

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03008

研究課題名(和文) 新規時間分解拡散法の開発とタンパク質構造・分子間相互作用検出への応用

研究課題名(英文) Development of novel time-resolved diffusion method and application to detection of protein conformation and intermolecular interaction

研究代表者

寺嶋 正秀 (Terazima, Masahide)

京都大学・理学研究科・教授

研究者番号：00188674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：反応に伴うタンパク質中間体構造変化を時間分解で検出するため、時間分回転拡散係数法の開発を行った。金属錯体からの発光を用いて、大きなタンパク質の回転拡散係数を測定することに成功した。Lysozymeの種々の部位にシステイン残基を導入した変異体を作製し、そのシステインに蛍光色素をつけ、二次構造に変化がない部位を特定した。これらの変異体について、回転拡散係数の変性剤濃度依存性を明らかにし、変性過程での通説となっている2状態遷移とは違う過程を見出した。さらに、揺らぎ運動とその部位依存性を示した。また、時間分解並進拡散法で、タンパク質の反応に円二色性などでは検出できない構造変化を検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質の機能発現を分子レベルで解明することは、生命科学や医学や薬学においても非常に重要なテーマである。このために、X線結晶解析を主とする構造解析が国家レベルの巨大予算で行われているが、そうした静的構造だけでなく動的特性の解明が反応機構を明らかにするために不可欠である。このために、種々の分光法が開発されてきたが、そうした分光法でも検出できない暗い過程が多く存在する。この難点を克服するために、ここでは時間分解並進拡散係数法とともに時間分解回転拡散係数法を提案し、そのシステム開発を行った。この研究は、多くの学術分野で役に立つ方法というだけでなく、医療や薬開発などの社会的に重要な分野に応用できる。

研究成果の概要(英文)：A method of time-resolved rotational diffusion coefficient measurement was developed to investigate conformation change dynamics of proteins during reactions. For this purpose, luminescence from a metal complex that has a long lifetime was used. Some mutants of Lysozyme were prepared and the probe molecule was bound to some sites of that protein. It was confirmed that the secondary structure does not change by the probe molecule. From the decay rate of the polarization of the luminescence, the rotational diffusion coefficient was determined as a function of the concentration of a denaturant. It is interesting to find that the rotational diffusion rate depends on the position of the probe molecule. This result indicates that the unfolding process should not be described by the two-state model, which has been reported by many researchers so far. A new stopped flow system was also developed to be used for the time-resolved rotational diffusion coefficient method.

研究分野：生体分子科学

キーワード：タンパク質反応 分子間相互作用 光反応 拡散 熱力学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

X線構造解析に代表される(静的な)構造決定手法が比較的手軽に使えるようになり、多くの構造情報が蓄積されてきた現在、静的な構造だけからではわからない動的な反応を分子の立場で解明することが、物理化学としての命題の一つである。例えば、機能を担うタンパク質の構造変化と分子間相互作用の解明はそのための中心的問題となる。このために、時間分解(紫外・可視・赤外)吸収測定、時間分解発光検出、時間分解(ラマン)散乱などの手法が開発されてきたが、タンパク質にはこうした手法ではとらえきれないダイナミクスが数多くあり、それが反応を理解するうえで必須であることが次第に明らかとなってきた。特に、発色団周囲の変化だけでは検出できない高次構造変化や生体分子間相互作用のダイナミクス解明などは、まさにこれからも重要となる分野である。特にタンパク質間相互作用は非常に重要なため、これまでも相互作用を検出する多くの種類の手法が試みられてきた。例えば、その高感度性から現在多く用いられている表面プラズモン共鳴(SPR)バイオセンサーは、初期には基礎的なプロジェクトとして開発され、多くの研究者によりその技術が磨かれて、現在はその原理に基づく多くの派生製品が市場を席巻している。しかし、この手法は高感度性のメリットがある一方で、速いダイナミクスを見れないという大きな欠点があるし、その他にも分子の固定化が必要など制限も多い。

