

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 5 日現在

機関番号：14301
研究種目：若手研究(A)
研究期間：2017～2020
課題番号：17H05001
研究課題名(和文) 複雑な分子間反応の連鎖を光操作で解き明かすーアポトーシス機構の分子論的理解ー

研究課題名(英文) Opto-control of apoptosis and its molecular basis

研究代表者
中曽根 祐介 (Nakasone, Yusuke)

京都大学・理学研究科・助教

研究者番号：00613019
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,600,000円

研究成果の概要(和文)：近年、光遺伝学や光応答性分子の研究が盛んに行われ、多様な生命現象が光操作可能な時代に突入した。この技術により神経科学を始めとする様々な分野で新たな分子ネットワークの発見が相次いでいるが、肝心のシグナル伝達機構の分子論的理解は遅れている。その主な要因は分子内・分子間反応の連鎖を高感度に時間分解検出する手法の欠如である。そこで本研究では、独自の分光法(過渡回折格子法)を多様な光操作技術と融合することで、新規反応検出法を確立し、複雑な分子システムであるアポトーシス機構の解明に取り組んだ。また光応答性の人工分子の反応解析にも適用し、従来法では検出が困難であった分子間反応の解明を推進した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
アポトーシスは生命の恒常性の維持に必須であり、その異常は癌や脳機能障害など様々な疾患を引き起こす。本課題では、光で会合するタンパク質をアポトーシス誘導因子(Caspase8)に遺伝学的に結合したところ、光照射下でアポトーシスを起こす細胞数が増えることを確認した。これは副作用の少ない治療法の開発にも役立つ知見であるが、細胞死の誘導効率が低いため、実用化には今後の最適化が必要である。また光依存的な反応を分子レベルで捉える新手法の開発を行い、光会合反応や光応答性DNAの反応検出を実施した。この手法により未開拓であった様々な生体分子反応の解明が可能となるため、今後の生命科学研究への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In recent years, the study of optogenetics and light-responsive molecules has become so popular that we are now able to manipulate diverse biological phenomena with light. Though this technology has led to the discovery of new molecular networks in neuroscience and many other fields, the signaling mechanisms has not been clarified at the molecular level in many cases. The main reason is the lack of sensitive and time-resolved methods for detecting intra- and inter-molecular reactions. In this study, we have established a new reaction detection method by combining a unique spectroscopic method (transient grating method) with various opto-control techniques. Using this method, we investigated the molecular mechanisms of apoptosis. We have also applied this method to light-responsive artificial molecules, promoting the elucidation of intermolecular reactions that have been difficult to detect using conventional techniques.

研究分野：生物物理学

キーワード：細胞死 光操作 分子間反応 過渡回折格子法 LOVドメイン Caspase8

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生命活動は多様な生体分子に担われ、その本質は制御された化学反応の連鎖である。したがって生命現象の理解には、高次構造変化や分子間反応を高い時間分解能で制御・観測する必要がある。光を用いた反応制御・反応観測がこの目的に適していることは論を待たない。光による反応制御法は大きく分けると以下の二種類である。

光遺伝学：光センサー蛋白質を、遺伝学的手法を用いて特定の細胞に発現させる、あるいは別のタンパク質に付加することで、光依存的に多様な機能を操作する技術。

光応答性分子：蛋白質や DNA の狙った箇所に光応答性の小分子を導入し、その光反応を利用して対象分子の構造や会合状態を光操作する技術。

反応観測には高い時間分解能を有する分光測定が適している。なかでも過渡回折格子法は、生命機能の発現に重要な構造変化や分子間の会合・解離反応を高感度に時間分解検出できる。

過渡回折格子 (TG) 法：光誘起される拡散係数変化を介して、吸収や蛍光では捉えきれない高次の反応を高感度かつ時間分解で検出できる。

研究開始当初の光操作研究は、新たなシグナル因子や分子ネットワークの開拓に重点を置いており、シグナル伝達機構の分子論的理解は遅れていた。その主な要因は、分子内・分子間反応を時間分解検出できる手法の欠如であった。一方、TG 法はその原理上、光で反応を開始できる対象にのみ適用可能であるため、測定対象は光センサー蛋白質に限られていた。

