

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：12608

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008～2012

課題番号：20114004

研究課題名（和文） 1分子イメージングによる生命情報の「その場」計測

研究課題名（英文） In-situ real-time measurement of biological informations using single molecule imaging

研究代表者

徳永 万喜洋（TOKUNAGA MAKIO）

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授

研究者番号：00192659

研究成果の概要（和文）：

1分子イメージング観察と力計測を用いて、染色体の局所領域に一過的に作られる特殊な構造と変化を明らかにすることを目的とした。鮮明な細胞内部の1分子イメージング法を用い、細胞核内外の分子動態・相互作用を、時空間の関数として可視化し、個々の時空間場で直接観察計測する1分子イメージング定量技術の特性を生かし、細胞内の「その場」計測を推進した。多色同時1分子イメージングによる核内分子の定量ナノ解析により、局所的局時的なイベントに基づく細胞システム“場”における分子動態・相互作用の特性が、多次元の定量情報相関で明らかにできることを示した。生細胞中の分子動態を10nmオーダー分解能で定量し、機能と分子ダイナミクスとの関係を明らかにする道を拓いた。1分子計測とシミュレーションを用い、“場”におけるエントロピーの果たす重要性を示した。

研究成果の概要（英文）：We have demonstrated that clear visualization of single molecules in cells enables their molecular quantification. The object of this research is to clarify structures and their changes of DNA and protein complexes that are formed transiently and locally. We examined fluorescent protein-labeled nuclear proteins, such as transcription factors, RNA polymerase II and nucleosome remodeling factors, by simultaneous multi-color single-molecule imaging using HILO microscopy. Quantification on molecular dynamics and interactions with multi-dimensional analysis and 10-nm-resolution analysis of the images enabled us to classify states of the proteins and interactions. This approach provides a tool to understand yet mystifying mechanism of regulation and expression of genetic information.

In parallel, we carried out single-molecule force measurement and molecular dynamics simulations on the same subjects. Quasi-static unfolding of single molecules of staphylococcal nuclease and double-stranded DNA by constant-rate mechanical stretching. The mean energies to disrupt elementary structures were a few times of the thermal energy (1~3 kBT), which agrees with their stochastic feature. The results showed that entropy is a key property on the “genetic information field”.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	42,700,000	12,810,000	55,510,000
2009年度	17,000,000	5,100,000	22,100,000
2010年度	15,300,000	4,590,000	19,890,000
2011年度	19,800,000	5,940,000	25,740,000
2012年度	15,300,000	4,590,000	19,890,000
総計	110,100,000	33,030,000	143,130,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：1分子イメージング、1分子計測、分子システム、その場計測、3次元イメージング、マルチカラーイメージング、HILO 照明法、分子定量

## 1. 研究開始当初の背景

日本を中心として誕生した1分子イメージング研究は、重要な潮流となって発展している。大きな方向性として、生きた細胞でのイメージングと、定量解析へと発展している。

徳永は、当初から新しい技術を開発し1分子研究の分野を開拓してきており、対物レンズ型全反射照明を用いた1分子イメージングにより、細胞表面の1分子イメージングを可能にした(Tokunaga et al., BBRC, 1997)。細胞内部の観察も進んでおり、その中でも薄層斜光(HILO)照明法は、従来の落射照明法よりもS/N比が2~8倍高い高画質な画像をもたらす(Tokunaga et al., Nat. Methods, 2008)。バイオイメージングの分野では、数値情報化が重要な研究動向となっている(Megason & Fraser, Cell, 2007)。1分子イメージングは、細胞内における動態と相互作用に関わる諸量を、空間・時間・分子種の関数として定量することができる(Tokunaga et al., Nat. Methods, 2008)。

ダイナミックに変化し、特定の時期に特定の局所領域に局限して起こる遺伝情報「場」を解明するためには、平均値でなく、個々の分子・部位を直接に生きた細胞で「その場」計測できる、1分子イメージングが適している。さらに、細胞内で定量情報が計測できるという点も、本研究領域に適している。本研究は、1分子研究を、生命科学における新たな領域を開拓し発展させる事ができる。

