

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00324

研究課題名(和文) 3つのレーザー励起によるX線1分子追跡法を用いたヘモグロビン動態の全貌決定

研究課題名(英文) Determination of single hemoglobin dynamics with x-rays

研究代表者

佐々木 裕次 (SASAKI, YUJI)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：30344401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,000,000円

研究成果の概要(和文)：四量体ヘモグロビンHbのアロステリック現象はタンパク質科学における基本原理であり最大の未解明現象である。Hbには強いアロステリック効果があり付随して起こる大規模高次構造変化がその根幹メカニズムと考えられている。私たちはX線1分子追跡法(DXT)を用いたHbアロステリック転移の1分子動態直接観察を部分的に成功してきた。DXTは、X線を用いた独自の時分割型1分子計測法であり、Hb分子内部動態1分子計測に適用可能な唯一無二の手法である。本研究ではCO photolysisの光励起DXTに集中してデータを出した。結果としてレーザー照射後に15-30度の方向の回転運動を世界で初めて実測できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Hbのアロステリック効果に伴う分子内部回転運動のマイクロ秒1分子内部動態観察に成功した。世界初である。検出された予想以上にかなり複雑な分子内部構造変化の観察から、未だ根強く信じられてきた蛋白質分子アロステリックに対する単純過ぎる2状態モデルは完全に否定された。解析途中であるが、より詳細な構造変化が隠されていることも分かってきた。また、この1分子内部動態観察の成功により、他のアロステリック現象を伴うタンパク質分子も観察できることが分かった。もし最近成功している細胞を用いたDXT測定に適応すれば、より詳細なアロステリック効果を理解することができるだろう。素晴らしい研究成果である。論文を急ぎたい。

研究成果の概要(英文)：The allosteric phenomenon of tetrameric hemoglobin Hb is a fundamental principle and the largest unexplored phenomenon in protein science: the strong allosteric effect of Hb and the accompanying large-scale higher-order conformational changes are considered the underlying mechanism. We have been partially successful for seven years in directly observing the single-molecule dynamics of the Hb allosteric transition using X-ray single-molecule tracking (Diffracted X-ray Tracking: DXT), a unique time-resolved single-molecule measurement method using X-rays, which is uniquely applicable to single-molecule measurements of the internal dynamics of Hb molecules. In the present study, the data were concentrated on CO photolysis photoexcitation DXT. As a result, rotational motions in the direction of 15-30 degrees after laser irradiation were identified for the first time in the world.

研究分野：タンパク質1分子計測

キーワード：アロステリック効果 ヘモグロビン タンパク質1分子動態

1. 研究開始当初の背景

蛋白質機能発現におけるアロステリック現象が注目されている。蛋白質分子がリガンド分子と結合して、その分子構造自身を変化させ、分子上の離れた部位の活性を変化させる現象をアロステリーと呼ぶ。アロステリーは酵素などの機能蛋白質の活性調節の代表的な一形式で生命現象を支える基本的な生理機能なので、その仕組みを解き明かす目的でアロステリック蛋白質分子の典型例であるヘモグロビン(Hb)の研究は長年に渡って行われてきた。四量体Hb分子($\alpha_2\beta_2$)は、合計4個の酸素分子(O_2)を結合するが、その付き易さは一様ではなく、初めにHbに結合する O_2 が分子内部構造変化を引き起こし、その後結合する O_2 を100倍以上も付き易くするアロステリー(ヘム間相互作用)を示す(図1)。しかし、その分子内部構造変化の過程を実験的に直接観察した研究者は未だ誰もいない。

計算科学を用いたHbのアロステリック効果の研究において、2013年ノーベル化学賞受賞者を受賞したM. Karplus教授は、Hbアロステリック転移の分子内部動態特性を2011年に計算した。この予測の是非を実験的に判定しようとする実験は多くなされたが決定的な結果が出ないまま10年以上が過ぎてしまった。そこで、私達はオリジナルのX線1分子追跡法(Diffracted X-ray Tracking: DXT)こそが、時空間的にHbのアロステリック転移を観察できる唯一の1分子計測技術であると考え本研究がスタートした。特に、観察速度的に、Hb分子内構造変化がマイクロ秒程度の動態だと予測されていたので、放射光を用いた現状のDXT観察技術で対応できる時間軸であったのは私たちにとって有利であった。