2. 研究の目的

こうした背景のもと、光操作技術と TG 法を融合することで、上記問題を解決し、多様な蛋白質反応を捉える新手法を確立するという着想に至った。つまり、反応機構が不明であった生体分子に、光反応性を与えることで TG 法の適用を可能とし、生物物理学的な見地から未知なる分子機構の解明を達成することを本研究のねらいとした (図 1)。

具体的な研究対象として複雑な分子システムの代表例であるアポトーシス (プログラムされた細胞死) を取り上げた。アポトーシスは生命活動の恒常性の維持に必須であり、その異常は癌や脳機能障害など数多くの疾患の原因となるため、分子機構の理解は学術的に極めて価値が高い。

図 2 に示すようにアポトーシスは受容体・開始因子・実行因子が絡み合う複雑な分子システムにより引き起こされる。その中で支配的な役割を担う Caspase 群はプロテアーゼとしての機能を有しており、上流から下流へ連鎖する分解反応によってアポトーシスを引き起こす。その過程において、Caspase の構造変化や会合反応が起こるが、測定法の制約により、その分子ダイナミクスは不明であった。

そこで、例えば実行因子の一つである Caspase7 に LOV ドメインを付加し、その光反応を利用して Caspase7 を活性化する。これによって引き起こされる分子間反応の連鎖を TG 法により検出する。同様の測定を、開始因子や受容体などアポトーシスの主要経路に対して行い、アポトーシス機構の分子論的理解や分子反応と生理応答の関係を明らかにすることを目的とした。

また反応機構の詳細を理解し、ON・OFF の完全な光操作を達成するためには、光応答性の小分子による局所的かつ可逆的な反応制御が有効である。そこで申請者は、アゾベンゼンの光異性化反応を利用した光操作にも取り組んだ。アゾベンゼンのシス・トランス異性化に伴う立体障害を利用して、可逆的に反応を制御する。これを TG 法により時間分解検出し、局所的な光反応がもたらす生体分子反応を速度論的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

TG 法：二本のパルス光で作った干渉縞によって分子を空間特異的に励起し、その後の屈折率変化 (過渡的な回折格子) をプローブ光の回折光として観測する (TG 信号：図 5)。回折格子は分子の拡散によって消滅するため、TG 信号の減衰から拡散係数を決定でき、その時間変化を解析することで、蛋白質全体の構造変化や会合・解離反応を時間分解検出できる。解析の任意性を抑えるために、各因子の拡散係数を動的な光散乱測定により決定し、TG 信号の解析に用いた。また、二次構造解析には CD 測定を、複合体のサイズ・形状に関しては X 線小角散乱測定を行うことで、多角的な観点で蛋白質反応を調べた。