## 2. 研究の目的

1分子イメージング観察・計測・定量法を、染色体の局所領域に一過的に作られる特殊な構造と変化を明らかにするために最適化する。開発した技術を駆使し、細胞核内外の物流や構造を、時空間の関数として「その場」計測する。蛋白質の1分子イメージング計測技術に、先駆的な貢献をしてきており、鮮明な細胞内部の1分子イメージングを実現できる顕微鏡法を開発済みであったが、さらに当目的のために開発改良する。染色体は、非常に多くの蛋白質と複合体を形成し、高度に高次な構造体として機能している。しかも、その構造は、転写・複製・修復・組換えなどの生命現象において一定不変でなくダイナミックに変化する。DNAの全領域で一斉・一律に起こるのではなく、機能に応じ、特定の時期に特定の局所領域に局限して段階的に起こる。その複雑さと、適切な「その場」計測技術がないため、その実態は未解明の点が多い。個々の時空間場で直接観察計測でき

るという1分子イメージング定量技術の特性を生かし、細胞内での「その場」計測を推進することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 顕微鏡イメージングシステム・定量解析システムの構築

多色同時蛍光1分子イメージング観察と定量法を最適化した仕様の顕微鏡を、既に構築済みのものを改良するとともに、新規技術開発を行った。

(2) 生細胞多色同時1分子イメージング

異なる色の蛍光タンパク質もしくは蛍光色素で標識したタンパク質分子と、それらを細胞内で発現もしくは取り込んだ細胞を調整し、(1)で開発した1分子顕微鏡で生細胞観察を行った。

(3) 核内分子の定量ナノ解析による「その場」計測

細胞内部での高S/N比の画像を生かし、生きた細胞内部における分子数・濃度・相互作用時間・解離定数・拡散係数・物理的動態特性といった、分子動態と分子間相互作用に関わる諸量を上記多色同時1分子イメージング画像の解析から求め(Tokunaga, et al., *Nature Methods*, 2008)、時間・空間・多種分子(多色)の関数として定量する研究を進めた。

## 4. 研究成果

(1) 顕微鏡イメージングシステム・定量解析システムの構築

まず光学系の収差の極小化を行い、細胞内部特に核内の1分子画像が理論点像に近づくよう結像系全般を見直し、光学系を最適化した。機械的ドリフトを最小限にする焦準機構の導入改良を行った。4色までの多色蛍光を同時に観察できる1分子顕微鏡において、生きた試料の臨機の変化に随時に対応できるPC制御システム、多色同期画像取得PCシステムを構築改良した。細胞内部での高S/N比の画像を生かし、細胞内部における分子数・濃度・相互作用時間・解離定数・拡散係数・物理的動態特性といったパラメータを、多種分子・時間・空間の関数として求めるための画像定量解析ソフトシステムを開発改良した。その結果、性能の格段の向上とともに、より高画質化による定量解析の質的向上をもたらした。

(2) 生細胞多色同時1分子イメージング

RNA PolymeraseII (大阪大学・木村宏博士との領域内共同研究)、NFkB等の転写因

子とその相互作用分子や制御分子、actin-related proteins 等のクロマチンリモデリング因子やスプライシング関連タンパク質（東北大学・原田昌彦博士との領域内共同研究）、メチル化・アセチル化等修飾ヒストン（大阪大学・木村宏博士との領域内共同研究）、PML body タンパク質・核膜タンパク質・ヘテロクロマチンタンパク質等の核構造および構造制御分子（熊本大学・斉藤典子博士、大阪大学・平岡泰博士、情報通信機構・原口徳子博士との領域内共同研究）に焦点をあて、複数色同時1分子イメージングを生きた細胞で展開した（図1）。

