

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26282213

研究課題名(和文) 一分子選択による人工タンパク質の新規デザイン戦略の創製

研究課題名(英文) Development of New Strategy of Protein Design Based on Single Phage Sorting Technique

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) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)： 少しずつアミノ酸配列が異なるタンパク質を提示したファージのライブラリーの中から、特定の特性を持つタンパク質を提示したファージを、蛍光強度を手がかりに選別する手法を創出することで、新規タンパク質のデザイン方法の確立を目指した。当初用いたファージでは十分な蛍光強度が得られなかったため、100倍以上の蛍光強度をもつファージを作製した。また、蛍光観察装置の感度を上げるために光学系の全面的な改良を行った。これらの努力により、ファージ一個体ごとに蛍光強度を測定し、選別した後に大腸菌培地に回収し、コロニーを作らせることに成功した。

研究成果の概要(英文)： We planned to develop a new method of protein design by displaying a library of mutated fluorescent proteins on the surface of phages, and selecting phages displaying desired proteins by monitoring their emission properties. We constructed M13 phages displaying C-terminal fragment of GFP on g8p, and reconstituted GFP on the phage by adding the N-terminal fragment. We could create strongly emitting phages by displaying GFP on g8p proteins. We improved the sensitivity of the single phage detecting system. We were successful in selecting the fluorescent phages and examining the number of the collected phages by colony assay method.

研究分野：生物物理学

キーワード：タンパク質デザイン ファージ 一分子蛍光観察

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、多様な構造と驚異的な機能を持つ生体高分子である。これらの特性を活かした新しいタンパク質をデザインすることで、新規の工業反応の触媒や薬剤として応用することが望まれていた。

新規タンパク質のデザインについて、主に二つの方法により、集中した取り組みが始まるようになっていた。第一の方法は、既存のタンパク質を鋳型として改変する進化工学的な手法である。この手法は多数の成功例があるが、鋳型タンパク質から大きくデザインを変更することが難しい。第二の方法は、新しい構造や機能を持つタンパク質を一からデザインする方向性である。このアプローチは困難であると思われてきたが、米国の Baker らなどの努力により現実的な方法論となりつつある。このように、タンパク質デザインを行う研究は、世界的な動きとなっていた。

本研究は、日本発の新しい方法論を開発することで、タンパク質デザインの方法に新しい選択肢を確立するために立案した。

2. 研究の目的

本研究は、タンパク質デザインの新しい手法を開発するために、独自の傾向観察技術を応用する。すなわち、蛍光観察に基づく一分子選別装置とファージディスプレイ法を組み合わせることで、新規タンパク質のデザインを実現する。具体的には、ファージ表面にランダム化配列を提示させ、この配列に蛍光色素をラベル化し、一分子蛍光観察により構造を判断して選別を行う。これにより、ファージを個別に調べることによる新しいタンパク質デザイン方法を可能とする。

3. 研究の方法

(1) タンパク質を一分子分別するための光学系の高感度化と流路系の高速化

本研究で重要な位置を占める一分子の蛍光を観察し分子の分別を行う装置について、高感度化と選別速度の向上を目指す。

(2) 蛍光性ファージの作製

二種類の方法により、ファージを発光させる方法を検討する。第一の方法は、ファージに提示させた配列に、CCPGCC という配列を組み込み、ReAsH と呼ばれる色素にてラベル化することである。第二の方法は、ファージ表面に分割型 GFP の C 末端断片を提示させ、そこに GFP の N 末端断片を再校正することで、ファージ上に GFP を結合させることである。

(3) 蛍光ファージの選別実験

上記の準備の後に、発光性のファージを選別する実験を実施する。

4. 研究成果

(1) タンパク質を一分子分別するための光学系の高感度化と流路系の高速化

研究を開始した当初の一分子蛍光観察装

置は、蛍光検出の感度が大きく劣ることが判明した。そのため、装置の感度を上げるために光学系の全面的な改良を行った。特に、感度低下の主要因が背景光にあることを見だし、自家蛍光の少ない石英対物レンズを用いることとした。これらの努力により、背景光を劇的に減らしながらも、蛍光観測の感度を向上させることに成功した。

(2) 蛍光性ファージの作製

始めに、M13 ファージに CCPGCC 配列を提示させ、ReAsH によりラベル化することでファージを発光させることを試みた。しかし、この手法によりラベル化したファージの蛍光強度は弱く、一分子観測に向かないことが判明した。