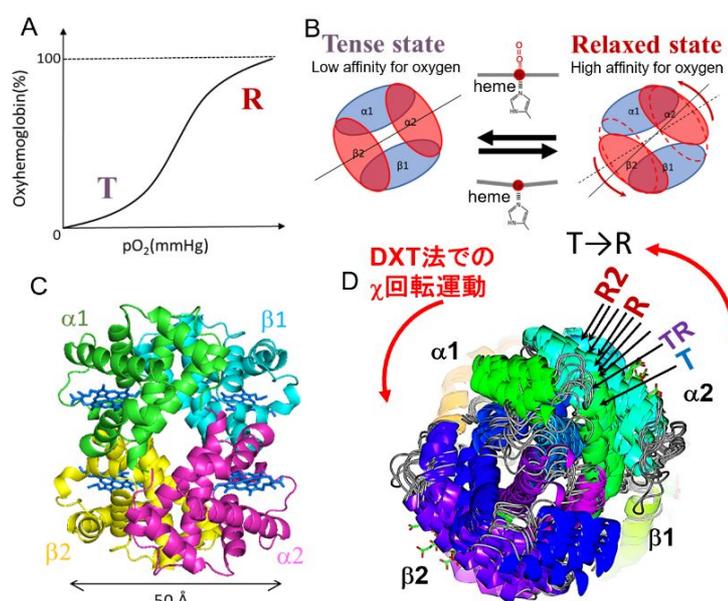


図1: Hbの酸素解離曲線(A)と単純化した構造変化モデル(B)。Hb分子構造(C)、柴山が提案するHbのTRアロステリック転移がX線1分子追跡法で検出される時の回転運動予想(D)。

2. 研究の目的

本研究では、X線1分子追跡法(DXT, 図2)を用いて、Hbアロステリック転移の1分子動態直接観察を行った。DXTは、蛋白質1分子内部の動態挙動をÅレベル以下の位置決定精度で、かつ、最高速で100ナノ秒レベルの時分割精度で計測できる唯一の1分子計測手法であり、Hbのアロステリック転移の素過程を抽出する方法として最適であると私

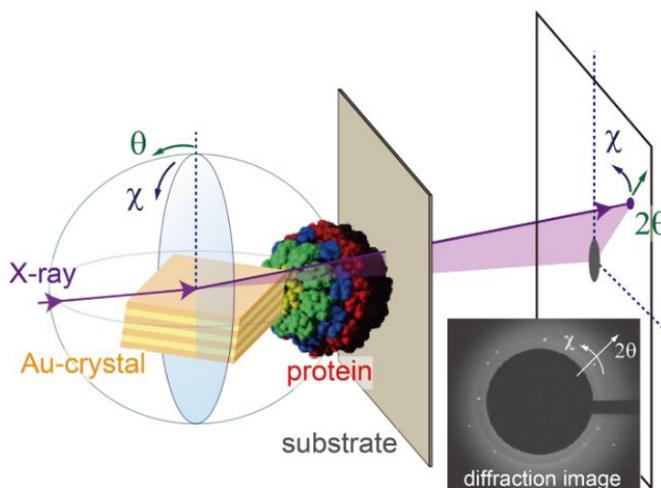


図2: DXTの原理図。微小金ナノ結晶を目的部位に標識し、ナノ結晶運動を測定し分子内運動を推定する。今回は直径500nmのZnOを標識ナノ結晶とした。主要なデータは2次元測定角度(θ と χ)。

私たちは考えた。Hb の大規模な四次構造変化は、構造的に等価な 2 個の $\alpha\beta$ 二量体間の相互回転運動と考えている(図1)。この回転運動を DXT で計測し、Hb 分子がとりうる四次構造の各状態を連続的に実測する。これらの構造変化が決定されれば、Hb の TR 転移の分子メカニズムの解明はもとより、未だ根強く信じられている蛋白質分子アロステリーに対する単純過ぎる2状態モデル的なイメージ(図1の B)を塗り替えることができる。