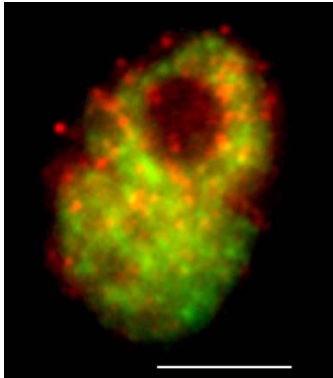


図1. アセチル化修飾ヒストン(赤)とRNA polymerase II(緑)の生細胞多色同時1分子イメージング、1秒平均像(木村宏博士との共同研究)。転写ファクトリーの存在を示唆。バー、5 $\mu$ m。

### (3) 核内分子の定量ナノ解析による「その場」計測

分子動態と分子間相互作用に関わる定量解析結果は、細胞を分子システムとしてシミュレーションする上で、従来得られることが困難であったものである。免疫細胞におけるシグナル伝達活性化の定量解析から、約50分子の微小集合体がシグナル伝達を引き起こすこと、従来のシグナル伝達の描像とは異なり、情報の“質”を維持しながら核へとシグナルが伝達されることが明らかとなった。

1分子画像から軌跡を追跡し、分子動態の複数種パラメータを定量化した(図2)。これら複数種定量結果から、転写に関わる分子群やクロマチンリモデリング因子の時空間的な分子動態や分子種の違いが明らかとなり、動態・相互作用の分類が可能となり、“場”の特性と分子機能との関連が示された。

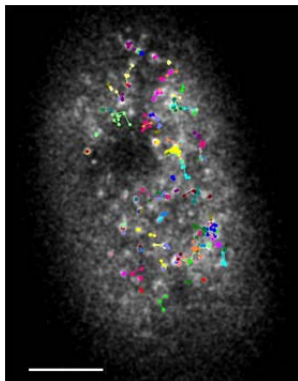


図2. 転写因子 Sp1 の1分子画像と自動軌跡追跡(木村宏博士、原田昌彦博士との共同研究)。軌跡から拡散速度・最大移動距離・相互作用(滞在)時間・軌跡曲線形状といった、分子定量情報を解析。バー、5 $\mu$ m。

一方、多色蛍光同時1分子イメージング解

析の新たな展開として、10 nm 分解能での分子間・分子内動態と相互作用の定量解析法開拓を行った。異なる色の画像間距離計測は、2点識別分解能の光学限界である  $0.61 \times$  開口数/波長 の制約を受けない。各色の輝点重心位置を計測し、その間の距離を時空間の関数として求めた。この超解像定量解析法は、転写“場”における、分子動態と分子機能の関係を明らかにすることができた。

### (4) 細胞システム“場”におけるエントロピーの重要性

独自開発の分子間力顕微鏡により、タンパク質 N-,C-両末端を準正的に引っ張り unfold させる1分子計測と、分子動力学 simulation を行った。1分子計測と MD シミュレーションが良い一致を示した。1分子の構造形成に関わる過程は、非常にダイナミックで確率的であり(図3)、力の大きさが引っ張る速度の log に比例していることを見出した。これは、エントロピー = log(状態数) から、相互作用できる“状態”の数・頻度、即ちエントロピーが、“場”の機能に重要な役割を果たしていることを示している。(Fukagawa, et al., *BIOPHYSICS*, 2009)。

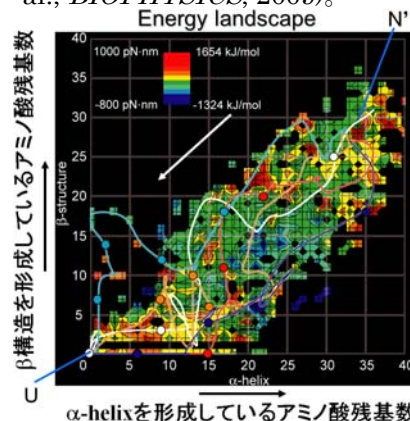


図3. 1分子計測とMDシミュレーションによる分子構造の動的特性解明 (BIO-PHYSICS, 2009)

