

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01772

研究課題名（和文）機械刺激を加えた単一タンパク質の構造および力学特性応答の高速AFM解析

研究課題名（英文）High-Speed-AFM Analysis of Structural and Mechanical Properties of Single Protein under Mechanical Stimulation

研究代表者

内橋 貴之（Uchihashi, Takayuki）

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：30326300

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：高速原子間力顕微鏡（AFM）を用いたタンパク質の機械的応答の解析を目的とし、一軸伸長装置を開発した。これにより、PDMS基板に固定したタンパク質に引張応力を加え、アクチン線維や微小管、膜結合タンパク質に応力を印加できるようになった。これにより、アクチン線維の結合タンパク質の親和性変化、微小管の屈曲挙動、BARドメインタンパク質BIN1の膜張力依存的な膜結合能を解析した。これにより、今後メカノセンサータンパク質の力学応答ダイナミクスを分子レベルで解明する基盤技術が整備された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義は、高速AFMと一軸伸長装置を組み合わせることで、生理的条件下でのタンパク質の力学的応答を分子レベルでリアルタイムに解析できる新たな手法を確立したことにある。この手法により、アクチン線維や微小管、膜結合タンパク質の力学応答を分子レベルで明らかにする基盤技術を確立した。社会的意義としては、メカノバイオロジーの理解が深まることで、細胞の機械的刺激に対する応答の仕組みが解明され、将来的に医療分野での応用が期待される。例えば、細胞の機械的環境を制御することで、再生医療や創薬などに役立つ可能性がある。また、メカノセンサー分子の異常が引き起こす疾患の理解や治療法の開発にもつながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, a uniaxial extension system was developed to analyze the mechanical response of proteins using high-speed atomic force microscopy (AFM). With this system, tensile stress was applied to proteins immobilized on PDMS substrates, and the mechanical responses of actin filaments, microtubules, and membrane-bound proteins were observed in real-time. Specifically, the affinity changes of binding proteins in actin filaments, the bending behavior of microtubules, and the membrane tension-dependent membrane-binding capacity of the BAR domain protein BIN1 were analyzed. In actin filaments, the correlation between tension-dependent changes in local structure and changes in binding protein affinity was clarified. The effect on kinesin sliding movement was analyzed by examining the bending behavior of microtubules. This study has laid the foundations for understanding the mechano-response dynamics of mechanosensor proteins at the molecular level.

研究分野：生物物理学

キーワード：高速原子間力顕微鏡 機械ストレス 一分子観察 微小管 アクチン線維 動態解析 膜結合タンパク質

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

細胞は、接触や音、重力などの機械的刺激に絶えず晒されており、これら機械的刺激をトリガーとした一連の生化学反応は、触覚や聴覚等の感覚機構、細胞の運動や形態・分化・遺伝子発現といった様々な生物機能に重要な役割を果たしている。近年、機械的刺激を感知して細胞応答を引き起こす様々なメカノセンサータンパク質の存在が明らかになってきた。しかしながら、機械的刺激を感知し、それを化学シグナルへと伝達する分子機構についての理解は十分進んでいない。従来の光学顕微鏡を基盤とした計測手法では、力学的負荷を加えた状態にあるタンパク質の構造や機械特性とそれらの時空間ダイナミクスを高い分解能で解析できなかったためである。すなわち、機械的刺激がアクチン線維や微小管の局所構造や力学特性をどのように変え、それらはどのように伝搬してフィラメントの安定性や結合タンパク質との親和性などの機能を変調しているのか？ また、BAR ドメインタンパク質は膜張力の局所変化をどのように感知し、張力分布に応じてタンパク質の集積状態をどのように変化させることで膜変形能を制御しているのか？といった本質的な疑問は残されたままである。