次に、GFP を 5 分子提示したファージを作成した。ファージの外殻タンパク質である g3p に GFP の C 末端断片を提示し、さらに、別に精製した GFP の N 末端断片と混合することで、発光性のファージを作製した。GFP を再構成させたファージが大腸菌に対する感染能や増殖能を維持することを確認した。また、混合する N 末端断片の種類を変更することで、緑色以外の蛍光を発するファージの作製にも成功した。

さらに発光強度の高いファージを作製する目的で、別の外核タンパク質である g8p への C 末端断片の提示も行った。ヘルパーファージを用いる手法により、100 個弱の GFP を提示した発光性ファージを作製することに成功した。

(3) 蛍光タンパク質の選別実験

GFP を再構成したファージを一分子選別装置に流し、一個体ごとに観察しながら選別する実験を実施した。始めに、GFP を五個提示したファージを用いて、選別実験を試みた。しかし、装置を使って蛍光シグナルとして観測されるファージ数と、回収したファージを培養することで計測されるファージ数が一致しなかった。これについて、作成したファージの中に、数十個のファージが凝集することで強い蛍光を発するファージが存在する可能性が示唆された。また、個別のファージの蛍光信号を十分に検出していない可能性も示唆された。すなわち、5 個の GFP では十分な蛍光強度が得られないことが判明した。

そのため、100 個の GFP を提示したファージを使った選別実験に切り替えた。さらに、蛍光観察装置のデザインを徹底的に見直すことで、装置の感度も向上させた。

新しく改良した装置と発光強度を増大させたファージを用いることで、一分子ソーターに流し回収するための手法の確立に努めた。ファージの導入時の試料の流速やバルブ制御のタイミング、さらに、流路への圧力をコントロールすることで、ファージを回収することに成功した。さらに、ファージ一個体ごとに選別し、その多くを大腸菌培地に回収し、コロニーを作らせることに成功した。一方で、ファージが装置のチューブ等に吸着す

ることが原因で、選別後の回収効率が大きく低下していることが判明した。

今後、ファージの吸着防止のためのフローセル内面のコーティング等を検討し、選別実験を成功させるべく継続した実験を続けている。

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13件)

1. Murata, A., Itoh, Y., Mano, E., Kanbayashi, S., Igarashi, C., Takahashi, H., Takahashi, S., Kamagata, K., "One-dimensional search dynamics of tumor suppressor p53 regulated by a disordered C-terminal domain", *Biophys. J.*, (査読有), (2017), *in press*. DOI: 10.1016/j.bpj.2017.04.038.
2. Tatsumi, D., Nanatani, K., Koike, Y., Kamagata, K., Takahashi, S., Konno, A., Furuta, T., Sakurai, M., Uozumi, N., "Probing native metal ion association sites through quenching of fluorophores in the nucleotidebinding domains of the ABC transporter MsbA", *Biochem. J.*, (査読有), (2017), *in press*. DOI: 10.1042/BCJ20161051.
3. Kamagata, K., Murata, A., Itoh, Y., Takahashi, S., "Characterization of facilitated diffusion of tumor suppressor p53 along DNA using single-molecule fluorescence imaging", *J. Photochem. Photobiol. C.*, (査読有), **30**, (2017), 36-50, DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2017.01.004.
4. Furuta, M., Fujisawa, T., Urigo, H., Eguchi, T., Shingae, T., Takahashi, S., Blanch E. W. Unno, M., "Raman optical activity of tetra-alanine in the poly(L-proline) II type peptide conformation", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, (査読有), **19**, (2017), 2078-2086, DOI: 10.1039/c6cp07828a.
5. Igarashi, C., Murata, A., Itoh, Y., Subekti, D. R. G., Takahashi, S., Kamagata, K., "DNA garden: A simple method for producing arrays of stretchable DNA for single-molecule fluorescence imaging of DNA binding proteins", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, (査読有), **90**, (2017), 34-43, DOI: 10.1246/bcsj.20160298.