同様に、DNA 2重らせんの塩基対を引き離してゆく unzipping の1分子計測と分子動力学 simulation を行い解析した。分子動力学 simulation 結果から、エントロピーを求めた。力学的エネルギー地形とエントロピー地形を比較し、DNA unzipping からエントロピーとエネルギーが二重らせん構造形成に同程度の寄与をしていることを見出した。

以上の結果は、中程度の強さの非常に多数の相互作用の集積が関与して“場”を形成していることに起因しており、相互作用の探索空間(状態数)の制御すなわちエントロピーの制御が、“場”の特性に大きな鍵を握っていることを示している。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 15 件)

- ① Hotta K, Nashimoto A, Yasumura E, Suzuki M, Azuma M, Iizumi Y, Shima D, Nabeshima R, Hiramoto M, Okada A, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M, Ito T, Ando H, Sakamoto S, Kabe Y, Aizawa S, Imai T, Yamaguchi Y, Watanabe H, Handa H, Vesnarinone Suppresses TNF  $\alpha$  mRNA Expression by Inhibiting Valosin-containing Protein, *Mol Pharmacol*, 査読有, Vol. 83, 2013, pp. 930-938  
DOI: 10.1124/mol.112.081935
- ② Hashimoto-Tane A, Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, Sakuma M, Ishihara C, Tokunaga M, Saito T, Dynein-driven transport of T cell receptor microclusters forms the cSMAC and regulates T cell activation, *Immunity*, 査読有, Vol. 34, 2011, pp. 919-931  
DOI: 10.1016/j.immuni.2011.05.012
- ③ 十川久美子, 徳永万喜洋, 現代化学, 免疫細胞表面の 1 分子イメージング計測, 査読無(依頼執筆), 488 巻, 2011, 42-43  
<http://www.tkd-pbl.com/book/b94529.htm>
- ④ Yokosuka T, Kobayashi W, Takamatsu M, Sakata-Sogawa K, Zeng H, Yagita H, Tokunaga M, Saito T, Spatiotemporal basis of CTLA-4-mediated negative regulation of T-cell activation, *Immunity*, 査読有, Vol. 33, 2010, pp. 326-339  
DOI: 10.1016/j.immuni.2010.09.006
- ⑤ Shiina N, Yamaguchi K, Tokunaga M, RNG105 Deficiency Impairs the Dendritic Localization of mRNAs for Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase Subunit Isoforms and Leads to the Degeneration of Neuronal Networks, *J. Neuroscience*, 査読有, Vol. 30, 2010, pp. 12816-12830  
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6386-09.2010
- ⑥ Shiina N, Tokunaga M, RNA Granule Protein 140 (RNG140): A Paralog of RNG105 Localized to Distinct RNA Granules in Neuronal Dendrites in the Adult Vertebrate Brain, *J. Biol. Chem.*, 査読有, Vol. 285, 2010, pp. 24260-24269  
DOI: 10.1074/jbc.M110.108944