2. 研究の目的

高速原子間力顕微鏡(AFM)は溶液環境下にあるタンパク質の動態をリアルタイム観察できる唯一の計測手法として知られており、これまで様々なタンパク質の動態観察に応用されてきた。本研究では、高速 AFM によるタンパク質の一分子動態の可視化と同時に、観察対象のタンパク質に引張や圧縮といった機械的刺激を加えることを目的とする。これにより、機械的刺激に応答するタンパク質の構造ダイナミクスを解析し、力学応答に基づいたメカノセンシングの分子機構を解明することが期待される。具体的には、高速 AFM 観察基板に弾性体を利用し、AFM 装置上で弾性基板に引張応力を印加できる一軸伸長機構を開発する。この装置を用いて、基板に固定したタンパク質に機械刺激を加え、細胞骨格タンパク質フィラメントの構造・力学応答、フィラメント構造の安定性や結合タンパク質との親和性変化、脂質膜の変形による膜結合タンパク質の膜の曲率依存的な親和性変化などを調べる。本研究により、メカノセンサータンパク質の力学応答ダイナミクスを分子レベルで解明できると期待される。

3. 研究の方法

タンパク質に機械負荷を印加するために、PDMS 製弾性シートをタンパク質を固定する基板として用いる。これまで開発してきた探針走査型高速 AFM のサンプルステージ部に一軸伸長機構を組み込んで、PDMS 基板に引張応力を印加できるようにする。この装置を開発して、以下の3つの実験を行う。

I. アクチン線維ネットワークの力学操作とアクチン結合タンパク質の親和性変化の解析: メカノセンシング機構の研究が最も進んでいるアクチン線維を対象に、アクチン線維の局所構造の張力依存的変化と結合タンパク質の親和性変化の相関を明らかにする。

II. 微小管の張力依存的安定性とキネシンの滑走速度の解析: 我々はキネシンの滑走速度が微小管の屈曲部で変化し、微小管への力学負荷がキネシンのモーター活性を変調している可能性を見出していた。基板伸縮により微小管の屈曲を連続的に制御することで、キネシンの滑走運動に及ぼす影響を詳細に解析することが可能になる。これらの実験で、微小管のメカノセンサー機能に関する包括的な理解を得る。

III. BIN1 の膜張力依存的膜結合: BAR ドメインタンパク質である BIN1 は二量体を形成し、PI(4,5)P を含むリポソームに結合すると、集積しながら膜を変形して細長い管状構造を作る。一方、固体基板で支持した平面脂質膜では BIN1 は膜表面に結合できない。膜の曲率や膜張力に応じて結合能が変化するためと考えられているが、その機構は明確ではない。弾性基板を引っ張った状態で平面脂質二重膜を張り、張力を解放すると脂質膜にリップル構造が形成するため、これにより膜曲率と結合能の相関を明らかにする。

4. 研究成果

I. 一軸伸長探針走査型高速 AFM の開発: 図 1(a)にその概略を示す。一軸伸長デバイスは、i) ステッピングモーターと力伝達機構、ii) 弾性基板を固定するクリップ、iii) 弾性基板を支持するステージ、の3つの主要部分から構成されている。このデバイスは、高速 AFM ステージに取り付けた広視野 XY スキャナーに装備されている。図 1(c)に一軸引張機構の詳細を示す。ステッピングモーターが装置を駆動し、ねじ機構によって回転運動を直線変位に変換する。ステッピングモーターは1パルスあたり 0.036° の角度分解能で駆動され、綿糸製のトラクションストリングを介してクリップに伝達され、両側から基板に均等な張力を加える。AFM 探針を基板中央付近に配置することで、伸長による観察領域のずれを抑制できる。この機構で弾性シートを最大 180%まで伸ばすことができる。

一軸伸長システムの動作評価のため、PDMS 基板上に作製した正方形パターン試料を用いて、最大 70%の引張歪みを加え、その変形を観察した(図 1d)。その結果、70%の歪みを印加してもほぼ同一領域を観察できることが確認された。歪みによるパターンの周期や深さの変化から、局所的な歪みを定量化することができた。また、歪みを加えてもパターンは概ね弾性範囲内にとどまり、歪みを解放すると元の形状に回復することも確認された。

