

【解説】

区分標識法によるマルチドメインタンパク質の NMR 解析

湊雄一¹、上田卓見¹、町山麻子¹、嶋田一夫¹、岩井秀夫²

¹ 東京大学大学院薬学系研究科

² Institute of Biotechnology, University of Helsinki

1. マルチドメイン蛋白質の NMR 解析

蛋白質の NMR 解析は、同位体標識法の確立によって格段に進歩してきた。従来型の構造生物学的解析では、如何に NMR 解析に適したドメインを切り出して立体構造等の解析を行うかが重要であった。しかし、近年、構造解析に適した単離ドメインの構造解析だけでは、本来の蛋白質全体の機能を理解できない場合が増えてきた。これは、近接効果や立体障害のため、蛋白質全体と単離したドメインでは、標的分子との結合様式に違いが生じる可能性が高いためである。また、複数のドメインが協奏的に作用することにより、初めて標的分子に作用する場合もあるためと思われる。特に、細胞内シグナリングを司るタンパク質の多くは、マルチドメインと呼ばれる、局所的に構造を形成したいいくつかのドメインがリンカーでつながった、運動性に富むリンカー領域を複数含む点が特徴的な構造を形成している。したがって、このようなマルチドメインタンパク質の作用機序の解明や、変異導入による機能改変、さらには立体構造に基づく創薬を目指す上では、今後システム全体を構造生物学的に解析するアプローチがきわめて有用である。運動性に富むリンカー領域を含む蛋白質の結晶化は困難である事が多いため、結晶化が不要で、生理的条件と同じ溶液中での解析が可能で、更には動的構造の解析も可能である NMR 法は、マルチドメインタンパク質の構造解析における主要な手法となることが期待される。

マルチドメインタンパク質は、分子量が大きいと、線幅増大とシグナルの縮重が NMR 解析の大きな課題である。特に、シグナルの縮重は、相同性が高いドメインが繰り返される

ことがあるため、最大の課題である。したがって、シグナルの縮重を克服するため、特定の原子を選択的に安定同位体標識することにより、機能上重要な原子のシグナルを選択的に観測することがきわめて有効である。現在までに、ポリペプチド鎖の一部のみを標識する区分標識法、特定のアミノ酸残基のみを標識するアミノ酸選択的標識法、特定の一残基のみを標識する残基選択的標識法等が多数開発されている。アミノ酸選択的標識法は比較的簡易な標識方法であるが、帰属を行うには多数のサンプルの調製が必要である[1]。その点、区分標識法では、シグナルの縮重を軽減するだけでなく、従来の三重共鳴法を用いて帰属をすることも可能である。さらに、マルチドメインタンパク質では、区分標識法を適用することにより、機能上重要なドメインのシグナルを網羅的に観測しながら、他のドメインのシグナルを除去することが可能となる。したがって、区分標識法は、マルチドメインタンパク質を解析する上できわめて有効な手法である。現在、区分標識法では、主に二つの Protein Ligation 手法が使われている。一つは、Expressed Protein Ligation (EPL) 法[2]、もう一つは Protein Trans-Splicing (PTS) 法[3]である。いずれも、プロテインスプライシングとよばれる現象を利用するのが特徴である。また、本稿では詳細は割愛するが、幅広く利用されるに至っていないものの、Sortase, Subtiligase 等の酵素的 Protein Ligation を利用した方法もある [4]。

2. プロテインスプライシングの原理 [5]

プロテインスプライシングの現象は東京大学の安楽泰宏研究室で最初に発見された。その RNA スプライシングとの相同性から、蛋白質イントロンとも呼ばれ、通常同一分子内での反応である (*cis*-splicing)。その模式図を Fig.1a に示す。プロテインスプライシングでは、蛋白質イントロンであるインテイン (intein) が、その宿主蛋白質を二つのエクステイン (exteins) に分断した一本鎖として、共にタンパクに翻訳される。次に、intein が立体構造を形成すると、一連のスプライシング反応により intein が切り出され、同時にインテイン両端である N 末端と C 末端フラグメント (exteins) がペプチド結合で繋がった宿主蛋白質が切り出される。また、図 1b に示すように、extein と intein の N 末端フラグメントが繋がったポリペプチド鎖と、intein と extein の C 末端フラグメントが繋がった二本の別々なポリペプチド鎖が翻訳

された上で、両者が会って intein の立体構造が形成されると、intein の切り出しおよび二本鎖に分割された宿主蛋白質の形成が進行する。この現象は *trans-splicing* と呼ばれる。

3. Expressed Protein Ligation (EPL)の原理 [6]

EPL の模式図を Fig.2 に示す。C 末端にチオエステル基を持つペプチドと、システイン残基で始まるペプチドは、化学選択的にペプチド結合を形成させることができる。これは Native Chemical Ligation (NCL) と呼ばれる。蛋白質工学的手法でリコンビナント蛋白質を組み合わせて NCL を行うことは Expressed Protein Ligation (EPL) と呼ばれることが多い。EPL は通常インティンとの融合蛋白質として発現されるため Intein-mediated Protein Ligation (IPL) とも呼ばれる。EPL は、New England Lab 社の TWIN system といった市販ベクターを使用して、比較的簡便に導入することが可能である。TWIN システムでは、標識するタンパク質を、N 末端フラグメントと、システイン残基から始まる C 末端フラグメントに分けた上で、前者の C 末端には、C 末端のアスパラギン残基をアラニンに変異した intein 変異体を、後者の N 末端には、N 末端のシステイン残基をアラニンに変異した intein 変異体を付加したコンストラクトを作製して、別々に調製する。この際、一方にのみ安定同位体標識を施す。次に、両者を還元剤存在下で混合すると、intein 変異体による切断反応が進行して、C 末端にチオエステル基を持つ N 末端フラグメントと、システイン残基で始まる C 末端フラグメントが生成する [6]。続いて、*trans-esterification* および S-N acyl shift が進行して、N 末端フラグメントと C 末端フラグメントがペプチドで繋がることで区分特異的標識された蛋白質が作られる。なお、EPL では、固相合成したフラグメントを利用したり、N 末端にシステイン残基を持つ C 末端フラグメントをプロテアーゼ分解により調製することも可能であるため、変性条件下でも反応を進めることが可能であり、自由度が高い。