- ⑦ Fukagawa A, Hiroshima M, Sakane I, Tokunaga M, Stochastic emergence of multiple intermediates detected by single-molecule quasi-static mechanical unfolding of protein, *BIOPHYSICS*, 査読有, Vol. 5, 2009, pp. 25-35  
DOI: 10.2142/biophysics.5.25
- ⑧ Miletic AV, Graham DB, Sakata-Sogawa K, Hiroshima M, Hamann MJ, Cemerski S, Kloeppe T, Billadeau DD, Kanagawa O, Tokunaga M, Swat W, Vav links the T cell antigen receptor to the actin cytoskeleton and T cell activation independently of intrinsic Guanine nucleotide exchange activity, *PLoS One*, 査読有, Vol. 4, 2009, pp. e6599  
DOI: 10.1371/journal.pone.0006599
- ⑨ Fukagawa A, Hiroshima M, Sakane I, Tokunaga M, Direct Observation of Multiple and Stochastic Transition States by a Feedback-controlled Single-molecule Force Measurement, *Anal Sci*, 査読有, Vol. 25, 2009, pp. 5-7, Selected as Hot Article Award.  
DOI: 10.2116/analsci.25.5
- ⑩ 徳永万喜洋, 十川久美子, 薄層斜光照明法による細胞内での蛍光 1 分子観察, 生物物理, 査読無(依頼執筆), Vol. 49, 2009, pp. 318-321  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/49/6/49\\_6\\_318/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/49/6/49_6_318/_article/-char/ja/)
- ⑪ 徳永万喜洋, 1 分子イメージング: できないと言われたことにチャレンジ, 蛋白質核酸酵素, 査読無(依頼執筆), Vol. 54, 2009, pp. 772-778  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19462763>
- ⑫ 十川久美子, 徳永万喜洋, 免疫細胞シグナルの 1 分子イメージングと分子動態, 生化学, 査読無(依頼執筆), Vol. 81, 2009, pp. 218-222  
<http://www.jbsoc.or.jp/event/magazine/pdf/81-03-10.pdf>
- ⑬ Yokosuka T, Kobayashi W, Sakata-Sogawa K, Takamatsu M, Hashimoto-Tane A, Dustin M L, Tokunaga M, Saito T, Spatiotemporal regulation of T cell co-stimulation by TCR-CD28 microclusters through PKC  $\theta$  translocation, *Immunity*, 査読有, Vol. 29, 2008, pp. 589-601  
DOI: 10.1016/j.immuni.2008.08.011
- ⑭ 椎名伸之, 徳永万喜洋, 神経シナプス可塑性の分子イメージング, *Clinical Neuroscience*, 査読無(依頼執筆), Vol. 26, 2008, pp. 1062-1063  
[https://www.chugaiigaku.jp/modules/shop/index.php?main\\_page=product\\_info&Path=3\\_66&products\\_id=918](https://www.chugaiigaku.jp/modules/shop/index.php?main_page=product_info&Path=3_66&products_id=918)
- ⑮ 徳永万喜洋, 十川久美子, 薄層斜光照明法で見えてくる新たな生命現象, 実験医学増刊号 “ライブイメージングで解き明かす多彩な生命現象”, 宮脇敦史編, 羊土社, 査読無(依頼執筆), Vol. 26, 2008, pp. 163-168.