一方で、申請者は、世界で初めて並進拡散係数を時間分解することで、分子間相互作用や構造変化ダイナミクスを検出する新しい手法を開発した。並進拡散係数を時間分解検出できたことは物理化学的にも非常に重要な拡散現象研究の転換点であったが、タンパク質反応検出への応用としても、この手法で生体分子のグローバルな変化を余さずとらえられることがわかり、当初は予想もできなかったほどの発展を収めた。例えば、この手法を用いることで通常分光法ではその存在さえ確認できない中間体を数々発見して短寿命中間体の性質を明らかにすることができ、生体分子研究にはなくてはならない手法であることを示してきた。しかも、並進拡散係数の時間発展を測定することでタンパク質間相互作用を時間分解検出できることも示し、バイオセンサーとしての高いポテンシャルを報告している。しかし同時に、以下のような解決しなくてはならない基礎学術的な課題が残されていた。

2. 研究の目的

これまで時間分解並進拡散係数法による生体反応研究のための測定原理や解析手法を開発してきたが、3つの大きな制限があった。一つは、測定の基礎となる過渡回折格子法では、励起光で濃度分布を作り出すために、光で反応を開始できる系でないと測定が困難という点である。光とは関係ないタンパク質反応まで手法が適用できる時間分解手法があれば素晴らしい進展になるであろう。2つめとして、並進拡散では分子全体の運動をとらえるために、タンパク質の全体的な変化は検出できるが、局所的な運動についてはわからないことがある。他の手法では検出の難しいグローバルな変化が時間分解検出できることは、反応過程を見逃さないために重要であるが、さらに詳細な反応機構を知るためには、局所的な情報を得ることも大切であることがこれまでの研究で明らかとなってきた。もう一つは、並進拡散が遅い過程のために、測定の時間分解能をサブミリ秒以上に上げるのが困難なことである。こうしたいくつかの限界を克服するため、ここでは時間分解並進拡散係数法と相補的な時間分解回転拡散法の提案・確立を行い、重要なタンパク質反応へ適用することを目標とする。

分子の回転拡散現象は物理化学的には並進拡散と同程度に古くからの研究の対象であり、例えば偏光解消の時間変化測定などから多くの報告がある。ここでは、反応に伴う回転拡散係数の時間変化から反応を明らかにする手法の提案と、それをタンパク質反応に適用することで、タンパク質の構造変化やダイナミクス、そして分子間相互作用を時間分解検出する手法の確立を行う。

3. 研究の方法

ここでは発光の偏光解消法を用いる。生体分子に蛍光分子をつけた回転拡散検出は、多くはないが既にいくつか報告がある。しかし、それらはいずれもタンパク質の大きさを推定することが主目的であり、従来から比較的小さい分子に対してなされてきた原理や目的とはほぼ同じものであった。ここでは、この回転拡散係数の時間変化を観測することでタンパク質の反応ダイナミクスを研究するための手法とする。しかしこれを成し遂げるには、いくつかの困難な点がある。まず、巨大分子であるタンパク質の回転拡散はこれまで調べられている多くの小さい分子とけた違いに遅く、多くがナノ秒の寿命を持つ蛍光の偏光減衰から求めるのが困難な場合が多い。これを克服するため、長寿命で偏光度の高い蛍光分子を探索する。また、反応ダイナミクス測定を行うための時間分解を行う手法も開発しなくてはならない。このために、短時間で偏光解消を測定できる方法を開発する。

次に時間分解で回転拡散係数を検出するための最適なシステムを構築する。このために、構造と回転拡散係数との相関を明らかにし、速い時間分解能を達成するためのシステム作りを行う。ストップフローと組み合わせることで時間分解で分子間相互作用を明らかにする。

4. 研究成果

まず方法論の確立を行った。感度や時間分解能を考えた場合、発光の偏光解消を用いるのが最適と思われる。しかし、蛍光偏光解消による回転拡散係数測定をタンパク質に応用する場合、い

くつかの克服しなければならない点があった。例えば、巨大分子であるタンパク質の回転拡散係数が小さいために、数 100 ナノ秒程度にわたり偏光の長時間観測を行わなければならない。よってタンパク質の回転拡散係数測定には長寿命で発光する色素が必要となる。これが、これまでタンパク質の回転拡散係数測定が蛍光偏光解消法でほとんど行われていなかった理由の一つである。ここでは金属錯体を用いたスピン多重度禁制遷移(すなわち金属のために増強された蛍光)を使った発光を用いた。これは 100 ナノ秒ほどの減衰時定数である。この蛍光プローブをタンパク質につけることで、100 kDa ほどの巨大なタンパク質の回転拡散係数も測定できた。さらに発光強度や励起・発光波長の観点から、いくつかの色素を試し、最適な色素を見出した。

