
めの次のステップとして、薬物を細胞内に高効率に送達した上で、さらにその薬物を標的オルガネラへと送達可能な薬物動態制御法が必要となる。しかし、先の検討において示唆されたように、細胞内に移行した PTD の大部分はエンドソーム内に捕捉されることから、導入された薬物の薬効は著しく制限されることになる。そこで細胞内の特定領域へと蛋白性医薬品を選択的に送達しうる方法論として、我々は、①インフルエンザウイルス由来のエンドソーム膜破壊ペプチド (HA2) を利用したエンドソームから細胞質への漏出と②細胞内オルガネラ移行シグナルペプチドを活用した標的オルガネラへの選択的送達という、2段階構えの細胞内ターゲティング技術の確立を試みた。

HA2 は、インフルエンザウイルスのエンベロープ蛋白質由来のペプチド断片であり、エンドソーム内における pH 低下に反応して、エンドソーム膜を破壊する活性を発揮することが知られている。したがって、Tat 融合薬物と Tat を付加した HA2 ペプチド (HA2-Tat) を同時に細胞に添加することによって、両者を同じエンドソーム内に共存させることができれば、薬物を細胞質内へと効率よく送達できるものと考えられる。そこで、本手法の細胞質内薬物送達法としての有用性を評価するため、HA2-Tat と Tat 融合蛍光蛋白質 (Tat-VENUS) を共処理した際の HeLa 細胞を共焦点レーザー顕微鏡により観察した (Fig. 4)。


Figure 4.
Intracellular distributions of Tat-VENUS.

HeLa cells were treated with 10 μ M Tat-VENUS alone or in the presence of 5 μ M HA2-Tat, and cultured for 3 h. Fluorescence images were acquired by confocal laser scanning microscopy and the signals were digitally merged. The nuclei were counterstained with Hoechst 33342 (blue). Scale bars in each microphotograph indicate 20 μ m.

その結果、Tat-VENUS 単独作用群では、VENUS 蛋白質がエンドソームに補足されていることを示すドット状の蛍光のみが認められたのに対して、Tat-VENUS と HA2-Tat を共処理した群では、VENUS 由来の蛍光が細胞質全体に拡散した像が認められた。以上の結果は、Tat 融合蛋白質と同じエンドソーム小胞内に侵入した HA2-Tat がエンドソーム破壊活性を発揮し、最終的に Tat 融合蛋白質の細胞質移行が促進されたことを示唆している。続いて、代表的なオルガネラ移行シグナルである SV40 Large T 抗原由来の核移行シグナル (nuclear localization signal: NLS) を付与した Tat-VENUS (Tat-VENUS-NLS) を用いて、本手法の細胞内ターゲティング技術としての応用を試みた。Tat-VENUS-NLS を単独、あるいは HA2-Tat と共に 3 時間共培養した HeLa 細胞を共焦点レーザー顕微鏡にて観察したところ、Tat-VENUS-NLS を単独で作用させた群では、VENUS 由来の蛍光がドット状に認められた (Fig. 5)。それに対して、HA2-Tat と Tat-VENUS-NLS とを共処理した群においては、VENUS 由来の蛍光が核に集積した像が観察された。したがって、PTD、HA2、NLS の機能性ペプチドを組み合わせることによって、分子量数万の蛋白質をも核内にまで選択的に送達可能であることが示された。


Figure 5.
Intracellular distributions of Tat-VENUS-NLS.

HeLa cells were treated with 10 μ M Tat-VENUS-NLS alone or in the presence of 5 μ M HA2-Tat, and cultured for 3 h. Fluorescence images were acquired by confocal laser scanning microscopy and the signals were digitally merged. The nuclei were counterstained with Hoechst 33342 (blue). Scale bars in each microphotograph indicate 20 μ m.

