

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02382

研究課題名(和文) 溶液混合を引き金としたマイクロ秒分解一分子蛍光観察実験の確立

研究課題名(英文) Microsecond resolved single molecule fluorescence measurements triggered by solution mixing

研究代表者

高橋 聡 (Takahashi, Satoshi)

東北大学・多元物質科学研究所・教授

研究者番号：30283641

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)：本研究では、一分子蛍光分光法を用いることで、生体中で揺らぎ運動を起こしながら機能を果たすタンパク質の構造とダイナミクスの解明を目指した。そのために、一分子計測用溶液混合セルを開発し、一分子蛍光観察装置と組み合わせた抗時間分解能の蛍光観測を可能にした。さらに、高速一分子蛍光計測システムやナノ秒領域蛍光相関システムなど数々の装置開発を行った。開発した装置を用いることで、野生型 F1-ATPase の構造変化ダイナミクス、ポリアラニンペプチドにおける蛍光強度変化ダイナミクス、液滴形成タンパク質 LAF1 の RGG ドメインの一分子構造解析などを実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、揺らぎながら生体中で機能を果たすタンパク質の運動を一分子レベルで観察するための基礎技術を開発した。さらに、開発した技術を用いてさまざまなタンパク質の運動を解明した。このようなデータを積み重ねることで、生体分子の機能を正しく理解し、さらには予想することが可能になると思われる。さらには、薬剤と生体分子の相互作用などの解明に資すると考えられる。

研究成果の概要(英文)： We used single molecule fluorescence spectroscopy and revealed the structures and dynamics of biological macromolecules. We developed rapid solution mixing device that can mix two solutions quickly, and enabled the system to be used in combination with the ultrafast single molecule fluorescence detection techniques. We also developed the nano-second region fluorescence correlation spectroscopic method. Using the systems, we investigated the dynamics of various proteins including the wild type of F1-ATPase, the fluorescence intensity fluctuation in the poly-alanine peptide, and the structures of a droplet forming protein, the RGG domain of LAF1.

研究分野：タンパク質科学

キーワード：一分子蛍光分光法 溶液混合装置

## 1. 研究開始当初の背景

本研究を開始する当初の分野の背景として、全原子分子動力学計算を用いることで、タンパク質などの生体分子が揺らぎながら構造を作る過程（フォールディング過程）を、数ミリ秒以上の長時間にわたって計算することが可能になっていた。また、細胞の全構成成分の振る舞いを分子動力学計算により再現しようとする最初の報告もなされはじめていた。一方で、生体分子の運動性を、一分子蛍光分光法などの実験で解明する実験が継続されていた。これらの努力を展開し、一分子蛍光分光法を発展させ多くの分子系について観測を行うことで、生体分子の柔らかさと運動性を正確に捉えることが、生体分子が機能する分子機構を理解するために必須であると考えた。

一方で、全原子分子動力学計算の結果は、本研究を開始した当時も（現在においても）生体分子内および分子間に働く力をモデル化した近似計算結果であり、計算機の計算速度がいくら向上しても生体分子の運動を定量的には再現できないことに注意する必要があるがあった。例えば、最適とされる力場を用いた計算でも、変性したタンパク質の構造が実験データを再現しないことが知られていた。分子動力学計算の進展のためには、実験データを基に計算結果を批判的に検討することが強く求められていた。すなわち、生体分子の運動性を正確に計測した実験データが必要とされていた。

一分子蛍光分光法は、二つの蛍光色素を修飾した試料における色素間距離を、一分子ごとに検出する手法であり、分子動力学計算にて得られる時系列データに対応する実験データを得る技術として期待されていた。研究代表者らは一分子蛍光分光法の高速化を目指した技術開発に取り組んでおり、ライン共焦点顕微鏡という新しい検出手法を開発し、一分子蛍光測定の時間分解能をマイクロ秒領域にまで短縮した。すなわち、数ミリ秒までの計算が可能になった分子動力学計算の時間領域と、一分子蛍光分光法により得られる実験データの時間領域を重複させ、結果を比較できる状況を初めて切り開いた。