多くの研究者が用いている FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer)検出など、生体分子にそうしたプローブ分子をつけることは生化学(あるいは物理化学)の分野ではしばしば行われるが、常にタンパク質の構造や反応への影響が問題となる。そのため、色素選択と同時に、色素をつける場所にも気を配り、プローブ分子によって安定性や反応性が変化していないかを常にチェックする必要がある。このためには、高次構造を反映する円二色性スペクトルを用いて調べ、影響の少ない場所に色素を導入することにした。具体的には、ターゲットタンパク質として Lysozyme を選択した。このタンパク質の種々の部位にシステイン残基を導入した変異体を作製し、そのシステインに蛍光色素をつけることに成功した。

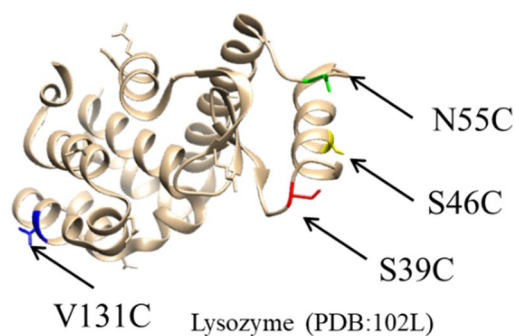
これらの蛍光プローブをつけた変異体を円二色性測定を用いて二次構造を調べ、二次構造に変化がある変異体は不相当として棄却した。こうした手順を作り返し、構造に変化がない部位を特定した。この結果、N55C、S46C、S39C、V131C の変異体を選んだ。これらの場所は、ヘリックス内やループ上など、バラエティある箇所であった(右図)。

これらの変異体について、円二色性信号の変性剤濃度依存性を調べた。その結果、円二色性分光では 2 状態的な変性過程を取ると考えられていたタンパク質においても、部位特異的に異なった変性過程を示すものがあることを見出した。これはこれまでの知見を覆すもので非常に興味深い知見である。こうして得られた情報を基にして、変性剤で変性させつつ蛍光の偏光測定を用いて偏光解消速度をピコ秒からナノ秒の時間スケールで検討した。その結果、部位によっては予想していた回転拡散運動の減少ではなく、偏光解消速度の増加が観測された。これは、その部位における揺らぎ運動が促進されたためと解釈した。しかもその促進速度は、タンパク質の部位によって異なり、構造を取りにくい部位の動きが速いことが分かった。部位依存的なこの揺らぎ促進効果は、タンパク質の安定性の議論に大きな役目を果たすと期待される。

次に、このシステムをタンパク質反応の時間分解計測に用いるために、ストップフロー装置の開発を行った。わずかしが生成できないタンパク質反応に適用するためには、溶液混合速度の向上とともに、用いるサンプル溶液の微量化が必要となる。このために、非常に小さい混合セルを備えた新しいストップフロー装置を開発した。また、圧縮空気を用いることでミリ秒の時間分解能で拡散係数変化を測定できることを確認した。更に、このストップフローシステムを用いて光に応答しないタンパク質への展開を図るため、新しいプローブ分子の開発も行った。光で吸収スペクトルが大きく変化するスピロピラン系の分子を用いることで、高感度に拡散係数を測定することに成功した。これにより、光センサータンパク質だけでなく、一般のタンパク質に適用できるシステムがほぼ完成したと言える。

時間分解回転拡散法測定システムが完成したのち、時間分解並進拡散法との同時測定によって、相補的な手法として用いることができるように、これまで発展させてきた時間分解並進拡散法を、いくつかのタンパク質反応に適用した。その結果、いくつかの光センサータンパク質の反応について、円二色性などでは検出できない構造変化も拡散係数変化として検出できることが明らかとなった。以下にいくつかの例を挙げる。

PapB と呼ばれる青色光センサータンパク質の反応において、顕著な拡散係数減少を見出し、大きな構造変化ダイナミクスを明らかにすることに成功した。特にこのタンパク質と下流タンパク質である PapA との相互作用変化を時間分解で検出できたことは、大きな成果であった。また、EL222 タンパク質という、光励起で DNA と相互作用を変える光センサータンパク質と DNA との相互作用ダイナミクスを時間分解で検出することに成功した。EL222 は光受容ドメイン(LOV)および DNA 結合ドメイン(HTH)からなり、暗状態でモノマー構造を持つ。EL222 は、光刺激によりダイマー構造を形成し DNA と結合することにより下流配列の転写を促進する。時間分解並進拡散法を用いた測定結果、光依存的な二量体形成反応を時間分解で観測することができた。更に、EL222 と DNA を混合した試料での測定により、DNA 結合のダイナミクスを明らかとした。光励起された EL222 はまず DNA と結合した後で、二量体化反応を引き起こしていることが分かった。また DNA 結合の反応速度を、3 種類の異なる結合親和性を持つ DNA 配列について測定することで、