4. Protein Trans-Splicing (PTS)の原理 [7,8]

PTS の模式図を Fig.3 に示す。標識するタンパク質を、N 末端フラグメントと、システイン残基から始まる C 末端フラグメントに分けた上で、それぞれ C 末端と N 末端に、intein

の N 末端フラグメントと C 末端フラグメント付加したものを、別々に調製する。この際、一方にのみ安定同位体標識を施す。次に、両者を混合すると、intein の構造形成に伴って *trans-splicing* 反応が進行して、標識するタンパク質の N 末端フラグメントと C 末端フラグメントが繋がる。以上により、区分特異的標識が達成される。

PTS では、EPL とは違い他の試薬が必要でないため、細胞内で蛋白質を繋ぐことができる。したがって、選択標識を発現大腸菌の中で行うことも可能である[9]。Fig.4 に示すように、この方法では、PTS に必要な二種類の前駆体ポリペプチド鎖をコードする遺伝子を、プロモーター及び抗生物質耐性が異なる別々のプラスミドに組み込んだ上で、その二つのプラスミドを同じ大腸菌に導入する。次に、安定同位体を含む一番目の培地で一方のプロモーターのみに誘導をかける。さらに、非標識二番目の培地に交換することで最初の発現を抑え、もう一方のプロモーターの誘導をかける。その結果、両ポリペプチド鎖の一方のみに標識が施され、さらに大腸菌の中で PTS 反応を進行する。以上により、選択標識が達成される。この方法を、*in vivo* PTS 法と呼ぶ。

5. CheA の区分標識

このように、区分標識法が幾つか報告されているが、いずれの方法も適用例がまだ少ない。これは技術的なハードルが高く、またこういったアプローチを選択するのが良いかという指針も明確ではないためであると思われる。我々は、ダイマーで分子量 14 万のマルチドメインタンパク質である CheA について、区分標識体を使った NMR 解析によりその反応機構を解明することを目指して、EPL と PTS の両手法を用いて区分標識を施した[10]。同じ蛋白質を両方の方法を用いて区分標識をした例は過去にないため、今後、区分標識を試みる研究者の参考となることを望む。

原核生物の走化性における細胞内シグナリングを制御するタンパク質である CheA は、P1 から P5 の 5 つのドメインから構成されるマルチドメイン蛋白質である。P3 ドメインを介してダイマーを形成することが知られている。本研究では、リン酸化を受ける His48 が存在す

る P1 ドメインを選択的に標識することとした。

5-1. EPL 法

最初に、市販の pTWIN ベクターを用いて、EPL 法を適用した。TWIN system では、intein 変異体に Chitin binding domain (CBD)が付加している。これにより、各フラグメントを Chitin ビーズに固定化した上で、不純物を洗浄した上で、還元剤を含むバッファーを添加することにより、intein 変異体の切断と除去、更には C 末端のチオエステル修飾を一度に行うことが可能である。

このシステムでも、目的タンパク質を分断・接合する部位およびその近傍の配列は、各フラグメントの収量や安定性に大きく影響する。加えて、フラグメントの末端の配列は、ライゲーション反応および intein 変異体による切断反応の効率に大きく影響することが知られている[11]。そのため、通常、収量を増やすためにやむを得ず接合部位に変異を導入することが必要となり、この変異が、最終産物の活性に影響しないことを確認する必要がある。したがって、接合部位の位置および配列を最適化することが必須である。

EPL では分断する部位の C 末端側をシステイン残基にする必要があることも考慮して、ライゲーション部位として、P1, P2 ドメイン間のリンカー上に位置する、K146–S147, Q153–S154, R155–S156, Q157–S158 の 4 箇所を検討した。P1 ドメインの C 末端に *Mxe* GyrA インテインを付加した発現系を構築し、大腸菌にて発現させた。その結果、P1(Q153)については、チオエステル化された P1 ドメインを 1L 培養あたり 40 mg 得ることができた。また、システイン残基から始まる P2–5 ドメインの調製のため、C 末端側の P2–5 ドメインの N 末端の Ser 残基を Cys に置換し、さらにその N 末端に *Ssp* DnaB インテインを付加した発現系を構築し、発現させた。その結果、(S154C)P2–5 については、1L 培養あたり 20 mg の、システイン残基から始まる(S154C)P2–5 を得ることができた。それ以外のコンストラクトでは、精製する以前にインテインの切断が培養中に生じてしまったため、CBD を利用したアフィニティー精製ができないという問題が生じた。

次に、ライゲーション反応条件を検討した。0.8 mM の P1(Q153)および 0.1 mM の (S154C)P2–5 を、還元剤である 2-mercaptoethanesulfonic acid を 200 mM 添加した条件で混合