本研究は、タンパク質が揺らいだ変性状態から機能を持つ構造に折り畳まれる過程や、タンパク質がその機能を果たすためのダイナミックな過程を対象とし、一分子蛍光観察装置に溶液混合装置を組み合わせることで、分子動力学計算の結果と比較できる実験データを多数得ることを目標とした。これにより、本研究は「揺らぎながら機能を果たす生体分子の実体を理解したい」という学術的な問いに答えることを目指した。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、タンパク質のフォールディング過程や機能を発現する過程を題材として、開発した装置を用いて得られた実験データを積み重ねることである。第一に実験対象としたポリアラニンペプチドは、水溶液中で揺らいだヘリックス構造を作ることが知られている。ポリアラニンペプチドを用いることで、ヘリックス形成のダイナミクスについて重要な知見が得られると考えられる。第二に実験対象とした  $F_1$ ATPase は、ミトコンドリアの内膜などに存在し、生物のエネルギー分子である ATP を合成する著名なタンパク質である。この ATP の合成過程において、タンパク質の中心に存在するサブユニットが回転すること、それに応じて周囲のサブユニットが構造変化を示すことが知られている。この回転運動におけるサブユニットの構造変化を正確に捉えることを目指した。第三の研究対象として、線虫の性細胞の分化に関わるタンパク質 LAF-1 を取り上げた。LAF-1 は線虫の性細胞が細胞分裂する際に、細胞内にて集合し P グラニュールと呼ばれる液滴状の集合体を作る主成分のタンパク質である。本研究では、天然変性タンパク質であり、LAF-1 の集合体形成において中心的な役割を果たす RGG ドメインについて、液滴形成の原動力を調べることを目指した。第四の研究対象として、転写抑制因子として働く CytR の活性化機構について一分子蛍光測定により解明した。以上のように

に、多岐にわたるタンパク質系についての観測を実施した。

### 3. 研究の方法

本研究では、新しい一分子蛍光分光法の技術開発を行い、生体分子研究の方法論を増やすことを目指した。そのために、10 マイクロ秒の時間分解能における連続的な一分子蛍光測定技術の完成を目指した。また、ナノ秒からミリ秒における幅広い時間領域における蛍光相関分光装置を開発し、タンパク質の拡散運動に関する情報を得ることを目指した。さらに、生体分子の反応を誘起するための溶液混合装置を開発することを目指した。これは、タンパク質の構造変化を積極的に引き起こすことで、定常状態では稀にしか起こらないイベントであっても、統計的な議論が可能な多数のデータを得るために必須の装置であり、本研究では、実用的な混合装置を完成させることを目指した。

以上のように、さまざまな先端的な一分子蛍光分光法を開発し用いることで、タンパク質ダイナミクス研究を推進した。

### 4. 研究成果

#### (1) 実験装置の開発

##### ハイブリッド光検出器を使った高速一分子蛍光計測システムの構築

我々は、時間分解能の高い一分子蛍光分光法であるライン型共焦点顕微鏡を開発してきた。この手法の新しい改良として、ハイブリッド光検出器を用いることで、10 マイクロ秒の時間分解能で 5ms 以上の時間にわたって、一分子が発する蛍光を観察する装置を完成した。それまでのライン型共焦点顕微鏡では、イメージ型の光検出器を用いた光検出を行っていた。そのため、時間分解能を向上すると一分子を連続的に計測できる観察時間が制限されるというトレードオフの関係にあった。しかし、ハイブリッド光検出器は光子の入力信号をリアルタイムで電気パルスに変換する能力を持つため、高時間分解能における光検出と、長時間の一分子計測という二つの条件を両立できる。このアイディアに基づき、短時間内に大量に検出器に入射する光子を数え落としなく計数するためのハードウェアを最適化した。さらに、開発した装置を用いて、蛍光色素でラベル化したプロテインAのBドメインについての一分子計測を行うことで、10 マイクロ秒の時間分解能における 5ms 以上の時間にわたる観測を成功させた (H. Oikawa, T. Takahashi, S. Kamonprasertuk, S. Takahashi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **20**, 3277-3285 (2018))。これは、一分子蛍光観察の方法として、世界的に我々だけが達成した最短の時間分解能と観察時間である。