<https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/book/9784758102940/index.html>

[学会発表] (計 69 件)

- ① Tokunaga M, Fukagawa A, Sakata-Sogawa K. Single molecule imaging in living cells and stochastic features of inter- and intra-molecular interactions. The 10th NIBB-EMBL Symposium 2013 “Quantitative Bioimaging”, NIBB, Okazaki, 2013. 03. 19. (招待講演)
- ② Tokunaga M, Fukagawa A, Sakata-Sogawa K. Single molecule imaging in living cells and stochastic features of inter- and intra-molecular interactions. 1st Bioscience and Biotechnology International symposium, Tokyo Inst Tech, Yokohama, Jan 2013. 01. 13. (招待講演)
- ③ 徳永万喜洋, 深川暁宏, 十川久美子. 光で観る計る生体分子のダイナミックな姿. 東大光量子科学研究センター・レーザーアライアンス合同シンポジウム, 東京大学, 文京区, 2012. 12. 18. (招待講演)
- ④ Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Quantitative analysis of single molecule imaging of the physicochemical field for genetic activities. Symposium at The 50th Annual Meeting of the Biological Society of Japan, Nagoya Univ, Nagoya, 2012. 09. 23. (招待講演)
- ⑤ Tokunaga M, Ichikawa A, Ito Y, Sakata-Sogawa K. Quantitative spatiotemporal dynamics of T cell signaling using single molecule imaging. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, Vermont, USA, 2012. 07. 18.
- ⑥ Sakata-Sogawa K, Takimoto J, Tanaka T, Kaisho T, Tokunaga M. Dynamics of transcription factor proteins in nucleus by single molecule analysis. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, Vermont, USA, 2012. 07. 18.
- ⑦ Ito Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Development of stimulatory lipid bilayer system for quantitative analysis of T cell activation by single molecule imaging. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, Vermont, USA, 2012. 07. 18.
- ⑧ Ito Y, Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Quantitation of molecular dynamics and interactions in T cell activation by single-molecule microscopy with a lipid bilayer system. 17th international Bophysics Congress, Beijing, China, 2011. 10. 30-11. 03.
- ⑨ Sakata-Sogawa K, Okada A, Ito Y, Tokunaga M. NF- $\kappa$ B activation mechanism regulated by I $\kappa$ B $\alpha$ . 17th international Bophysics Congress, Beijing, China, 2011. 10. 30-11. 03.
- ⑩ Fukagawa A, Hiroshima M, Tokunaga M. Stochastic and dynamic behavior of quasi-static mechanical unzipping of single-base pair of DNA on 2D maps. 17th international Bophysics Congress, Beijing, China, 2011. 10. 30-11. 03.
- ⑪ Takimoto J, Tanaka T, Kaisho T, Tokunaga M, Sakata-Sogawa K. Dynamics of spatial-temporal regulation of NF- $\kappa$ B inactivation. 17th international Bophysics Congress, Beijing, China, 2011. 10. 30-11. 03.
- ⑫ Tokunaga M, Sakata-Sogawa K. Dynamics of proteins in the nucleus by single molecule analysis. International Symposium on the “Physicochemical Field for Genetic Activities”, Awaji, 2011. 01. 26 (招待講演)
- ⑬ 徳永万喜洋, 十川久美子. Molecular dynamics in living cells using single molecule imaging and quantification, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 神戸国際会議場, 神戸, 2010. 12. 09. (招待講演)
- ⑭ Tokunaga M. Single molecule imaging in living cells and stochastic feature of molecular interactions. Universität Heidelberg - Tokyo Institute of Technology JOINT WORKSHOP: Life Science and Biological Technology, Univ Heidelberg, Germany, 2010. 07. 16. (招待講演)
- ⑮ Fukagawa A, Hiroshima M, Tokunaga M. Stochastic and dynamic pathways detected by quasi-static mechanical unzipping of single-base pair of DNA and MD simulations, Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, Lucca, Italy, 2010. 06. 27-07. 02
- ⑯ Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Dynamics of transcription factor proteins in nucleus by single molecule analysis. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, Lucca, Italy, 2010. 06. 27-07. 02
- ⑰ 徳永万喜洋, 1 分子定量とシステムにおける意味. 日本学術会議公開シンポジウム「生命動態システム科学 生命の動的理解・予測・制御を目指して」, 日本学術会議講堂, 港区, 2010. 05. 07. (招待講演)
- ⑱ Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Detection de molecules uniques sur cellule vivante: presentation d’une nouvelle technique de microscopie a fluorescence. 27eme Rencontre Scientifique Francophone de Tokyo, la Maison Franco-Japonaise, Tokyo, 2010. 04. 03 (招待講演)
- ⑲ Tokunaga M. TIRF principle and applications with a focus on biological samples. DKFZ/EMBL Practical Course, Advanced Training Center of the EMBL, Heidelberg, Germany, 2010. 03. 08 (招待講演)
- ⑳ Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Single molecule Microscopy for Immunological Cell Signaling. Sweden-Japan Joint

Coloquium, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden, 2010.01.19 (招待講演)

21 徳永万喜洋, 十川久美子. 細胞内蛍光 1 分子イメージングと定量解析, 第 32 回日本分子生物学会年会 ワークショップ, パシフィコ横浜, 横浜, 2009.12.11. (招待講演)

22 十川久美子, 徳永万喜洋. 薄層斜光照明法による細胞核の蛍光 1 分子イメージング, 第 32 回日本分子生物学会年会 ワークショップ, パシフィコ横浜, 横浜, 2009.12.10. (招待講演)