EL222 の DNA 配列認識は、会合速度でなく解離速度によって決められていることがわかった。

他にも、シアノバクテリアの持つ赤色センサータンパク質 Cph1 の反応を拡散係数の観点から明らかにした。キナーゼの活性化反応を直接観測するために全長 Cph1 を精製し、過渡吸収はもちろん、円二色性でも検出できないキナーゼドメインの構造変化を検出できることを示した。他の手法では観測することができないキナーゼドメインの動きを時間分解で観測できたことは、このタンパク質の反応を明らかにするために努力をしている多くの研究者にとって重要な成果であろう。このタンパク質の回転拡散計測を試みる準備ができたといえる。

BlrP1 は青色光センサーとして発見され、光受容を担う BLUF ドメインと酵素活性を有する EAL ドメインからなる。光照射下で EAL は細胞内シグナル伝達物質 c-di-GMP を加水分解し、バイオフィルムの形成を阻害する。BLUF は発色団として FAD を持ち、光励起後数ピコ秒で FAD と近傍アミノ酸間の水素結合ネットワークが変化することが過渡吸収測定により報告されている。しかし、その後起こる EAL の構造変化を時間分解で検出した例はない。そこで時間分解並進拡散法を用いて BlrP1 の光反応ダイナミクスを測定し、機能を生み出す高次構造変化を明らかにすることに成功した。