##### 一分子計測用溶液混合セルの作成

二つの溶液を混合し、混合直後のタンパク質の運動を一分子観察するための溶液混合装置を開発した。一分子蛍光観察のためには、石英製の試料セルを用いる必要がある。また、顕微対物レンズの動作距離が小さいため、流路を浅く作成する必要がある。これらの条件を満たしながら、十字形の微細流路を作成し、溶液を混合する装置を完成させた。この装置を一分子計測装置に組み合わせることで、溶液を混合した直後 100 マイクロ秒以降の一分子蛍光観察が可能になった。

##### ナノ秒領域蛍光相関測定装置の開発

ドナーとアクセプターの二つの蛍光色素をラベル化したタンパク質の運動性を検出するための手法として、ナノ秒の時間領域における蛍光相関の観察を可能にした。この測定法は、蛍光のアンチバンチング実験とも呼ばれ、蛍光色素が発した二つの光子の間隔を計測するものである。この実験方法を用いることで、ナノ秒領域における蛍光強度の揺らぎの時定数を計測することが可能になった。

## 一分子 FRET 測定のための Alex システムの構築

ドナーとアクセプターの二つの蛍光色素をラベル化したタンパク質の構造とダイナミクスを一分子レベルで観測する実験手法の高度化として、ドナー色素とアクセプター色素を交互に励起し、得られる蛍光光子を解析する実験方法 (Alex 測定) を確立した。また、この測定に応じたデータ取得ソフトウェアの整備と開発を行った。Alex 実験を行うことで、ドナーとアクセプターのラベル化数が一定しない試料や、部分的な凝集が生じた試料など、不均一な試料においても、ドナーとアクセプターが一分子づつラベル化された試料を選択し、蛍光エネルギー移動の観測が可能になった。これにより、液滴中における一分子試料の蛍光エネルギー移動の観測が可能になった。

## (2) タンパク質試料の一分子蛍光計測

### 変性状態タンパク質の構造とダイナミクスモデルの提案

タンパク質フォールディングの出発点である変性状態の特性について、我々のこれまでの研究成果と分野内において報告された実験データを検討することで、新しい仮説を提案した。我々の研究グループにおける一分子蛍光観測結果から、変性したタンパク質にはミリ秒以上の時間領域におけるゆっくりとした構造転移が起きることを繰り返し示してきた。一方で、他の研究グループの実験データでは、変性したタンパク質は 100 ナノ秒程度の時定数において高速な収縮と伸長を繰り返すという実験データが多数報告されていた。これらの一見矛盾するデータを解釈するために、変性タンパク質はミリ秒以上の時間領域においても持続する不均一な構造が存在することを提案した。この構造は、変性タンパク質における局所的な構造の不均一性に対応すると考えられる。一方で、変性タンパク質鎖全体の大きさを変化させる非局所的な収縮や拡張は高速に起きているが、局所構造の違いに応じて、全体構造の変化する範囲が異なる。これにより、局所構造の変化に対応した一分子蛍光データの不均一性が生じることが説明できる。この仮説を説明し、このような運動がタンパク質全般に起きている可能性があることを提案した (S. Takahashi, A. Yoshida, H. Oikawa, *Biophys. Rev.*, **10**, 363-373 (2018))。

### 野生型 $F_1$ -ATPase における構造変化ダイナミクスの観測

$F_1$ -ATPase は ATP 加水分解に駆動されて回転するタンパク質である。本研究では、 $F_1$ -ATPase の サブユニットのミリ秒以下の構造変化を直接捉えることを試みた。この実験のために、蛍光色素 Cy3 と Cy5 を修飾した試料について、蛍光色素間の蛍光共鳴エネルギー移動効率を一分子レベルで見積もることを可能にした。これにより、サブユニット同士の距離の変化を推定できる。先行研究において、加水分解が遅い変異体を用いた観測により、 $F_1$ -ATPase の サブユニットの open-close 型の構造転移が回転運動を引き起こすことが観察されていた。本研究では野生型の試料を高時間分解能で観察することを目指した。しかし、野生型の試料について、高 ATP 濃度において観測したが、期待された open-close 型の構造転移は観察できなかった。この結果は、試料が高 ATP 濃度における溶液中で酵素反応を繰り返すことにより生成物 (ADP) による障害が起きた可能性が考えられたため、開発した溶液の混合装置を用いて、試料と ATP を混合した直後における試料の運動を観察した。しかし、我々の予想に反して試料の構造変化が観察されなかった。一方で、加水分解の遅い ATP アナログである ATP S を用いたところ、先行研究を再現する結果が得られた。同様に、加水分解反応が遅い変異体を用いたところ、やはり先行研究を再現する結果が得られた。以上の観察から、野生型の  $F_1$ -ATPase においては、ATP が加水分解された後のリン酸の解離を待つ状態が、酵素反応の律速となることを推論した。本成果を論文としてまとめている最中である。