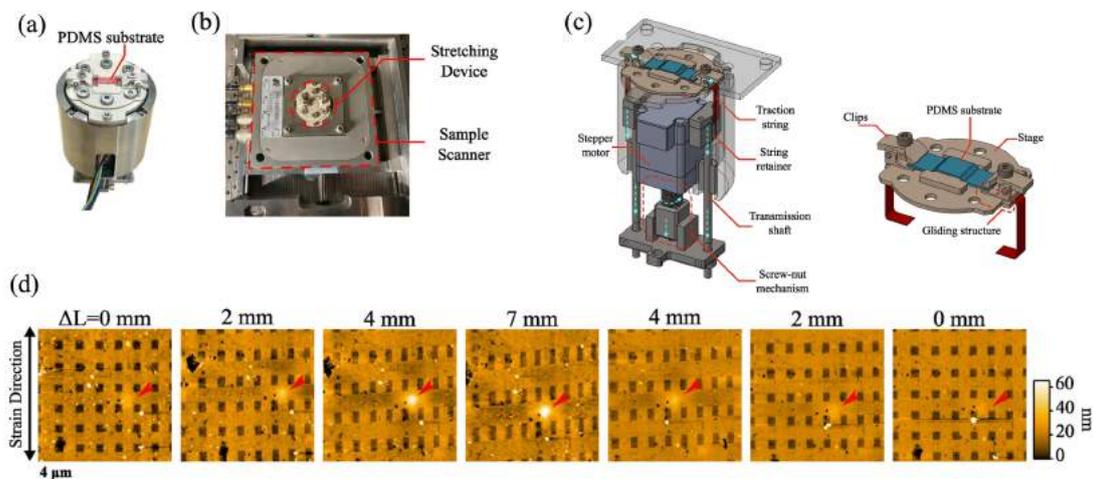


図1 探針走査型高速 AFM に組み入れられた基板伸長デバイス. (a) 伸長デバイスの写真. (b) 伸長デバイスが組み込まれた広視野 XY ステージスキャナー. (c) 探針走査型高速 AFM ヘッドの概略. (d) 伸長デバイスの断面図. 弾性基板(青)を固定するクリップが、トラクションストリング(赤)によって駆動されている. ねじ機構に接続されたステッピングモーターが、伝達ロッドとストリングリテーナを介してトラクションストリングを駆動する.

II. タンパク質への応用

A. 微小管の屈曲誘導：微小管は細胞骨格の中で最も剛直な構成要素であり、細胞力学の理解において重要なターゲットである。特に微小管の屈曲挙動は広く注目されている。本研究では、PDMS 基板上に固定されたキネシンを介して微小管を固定した。キネシンは疎水性のテイル部で PDMS 表面に疎水性相互作用で結合し、反対側の微小管結合部位で微小管を固定する。一軸伸長装置で基板を伸長した状態で微小管を固定し、その後伸長応力を開放して基板を微小管に圧縮歪みを加えた。圧縮前後の画像を比較すると、圧縮後に PDMS 基板に固定された微小管の数が減少していることが分かる(図 2a)。これは、微小管の屈曲が基板との固定点を減少させ、剥離を引き起こしたためと考えられる。また、圧縮による機械的ストレスが微小管の脱重合を誘発した可能性もある。さらに、単一の微小管の屈曲挙動も観察され、圧縮ひずみの増加に伴い屈曲半径が減少することが確認された(図 2b)。屈曲半径は 10%のひずみで 740 nm に達し、11.7%のひずみで微小管が折れ曲がり、部分的に脱重合が始まった。この実験は、伸長装置を用いて微小管