6. Saito, M., Kamonprasertsuk, S., Suzuki, S., Nanatani, K., Oikawa, H., Kushiro, K., Takai, M., Chen, P.-T., Chen, E. H.-L. Chen, R. P.-Y., Takahashi, S., "Significant Heterogeneity and Slow Dynamics of the Unfolded Ubiquitin Detected by Confocal Method of Single-Molecule Fluorescence Spectroscopy" *J. Phys. Chem. B*, (査読有), **120**, (2016), 8818-8829, DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b05481
7. Itoh, Y., Murata, A., Sakamoto, S., Nanatani, K., Wada, T., Takahashi, S., Kamagata, K., "Activation of p53 Facilitates the Target Search in DNA by Enhancing the Target Recognition Probability", *J. Mol. Biol.*, (査読有), **428**, (2016), 2916-2930, DOI: 10.1016/j.jmb.2016.06.001.
8. Matsui, T., Nambu, S., Goulding, C. W. Takahashi, S., Fujii, H., Ikeda-Saito, M. "Unique coupling of mono- and dioxygenase chemistries in a single active site promotes heme degradation" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (査読有), **113**, (2016), 3779-3784, DOI: 10.1073/pnas.1523333113.
9. Takahashi, S., Kamagata, K., Oikawa, H. "Where the complex things are: single molecule and ensemble spectroscopic investigations of protein folding dynamics", *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **36**, (査読有), (2016), 1-9. DOI: 10.1016/j.sbi.2015.11.006.
10. Konuma, T., Sakurai, K., Yagi, M., Goto, Y., Fujisawa, T., Takahashi, S. "Highly Collapsed Conformation of the Initial Folding Intermediates of β -Lactoglobulin with Non-Native α -Helix" *J. Mol. Biol.* (査読有), **427**, (2015), 3158-3165, DOI: doi: 10.1016/j.jmb.2015.07.018.
11. Murata, A., Ito, Y., Kashima, R., Kanbayashi, S., Nanatani, K., Igarashi, C., Okumura, M., Inaba, K., Tokino, T., Takahashi, S., Kamagata, K., "One-dimensional sliding of p53 along DNA is accelerated in the presence of Ca^{2+} or Mg^{2+} at millimolar concentrations", *J. Mol. Biol.*, (査読有), **427**, (2015), 2663-2678, DOI: 10.1016/j.jmb.2015.06.016.
12. Oikawa, H., Kamagata, K., Arai, M., Takahashi, S., "Complexity of the Folding Transition of the B domain of Protein A Revealed by the High-Speed Tracking of Single-Molecule Fluorescence Time Series", *J. Phys. Chem. B*, (査読有), **119**, (2015), 6081-6091, DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b00414.
13. 小井川浩之, 齊藤雅嵩, 高橋聡, 「マイクロ秒分解一分子蛍光測定で観るタンパク質の構造変化」, *生物物理*, (査読有), **54**, 276-279, (2014), DOI: 10.2142/biophys.54.276.