し、2日間反応させた。しかし、これらの条件下ではライゲーション効率は10%程度にしか及ばなかった(Fig.5a, レーン 1-4)。そこで、チオエステル化された N 末端フラグメントの、C 末端のアミノ酸残基の種類が反応効率に重要であるという報告[12]に基いて、P1 の Q153 に Gly 変異を導入したところ、P2-5(S154C)とのライゲーション反応効率を 40%程度までは向上させることができた(Fig.5a, レーン 5)。そこで、ライゲーション反応液から、ゲルろ過クロマトグラフィーで未反応の P1(Q153G)を除去した上で、陰イオン交換クロマトグラフィーで未反応の(S154C)P2-5 を除去した。その結果、全長 CheA ダイマーの収量は、最終的に 1L 培養あたり 0.2 mg であった。収量が低いのは、未反応の(S154C)P2-5 が、P3 ドメインを介して、生成した全長 CheA とヘテロダイマーを形成してしまい、その分離作業により全長 CheA ダイマーの収率が著しく低下してしまうことに起因する。しかし、精製を繰り返せば、NMR 測定が可能な量の試料を一つ調製することは可能であると考え、P1 ドメインを ^2H , ^{15}N 標識、P2-5 ドメインを非標識とした試料を調製し、 ^1H - ^{15}N TROSY-HSQC スペクトルを測定した。その結果、均一標識体よりも、縮重が大幅に改善されたスペクトルが得られた(Figs.6a and b)。しかし、さらに構造解析を行うためには収量が不十分であり、また収量の増大には、かなりの時間と労力がかかるものと予想される。

5-2. *in vivo* PTS 法

次に我々は、*in vivo* PTS 法を検討した。PTS 法では、用いる split intein の性質が、フラグメントの発現量や安定性、およびライゲーション効率に大きく影響する。本研究では、現在一番反応効率が良いとされる *Npu* DnaE インテインを用いた[13]。*Npu* DnaE インテインは、既存の split intein と比較して、リフォールディングが不要であること、およびインテインの C 末端フラグメントが 15 残基と短く、これを付加したタンパク質のフラグメントの可溶性を損ないにくい点が特徴である。加えて、split intein 間の親和性が強いため ($K_d = 3 \text{ nM}$)、低濃度でライゲーション反応が進行しやすいことが期待される。なお、*Npu* DnaE インテインの遺伝子を持つプラスミドは、非営利団体である Addgene より入手することができる(http://www.addgene.org/Hideo_Iwai)。

PTS 法では、切断部位の検討は行わず L141-S142 とした。P1(L141)の C 末端 2 残基に Gly-Ser、

(S142)P2-5 の N 末端 5 残基に Cys-Phe-Asn-Gly-Thr の変異を導入した。このうち、Cys-Phe-Asn は、*Npu* DnaE インテインのスプライシング活性を高く維持するために導入したものであり、残りの 4 残基は cloning artifact である。P1 を、IPTG 誘導性の T7 promoter を有する RSF ベクターに、P2-5 を、RSF ベクターとは異なる複製起点と抗生物質耐性を有する、アラビノース誘導性の BAD ベクターにそれぞれ導入した。

両発現系を大腸菌細胞内に導入し、発現誘導を行ったところ、IPTG では P1 が、アラビノースでは P2-5 が誘導され、両方で誘導すると、両者のライゲーシオン産物が生成した (Fig.7a, レーン 3,4)。精製後の収量は、2-20 mg 程度と EPL 法より多く、またスケールアップが容易であると予測された。また、cloning artifact である P1 の Gly-Ser、P2-5 の Gly-Thr を元の配列に戻した発現系を構築し、ライゲーシオン反応を行った。その結果、収量に大きな影響を与えずに、変異導入残基を 3 残基まで問題なく縮小できることが明らかとなった。また、3-7 残基の変異が導入された、いずれのライゲーシオン産物についても、野生型と同等のシグナル伝達活性を有していることを確認した。

本手法で実際に区分選択標識を行った結果、EPL と同様、スペクトルの縮重は解消された。しかし、質量分析法と ^1H -1D スペクトルから、非標識のライゲーシオン産物が、50%程度混在していることが見積もられた。これは、IPTG によって発現した T7 RNA polymerase が培地中に残ることにより、T7 promoter が培地交換後にも完全には遮断できないためであると考えた。このような非標識体の混入は、NMR シグナルを観測するだけの実験であれば問題ないが、転移交差飽和法[14]のような、高い標識率が要求される実験では問題となる。

5-3. *In vitro* PTS 法

そこで次に、同位体が混ざらない *in vitro* PTS 法も検討した。*in vitro* PTS 法では、二つのフラグメントを別々に発現させた上で、*in vitro* で混合する。そのため、*in vivo* PTS とは異なり、標識率の低下が生じない。*in vivo* PTS で構築したコンストラクトをそのまま使用して、P1, P2-5 の各フラグメントを発現・精製し、0.5 mM TCEP 存在下で反応させた。その結果、12 時間後には 70%程度の反応効率でライゲーシオン産物が生成した (Fig.7b)。収量は、1L

培養あたり 3.6 mg であった。P1 ドメインを ^2H , ^{15}N 標識、P2-5 ドメインを非標識とした試料の ^1H - ^{15}N TROSY-HSQC スペクトルは、EPL 法で調製した試料のスペクトル (Fig.6b) と、リンカー部分を除いてほぼ一致した (Fig.6c)。