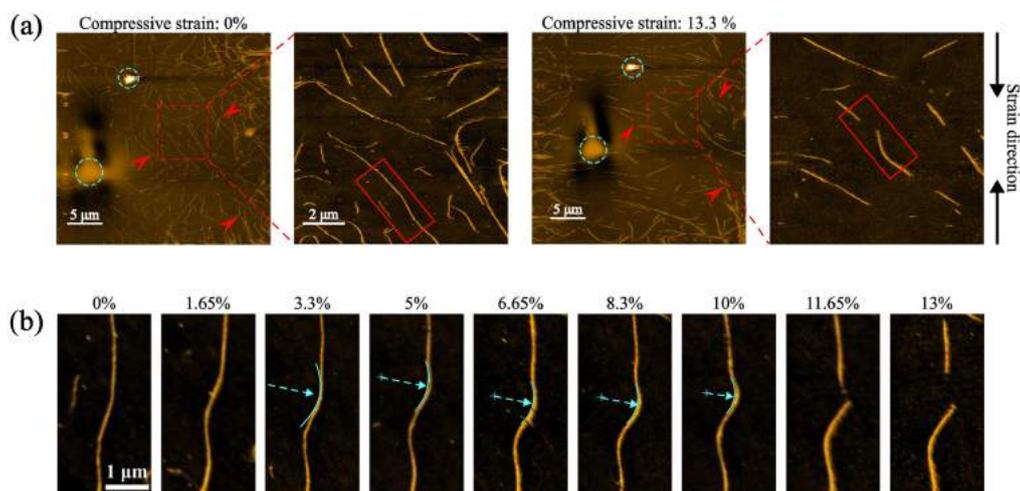


図2 PDMS 基板の圧縮による微小管の座屈. (a) 基板圧縮の前後に撮影した広域 AFM 画像. 円で囲まれた特徴は、実験を通して同一の微小管を識別するために使用された. 矢印は、圧縮荷重で破断した微小管を示す. (b) 0%-13.3%の圧縮ひずみで座屈する微小管.

の曲率を制御する可能性を示し、高速 AFM を用いたナノメカニクス測定によるさらなる研究が期待される。

B. アクチン線維への α -アクチニンの結合：アクチン線維は細胞骨格の一部だが、剛直な微小管とは異なり柔軟である。細胞が外部からのストレスを受けると、アクチン線維は再編成され、架橋タンパク質である α -アクチニンの結合親和性が増加することが知られている。本研究では、伸長装置を用いてひずみ下での α -アクチニンとアクチン線維の結合を観察した。アクチン線維が基板に吸着しつつも適度に移動できるように、脂質二重膜を介して基板に固定した。

PDMS 基板をイオンボンバードメントで親水化し、伸長装置で引張ひずみを加えた。ひずみ方向に対してリップル構造が現れ、20%以上のひずみでピーク間高さが 2 nm の周期的パターンが生成された(図 3a)。脂質二重膜にアクチン線維を吸着させて、30%のひずみを加えると、脂質二重膜とともにアクチン線維も表面のリップル構造に追従した(図 3b)。異なるひずみ条件下で α -アクチニンを注入し、高速 AFM で観察したところ、ひずみを受けた基板上的アクチン線に α -アクチニンが密に秩序立って結合することが確認された(図 3c)。平坦基板では 14.5 nm であった α -アクチニン間の距離が、ひずみ基板では 9.0 nm に縮まった。これは α -アクチニンの結合親和性がひずみによって増加することを示唆している。これらの結果から、伸長装置と高速 AFM を組み合わせることで、アクチン結合タンパク質の力学的感受性の研究に有用であることが示された。