[学会発表](計48件)

1. 北尾彰朗, 鎌形清人, 高橋聡, 「実験と計算による p53 の標的 DNA 配列探索機能」, 2017年3月16日-19日, 日本化学会第97春季年会, 慶應義塾大学(神奈川県横浜市).
2. Subekti, D. R. G., Murata, A., Itoh, Y.,

- Takahashi, S., Kamagata, K. “Elongation of Intrinsically Disordered Linker in p53 and the Effects on DNA Binding and Sliding Ability”, 2016年12月16日, 生物物理学会東北支部会, (東北大学)宮城県仙台市.
3. 齊藤雅嵩, Supawich Kamonprasertsuk, 久代京一郎, 高井まどか, Eric H.-L. Chen, Po-Ting Chen, Rita P.-Y. Chen, 小井川浩之, 高橋聡, “Significant heterogeneity and slow transition of the denatured ubiquitin detected by single-molecule fluorescence spectroscopy”, 2016年11月25日-27日, 第54回日本生物物理学学会年会, つくば国際会議場(茨城県つくば市).
 4. Yuji Itoh, Agato Murata, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Ultrafast intersegmental transfer of a tumor suppressor p53 investigated by ensemble and single-molecule measurements”, 2016年11月25日-27日, 第54回日本生物物理学学会年会, つくば国際会議場(茨城県つくば市).
 5. 清水悠生, 御子柴直紀, 坂本清志, 小井川浩之, 鎌形清人, 和田健彦, 高橋聡, “Development of a single-molecular sorting system based on fluorescence detection for protein design using phage display method”, 2016年11月25日-27日, 第54回日本生物物理学学会年会, つくば国際会議場(茨城県つくば市).
 6. Naoki Mikoshiba, Yuuki Shimizu, Rie Kiriguchi, Seiji Sakamoto, Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, “Construction of fluorescent phages based on split GFP for the phage sorting technique”, 2016年11月25日-27日, 第54回日本生物物理学学会年会, つくば国際会議場(茨城県つくば市).
 7. Dwiky Rendra Graha Subekti, Agato Murata, Yuji Itoh, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Elongation of Intrinsically Disordered Linker in p53 and the Effects on DNA Binding and Sliding Ability”, 2016年11月25日-27日, 第54回日本生物物理学学会年会, つくば国際会議場(茨城県つくば市).
 8. Satoshi Takahashi, Masataka Saito, Hiroyuki Oikawa, “Dynamics of protein folding studied by single molecule fluorescence measurements at microsecond resolution”, 2016年11月13日-16日, Indo-Japan Meeting, Frontiers in Molecular Spectroscopy: From Fundamentals to Applications on Material Science and Biology, カンプル(インド).
 9. Satoshi Takahashi, Masataka Saito and Hiroyuki Oikawa, “Dynamics of protein folding studied by single molecule fluorescence measurements at microsecond resolution”, 2016年11月8日-11日, The Third International Symposium on Protein Folding and Dynamics, バンガロール(インド).
 10. Masataka Saito, Supawich Kamonprasertsuk, Eric H. -L. Chen, Po-Ting Chen, Rita P.-Y. Chen, Hiroyuki Oikawa, Satoshi Takahashi, “Significant heterogeneity and slow transition of the denatured ubiquitin detected by single molecule fluorescence spectroscopy”, 2016年11月8日-11日, The Third International Symposium on Protein Folding and Dynamics, バンガロール(インド).
 11. 高橋聡, 齊藤雅嵩, 鎌形清人, 小井川浩之, “ライン共焦点顕微鏡によるタンパク質の構造形成運動の一分子蛍光観察”, 2016年9月13日-15日, 第10回分子科学討論会, 神戸ファッションマート(兵庫県神戸市).
 12. Dwiky Rendra Graha Subekti, Agato Murata, Yuji Itoh, Chihiro Igarashi, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Effect of Linker Elongation in the DNA-binding of Tumor Suppressor p53”, 2016年3月24日-27日, 日本化学会第96春季年会, 同志社大学(京都府京田辺市).
 13. Yuji Itoh, Agato Murata, Seiji Sakamoto, Kei Nanatani, Chihiro Igarashi, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, and Kiyoto Kamagata, “Direct observation of target DNA recognition of p53 mutants by single-molecule fluorescence microscopy”, 2016年3月24日-27日, 日本化学会第96春季年会, 同志社大学(京都府京田辺市).
 14. 松田智紗, 吉田文, 元島史尋, 小井川浩之, 鎌形清人, 吉田賢右, 高橋聡, “1分子 FRET 測定によるシャペロニン GroEL のおりたたみ補助機構の解明”, 2016年3月24日-27日, 日本化学会第96春季年会, 同志社大学(京都府京田辺市).
 15. Satoshi Takahashi, Masataka Saito, Kiyoto Kamagata, Hiroyuki Oikawa, “Dynamics of protein folding studied by single molecule fluorescence measurements at microsecond resolution”, 2016年3月2日-4日, Recent Advances in Molecular Spectroscopy: Fundamentals and Applications in Materials and Biology, ハイデラバード(インド).
 16. Satoshi Takahashi, Hiroyuki Oikawa, “Rapid sample flow strategy for the ultrafast tracking of single molecule fluorescence time series”, 2015年12月15日-20日, PACIFICHEM, ホノルル(USA).
 17. Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Munehito Arai, Satoshi Takahashi,