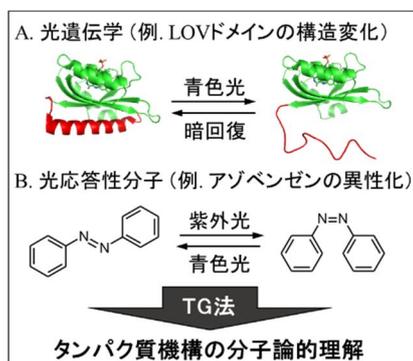


図1 本研究の概念図

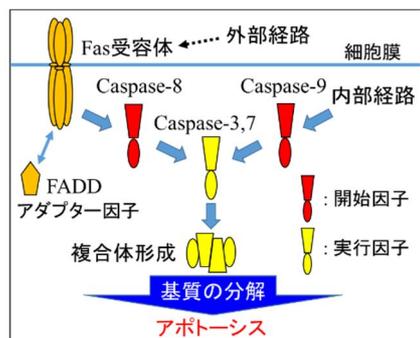


図2 簡略化したアポトーシス機構

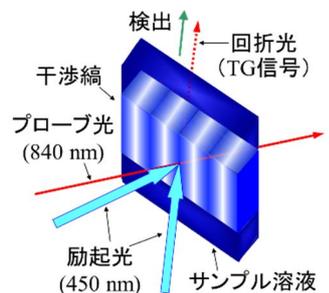


図3 TG法の原理図

Caspase7 の光操作：実行因子の一つである Caspase7 の N 末端側に高等植物 *Avena sativa* 由来の LOV ドメイン^{注1}を光操作素子として導入した。先行研究によりアポトーシスの光操作が示され、最適な分子設計が報告されていたためである。暗状態では LOV ドメインが Caspase7 の活性を抑制する一方、光照射下では LOV ドメインの C 末端ヘリックスが壊れることで抑制が解けるというモデルであり（図4）、この反応解析をすることを第一の目標とした。

^{注1} LOV ドメイン：植物や細菌由来の青色光センサードメインであり、発色団としてフラビン分子を持つ。安定性・水溶性が高く、由来に応じて多様な反応を示すため、光操作素子として優れている。

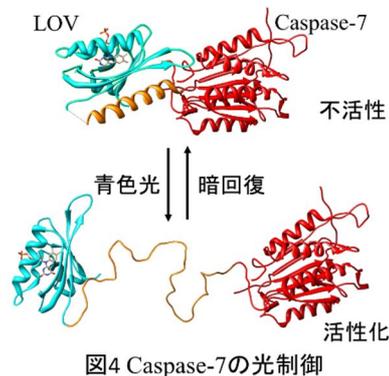


図4 Caspase-7の光制御

PhoCl を用いた Caspase7 の光操作：後述する通り、LOV ドメインを用いた Caspase7 の光操作に至らなかったため、別の光素子として photocleavable protein (PhoCl) を利用した。PhoCl は蛍光性タンパク質の変体であり、光励起によりペプチド鎖が開裂し、二分子に解離する人工蛋白質である。Caspase7 は分子内の特定部位が上流因子に切断されて活性化するため、PhoCl を適切な位置に挿入することで、活性の精密な光制御が可能と考えた。

Caspase8 の光操作：PhoCl を用いても Caspase7 の光操作が困難であると判断したため、さらに上流因子である Caspase8 の光操作に取り組んだ。細胞死シグナルが入ると Caspase8 は膜近傍にリクルートされる。これにより分子間の会合が起こると、自己分解が促進されて活性化するため、光依存的に会合する緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 由来の LOV ドメインを用いて光操作を試みた。薬剤の添加により二量化するタンパク質 FKBP1 を付加した場合は、薬剤添加により Caspase8 の活性化が確認されているため、同様の箇所に LOV ドメインをつなげるという戦略を取った。

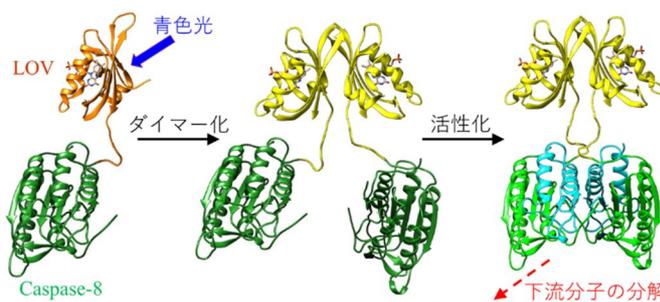


図5 Caspase8の光制御

アゾベンゼンを用いた光操作：Caspase8 を光操作することで細胞死を光誘導できることを確認したが、その誘導効率が低いこと、そして純度の高いタンパク質精製が困難であることがわかった。そこでアゾベンゼンにより光操作する対象としてDNAを取り上げ、RNA ポリメラーゼとの結合能の光制御を行った（図6）。先行研究により、アゾベンゼンを利用して転写活性を調節できることが示されたためである。ここでは DNA に光反応性を付与することで TG 法の適用を可能とし、タンパク質 - DNA 間相互作用の時間分解検出に取り組んだ。