6. 考察とまとめ

我々は、EPL 法、PTS 法という 2 種類の異なる方法を用いて、CheA のドメイン区分選択標識体の調製および NMR スペクトルの取得に成功した。

CheA では、未反応フラグメントがライゲーション産物とヘテロダイマーを形成して、収量を低下させるため、特に高いライゲーション反応効率が要求された。EPL 法では、P1(Q153) の C 末端に Gly 変異を導入することで、反応効率を 40%程度まで向上させることができたが、これ以上反応効率を向上できなかった。低い反応率は、CheA の構造的な特徴や、CheA が高分子量タンパク質であるために、反応時のフラグメント濃度を高めるのが難しかったことに由来すると考えている。EPL のライゲーション反応の効率を最適化するためには、反応時間、温度、ライゲーション部位、フラグメント濃度、還元剤や添加物の濃度など多岐にわたる条件検討が必要であり、時間と労力のかかるものであった。市販の pTWIN system を用いた EPL では、CheA の切断部位によっては、培養中のインテイン切断により精製ができなかったため、複数の切断部位を試みる必要があるとあり、作業をさらに複雑にした。

一方、PTS 法では、*in vivo*, *in vitro* の双方において、高い反応効率と収量で全長 CheA を調製することができた。さらに、フラグメントの精製が不要な *in vivo* PTS 法では、調製にかかる時間および労力が少なかった。*in vivo* PTS 法では、標識率が低い点が問題となったが、*in vitro* PTS 法により代替することができた。したがって、CheA の区分標識体の調製には、容易で再現よく調製ができる PTS 法が有効であった。

PTS 法の欠点は、インテインが立体構造を形成しないとライゲーション反応が進まないため、*in vitro* PTS 法では両方、*in vivo* PTS 法でも少なくとも一方のフラグメントが可溶でないと適用が困難である点である。両フラグメントを変性下で精製することも可能であるが、その場合、両者の巻き戻しができるかどうか重要である。一方、EPL 法では、変性剤存在下

で不溶性のフラグメント同士をライゲーションさせた上で、全長を巻き戻すことが可能である。また、いずれの方法でも、分断・接合部位に変異を導入することが通常必要であるが、PTS より EPL の方が、現時点では必要な変異導入残基数が少ない。したがって、今度新規ターゲットを区分標識する場合は、今回の知見を参考にしながら、最適な方法を事前に考慮し計画を立てることが極めて重要である。

区分標識法の適用をより容易にするためには、PTS 法では、より少ない変異導入残基数でもライゲーションが進むようなインテインの開発が必要であり、EPL 法では、C 末端にチオエステル基を持つフラグメントを確実に調製できる方法の開発が必要である。

今後、マルチドメイン蛋白質をはじめとする、大きな分子量の蛋白質の複合体の解析が、システム全体としての構造と機能の相関を理解する上で必要になってくると思われ、それに伴い区分標識法の重要性は更に増すと思われる。分子量の限界がない固体 NMR 法においても、シグナルの縮重、帰属が最大の難点であり、区分標識法を効果的に用いる手法は有用であると期待される。

しかしながら、汎用的に区分法を用いるためにはまだまだ改良の余地がたくさん残されており、今後の発展が望まれる。高度化する同位体標識法の長所を引き出す NMR 技術、そしてより複雑なシステムにおける NMR 法の寄与に今後期待したい。

参考文献

- 1) Ohki S-Y, and Kainosho M. (2008) Stable isotope labeling methods for protein NMR spectroscopy. *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.* **53**, 208–226
- 2) Muir, TW., Dolan, S., and Cole, PA., (1998) Expressed protein ligation: A general method for protein engineering, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 6705-6710
- 3) Yamazaki, T., Otomo, T., Oda, N., Kyogoku, Y., Uegaki, K., Ito, N., Ishino, Y., Nakamura, H., (1998) Segmental Isotope Labeling for Protein NMR Using Peptide Splicing, *J. Am. Chem. Soc.* **120**,

5591-5592

- 4) Kobashigawa, Y., Kumeta, H., Ogura, K., Inagaki, F., (2009) Attachment of an NMR-invisible solubility enhancement tag using a sortase-mediated protein ligation method, *J. Biomol. NMR* **43** 145-150
- 5) Anraku, Y., Satow, Y., (2009) Reflections on protein splicing: structures, functions and mechanisms, *Proc. Japan Acad. Ser B Phys. Biol. Sci.* **85** 409-421
- 6) David, R., Richter, M. P. O., Beck-Sickinger, A. G., (2004) Expressed protein ligation. Method and applications, *Eur. J. Biochem.* **271** 663-677
- 7) Muona, M., Aranko, A S., Raulinaitis, V., Iwai, H., (2010) Segmental isotopic labeling of multi-domain and fusion proteins by protein trans-splicing *in vivo* and *in vitro*, *Nature Protocols*, **5** 574-587
- 8) Volkmann, G., Iwai, H., (2010) Protein trans-splicing and its use in structural biology: opportunities and limitations, *Mol. Biosyst.* **6** 2110-2121
- 9) Züger S., and Iwai, H., (2005) Intein-based biosynthetic incorporation of unlabeled protein tags into isotopically labeled proteins for NMR studies, *Nature Biotech.* **23** 736-740
- 10) Minato, Y., Ueda, T., Machiyama, A., Shimada, I., Iwai, H., (2012) Segmental isotopic labeling of a 140 kDa dimeric multi-domain protein CheA from *Escherichia Coli* by Expressed Protein Ligation and Protein Trans-Splicing, *J. Biomol. NMR* **53**, 191-207
- 11) Liu D, Xu R, Cowburn D (2009) Segmental isotopic labeling of proteins for nuclear magnetic resonance. *Methods Enzymol.* **462**, 151–175
- 12) Hackeng, TM., Griffin, JH., Dawson PE., (1999) Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **96** 10068-10073
- 13) Muona, M., Aranko, AS., Iwai, H., (2008) Segmental isotopic labelling of a multidomain protein by protein ligation by protein trans-splicing, *ChemBioChem* **9**, 2958-2961
- 14) Shimada, I., Ueda, T., Matsumoto, M., Sakakura, M., Osawa, M., Takeuchi, K., Nishida, N., Takahashi, H., (2009) Cross-saturation and transferred cross-saturation experiments, *Prog. Nuc.*