- “Complex folding transition of the B domain of protein A investigated by the high-speed measurement of single-molecule FRET time series”, 2015 年 12 月 15 日-20 日, PACIFICHEM, ホノルル (USA).
18. Satoshi Takahashi, Masataka Saito, Kiyoto Kamagata, Hiroyuki Oikawa, “Dynamics of protein folding studied by single molecule fluorescence time series measurements at microsecond resolution” 2015 年 11 月 22 日-25 日, 39th Annual ASB Conference, アーミデイル (オーストラリア).
 19. 齊藤雅嵩, Chen, Eric H.-L., Chen, Po-Ting, Chen, Rita P.-Y., 鎌形清人, 小井川浩之, 高橋聡, “ユビキチンの折り畳みダイナミクスの一分子蛍光分光測定”, 2015 年 9 月 16 日-19 日, 第 9 回分子科学討論会, 東京工業大学 (東京都目黒区).
 20. 小井川浩之, 新井宗仁, 深澤宏仁, 横田浩章, 井出徹, 高橋聡, “マイクロ秒分解一分子 FRET 測定によるタンパク質折り畳みダイナミクスの追跡”, 2015 年 9 月 16 日-19 日, 第 9 回分子科学討論会, 東京工業大学 (東京都目黒区).
 21. 村田崇人, 伊藤優志, 五十嵐千裕, Dwiky Subekti Rendra Graha, 高橋聡, 鎌形清人, “一分子蛍光観測法によるがん抑制蛋白質 p53 のスライディング運動の解明”, 2015 年 9 月 13 日-15 日, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢大学 (石川県金沢市).
 22. 齊藤雅嵩, Chen Eric H.-L., Chen Po-Ting, Chen Rita P.-Y., 鎌形清人, 小井川浩之, 高橋聡, “一分子蛍光分光法によって観測されたユビキチンの変性状態の不均一性”, 2015 年 9 月 13 日-15 日, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢大学 (石川県金沢市).
 23. 五十嵐千裕, 村田崇人, 高橋聡, 鎌形清人, “DNA 結合蛋白質の単分子蛍光観察のための DNA 整列技術の開発”, 2015 年 9 月 13 日-15 日, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢大学 (石川県金沢市).
 24. Yuji Itoh, Agato Murata, Seiji Sakamoto, Kei Nanatani, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Observation of the Search Dynamics of p53 Mutants for the Target DNA Sequence by Single-molecule Fluorescence Microscopy”, 2015 年 9 月 13 日-15 日, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢大学 (石川県金沢市).
 25. Hiroyuki Oikawa, Munehito Arai, Atsuhito Fukasawa, Hiroaki Yokota, Toru Ide, Satoshi Takahashi, “Tracking microsecond single-molecule FRET dynamics on the fast protein folding by the line-confocal microscopy”, 2015 年 9 月 13 日-15 日, 第 53 回日本生物物理学会年会, 金沢大学 (石川県金沢市).
 26. 村田崇人, 伊藤優志, 五十嵐千裕, 高橋聡, 鎌形清人, “一分子蛍光観測法によるがん抑制蛋白質 p53 のスライディング運動の解明”, 2015 年 6 月 24 日-26 日, 第 16 回日本蛋白質科学会年会, 福岡国際会議場 (福岡県福岡市).
 27. 伊藤優志・村田崇人・坂本清志・七谷圭・和田健彦・高橋聡・鎌形清人, “一分子蛍光顕微鏡による p 5 3 変異体の標的配列探索ダイナミクスの観察”, 2015 年 6 月 24 日-26 日, 第 16 回日本蛋白質科学会年会, 福岡国際会議場 (福岡県福岡市).
 28. Dwiky Rendra Graha Subekti, Agato Murata, Chihiro Igarashi, Yuji Ito, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Investigation of the Role of Intrinsically Disordered Region in p53 Using Single Molecule Fluorescence Microscopy”, 2015 年 6 月 24 日-26 日, 第 16 回日本蛋白質科学会年会, 福岡国際会議場 (福岡県福岡市).
 29. 高橋聡, “一分子蛍光分光法によるタンパク質のフォールディング研究”, 2015 年 4 月 2 日-3 日, 機能物性融合科学研究会シリーズ 2 ソフトダイナミクス, 東京大学 (千葉県柏市).
 30. 高橋聡, “マイクロ秒分解一分子蛍光観察によるタンパク質のフォールディング過程”, 2015 年 3 月 26 日-29 日, 日本化学会第 95 春季年会, 日本大学 (千葉県船橋市).
 31. 村田崇人, 伊藤優志, 五十嵐千裕, 鹿島理沙, 時野隆至, 高橋聡, 鎌形清人, “一分子蛍光観測法によるがん抑制蛋白質 p53 のスライディング運動の解明”, 2015 年 3 月 26 日-29 日, 日本化学会第 95 春季年会, 日本大学 (千葉県船橋市).
 32. 伊藤優志, 村田崇人, 坂本清志, 七谷圭, 和田健彦, 高橋聡, 鎌形清人, “一分子蛍光顕微鏡による p 5 3 変異体の標的配列探索ダイナミクスの観察”, 2015 年 3 月 26 日-29 日, 日本化学会第 95 春季年会, 日本大学 (千葉県船橋市).
 33. 五十嵐千裕, 村田崇人, 高橋聡, 鎌形清人, “DNA 結合蛋白質の単分子蛍光観察のための DNA 整列技術の開発”, 2015 年 3 月 26 日-29 日, 日本化学会第 95 春季年会, 日本大学 (千葉県船橋市).
 34. Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Munehito Arai, Atsuhito Fukasawa, Hiroaki Yokota, Toru Ide, Satoshi Takahashi, “Development of The Line Confocal System for The Single Molecule Tracking of Fast Folding Dynamics of Proteins”, 2015 年 2 月 7 日-11 日, Biophysical Society 59th Annual Meeting, Baltimore, Maryland, USA,
 35. Satoshi Takahashi, “Dynamics of Protein