そこで次に、本手法の薬物療法における有効性を検証するため、抗がんペプチドとして知られる PNC28 を用いて腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果を検討した。PNC28 は核局在性のがん遺伝子産物 MDM2 に結合し、MDM2 の p53 分解活性を阻害することによって、がん細胞に細胞死を誘導できるペプチドである。そこで PNC28 の核ターゲティングをモデルケースとして、PTD、HA2、NLS を組み合わせた細胞内ターゲティング技術の有効性を評価した (Fig. 6)。

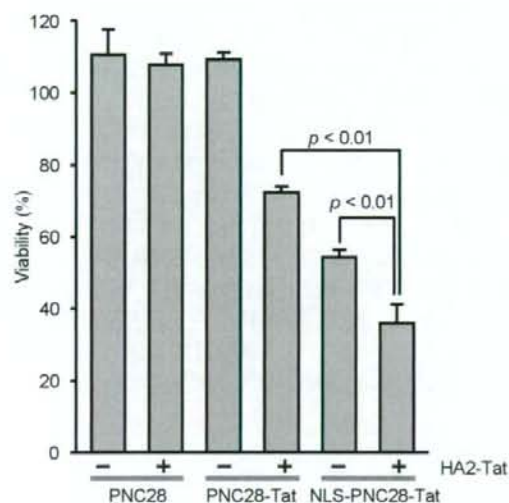


Figure 6.

HA2-Tat enhances the cytotoxicity of NLS-PNC28-Tat
A549 cells were treated with 6 μ M PNC28, PNC28-Tat or NLS-PNC28-Tat in the presence of 5 μ M HA2-Tat. After 6 h, the cell viability was analyzed by WST-8 assay. Error bars indicate the mean \pm S.D. of triplicate assays.

各種 PNC28 を作用させた MDM2 高発現腫瘍細胞 (A549) の細胞生存率を評価したところ、PNC28-Tat 単独作用群と比較して、PNC28-Tat と HA2-Tat の共処理群では 70%、NLS 融合 PNC28-Tat (NLS-PNC28-Tat) 処理群においては約 50%にまで生存率が低下していた。それに対

して、NLS-PNC28-Tat と HA2-Tat を併用した群では、より強力な抗腫瘍効果が認められ、生存率が約 30%にまで低下していた。これらの結果から、3 種類の機能性ペプチド (PTD、HA2、NLS) を組み合わせた細胞内ターゲティング技術が、細胞内作用性の抗がんペプチドの薬効を飛躍的に増強できる有効ながん治療戦略となり得ることが示された。

以上のように、PTD、HA2、NLS を利用することによって、①エンドソームエスケープと②核ターゲティングという、2 段階の細胞内ターゲティング技術の開発に成功した。本細胞内ターゲティング技術は、ミトコンドリアや小胞体、ペルオキシソーム等の様々なオルガネラ移行シグナルを利用することによって、核以外のオルガネラへも選択的に高分子を送達することが可能な方法論であると考えられ、将来的には薬物の細胞内挙動を自在に制御可能な基盤技術になるものと期待される。

5. おわりに

本研究では、既存の PTD のキャリアー特性を比較解析することによって細胞内薬物動態制御法の最適化に適う PTD 改良指針の明確化を試み、細胞内移行活性と安全性の両立、エンドソーム捕捉性の克服が必要不可欠であることを見出した。さらに、これらの指針に立脚して独自の改良 PTD 創出法や細胞内ターゲティング技術の開発を試み、上記問題点を克服した新規細胞内薬物ターゲティング技術を開発した。本研究で確立した細胞内薬物動態制御技術が、プロテオミクス研究等によって今後数多く見出されてくる創薬ターゲット蛋白質、あるいは医薬品シーズ蛋白質を活用するための次世代創薬基盤技術として貢献できることを願っている。

なお、本研究は、医薬基盤研究所創薬プロテオミクスプロジェクト、堤 康央先生、大阪大学大学院薬学研究科、中川晋作先生、吉川友章先生、向 洋平先生、医薬品医療機器総合機構、杉田敏樹先生をはじめとする多くの共同研究者の協力を得てなされたものであり、ここに感謝の意を表します。

参考文献

1. Mukai Y. et al., Biol. Pharm. Bull. 29: 1570-1574 (2006)
2. Sugita T. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 363: 1027-1032 (2007)
3. Sugita T. et al., Br. J. Pharmacol. 153: 1143-1152 (2008)
4. Yoshikawa T. et al., J. Mol. Biol. 380: 777-782 (2008)

◆略歴◆ 角田 慎一 (Shin-ichi TSUNODA)

1999年大阪大学大学院薬学研究科博士課程修了、工業技術院生命工学工業技術研究所ポスドク、2001年(独)産業技術総合研究所研究員、2004年国立医薬品食品衛生研究所主任研究官、2005年(独)医薬基盤研究所創薬プロテオミクスプロジェクト主任研究員、2008年より同サブプロジェクトリーダー。