Magn. Reson. Spect. **54** 123-140

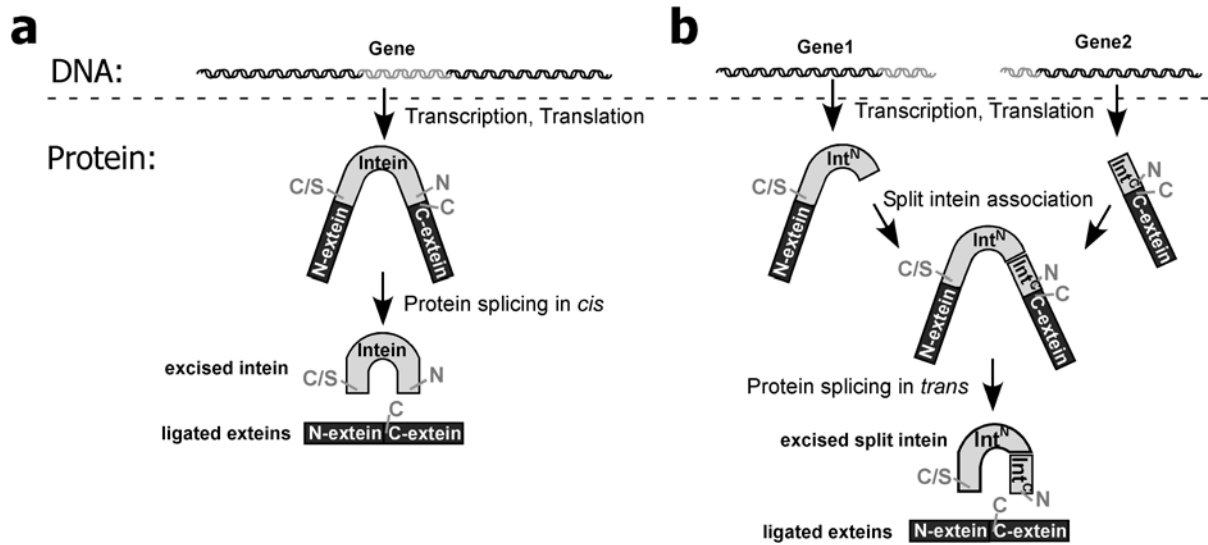


Fig.1 プロテインスパライシング反応の模式図。

(a) *cis*-splicing. (b) *trans*-splicing.