- Folding Studied by Single Molecule Fluorescence Time Series Measurements at Microsecond Resolution” 2014 年 11 月 25 日-28 日, Indo-Japan Joint Workshop on Frontiers in Molecular Spectroscopy: Fundamentals and Applications to Material and Biology, 東大寺総合文化センター (奈良県奈良市)。
36. Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Munehito Arai, Atsuhito Fukasawa, Hiroaki Yokota, Toru Ide, Satoshi Takahashi, “Development of the line confocal system for the single molecule tracking of fast folding dynamics of proteins”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
37. Masataka Saito, Chen Erick, Chen Po-Ting, Chen Rita P.-Y., Kiyoto Kamagata, Hiroyuki Oikawa, Satoshi Takahashi, “Folding dynamics of ubiquitin after rapid mixing detected by single molecule fluorescence spectroscopy”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
38. Aya Yoshida, Fumihito Motojima, Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Masasuke Yoshida, Satoshi Takahashi, “Conformation of the denatured BFP bound to GroEL by single molecule FRET measurements”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
39. Yuji Itoh, Agato Murata, Seiji Sakamoto, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, and Kiyoto Kamagata, “Observation of the Search Dynamics of p53 for the Target DNA Sequence by Single-molecule Fluorescence Microscopy”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
40. Rie Kiriguchi, Toshihiko Kubota, Norihisa Takahashi, Seiji Sakamoto, Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, “Development of a new strategy of protein design: the single phage sorting based on fluorescence intensity”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
41. Agato Murata, Yuji Itoh, Dwiky Subekti Rendra Graha, Chihiro Igarashi, Satoshi Takahashi, Kiyoto Kamagata, “Investigation of DNA search mechanism of tumor suppressor p53”, 2014 年 9 月 25 日-27 日, 第 5 2 回日本生物物理学会年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)。
42. Yuji Itoh, Agato Murata, Seiji Sakamoto, Takehiko Wada, Satoshi Takahashi, and Kiyoto Kamagata, “Observation of the Search Dynamics of p53 for the Target DNA Sequence by Single-molecule Fluorescence Microscopy”, 2014 年 9 月 5 日, 日本生物物理学会東北支部会, 岩手県公会堂 (岩手県盛岡市)。
43. 吉田文, 元島史尋, 田口英樹, 小井川浩之, 鎌形清人, 吉田賢右, 高橋聡, “GroEL に結合した基質 BFP の一分子 FRET 計測による構造解析”, 2014 年 9 月 5 日, 日本生物物理学会東北支部会, 岩手県公会堂 (岩手県盛岡市)。
44. 高橋聡, “タンパク質フォールディングの分子科学”, 2014 年 8 月 29 日, 第 1 回森野ディスカッション, 東京大学 (東京都文京区)。
45. Satoshi Takahashi, “Continuous tracking of protein folding at microsecond resolution by a line confocal detection of single molecule fluorescence”, 2014 年 7 月 27 日-30 日, The 28th Annual Symposium of The Protein Society, San Diego, USA.
46. 吉田文, 元島史尋, 田口英樹, 小井川浩之, 鎌形清人, 吉田賢右, 高橋聡, “GroEL に結合した基質 BFP の一分子 FRET 計測による構造解析”, 2014 年 6 月 25 日-27 日, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, ワークピア横浜 (神奈川県横浜市)。
47. 村田崇人, 伊藤優志, Dwiky Subekti Rendra Graha, 鹿島理沙, 時野隆志, 高橋聡, 鎌形清人, “癌抑制蛋白質 p53 の DNA 探索機構の研究”, 2014 年 6 月 25 日-27 日, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, ワークピア横浜 (神奈川県横浜市)。
48. 齊藤雅嵩, Chen Hsin-Liang, Chen Po-Ting, Chen Rita P.-Y., 鎌形清人, 小井川浩之, 高橋聡, “一分子蛍光分光法によるユビキチンの折り畳みダイナミクス”, 2014 年 6 月 25 日-27 日, 第 14 回日本蛋白質科学会年会, ワークピア横浜 (神奈川県横浜市)。

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

坂本 清志 (SAKAMOTO Seiji)
 東北大学・多元物質科学研究所・助教
 研究者番号：30335228