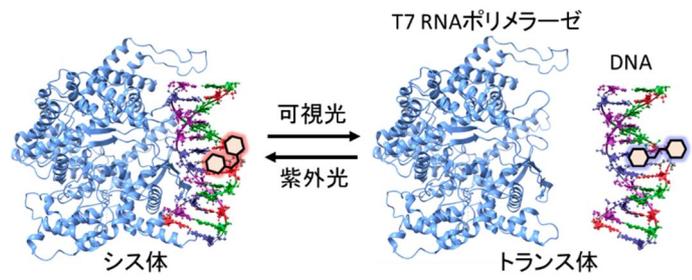


図6 アゾベンゼンの異性化に伴うタンパク質-DNA相互作用の変化

4. 研究成果

LOV-Caspase7 の反応解析：まず本課題で使用した *Avena sativa* 由来の LOV ドメインの光反応を測定した。図7にTG信号の格子波数依存性を示す。格子波数を変えると拡散信号の現れる時間スケールが変わると同時に信号強度も変化する様子が観測された。これは観測している時間スケールで構造変化が起こることを意味している。グローバル解析の結果、C 末端ヘリックスの崩壊反応が 200 マイクロ秒の時定数で起こることがわかった。次に Caspase7 に LOV ドメインをつなげた試料を測定したところ、ヘリックス崩壊反応の時定数は 400 マイクロ秒であることがわかった。ヘリックス崩壊反応の速度は若干遅くなったものの、反応機構や反応収率には影響がないことを確かめた。

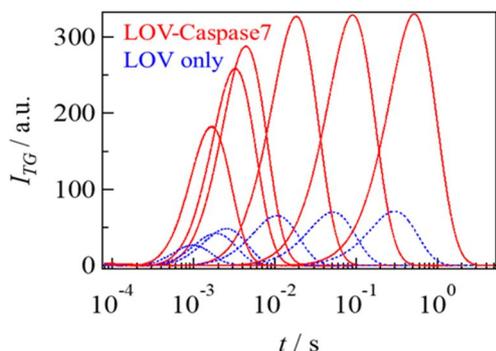


図7 LOVドメインおよびLOV-Caspase7のTG信号の格子波数依存性

続いて人工タンパク質の酵素活性を調べるために、二種類の蛍光タンパク質を Caspase-7 の認識配列である DEVD でつなげた基質タンパク質を作製した。ここに Caspase7 の野生株を加えたところ、確かに酵素活性により分解反応が促進されることを FRET 効率の減少として捉えた。次に、LOV ドメインを付加した試料を測定したところ、野生株と同様の活性が暗状態・明状態で観測された(表1)。これは LOV ドメインによる活性抑制能が低いことを示す結果である。そこで培養細胞を用いて先行研究を再現しようとしたが、光照射の有無に関わらず細胞死が誘導される結果が得られ、先行研究との整合性が取れなかった(細胞実験は京大生命科学研究科、酒巻和弘博士との共同研究)。LOV ドメインと Caspase7 をつなく領域の長さを変えたり、他のアポトーシス実行因子である Caspase-3 を対象にするなど、様々な分子設計を試みたが、光依存的に細胞死を誘導することはできなかった。

	$K_M(\mu M)$	$k_{cat}(\mu M s^{-1})$	$k_{cat}/K_M(s^{-1})$
Caspase7 (先行研究)	84.8	4.35	0.051
Caspase7 (本研究)	63.1	6.88	0.109
LOV-Caspase7 Dark	81.0	9.25	0.114
LOV-Caspase7 Light	77.5	8.25	0.106