植物や緑藻において青色光センサーとして機能するフォトトロピンは、光受容を担う二つの LOV ドメイン (LOV1、LOV2) と kinase ドメインからなる。時間分解並進拡散法により、信号伝達機構の全貌解明を目指し、二種類の緑藻由来の全長タンパク質の反応検出を行った。その結果、kinase ドメインの構造変化を検出することに成功し、さらに生物種が異なると反応機構が大きく異なることがわかった。緑藻クラミドモナス由来のフォトトロピンでは LOV1 が、緑藻オストレオコッカス由来のフォトトロピンでは LOV2 が構造変化に支配的に関与し、また構造変化を起こす部位にも顕著な違いが観測された。単離した LOV ドメインでも同様の結果が得られており、配列や構造の相同性が高いにも関わらず、光反応に多様性が観測されたことは興味深い。その要因を探るべく複数の変異体の測定を行ったところ、LOV ドメインの C 末端領域の性質が反応性に関与することを見だし、フォトトロピンの信号伝達機構を明らかにできた。また、このタンパク質に蛍光分子をつけ、回転拡散を測定することにも成功している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Y. Nakasone, M. Ohshima, K. Okajima, S. Tokutomi, M. Terazima	4. 巻 122
2. 論文標題 Photoreaction Dynamics of LOV1 and LOV2 of Phototropin from Chlamydomonas Reinhardtii	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 1801-1815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b10266	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 A. Takakado, Y. Nakasone, M. Terazima,	4. 巻 57
2. 論文標題 Sequential DNA binding and dimerization processes of the photosensory protein EL222	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1603-1610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.7b01206	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 K. Shibata, Y. Nakasone M. Terazima	4. 巻 20
2. 論文標題 Photoreaction of BlrP1: a role of nonlinear photo-intensity sensor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 8133-8142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7cp08436f	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 K. Takeda, M. Terazima	4. 巻 57
2. 論文標題 Photoinduced orientation change of the dimer structure of the Pr-I state of Cph1 2	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 5058-5071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00605	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 K. Iwata; M. Terazima; H. Masuhara	4. 巻 1862
2. 論文標題 Transient Grating Spectroscopy: Dynamics of Photoreceptors Novel physical chemistry approaches in biophysical researches with advanced application of lasers: detection and manipulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta	6. 最初と最後の頁 335-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.11.003	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 Y. Nakasone, K. Kikukawa, S. Masuda, M. Terazima	4. 巻 -
2. 論文標題 Time-resolved study of interprotein signaling process of a blue light sensor PapB-PapA complex	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) -	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 K. Takeda, M. Terazima	4. 巻 -
2. 論文標題 Dynamics of conformation changes in full-length Phytochrome from cyanobacterium Synechocystis sp. PCC6803 (Cph1) monitored by time-resolved translational diffusion detection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) -	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 寺嶋正秀	4. 巻 67
2. 論文標題 光熱変換現象の時間分解検出と化学反応解析への応用	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 分光研究	6. 最初と最後の頁 22-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 A. Takakado, Y. Nakasone, K. Okajima, S. Tokutomi, M. Terazima	4. 巻 121
2. 論文標題 Light-Induced Conformational Changes of the LOV2-Kinase and the Linker Region in Arabidopsis Phototropin2	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 4414-4421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b01552	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 S. Nozue, M. Katayama, M. Terazima, S. Kumazaki	4. 巻 1858
2. 論文標題 Comparative study of thylakoid membranes in terminal heterocysts and vegetative cells from two cyanobacteria, Rivularia M-261 and Anabaena variabilis, by fluorescence and absorption spectral microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta,	6. 最初と最後の頁 742-749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2017.05.007	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 A. Takakado, Y. Nakasone, M. Terazima	4. 巻 19
2. 論文標題 Photoinduced dimerization of a photosensory DNA-binding protein EL222 and its LOV domain	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 24855-24865
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7cp03686h	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 Y. Nakasone, M. Ohshima, K. Okajima, S. Tokutomi, M. Terazima	4. 巻 122
2. 論文標題 Photoreaction Dynamics of LOV1 and LOV2 of Phototropin from Chlamydomonas Reinhardtii	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 1801-1815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b10266	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 A. Takakado, Y. Nakasone, M. Terazima	4. 巻 57
2. 論文標題 Sequential DNA binding and dimerization processes of the photosensory protein EL222	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1603-1610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.7b01206	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 K. Shibata, Y. Nakasone, M. Terazima	4. 巻 20
2. 論文標題 Photoreaction of BlrP1: a role of nonlinear photo-intensity sensor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 8133-8142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7cp08436f	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 K. Iwata, M. Terazima, H. Masuhara	4. 巻 1862
2. 論文標題 Novel physical chemistry approaches in biophysical researches with advanced application of lasers: detection and manipulation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BBA - General Subjects	6. 最初と最後の頁 335-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.11.003	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 中曽根祐介, 寺嶋正秀	4. 巻 59
2. 論文標題 過渡回折格子分光法による、光受容体フォトリポソームの反応機構と多様性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 001-003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.59.144	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 高門輝, 寺嶋正秀	4. 巻 89
2. 論文標題 過渡回折格子法が拓くバイオサイエンス	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 応用物理	6. 最初と最後の頁 30-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 M.Kondoh, M. Terazima	4. 巻 93
2. 論文標題 Conformational and Intermolecular Interaction Dynamics of Photolyase/Cryptochrome Proteins Monitored by the Time-resolved Diffusion Technique	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Photochem.Photobiol	6. 最初と最後の頁 15-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/php.12681	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 Y. Nakasone, S. Takaramoto, M. Terazima	4. 巻 91
2. 論文標題 Time-resolved diffusion detection with micro-stopped flow system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anal.Chem.	6. 最初と最後の頁 11987-11993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02897	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 S. Takaramoto, Y. Nakasone, K. Sadakane, S. Maruta, M. Terazima	4. 巻 739
2. 論文標題 Spiropyran labeling for sensitive probing of protein diffusion by the transient grating method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chem.Phys.Lett.	6. 最初と最後の頁 136919(1-6)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.cpllett.2019.136919	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 -