### ポリアラニンペプチド鎖における蛍光強度ダイナミクスの観察

単純なペプチド鎖であるポリアラニンを蛍光色素で二重ラベル化し、ペプチド鎖のヘリックス形成に応じて蛍光移動効率が変化することを確認した。さらに、ナノ秒時間領域における蛍光相関分光法を用いて、水溶液中にて 76 ns の時定数におけるダイナミクスを観察した。この相関は、ドナー蛍光の強度の揺らぎとして観察された。ドナー蛍光の強度揺らぎの時定数は、溶媒の粘度にほとんど依存しなかった。一方で、ドナーとアクセプターの相互相関にはこの時定数による運動は観察されなかった。これらの結果から、観察されたドナー色素の蛍光強度揺らぎは、試料の構造変化に由来するものではなく、色素の励起状態ダイナミクスによる可能性が考えられる。あるいは、ドナー色素の蛍光がアクセプター色素により消光される過程を観察していた可能性も指摘できる。さらには、試料には構造の不均一性が存在し、試料ごとに異なる時定数の運動を示すために、S/N が悪い条件となるドナーとアクセプター間の相関が観察されなかった可能性も指摘できる。ナノ秒蛍光相関測定は、世界的には広く用いられる実験手法であるが、データを批判的に検討した実験は少ない。今後、この試料におけるデータの特徴を解明する必要がある。

#### 液滴形成タンパク質 LAF1 の RGG ドメインの一分子構造解析

LAF1 は線虫の性細胞において形成される P 顆粒と呼ばれる液滴の構成タンパク質である。LAF1 の天然変性領域である RGG ドメインについて、発現系を立ち上げ精製方法を確立した。LAF1 の RGG ドメインが単独で液滴を形成することを確認し、塩濃度が低い条件で液滴形成が促進されることを確かめた。この試料に蛍光色素のラベル化を行い、単独状態における構造特性を観測した。その結果、LAF1 の RGG ドメインは通常の変性タンパク質とは大きく異なり、分子内相互作用が大変強く働いていること、さらに、相互作用にはドメイン内のチロシン残基が関与することを見出した。この強い相互作用は、集合状態における分子間の相互作用としても働くと想像される。