3. 研究の方法

本研究では、この極めて複雑なアロステリック分子動態に対して説得力を持って決定的測定をするために、3つの異なる波長のレーザー照射 DXT 法を用いて1分子計測することを計画した。励起波長を紫外域(Caged proton pH-jump)、可視域(CO photolysis)、赤外域(Temperature-jump)で、Hb アロステリック動態の全貌を明確化する。本報告では、可視レーザー(532nm)による CO photolysis の光励起 DXT を中心に説明する(図3)。

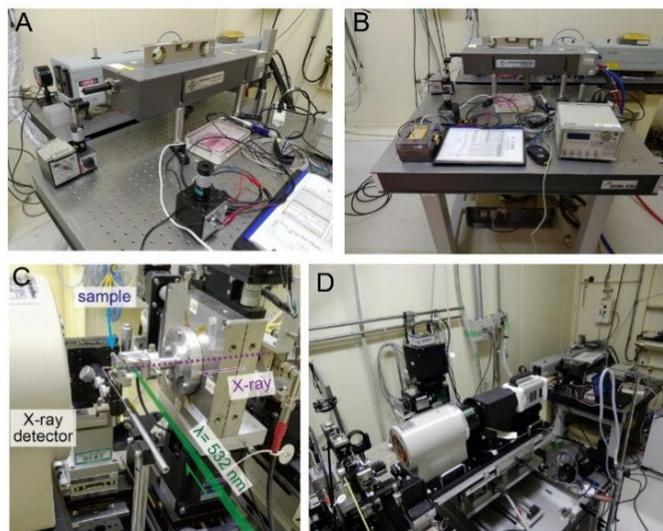


図3: Hbアロステリック転移をマイクロ秒レベルで検出するためのYAGレーザー(532nm)の全体図(A, B). レーザーをサンプルに導入する位置(C)とX線1分子追跡法装置本体とレーザー装置(後方)との位置関係(D).

照射するレーザーにおいて特記する。CO 結合型 Hb (R 状態) から CO をレーザー解離させ、熱力学的に安定な脱酸素型 Hb (T 状態) へとアロステリック転移する過程を観測するには以下の実験上の難しさがある。ヘム鉄から光解離した CO は蛋白質内部のキャビティーに一旦とどまり中間体を形成するが、この初期中間体は、キャビティー中の CO が蛋白質外部へ脱出する過程と、ヘム鉄に戻る再結合過程(Geminate 再結合)との競争にある。前者と後者の時定数はそれぞれ 100 ns と 170 ns である。また、Hb のアロステリック転移はこれらより一桁以上遅い。したがって、通常のパルス幅数 ns のレーザーでは(パルス時間内に CO の蛋白質外部への脱出がほとんど起こらないため)パルス後の Geminate 再結合が不可避となり、半数以上の Hb 分子はアロステリック転移が起こる前に照射前の初期状態に戻ってしまう。この問題はパルス幅を 100 ns 以上に拡張することで劇的に