23 十川久美子, 徳永万喜洋. 免疫細胞活性化初期過程の 1 分子イメージング解析, 日本生化学会大会第 82 回 シンポジウム, 神戸ポートアイランド, 2009.10.21. (招待講演)

24 徳永万喜洋, 十川久美子. 生きた細胞で分子 1 個の動きを鮮明に観る, 第 58 回高分子討論会 シンポジウム特定テーマ特別発表, 熊本大学, 熊本, 2009.09.17. (招待講演)

25 徳永万喜洋. 生きた細胞で分子 1 個を鮮明に観る, エクストリームフォトニクスシンポジウム ー光で繋ぐ理研の基礎科学ー, 理研, 和光, 埼玉, 2009.05.20. (招待講演)

26 Tokunaga M. Single Molecule Imaging in Living Cells. 4th Global COE International Symposium Program, Tokyo Inst Tech, Meguro, Tokyo, 2009.5.12. (招待講演)

27 Sakata-Sogawa K, Tokunaga, M. Single molecule imaging and quantitative analysis in living cells. Curie Institute Seminar, Paris, France, 2009.01.19. (招待講演)

28 Sakata-Sogawa K, Tokunaga, M. Single molecule imaging and quantitative analysis in living cells. EMBO Workshop "Visualizing Immune System Complexity", Centre d'Immunologie Marseille-Luminy, France, 2009.01.15-17. (招待講演)

29 椎名伸之, 山口和彦, 徳永万喜洋. RNG105 deficiency impairs the dendritic transport of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase subunit isoform mRNAs and the formation of neuronal networks and synapses. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 シンポジウム, 神戸ポートピアホテル, 神戸, 2008.12.11. (招待講演)

30 十川久美子, 徳永万喜洋. 細胞膜における免疫シグナル伝達分子相互作用の 1 分子イメージングと定量解析. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 シンポジウム, 神戸国際会議場, 神戸, 2008.12.10. (招待講演)

31 徳永万喜洋, 深川暁宏, 十川久美子. 1 分子計測・イメージングとシミュレーション研究の融合. 日本生物物理学会第 46 回年会 シンポジウム, 福岡国際会議場, 福岡, 2008.12.03. (招待講演)

32 徳永万喜洋, 十川久美子. 細胞 1 分子イメージングと定量, 理研公開シンポジウム「細胞・発生研究への数理科学的アプローチ」, 理研, 神戸, 2008.09.02. (招待講演)

33 Tokunaga M, Fukagawa A, Sakata-Sogawa K. Single molecule imaging by HILO microscopy in living cells and stochastic

emergence of multiple intermediates detected by single-molecule protein unfolding. Gruss-Lipper Biophotonics Center Seminar, Albert Einstein College of Medicine, New York, USA, 2008.08.25. (招待講演)

34 Fukagawa A, Hiroshima M, Sakane I, Kuwajima K, Tokunaga M. Stochastic emergence of multiple intermediates detected by single-molecule protein unfolding. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, New Hampshire, USA, 2008.08.17-22.

35 Sakata-Sogawa K, Tokunaga M. Single molecule imaging and quantitative analysis of transcription factors in living cell by HILO microscopy. Gordon Research Conference Single Molecule Approaches To Biology, New Hampshire, USA, 2008.08.17-22.

他国内学会 34 件 計 69 件

〔図書〕 (計 1 件)

① 徳永万喜洋, 十川久美子, 丸善, 第 3 版 現代界面コロイド化学の基礎, 2009, 3 (399-401)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: 顕微鏡システム

発明者: 宮脇成礼, 徳永万喜洋, 十川久美子, 江部康平, 堀博文

権利者: オリンパスソフトウェアテクノロジー株式会社, 国立大学法人東京工業大学, 独立行政法人理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2010-145571

出願年月日: 2010 年 6 月 25 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.toku.bio.titech.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

徳永 万喜洋 (TOKUNAGA MAKIO)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授

研究者番号: 00192659

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

十川 久美子 (KUMIKO SAKATA-SOGAWA)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・准教授

研究者番号: 20291073