〔学会発表〕 計30件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 9件）

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Thermodynamical properties of short lived intermediates to reveal driving force of reactions of a blue light photosensor protein
3. 学会等名 30th ESAT - European Seminar on Applied Thermodynamics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Time-resolve diffusion technique to probe conformation changes during protein reactions in aqueous solution
3. 学会等名 The 12th Mini-Symposium on Liquids (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金穂香, 中曽根祐介, 高門輝, 山崎洋一, 上久保裕生, 寺嶋正秀
2. 発表標題 青色光受容タンパク質PYPと下流分子PBPIによる複合体形成ダイナミクスの検出
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 床次俊郎, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 青色光センサータンパク質PixDの分子機能におけるC末端領域の重要性
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 立川景也, 武田公利, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 バクテリオフィトクロムDrBphP光受容ドメインの光反応ダイナミクス
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Takaramoto, Y. Nakasone, M. Terazima
2. 発表標題 Protein diffusion probed by the transient grating method with a photochromic molecule
3. 学会等名 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Nakasone, M. Terazima
2. 発表標題 Diversity of photochemical reactions of Flavin-based photoreceptors
3. 学会等名 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Dynamics of protein-water interaction and conformation changes during reactions
3. 学会等名 EMLG/JMLG 2018 & 41st SSCJ (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金穂香, 中曽根祐介, 高門輝, 山崎洋一, 上久保裕生, 寺嶋正秀
2. 発表標題 光センサー蛋白質PYPの光反応および下流分子PBPとの相互作用に対するpH依存性
3. 学会等名 日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 床次俊郎, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 バクテリアの走光性制御タンパク質PixDの10量体構造とその安定性
3. 学会等名 日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 光活性化アデニル酸シクラーゼの光反応ダイナミクス
3. 学会等名 日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宝本俊輝, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 フォトクロミック分子を利用した蛋白質の高時間分解拡散観測手法
3. 学会等名 日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立川景也, 武田公利, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 バクテリオフィトクロムDrBphPの光反応ダイナミクス
3. 学会等名 日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Time-resolved diffusion sensor reveals DNA recognition dynamics of proteins
3. 学会等名 Pittcon 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 寺嶋正秀
2. 発表標題 いかにして刺激受容後にタンパク質分子全体の構造変化過程や標的分子との分子間反応過程を時間分解で捉えるか
3. 学会等名 分子研研究会「触媒反応であるタンパク質反応を分子科学的観点から捉える」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Light induced heating and volume changes to reveal protein reactions
3. 学会等名 9th International Conference on Photoacoustic and Photothermal Phenomena (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Multiphoton excitation controls inter-protein interaction of light sensory proteins
3. 学会等名 Gordon Research Conference on photochemistry (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Nakajima, Y. Nakasone, S. Tokutomi, K. Okajima, M. Terazima
2. 発表標題 Time-resolved compressibility measurement reveals driving force of protein reactions
3. 学会等名 21st European conference on thermophysical properties (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Takaramoto, Y. Nakasone, M. Terazima
2. 発表標題 Application of the stopped-flow TG method to the denaturation of a photosensory protein
3. 学会等名 生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Nakasone, S. Takaramoto, M. Terazima
2. 発表標題 Time-resolved study of protein reactions using the transient grating method combined with a stopped-flow apparatus
3. 学会等名 生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 S. Tokonami, Y. Nakasone, M. Terazima
2. 発表標題 Study on the diversity of photoreactions among various homologous PixD proteins
3. 学会等名 生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 A. Takakado, Y. Nakasone, M. Terazima
2. 発表標題 Transient grating method revealed a DNA binding process of a light sensor protein EL222
3. 学会等名 生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 武田公利, 寺嶋正秀
2. 発表標題 赤色光センサータンパク質Cph1の光受容ドメインからキナーゼへの構造変化過程
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 柴田耕生, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 青色光受容タンパク質BirP1の光強度依存性と光反応ダイナミクス
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 端村航, 中曽根祐介, 大威英晃, 神谷由紀子, 浅沼浩之, 寺嶋正秀
2. 発表標題 アゾベンゼンで制御する光応答性DNAの反応ダイナミクス
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小野瀬森彦, 中曽根祐介, 柴田耕生, 寺嶋正秀
2. 発表標題 光センサー-BLUFドメインの光反応: 遅い吸収変化の由来
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中曽根祐介, 宝本俊輝, 寺嶋正秀
2. 発表標題 ストップフローと過渡回折格子法を組み合わせた蛋白質反応検出法
3. 学会等名 分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高門輝, 中曽根祐介, 寺嶋正秀
2. 発表標題 時間分解拡散法から観るタンパク質とDNAの結合ダイナミクス
3. 学会等名 溶液化学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Time-resolved diffusion technique can detect conformation dynamics of photosensor proteins
3. 学会等名 Asia Oceania Conference on Photobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Terazima
2. 発表標題 Reaction Dynamics of Photo-induced Protein-DNA Interaction
3. 学会等名 Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

京都大学大学院理学研究科化学専攻光物理化学研究室 http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/hikari/

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