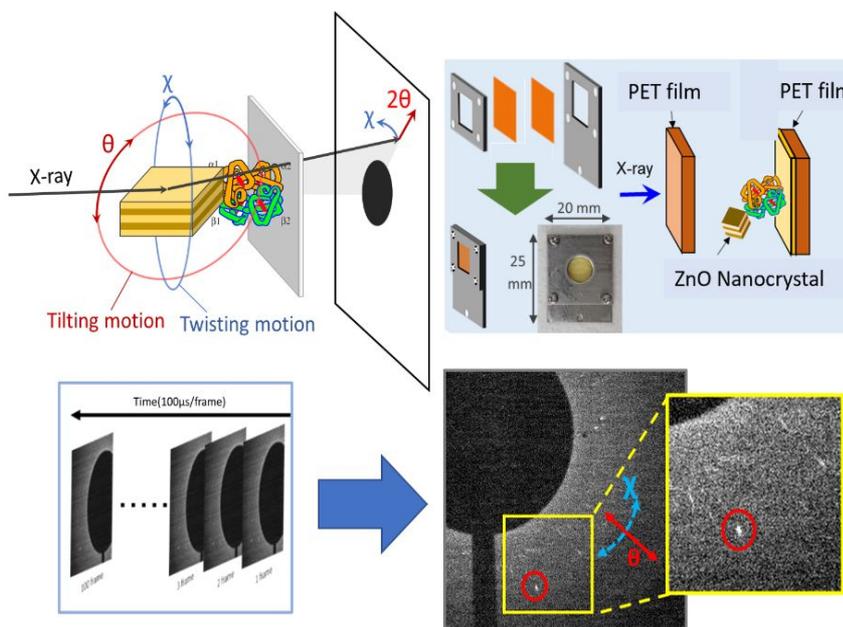


図4: Hbをサンプルとしたレーザー励起型DXT装置とサンプル断面図(上段)。時分割計測という連続的frameの記録からの回折X線斑点の追跡する概念図(下段)。

改善される。従って、本研究では長パルスレーザー（波長:532nm）を用いた実践的 DXT 測定を行った(図4)。

測定する蛋白質分子 Hb には、SH 基を付加したヒト架橋 Hb を用いた。Human Hb A に架橋剤 bis(3,5-dibromosalicyl)fumarate を反応させ、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィーで架橋 Hb を高純度精製した。基板固定法は、Hb に導入された SH 基を用いて Co(II)イオンを吸着させた PET(ポリエチレンテレフタレート)薄膜に吸着させる方法とした。この基板の膜厚による酸素遮断能を向上させるために、X 線のバックグラウンドは上昇してしまうが、厚さを 25 ミクロンと厚めに設定した。これによって 10 分程度の酸素遮断効果が達成される。PET 基板に吸着させる Hb の基板との反応濃度は 1-10mg/mL の濃度で、室温で 10 分程度の反応であった。光照射を用いる場合、標識ナノ結晶が Hb 分子から測定中に外れないという耐久性テストも YAG レーザーを用いてチェックした。DXT 計測法では、その高感度性と(Cys 残基の)SH 基への特異的反応性より、金ナノ結晶を用いる場合が多い。しかし、Hb へのナノ結晶標識では、照射 YAG レーザーに吸収効果がある金ナノ結晶に代わって、直径 500nm の ZnO 微結晶を使った。ZnO 微粒子は、金ナノ結晶よりも SH 基への反応性は落ちるが、インキュベーション時間を 10-30 分程度で十分な X 線回折点を得ることができた。

DXT 測定は、SPring-8 BL40XU 第一ハッチにて行った。入射 X 線は 15keV(エネルギー幅 2%, 20.0mm Gap)準白色 X 線を用いた。2 次元 X 線検出器は X-ray image intensifier (V5445P, Hamamatsu) & CMOS camera (FASTCAM SA1.1, Photron)を用いて、時分割速度は 10-100 マイクロ秒で測定を行った(500-2000frame)。カメラ長は 60mm として、長パルス YAG レーザー 532nm(米国 Photonics Industries International 社製)の on/off における Hb 分動態変化を比較した。

4. 研究成果

本報告では、CO photolysis の光励起 DXT の結果について報告する。レーザー照射型 DXT の一番注意すべき点は、X 線照射位置(面積は直径 10-50 ミクロン)と同程度サイズのレーザー照射位置が完全に一致しているかという点である。明確な X 線回折の変化がある場合は問題がないが、詳細な解析が必要な系では、大前提として X 線とレーザー照射位置が完全に一致していることが必要となる。その条件を満たしているかの判断を高精度に行うデータ表記がある。図5の時間-時間相関図である。DXT 法では、300-500frame を連続的に測定しているので、その各 frame 前後の回折 X 線の強度や回折点の位置変化の総和を図5のように表記する。もし、大きな構造変化(回折点の運動)があると、そのような不連続的な表記が現れる。このような表記からレーザー照射が X 線観察位置内で検出されたことが確認できる。加えて、のようにレーザー照射を行った一定の時間が過ぎると、大きな運動変化が起こらなくなることも簡単に確認できる(図5)。このような時間-時間相関図を測定ごとに行い、微妙なレーザー照射による回折 X 線の運動変化をモニターすることに成功した。注意点としては、これは DXT 測定の主要 2 軸の両方の運動を考慮している点である。