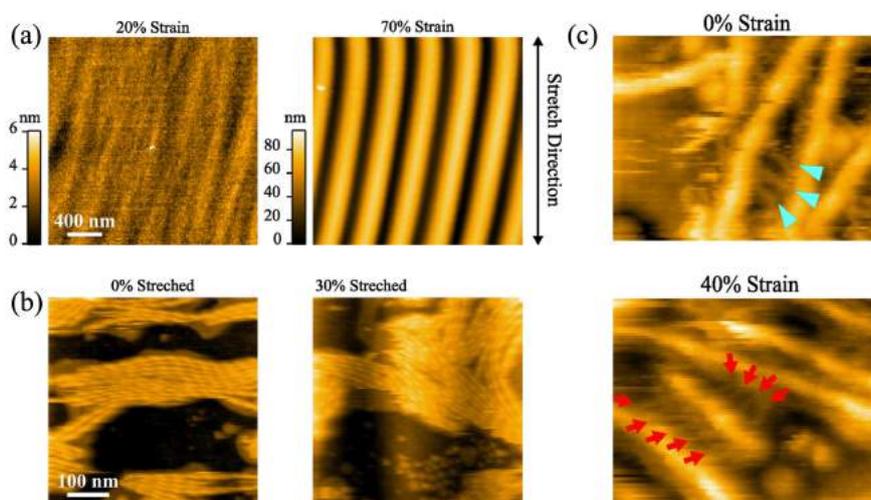


図3 局所的に湾曲した PDMS 表面上で α -アクチニンによって架橋されたアクチン繊維。(a) 引張りにより PMS 表面に形成されたリップル構造。(b) アクチン繊維は局所的な表面曲率に追従し、アクチンの屈曲を制御することが可能になった。(c) 0%ひずみ時(シアン矢じり)と40%ひずみ時(赤矢じり)の α -アクチニンのアクチン線維への結合。

B. 脂質二重膜の曲率制御と結合タンパク質の親和性変化： Bridging Integrator-1 (BIN1) は、脂質の曲率を感知し、エンドサイトーシスや膜輸送に関与するタンパク質である。本研究では、伸長装置を用いて脂質膜に曲率を与え、曲率依存的な BIN1 結合の動態を HS-AFM で観察した。

まず、PDMS 基板を酸化処理し、(3-アミノプロピル)トリエトキシシラン (APTES) で処理することで、負に帯電した脂質二重膜を形成できる正に帯電した表面を作製した。次に、64%PS、2%PI(4,5)P2、14%PE、20%コレステロールからなる脂質混合物を調製し、シラ化 PDMS 表面に吸着させた。

BIN1 K436X の結合動態を観察するため、PDMS 基板に 20%および 40%の引張ひずみを加えたところ、表面には曲率を持つ波打ち構造が現れた。20%および 40%のひずみでの平均曲率はそれぞれ 5.59 および 14.27 μm^{-1} であった。曲率を持つ脂質膜表面では、BIN1 の結合が明確に観察され、特に正の曲率領域に優先的に結合することが示された(図 4a, b)。具体的には、40%ひずみでの BIN1 の結合数は、20%ひずみに比べて約 3 倍に増加し、滞在時間も約 2 倍長くなった(図 4c)。これにより、BIN1 は大きな曲率を持つ表面に対して高い親和性を示すことが明らかになった。本研究は、脂質曲率と BIN1 結合の関係を分子レベルで直接測定できる新しい方法を示している。