表1 各種試料で得られた酵素活性パラメータ

PhoCl による光操作とその反応解析：LOV ドメインでは活性制御が困難であると判断したため、PhoCl による光操作を試みた。PhoCl の光化学反応は未開拓であったため、その反応検出を吸収変化測定・過渡回折格子測定により行ったところ、ペプチド鎖の開裂は早い時間で起こるが、二分子への解離反応は非常に遅いことがわかった(図8に解離に伴う吸収スペクトルの時間変化を示す)。これはペプチド鎖が開裂しても、アミノ酸間の相互作用により解離が起こりづらいためと考えられる。また開裂反応の量子収率が極めて低いことも明らかとなり、効率的な光制御に不向きであることがわかった。

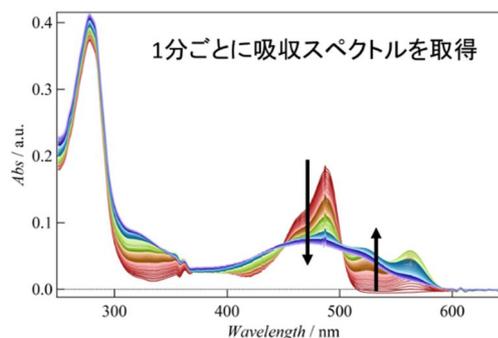


図8 光照射後のPhoClの吸収スペクトル変化

実際に PhoCl を Caspase に挿入した実験を行ったが、長時間の光照射下でも目立った活性の上昇は検出されなかった。タンパク質内部への挿入により解離反応の収率がさらに低下したためと考えられる。したがって人工蛋白質 PhoCl の反応機構に関する知見を得たものの、アポトーシスの効率的な光誘導法の確立には至らなかった。

LOV-Caspase8 の反応解析：Caspase8 はアポトーシス開始因子であり、Caspase7 の上流に位置する。Caspase8 による細胞死シグナルは細胞内で増幅されるため、これを光操作できれば高い効率で細胞死を誘導できると期待される。まず細胞死実験を行ったところ、野生型の LOV ドメインを付加した場合は、光依存的な細胞死を確認できなかったが、LOV ドメインに変異を導入し、暗回復速度を遅くすると、光依存的な細胞死が観測された(未発表であるため、データの公開を差し控える)。これは暗回復速度と光感受性の相関を示しており、光操作においても暗回復速度が重要な因子であることを確認する結果となった。

続いて単離した LOV-Caspase8 の反応解析に取り組んだ。Caspase8 は大腸菌内で大量発現すると、濃縮効果により自己分解(活性化)してしまい、全長試料の回収が困難であった。しかし、特定の条件で培養すると Caspase8 が封入体に移行し、ここから回収およびリフォールディングすることで、全長試料を回収することができた。得られた試料を TG 測定したところ、図9に示す信号が得られた。LOV ドメイン単体に比べて LOV-Caspase8 の分子拡散信号は強度が低下し、わずかに遅い時間にシフトすることがわかった。シフトについては Caspase8 の付加による分子量の増大で説明できる。拡散信号の強度は、一般に観測する分子のサイズが大きいほど強くなる傾向があるが、それとは逆の結果となった。これは光依存的な拡散係数変化が Caspase8 の存在により抑制されたことを意味する。光依存的なダイマー化に伴う拡散係数変化を、Caspase8 の構造変化が相殺した可能性があるが、結論には至っていない。大きな問題点として、TG 測定を行うためにはタンパク質濃度を 1 μM 以上にすることが必要だが、この濃度条件では Caspase8 が暗状態でも低確率で会合し、自己切断を起こすことが挙げられる。そのため測定時には全長試料と分解した試料が混在してしまい、信号の再現性が確保できなかった。自己切断を抑えるために精製法やバッファー条件の検討を行ったが、現在まで最適な条件を決定できておらず、光依存的な会合に伴う Caspase8 の活性化機構や下流分子の分解過程の検出には至っていない。