実際に実験を行ってみると多くの問題点が明確化された。そして、多くの技術的な改善によ

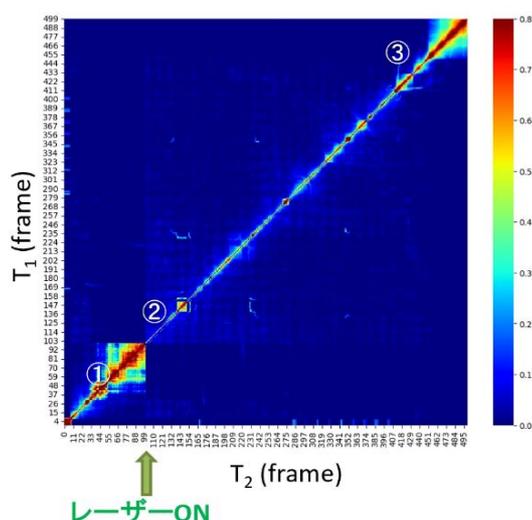


図5: 時間-時間相関図. ①-③のレーザー励起による特徴的な運動を検出することに成功した。①レーザーを入れる前は非常に遅い運動②レーザー直後に運動が早くなる③レーザー後一定時間後に運動が遅くなる。

り、結果としてレーザー照射後に 15-30 度の 方向の回転運動がしっかり確認された(図6)。代表的な DXT 測定時の問題点を以下に説明する。代表的な 4 つの技術的改善点とは、

金ナノ結晶の 532nm 吸収効果の削除 カプトン薄膜基板の 532nm 吸収

効果の削除 Hb の 532nm 吸収効果のない基板への Hb 固定 DXT 測定時間内での酸素遮断性の維持である。 - では 532nm のレーザー照射時に吸収される現象があると DXT 検出時の 回転運動を必要以上に励起することが分かった。例えば、532nm で励起されない通常蛋白質分子(例えば BSA 等)を基板固定してレーザー照射型 DXT 測定をしても、

運動励起が確認される等の確認から判断した。また、 - では、DXT 法で通常利用している耐放射線が非常に高い 10-20 ミクロンの厚さのカプトン薄膜に代わり PET ポリエチレンテレフタレートを利用することでレーザー照射による熱的吸收を避けることができた。今までの DXT 測定で使うカプトンフィルムよりも信号のバックグラウンドも上昇してしまうが、サンプルセルの酸素遮断能を向上させるためにも、薄膜厚さ 12 ミクロンでは十分ではなく 25 ミクロンへと変更したら回転観察効率は非常に向上した。Hb の基板固定も、実験開始当初は Hb に導入した SH 基を Co(II)イオンに配位させ分子を基板上に配向させていたが Co(II)イオンに 532nm 吸収効果があるので Cd イオンに変更した。しかし、その後の実験で Cd イオンだと Hb の SH 基を介した吸着が効率的でないことが分かり、Co(II)イオンに戻した。これらの修正効果が総和して、分子動態が計測される確率が向上した。

DXT 測定条件としては、Laser (532nm 照射)の On/Off 測定と、Hb 分子の中の Fe イオンを酸素や CO と結合しない(光解離の起こらない)Ni イオンに置換したネガコン Hb 等の実験を行った。一番明確な結果は、Laser (532nm 照射)の On/Off における DXT 測定の比較であった。測定速度も 1-100 マイクロ秒間の時分割測定を行ったが、回転運動自身が 15 度程度と大きいので、あまり早い測定だと回りきらない内に測定が終了してしまうので、最適な時分割を 100 マイクロ秒とした。もちろん、1 マイクロ秒よりも速い回転運動も考えられるが、本実験では、直径 500nm の微結晶 ZnO を標識していたので、本来の速度よりも 1 桁程度回転速度が落ちている可能性がある。

これらの予想を超えた詳細なレーザー照射条件を確定し、Laser on 状態で、 方向への大きな回転運動をする回折点が 1000-5000 回折点観察できるようになった。もう一つの主要観察軸である 方向の回折点の運動は、Laser On/Off で大きな変化がないことも確認できた。この結果で Hb は PET 基板上で比較的分子配向された状態で基板固定されており、CO 解離に伴う Hb の構造変化が 方向には特異的な運動がないことも証明された。予想通り、Hb のアロステリック動態は、 方向の分子内部回転運動が主要な運動であることが明確化された。

先にも述べたように、本申請では 3 つのレーザーを用いた Hb の分子内部動態計測を行う予定であったが、可視レーザー 532nm 照射による DXT 測定に予想以上の時間を費やしてしまったので、他の波長照射実験は今後行う予定である。可視光照射 DXT 測定で培われた X 線照射とレーザー照射の同時測定における問題点は、波長に関わらず同様なので、今後のデータは比較的短時間で獲得されるだろう。