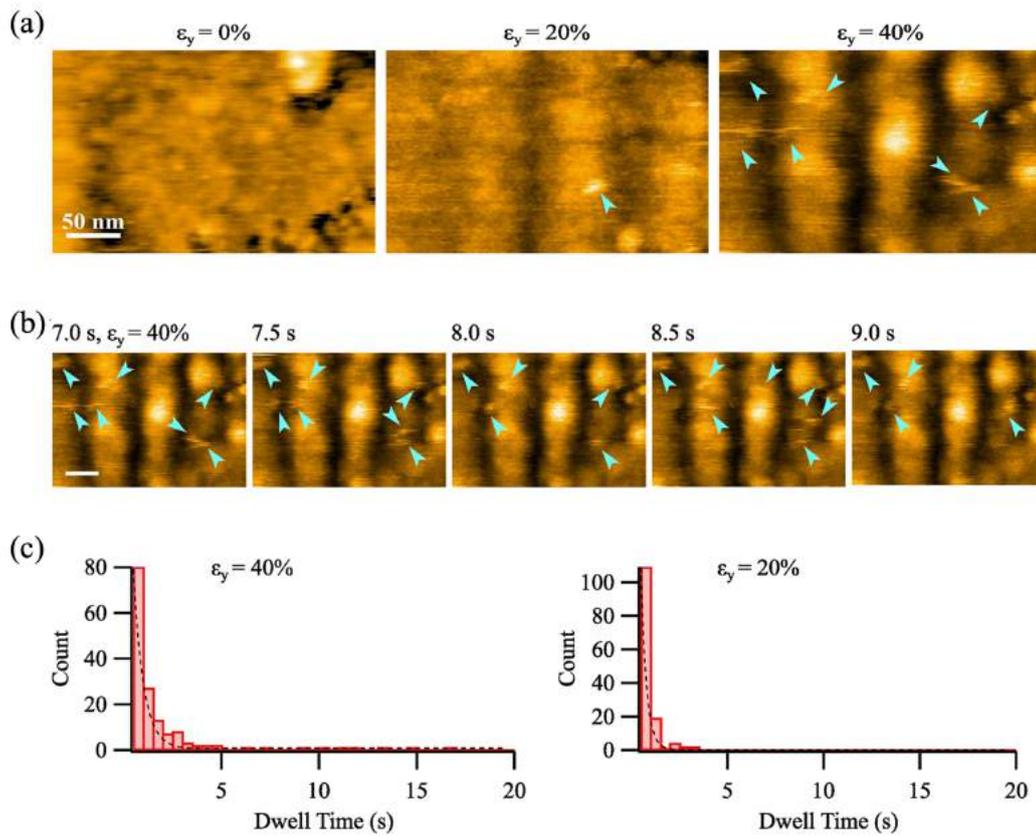


図4 BIN1 の脂質二重膜表面への曲率依存的結合. (a) 0, 20, 40%の歪みを印加した際の湾曲した脂質膜とBIN1の結合. 150×105 pixels. 撮像レートは 0.5 s/frame. (b) 40%歪みを印加時の脂質膜へのBIN1の動的結合・解離過程のスナップショット. スケールバー: 50 nm, 150×105 pixels, 撮像レート: 0.5 s/frame. (c) BIN1の滞留時間のヒストグラム. 破線は指数関数によるフィッティング曲線. 40%と20%歪み印加時の滞在時間はそれぞれ $\tau_{40\%} = 3.77 \pm 0.06$ s と $\tau_{20\%} = 1.83 \pm 0.09$ s.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Nishiguchi Shigetaka, Furuta Tadaomi, Uchihashi Takayuki	4. 巻 119
2. 論文標題 Multiple dimeric structures and strand-swap dimerization of E-cadherin in solution visualized by high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2208067119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2208067119	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 Chan Feng-Yueh, Kurosaki Ryo, Ganser Christian, Takeda Tetsuya, Uchihashi Takayuki	4. 巻 93
2. 論文標題 Tip-scan high-speed atomic force microscopy with a uniaxial substrate stretching device for studying dynamics of biomolecules under mechanical stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Review of Scientific Instruments	6. 最初と最後の頁 113703 ~ 113703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0111017	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 Nishizawa Yuichiro, Inui Takumi, Namioka Ryuji, Uchihashi Takayuki, Watanabe Takumi, Suzuki Daisuke	4. 巻 38
2. 論文標題 Clarification of Surface Deswelling of Thermoresponsive Microgels by Electrophoresis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 16084 ~ 16093
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.2c02742	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 Uchiyama Taku, Uchihashi Takayuki, Ishida Takuya, Nakamura Akihiko, Vermaas Josh V., Crowley Michael F., Samejima Masahiro, Beckham Gregg T., Igarashi Kiyohiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Lytic polysaccharide monooxygenase increases cellobiohydrolases activity by promoting decrystallization of cellulose surface	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eade5155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.ade5155	査読の有無 無
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 Rashid Mst. Rubaya, Ganser Christian, Akter Mousumi, Nasrin Syeda Rubaiya, Kabir Arif Md. Rashedul, Sada Kazuki, Uchihashi Takayuki, Kakugo Akira	4. 巻 52
2. 論文標題 3D Structure of Ring-shaped Microtubule Swarms Revealed by High-speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 100 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220491	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 Matsuo Yoshitaka, Uchihashi Takayuki, Inada Toshifumi	4. 巻 14