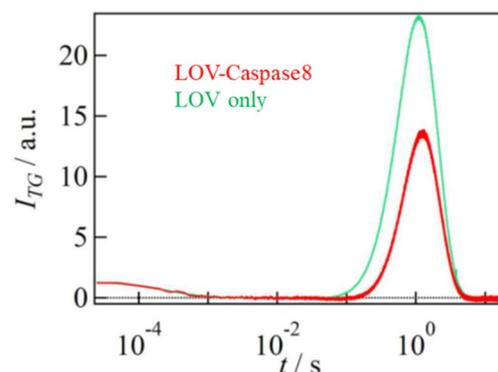


図9 LOVドメインおよびLOV-Caspase8のTG信号

光応答性 DNA と RNA ポリメラーゼの反応解析： Caspase は分解しやすく、TG 測定に十分な量の回収や保存が困難であったため、タンパク質に比べて安定な DNA の光操作に取り組んだ。そして T7 RNA ポリメラーゼとの相互作用変化に関する解析を行った。ここではアゾベンゼンの挿入個所を二か所選定した。タンパク質結合部位である PBD 領域と、転写開始の際にほどける TATA 領域である (図 10)。それぞれの試料について紫外光でシス体を蓄積した後に、青色光でトランス体に異性化した際の TG 信号を取得した。

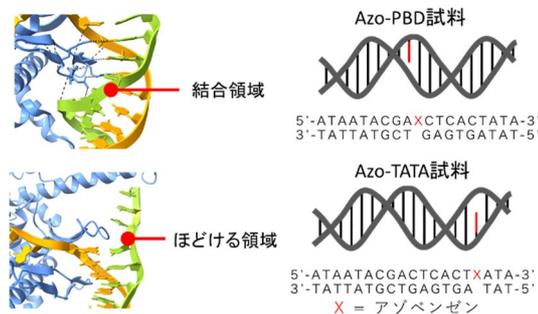


図10 用いたDNA配列とアゾベンゼン挿入位置

図 11a に Azo-PBD に関して DNA 単体の信号と T7 RNA ポリメラーゼ共存下での信号を示す。ポリメラーゼの有無によって、信号の形状や強度が大きく変化することがわかった。これはアゾベンゼンの異性化に伴い、複合体が解離することを示す結果である。そのダイナミクスを明らかにするために、格子波数を変えた測定を行ったところ、図 11b に示すような複雑な挙動が観測された。これをアゾベンゼンの異性化後に 2 段階の反応を経て最終生成物 (解離物) に至るというモデルで解析したところ、信号を再現でき、光異性化後、わずかに拡散係数が減少する反応が時定数 2.5ms で起こり、その後 400ms の時定数で解離することがわかった。