#### 転写抑制因子 CytR の活性化機構の解明

CytR は細菌における核酸の代謝に関わる転写抑制因子である。CytR の DNA 結合ドメインは、単独では天然変性状態にあるが、DNA と結合することでコンパクトなドメイン構造を形成する。一方で、CytR はターゲット配列を持つにもかかわらず、ターゲットと非ターゲット配列のどちらもほぼ類似した親和性を持つことが知られている。そのため、どのようにして CytR が転写抑制因子として働くのか、十分に理解されていなかった。CytR に蛍光色素を二重ラベル化し、一分子レベルで構造特性を調べた。その結果、CytR は DNA がない条件においてコンパクトな構造と広がった構造の二つの状態を持つことを見出した。二つの状態の存在比は溶液の塩濃度に依存し、高塩濃度下ではコンパクトな構造にシフトすることを観察した。次に、さまざまな配列の DNA との複合体を観察したところ、ターゲット配列に結合した場合にはコンパクトな構造を、非ターゲット配列に結合した場合には広がった構造をとることがわかった。これらの観察から、CytR はターゲット配列と結合することで大きな構造変化を起こし、転写抑制効果を発揮すると推測した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7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<br>高橋 聡・小井川浩之  | 4. 巻<br>46                |
| 2. 論文標題<br>一分子蛍光分光法を用いた天然変性タンパク質の構造計測   | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>現代化学・増刊46白木賢太郎編「相分離生物学の全貌」  | 6. 最初と最後の頁<br>373-377     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし   | 査読の有無<br>無                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Kiyoto Kamagata, Saori Kanbayashi, Masaya Honda, Yuji Itoh, Hiroto Takahashi, Tomoshi Kameda, Fumi Nagatsugi, Satoshi Takahashi                             | 4. 巻<br>10                |
| 2. 論文標題<br>Liquid-like droplet formation by tumor suppressor p53 induced by multivalent electrostatic interactions between two disordered domains                     | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>580         |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-020-57521-w   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Takahashi Satoshi, Yoshida Aya, Oikawa Hiroyuki   | 4. 巻<br>10                |
| 2. 論文標題<br>Hypothesis: structural heterogeneity of the unfolded proteins originating from the coupling of the local clusters and the long-range distance distribution | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Biophysical Reviews   | 6. 最初と最後の頁<br>363 ~ 373   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s12551-018-0405-8  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |
| 1. 著者名<br>Oikawa Hiroyuki, Takahashi Takumi, Kamonprasertsuk Supawich, Takahashi Satoshi  | 4. 巻<br>20                |
| 2. 論文標題<br>Microsecond resolved single-molecule FRET time series measurements based on the line confocal optical system combined with hybrid photodetectors           | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Physical Chemistry Chemical Physics   | 6. 最初と最後の頁<br>3277 ~ 3285 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1039/c7cp06268k   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Itoh Yuji, Murata Agato, Takahashi Satoshi, Kamagata Kiyoto  | 4. 巻<br>46                |
| 2. 論文標題<br>Intrinsically disordered domain of tumor suppressor p53 facilitates target search by ultrafast transfer between different DNA strands | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>Nucleic Acids Research   | 6. 最初と最後の頁<br>7261 ~ 7269 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1093/nar/gky586   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Takahashi Satoshi, Nambu Shusuke, Matsui Toshitaka, Fujii Hiroshi, Ishikawa Haruto, Mizutani Yasuhisa, Tsumoto Kouhei, Ikeda-Saito Masao   | 4. 巻<br>59                |
| 2. 論文標題<br>Unique Electronic Structures of the Highly Ruffled Hemes in Heme-Degrading Enzymes of <i>Staphylococcus aureus</i> , IsdG and IsdI, by Resonance Raman and Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopies | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Biochemistry   | 6. 最初と最後の頁<br>3918 ~ 3928 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1021/acs.biochem.0c00731  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                             |
|---|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Kamagata Kiyoto, Ouchi Kana, Tan Cheng, Mano Eriko, Mandali Sridhar, Wu Yining, Takada Shoji, Takahashi Satoshi, Johnson Reid C | 4. 巻<br>48                  |
| 2. 論文標題<br>The HMGB chromatin protein Nhp6A can bypass obstacles when traveling on DNA  | 5. 発行年<br>2020年             |
| 3. 雑誌名<br>Nucleic Acids Research  | 6. 最初と最後の頁<br>10820 ~ 10831 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1093/nar/gkaa799   | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>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<br>-                   |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Subekti Dwiky Rendra Graha, Murata Agato, Itoh Yuji, Takahashi Satoshi, Kamagata Kiyoto   | 4. 巻<br>10          |
| 2. 論文標題<br>Transient binding and jumping dynamics of p53 along DNA revealed by sub-millisecond resolved single-molecule fluorescence tracking | 5. 発行年<br>2020年     |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>13697 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-020-70763-y  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>木村美智子, 中野沙耶, 高橋泰人, 小井川浩之, 高橋 聡             |
| 2. 発表標題<br>天然変性タンパク質 LAF-1 RGGドメインの一分子蛍光分光測定による構造特性評価 |
| 3. 学会等名<br>分子科学会オンライン討論会                              |
| 4. 発表年<br>2020年                                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Kimura, M.; nakano, S.; Takahashi, Y.; Oikawa, H.; Takahashi, S.  |
| 2. 発表標題<br>Conformational properties of the intrinsically-disordered RGG domain of LAF-1 detected by single-molecule fluorescence spectroscopy |
| 3. 学会等名<br>第58回日本生物物理学会年会, オンライン開催   |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Satoshi Takahashi, Hiroyuki Oikawa  |
| 2. 発表標題<br>Single Molecule Fluorescence Tracking at 10- $\mu$ s Resolution: Application to Protein Folding and Functional Dynamics |
| 3. 学会等名<br>Tohoku University's Chemistry Summer School (招待講演)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Supawich Kamonprasertsuk, Hiroyuki Oikawa and Satoshi Takahashi   |
| 2. 発表標題<br>Dynamics of the Helix-Coil Transition of Alanine-based Polypeptides Detected by Nanosecond Region Fluorescence Correlation Spectroscopy |
| 3. 学会等名<br>Indo-Japan mini-workshop, Kobe Japan (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |



|                                       |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>木村美智子, 小井川浩之, 高橋聡          |
| 2. 発表標題<br>一分子測定によって明らかにする液液相分離のメカニズム |
| 3. 学会等名<br>日本生物物理学会 東北支部会2019         |
| 4. 発表年<br>2019年                       |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Dwiky Rendra Graha Subekti, Agato Murata, Yuji Itoh, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata                                    |
| 2. 発表標題<br>Observation of Tumor Suppressor p53 Search Dynamics using Sub-millisecond Resolved Single-molecule Fluorescence Microscopy |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Supawich Kamonprasertsuk, Hiroyuki Oikawa, Satoshi Takahashi  |
| 2. 発表標題<br>Dynamics of the helix-coil transition of alanine-based polypeptides detected by nanosecond region fluorescence correlation spectroscopy |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会年会  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Trishit Banerjee, Dwiky Rendra Graha Subekti, Hiroto Takahashi, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata               |
| 2. 発表標題<br>Engineering of genome editing protein Cas9 that slides along DNA faster and might enable efficient target search |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hiroki Senmaru, Hiroyuki Oikawa, Mitsuhiro Sugawa, Satoshi Takahashi   |
| 2. 発表標題<br>Microsecond-resolved observation of F1-ATPase conformational changes by single molecular fluorescence spectroscopy |
| 3. 学会等名<br>第57回日本生物物理学会年会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Supawich Kamonprasertsuk, 小井川浩之, 高橋聡  |
| 2. 発表標題<br>Dynamics of the helix-coil transition of alanine-based polypeptides detected by nanosecond region fluorescence correlation spectroscopy |
| 3. 学会等名<br>第13回分子科学討論会   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Satoshi Takahashi, Hiroyuki Oikawa  |
| 2. 発表標題<br>Single Molecule Fluorescence Tracking at 10- $\mu$ s Resolution: Application to Protein Folding and Functional Dynamics |
| 3. 学会等名<br>Indo-Japan mini-workshop (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Satoshi Takahashi, Hiroyuki Oikawa  |
| 2. 発表標題<br>Development of single molecule fluorescence detection system having the 10- $\mu$ s time resolution: Application to protein folding and functional dynamics |
| 3. 学会等名<br>IMRAM Taipei Tech Symposium (招待講演) (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Satoshi Takahashi and Hiroyuki Oikawa   |
| 2. 発表標題<br>Development of single molecule fluorescence detection system having 10- $\mu$ s time resolution: Application to protein folding and functional dynamics |
| 3. 学会等名<br>第91回生化学会年会（招待講演）  |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Satoshi Takahashi and Hiroyuki Oikawa   |
| 2. 発表標題<br>Single molecule fluorescence tracking at 10- $\mu$ s resolution: Application to protein folding and functional dynamics |
| 3. 学会等名<br>日本生物物理学会第56回年（招待講演）   |
| 4. 発表年<br>2018年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)       | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-------|---------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 小井川 浩之<br><br>(Oikawa Hiroyuki) |                       |    |

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                                |  |  |
|---------|--|--|--|
| インド     | Indian Institute of Technology, Madras |  |  |