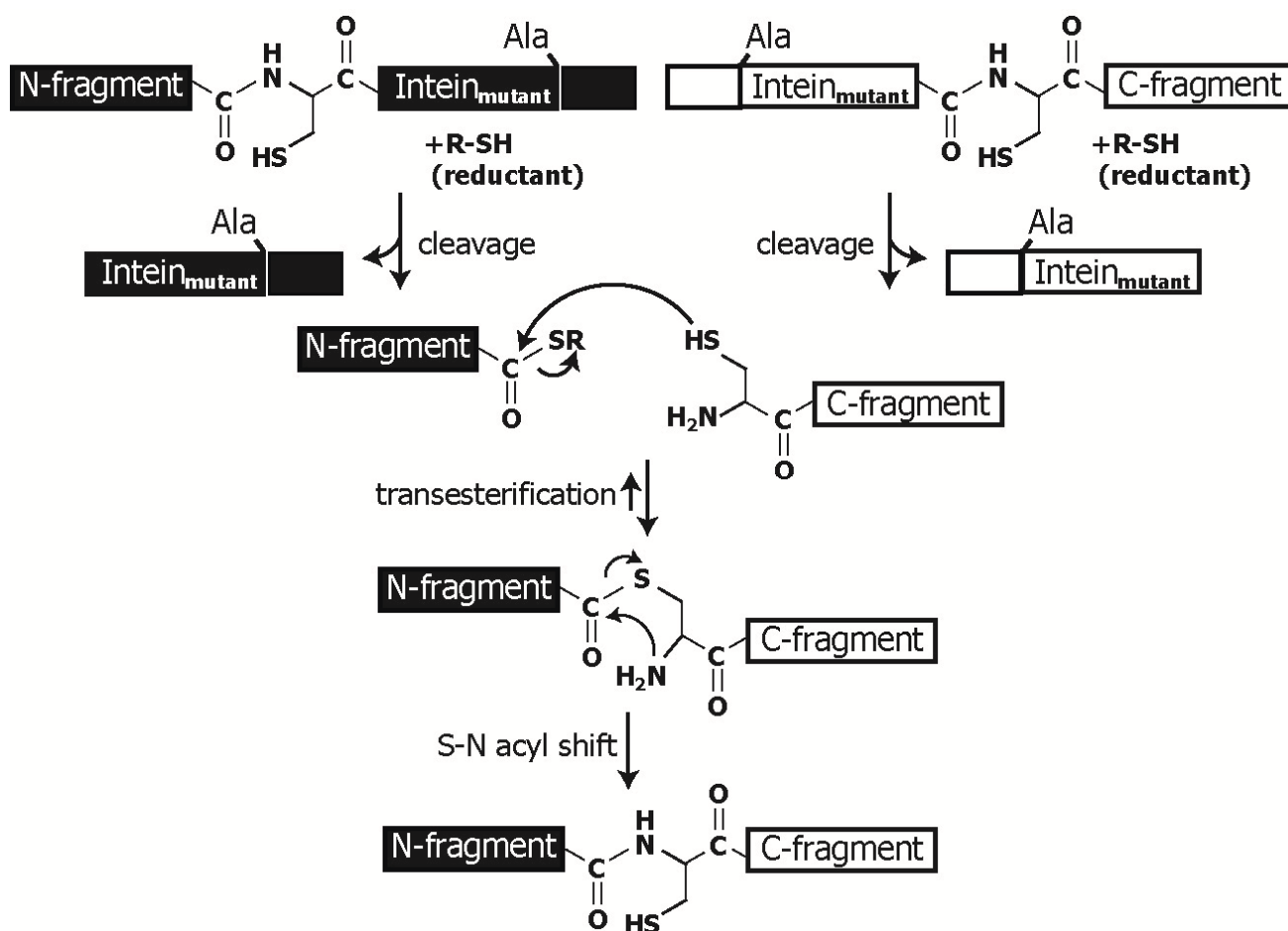


Fig.2 EPL の模式図。

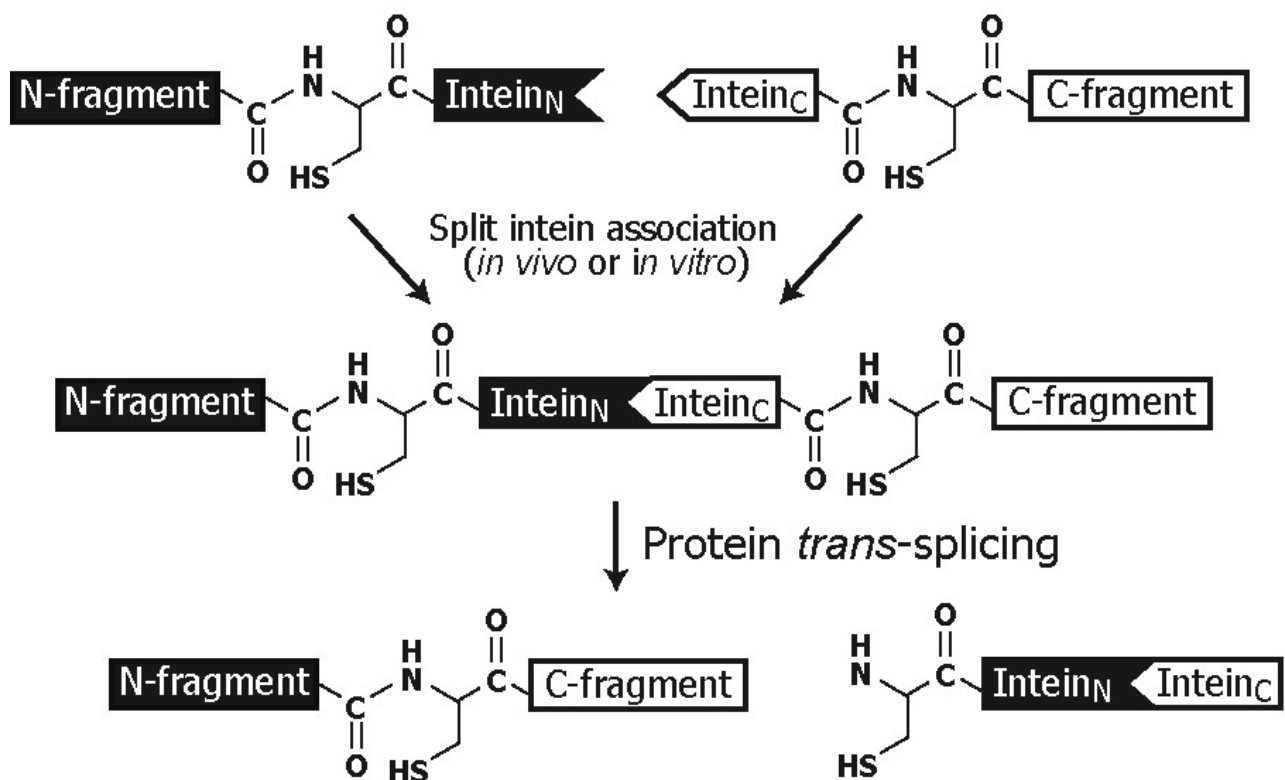


Fig.3 PTSの模式図。

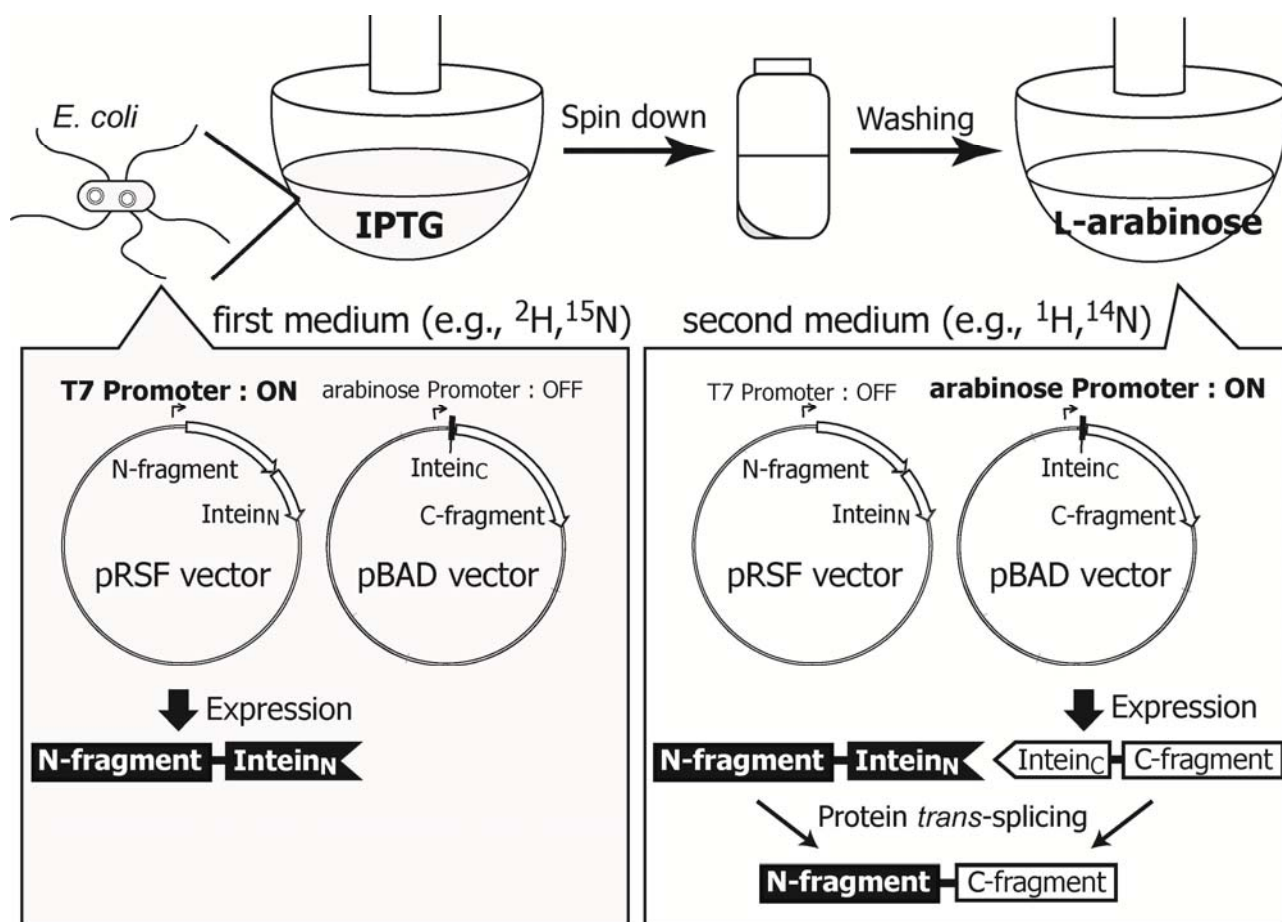


Fig.4 *in vivo* PTS 法の一例。

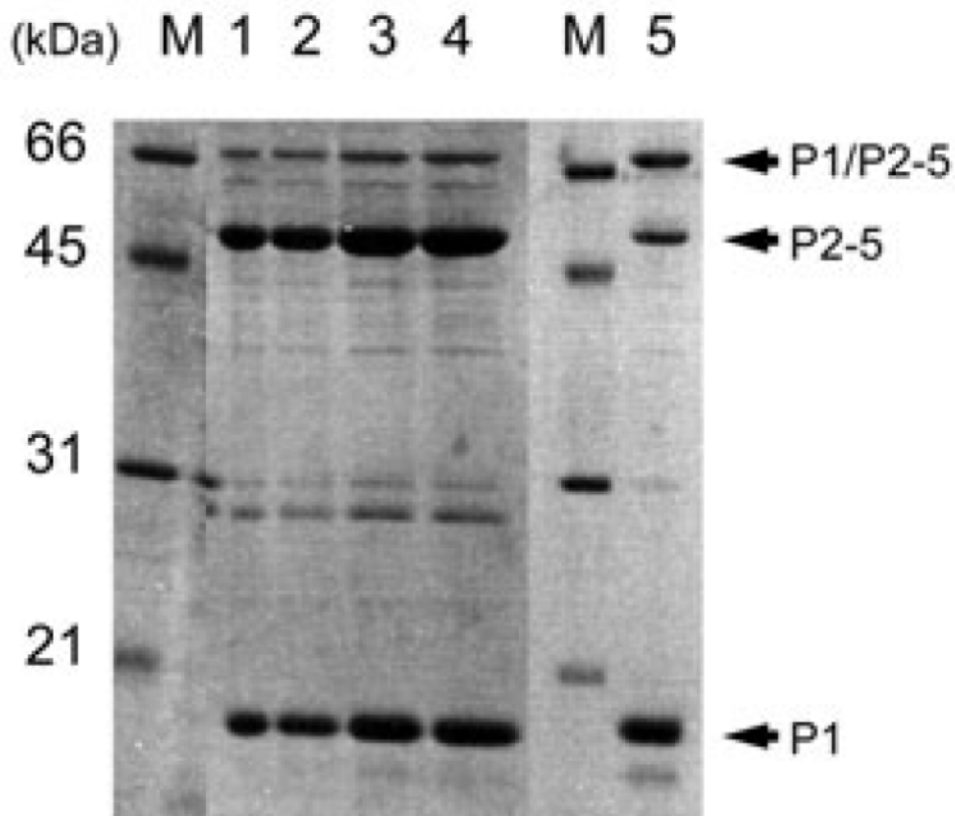


Fig.5 EPL 法によるライゲーション反応（論文[10]より抜粋）

レーン 1-4: P1(Q153)と(S154C)P2-5 のライゲーション反応の結果。
 反応時間や温度などを検討したが、反応効率は向上しなかった。
 レーン 5: P1(Q153G)と(S154C)P2-5 のライゲーション反応の結果。
 レーン 1-4 と比べ、未反応の P2-5 に対して、P1/P2-5 のバンドが濃くなっており、反応効率が増大したことが示された。