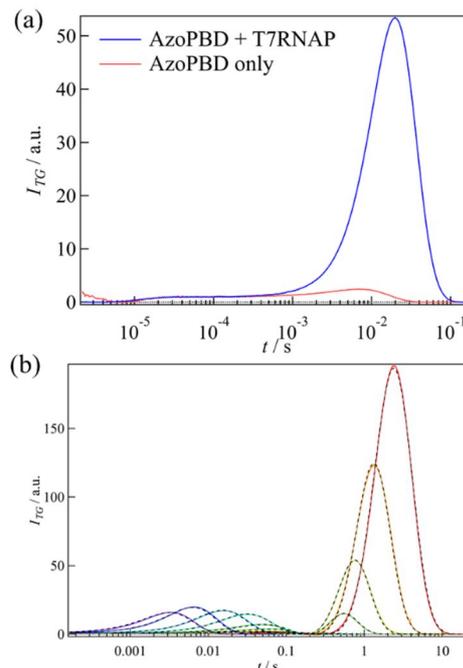


図11 (a) RNAポリメラーゼの共存下・非共存下で得られたAzo-PBDのTG信号。(b) 共存下で得られたTG信号の格子波数依存性。

同様の測定を Azo-TATA 試料でも行ったところ、T7 RNA ポリメラーゼの有無による信号の変化は観測されたが、拡散係数の変化量は Azo-PBD の場合に比べて小さかった。詳細な解析の結果、Azo-TATA の系では RNA ポリメラーゼとの解離反応は観測されず、代わりに複合体の構造が変化することが示された。DNA を転写する際には、DNA をほどく必要があるが、アゾベンゼンがトランス体になると DNA の二重鎖構造を安定化し、ほどけた構造から閉じた構造になる反応を捉えたものと推察している。実際に先行研究により、転写活性がトランス体で低下することが報告されており、このモデルと矛盾しない。また拡散信号の強度や形状は格子波数に依存しなかったことから、反応は観測可能な時間スケールよりも早い時点で完了することがわかった ($< 100\mu\text{s}$)。

本研究で明らかにした反応スキームを図 12 にまとめる。このようにアゾベンゼンの挿入位置を変えることで、全く異なる反応を光操作できることを、反応速度や会合状態の情報とともに明らかにすることに成功した。現在はアゾベンゼンの異性化を利用した分子の凝集反応やタンパク質のフォールディング反応の解析を進めている。

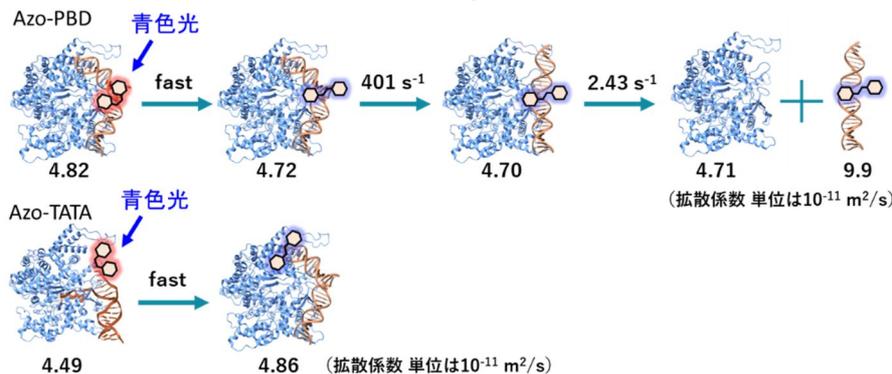


図12 TG測定により明らかになったタンパク質-DNA間の相互作用ダイナミクス

光操作素子の探索：光反応性タンパク質は LOV ドメイン以外にも数多く存在する。それらの反応検出を進めることは新しい光操作素子の開拓にもつながる。本研究期間中に様々な生物種由来の LOV タンパク質 (EL222 や YtvA)、BLUF タンパク質 (PapB や Blrp1)、PYP タンパク質 (Rc-PYP) の反応解析にも取り組んだ。特に光操作素子として興味深いのは Rc-PYP であり、紫外光と可視光で光可逆的な構造変化を起こすことを突き止めた。暗回復ではなく、光で状態の ON/OFF を制御できるため、時空間分解での精密な光操作が可能になると期待される。今後も多様な生体分子反応に本課題で開発した手法を適用し、生命現象の分子論的・速度論的理解を推進していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakasone Yusuke, Kikukawa Koutaro, Masuda Shinji, Terazima Masahide	4. 巻 123
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 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 3210 ~ 3218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jp cb.9b00196	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 Nakasone Yusuke, Takaramoto Shunki, Terazima Masahide	4. 巻 91
2. 論文標題 Time-Resolved Diffusion Detection with Microstopped Flow System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	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) 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 Nakasone Yusuke, Ohshima Masumi, Okajima Koji, Tokutomi Satoru, Terazima Masahide	4. 巻 123
2. 論文標題 Photoreaction Dynamics of Full-Length Phototropin from Chlamydomonas reinhardtii	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 10939 ~ 10950
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jp cb.9b09685	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 Nakasone Yusuke, Kikukawa Koutaro, Masuda Shinji, Terazima Masahide	4. 巻 123
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 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 3210 ~ 3218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jp cb.9b00196	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 Takakado Akira, Nakasone Yusuke, Okajima Koji, Tokutomi Satoru, Terazima Masahide	4. 巻 121
2. 論文標題 Light-Induced Conformational Changes of LOV2-Kinase and the Linker Region in Arabidopsis Phototropin2	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Physical Chemistry 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 Takakado Akira, Nakasone Yusuke, Terazima Masahide	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 Physical Chemistry Chemical Physics	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 Nakasone Yusuke, Ohshima Masumi, Okajima Koji, Tokutomi Satoru, Terazima Masahide	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 Journal of Physical Chemistry 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 Takakado Akira, Nakasone Yusuke, Terazima Masahide	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 Shibata Kosei, Nakasone Yusuke, Terazima Masahide	4. 巻 20
2. 論文標題 Photoreaction of BlrP1: the role of a nonlinear photo-intensity sensor	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	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 Takaramoto Shunki, Nakasone Yusuke, Sadakane Kei, Maruta Shinsaku, Terazima Masahide	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 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 136919 ~ 136919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 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 -