2. 論文標題 Decoding of the ubiquitin code for clearance of colliding ribosomes by the RQT complex	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-35608-4	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 Soon Julian Wong, Oohora Koji, Uchihashi Takayuki, Hayashi Takashi	4. 巻 52
2. 論文標題 Disulfide Bond-mediated Oligomerization of a Green Fluorescent Protein in Solution	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 105 ~ 109
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220495	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 Ayuko Sakane, Taka-aki Yano, Takayuki Uchihashi, Kazuki Horikawa, Yusuke Hara, Issei Imoto, Shusaku Kurisu, Hiroshi Yamada, Kohji Takei and Takuya Sasaki	4. 巻 4
2. 論文標題 JRAB/MICAL-L2 undergoes liquid-liquid phase separation to form tubular recycling endosomes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02080-7	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 Bhaskar Dasgupta, Osamu Miyashita, Takayuki Uchihashi and Florence Tama	4. 巻 8
2. 論文標題 Reconstruction of Three-Dimensional Conformations of Bacterial ClpB from High-Speed Atomic-Force-Microscopy Images	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences: Biological Modeling and Simulation	6. 最初と最後の頁 704274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2021.704274	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 Kazuhisa Miyazawa, Satoru G. Itoh, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Saeko Yanaka, Maho Yagi-Utsumi, Koichi Kato, Kazuharu Arakawa, and Hisashi Okumura	4. 巻 125
2. 論文標題 Tardigrade Secretory-Abundant Heat-Soluble Protein Has a Flexible α -Barrel Structure in Solution and Keeps This Structure in Dehydration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 9145_9154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.1c04850.	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 Syeda Ruvaiya Nasrin, Christian Ganser, Seiji Nishikawa, Arif MD. Rashedul Kabir, Kazuki Sada, Takefumi Yamashita, Mitsunori Keguchi, Takayuki Uchihashi, Henry Hess, and Akira Kakugo	4. 巻 7
2. 論文標題 Deformation of microtubules regulates translocation dynamics of kinesin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabf2211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abf2211	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 該当する