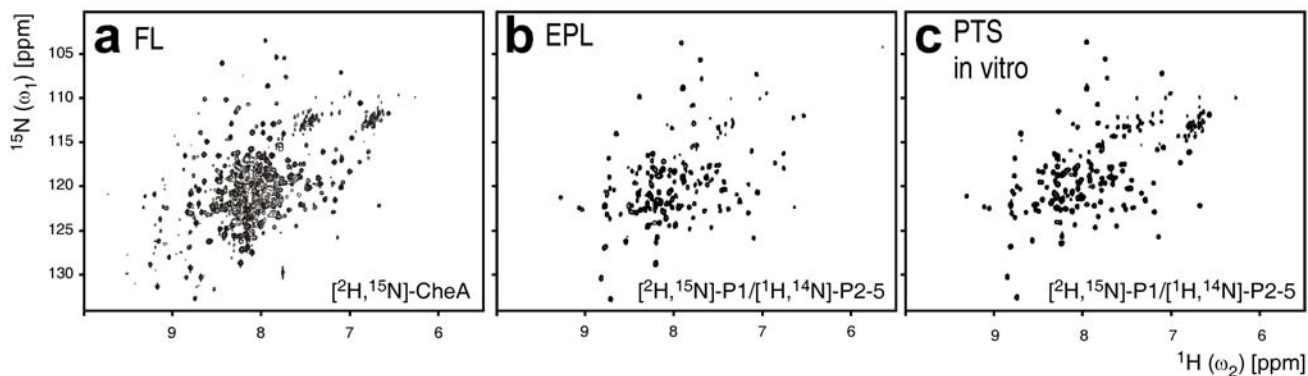


Fig.6 EPL 法、PTS 法により調製した、区分標識 CheA の ^1H - ^{15}N TROSY-HSQC スペクトル (論文[10]より抜粋)。

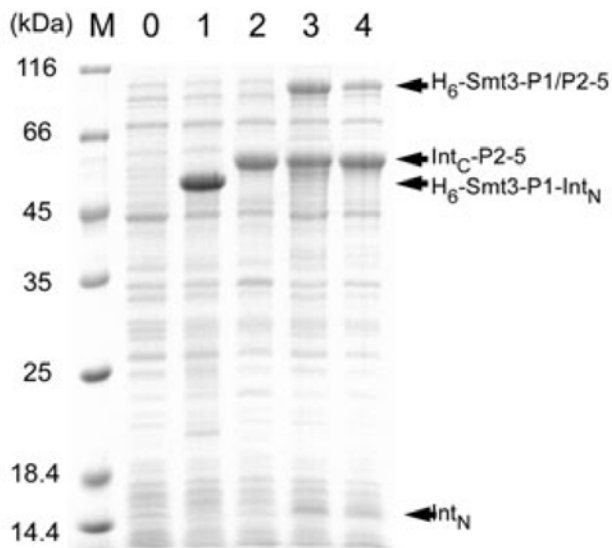
(a) CheA 全長のスペクトル。 ^1H の化学シフト値 8 ppm 付近のシグナルが著しく縮重している。

(b) EPL 法により調製した、 $[\text{}^2\text{H}, \text{}^{15}\text{N}]\text{P1(Q153G)}/[\text{}^1\text{H}, \text{}^{14}\text{N}](\text{S154C})\text{P2-5}$ のスペクトル。

(c) *in vitro* PTS 法により調製した、 $[\text{}^2\text{H}, \text{}^{15}\text{N}]\text{P1}/[\text{}^1\text{H}, \text{}^{14}\text{N}]\text{P2-5}$ のスペクトル。

(b), (c)ではシグナルの縮重が改善されている。

a



b

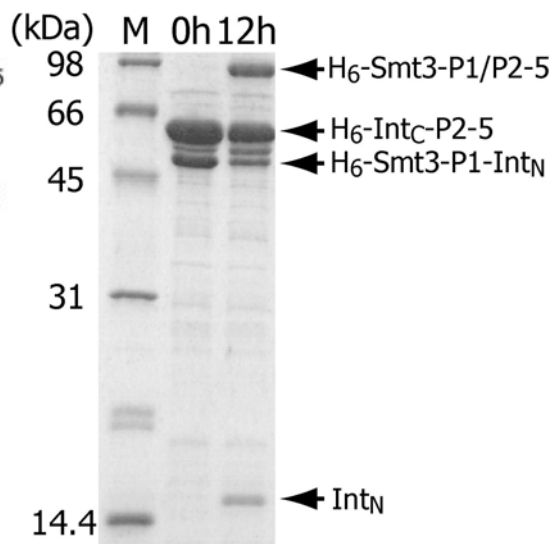


Fig.7 PTS 法によるライゲーション反応（論文[10]より抜粋）。

(a) *in vivo* PTS 反応。レーン 0：誘導前、1：IPTG 誘導、2：アラビノース誘導、3, 4：両方で誘導。3, 4 では、ライゲーションされた P1/P2-5 に由来する、高分子量のバンドが観測された。

(b) *in vitro* PTS 反応。12 時間の反応で、70%程度の効率でライゲーションが進行した。

著者略歴

岩井秀夫（いわい・ひでお）

ヘルシンキ大学バイオテクノロジー研究所・グループリーダー.

1992年東京大学薬学部薬学科卒業. 1994東京大学大学院薬学系研究科修士課程卒業。

1998年スイス連邦工科大学チューリッヒ校にて博士号取得. 同大学博士研究員、チューリッヒ大学博士研究員、理化学研究所博士研究員を経て、2003年サスカチュワン大学助教授. 2005年現職に就任。〔専門〕蛋白質工学、核磁気共鳴分光法



受領日：2012年8月6日、受理日：2012年8月13日、編集委員：上田 卓見
日本核磁気共鳴学会機関誌「NMR」Vol. 3