1. 著者名 Takaramoto Shunki, Nakasone Yusuke, Sadakane Kei, Maruta Shinsaku, Terazima Masahide	4. 巻 11
2. 論文標題 Time-resolved detection of SDS-induced conformational changes in α -synuclein by a micro-stopped-flow system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 1086 ~ 1097
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0RA09614H	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 Choi Seokwoo, Nakasone Yusuke, Hellingwerf Klaas J., Terazima Masahide	4. 巻 59
2. 論文標題 Photoreaction Dynamics of a Full-Length Protein YtvA and Intermolecular Interaction with RsbRA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4703 ~ 4710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00888	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 該当する

1. 著者名 Kim Suhyang, Nakasone Yusuke, Takakado Akira, Yamazaki Yoichi, Kamikubo Hironari, Terazima Masahide	4. 巻 59
2. 論文標題 Wavelength-Dependent Photoreaction of PYP from Rhodobacter capsulatus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4810 ~ 4821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.0c00821	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 Shibata Kosei, Nakasone Yusuke, Terazima Masahide	4. 巻 -
2. 論文標題 Enzymatic activity of the blue light regulated phosphodiesterase BlrP1 from <i>Klebsiella pneumoniae</i> shows a nonlinear dependence on light intensity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Letters	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) 10.1002/1873-3468.14073	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13件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 Fluctuation and reaction dynamics of a light sensor protein in crowding environment
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 光で捉える生体分子の揺らぎ・ダイナミクス 相分離を生体分子の反応場として理解する
3. 学会等名 第4回LLPS研究会・ASUKA若手交流会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 分子夾雑系における光センサータンパク質の揺らぎ・反応ダイナミクス
3. 学会等名 新学術領域「分子夾雑の生命化学」第2回関西地区シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 分子クラウディング環境における光活性化アデニル酸シクラーゼの揺らぎと機能
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 光センサータンパク質phototropinの光反応ダイナミクス
3. 学会等名 第20回 日本光生物学協会 年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 Diversity of photochemical reactions of Flavin-based photoreceptors
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 光で捉える生体分子の揺らぎ・ダイナミクス
3. 学会等名 分子研所長招聘研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 時間分解拡散法で捉える蛋白質反応
3. 学会等名 研究会「2030年の生命分子科学を語る！」（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中曽根祐介
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 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 拡散・揺らぎの時間分解検出に基づくタンパク質機能の分子論的理解
3. 学会等名 第40回溶液化学プレシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中曽根祐介
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 第11回分子科学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中曽根祐介
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 新学術領域「動的秩序と機能」第6回国際シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中曽根祐介
2. 発表標題 光センサータンパク質phototropinの光反応と多様性
3. 学会等名 日本化学会 第98春期年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------