1. 著者名 Maho Yagi-Utsumi, Kazuhiro Aoki, Hiroki Watanabe, Chihong Song, Seiji Nishimura, Tadashi Satoh, Saeko Yanaka, Christian Ganser, Sae Tanaka, Vincent Schnapka, Ean Wai Goh, Yuji Furutani, Kazuyoshi Murata, Takayuki Uchihashi, Kazuharu Arakawa and Koichi Kato	4. 巻 11
2. 論文標題 Desiccation-induced fibrous condensation of CAHS protein from an anhydrobiotic tardigrade	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-00724-6	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 Masaru Yamanaka, Tsuyoshi Mashima, Michio Ogihara, Mei Okamoto, Takayuki Uchihashi, and Shun Hirota	4. 巻 16
2. 論文標題 Construction of ferritin hydrogels utilizing subunit_subunit interactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0259052
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0259052	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 Mizuki Sumikawa, Rei Abe-Yoshizumi, Takayuki Uchihashi, and Hideki Kandori	4. 巻 12
2. 論文標題 Molecular Origin of the Anomalous pH Effect in Blue Proteorhodopsin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 12225-12229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.1c03355	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 Yutaro Yamashita, Shohei Tashiro, Yoshiki Ishii, Takayuki Uchihashi, Nobuyuki Matsushita, Ryou Kubota, and Mitsuhiro Shionoya	4. 巻 51
2. 論文標題 Shape-selective one-step synthesis of branched gold nanoparticles on the crystal surface of redox-active PdII-macrocycles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 1318-1324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1DT03973C	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 Kosuke Kikuchi, Tatsuya Fukuyama, Takayuki Uchihashi, Tadaomi Furuta, Yusuke T. Maeda, and Takafumi Ueno	4. 巻 18
2. 論文標題 Protein Needles Designed to Self-Assemble through Needle Tip Engineering	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Small	6. 最初と最後の頁 2106401
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/smll.202106401	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 Saeko Yanaka, Shigetaka Nishiguchi, Rina Yogo, Hiroki Watanabe, Jiana Shen, Hirokazu Yagi, Takayuki Uchihashi, and Koichi Kato	4. 巻 23
2. 論文標題 Quantitative Visualization of the Interaction between Complement Component C1 and Immunoglobulin G: The Effect of CH1 Domain Deletion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences,	6. 最初と最後の頁 2090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23042090	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8件(うち招待講演 8件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 内橋 貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡による生体高分子の動的挙動観察
3. 学会等名 第71回高分子討論会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T. Uchihashi
2. 発表標題 How to interpret movies of protein dynamics captured by high-speed AFM? ~ Significance of bridging experimental data and computational/mathematical simulations ~
3. 学会等名 蛋白研セミナー: Frontier of Dynamic Structural Biology (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内橋 貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡の最近の応用展開と機能拡張
3. 学会等名 日本顕微鏡学会バイオSPM研究会2022 -最新SPM計測技術とその応用展開: 生体分子・細胞・組織- (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内橋 貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡の分子ダイナミクス計測への応用と機能拡張
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第47回関東支部講演会「尖った顕微鏡計測の最前線」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内橋 貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡を用いた生体/人工高分子のダイナミクス解析
3. 学会等名 高分子のためのキャラクタリゼーションセミナー2022(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡で撮影するタンパク質の機能動態
3. 学会等名 第21回 日本蛋白質科学会年会: WS5. 高速分子動画: タンパク質の構造機能相関研究の最先端(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速AFMによる高分子ゲル微粒子の構造物性動態イメージング
3. 学会等名 第70回高分子討論会: S6. ソフトマテリアルイメージングの最前線(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡で可視化する生体/人工分子の一分子ダイナミクス
3. 学会等名 明治薬科大学大学院フロンティアシンポジウム：生命への架け橋（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 内橋貴之	4. 発行年 2021年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 576
3. 書名 「図説 表面分析ハンドブック」(日本表面真空学会 編集)：23.8「高速原子間力顕微鏡」	

1. 著者名 Tetsuya Mori and Takayuki Uchihashi	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 -
3. 書名 "Single-Molecule Methods Applied to Circadian Proteins with Special Emphasis on Atomic Force Microscopy": pp. 147-178 in Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes (C. H. Johnson and M. J. Rust Eds)	

1. 著者名 内橋貴之	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 368
3. 書名 実験医学別冊 「創薬研究のための相互作用解析パーフェクト：低中分子・抗体創薬におけるスクリーニング戦略と実例、in silico解析、一歩進んだ分析技術まで」(津本浩平，前仲勝実 編)：第3章 ひとつ進んだ相互作用の理解をめざして：5. 高速原子間力顕微鏡によるタンパク質間動的相互作用の一分子計測	

1. 著者名 Christian Ganser and Takayuki Uchihashi	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 -
3. 書名 "Microtubule Preparation for Investigation with High-Speed Atomic Force Microscopy": PART V: Analysis of Microtubule Dynamics and Structures, 22 in Microtubules : Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology) (Hiroshi Inaba Ed.)	

〔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1件

国際研究集会 AFM Biomed Conference 2022	開催年 2022年 ~ 2022年
--------------------------------------	----------------------

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