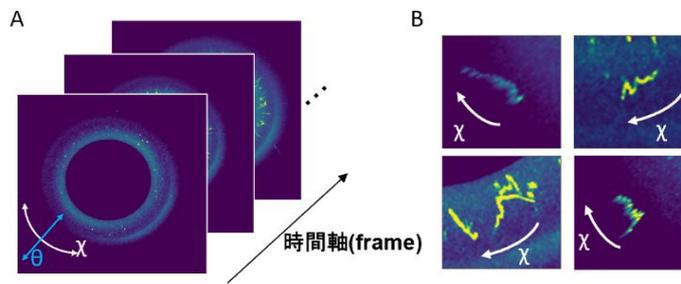


図6:レーザー励起型DXT法で得られたZnO微結晶からの回折点の運動追跡図(Aが全体図、Bが χ 方向に大きく時計回り回転している。図1の予想回転方向と逆になっているのはサンプル位置をSR下流側にセットしたため。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Ang Artoni Kevin R., Umena Yasufumi, Sato-Tomita Ayana, Shibayama Naoya, Happo Naohisa, Marumi Riho, Yamamoto Yuta, Kimura Koji, Kawamura Naomi, Takano Yu, Matsushita Tomohiro, Sasaki Yuji C., Shen Jian-Ren, Hayashi Kouichi	4. 巻 30
2. 論文標題 Development of serial X-ray fluorescence holography for radiation-sensitive protein crystals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Synchrotron Radiation	6. 最初と最後の頁 368 ~ 378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S1600577522011833	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Nagatomo Shigenori, Shoji Mitsuo, Terada Takuto, Nakatani Kiyoharu, Shigeta Yasuteru, Hirota Shun, Yanagisawa Sachiko, Kubo Minoru, Kitagawa Teizo, Nagai Masako, Ohki Mio, Park Sam-Yong, Shibayama Naoya	4. 巻 121
2. 論文標題 Heme-bound tyrosine vibrations in hemoglobin M: Resonance Raman, crystallography, and DFT calculation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 2767 ~ 2780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2022.06.012	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Sato-Tomita Ayana, Ang Artoni Kevin R., Kimura Koji, Marumi Riho, Happo Naohisa, Matsushita Tomohiro, Park Sam-Yong, Shibayama Naoya, Sasaki Yuji C., Hayashi Kouichi	4. 巻 635
2. 論文標題 X-ray fluorescence holography of biological metal sites: Application to myoglobin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 277 ~ 282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.10.003	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Shibayama Naoya, Sato-Tomita Ayana, Ohki Mio, Ichiyonagi Kouhei, Park Sam-Yong	4. 巻 117
2. 論文標題 Direct observation of ligand migration within human hemoglobin at work	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 4741 ~ 4748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1913663117	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Shibayama Naoya	4. 巻 1864
2. 論文標題 Allosteric transitions in hemoglobin revisited	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129335 ~ 129335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.03.021	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Sekiguchi Hiroshi, Ohta Noboru, Ishibashi Hideaki, Hino Hideitsu, Mizumaki Masaichiro	4. 巻 2
2. 論文標題 End-condition for solution small angle X-ray scattering measurements by kernel density estimation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science and Technology of Advanced Materials: Methods	6. 最初と最後の頁 426 ~ 434
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/27660400.2022.2140021	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Yamamoto Naoki, Inoue Rintaro, Kurisaki Ikuo, Matsuo Tatsuhito, Hishikawa Yuki, Zhao Wenyang, Sekiguchi Hiroshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Protein large-scale motions revealed by quantum beams: A new era in understanding protein dynamics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 n/a ~ n/a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v19.0035	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 Ohkubo Tatsunari, Shiina Takaaki, Kawaguchi Kayoko, Sasaki Daisuke, Inamasu Rena, Yang Yue, Li Zhuoqi, Taninaka Keizaburo, Sakaguchi Masaki, Fujimura Shoko, Sekiguchi Hiroshi, Kuramochi Masahiro, Arai Tatsuya, Tsuda Sakae, Sasaki Yuji C., Mio Kazuhiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Visualizing Intramolecular Dynamics of Membrane Proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 14539 ~ 14539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232314539	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Fujimura Shoko, Mio Kazuhiro, Ohkubo Tatsunari, Arai Tatsuya, Kuramochi Masahiro, Sekiguchi Hiroshi, Sasaki Yuji C.	4. 巻 23
2. 論文標題 Diffracted X-ray Tracking Method for Measuring Intramolecular Dynamics of Membrane Proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2343 ~ 2343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23042343	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Arai Tatsuya, Inamasu Rena, Yamaguchi Hiroki, Sasaki Daisuke, Sato-Tomita Ayana, Sekiguchi Hiroshi, Mio Kazuhiro, Tsuda Sakae, Kuramochi Masahiro, Sasaki Yuji C.	4. 巻 8
2. 論文標題 Laboratory diffracted x-ray blinking to monitor picometer motions of protein molecules and application to crystalline materials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Structural Dynamics	6. 最初と最後の頁 044302 ~ 044302
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/4.0000112	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Fujimura Shoko, Mio Kazuhiro, Kuramochi Masahiro, Sekiguchi Hiroshi, Ikezaki Keigo, Mio Muneyo, Hengphasatporn Kowit, Shigeta Yasuteru, Kubo Tai, Sasaki Yuji C.	4. 巻 124
2. 論文標題 Agonist and Antagonist-Diverted Twisting Motions of a Single TRPV1 Channel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 11617 ~ 11624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c08250	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 佐々木 裕次、三尾 和弘	4. 巻 60
2. 論文標題 X線1分子追跡法によるタンパク質分子内部の動態計測	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 計測と制御	6. 最初と最後の頁 217 ~ 222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11499/sicejl.60.217	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 SASAKI Yuji	4. 巻 88
2. 論文標題 Development of x-ray single molecule tracking method and its wide area applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Denki Kagaku	6. 最初と最後の頁 246 ~ 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5796/denkikagaku.20-FE0025	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 5件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 柴山修哉
2. 発表標題 ヘモグロビンの構造・機能・動態研究の最前線
3. 学会等名 第29回日本血液代替物学会年次大会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴山修哉
2. 発表標題 ヘモグロビンの超精密制御機構の秘密
3. 学会等名 第33回生物無機化学夏季セミナー(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長友重紀, 寺田拓人, 庄司光男, 重田育照, 中谷清治, 廣田俊, 北川禎三, 長井雅子, 大木規央, 朴三用, 柴山修哉
2. 発表標題 ヘモグロビンM IwateとM Bostonにおけるヘム-チロシン結合の振動分光, 結晶構造, 理論計算による解析
3. 学会等名 第47回生体分子科学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口博史, 山本直樹, 柴山修哉, 佐々木裕次
2. 発表標題 Allosteric transition dynamics in hemoglobin Reconsidered by Diffracted X-ray Tracking
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関口博史、 増永啓康、 加部 泰三、 上杉健太郎、
2. 発表標題 X線イメージング・SAXS同時計測システムの実施可能性評価
3. 学会等名 フロンティアソフトマター開発専用ビームライン産学連合体 第12回研究発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuji C SASAKI
2. 発表標題 Diffracted X-ray Tracking and Blinking (subtitle: Dynamic Observation of Single Molecule in the Living Cells)
3. 学会等名 The international Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation (SRI 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuji C SASAKI
2. 発表標題 Diffracted X-ray Tracking
3. 学会等名 Diamond Light Source Seminar, User Working Group Meeting for X4SCM (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 日本化学会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 208
3. 書名 生体分子環境の化学	

1. 著者名 永島 計	4. 発行年 2023年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 384
3. 書名 温度ストレスによる生体応答ダイナミクス	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 X線を用いた物質評価方法及び物質評価装置	発明者 佐々木裕次, 倉持昌 弘, 三尾和弘	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-122717	取得年 2021年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

-

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
研究 分担者	関口 博史 (SEKIGUCHI HIROSHI) (00401563)	公益財団法人高輝度光科学研究センター・回折・散乱推進 室・主幹研究員 (84502)	
研究 分担者	柴山 修哉 (SHIBAYAMA NAOYA) (20196439)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	新井 達也 (Arai Tatsuya) (90890145)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・助教 (12601)	DXTデータ解析

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