

戦略的創造研究推進事業 CREST

研究領域「生命現象の解明と応用に資する新しい
計測・分析基盤技術」

研究課題「蛋白質の折り畳み運動解明を目指した
一分子観測法の確立」

研究終了報告書

研究期間 平成 16年 10月～平成 22年 3月

研究代表者：高橋 聡

(東北大学多元物質科学研究所、教授)

§ 1 研究実施の概要

本研究は、1) 蛋白質が一分子レベルで折り畳まれる運動を連続観察する実験手法の開発、2) この手法により得られた一分子時系列データを解析する理論の開発、3) 蛋白質の水和環境を解析する手法の開発、などを目的として計画された。さらに、4) 開発した手法を熱安定性の異なる一連の相同蛋白質を対象に適応し結果を比較することで、水溶液中において蛋白質が自発的に折り畳まれる特性を理解すること、を目標とした。以上の目的のために、四つの研究グループにおける個別テーマを追求するとともに、全グループ参加の進捗報告会を頻繁に開催した。研究期間の後半では、グループ間の共同研究を積極的に追求した。

高橋グループは、はじめに、蛋白質試料を一分子レベルで長時間観察する新規手法を開発した。さらに、一分子データの取得をより容易にするために、反射放物面鏡を主要部品とした新規光学系を開発した。また、高時間分解能で一分子観察を可能にするラインフォーカス型共焦点顕微鏡を開発した。以上の装置を、酵母由来のシトクロム *c* や三本木グループにより提供された熱安定性の異なるシトクロム *c* の変性状態や折り畳み中間状態に適応し、変性状態における運動性を確認した。また、小松崎グループと共同し、一分子データを解析する手段を開発した。高橋グループにおける以上の努力により、水溶液中において機能する蛋白質を、一分子レベルで基板に固定化することなく長時間観察する実験が、容易な手法として定着しつつある。

三本木グループでは、生育温度の異なる7種類のシトクロム *c* を発現、精製する手法を確立するとともに、各シトクロム *c* の物理化学的、および、生化学的な特性を明らかにした。特に、SV シトクロム *c* の安定化機構の研究と、AA シトクロム *c* の特異な生合成過程の研究を進め、AA シトクロム *c* の構造を初めて明らかにした。さらに、多くの試料を高橋グループと鈴木グループに提供した。三本木グループにおける以上の努力により、ほぼ同じ構造に折り畳まれる一連の蛋白質が、熱安定性などの物理化学的な物性においても、生合成経路という生化学的な特性においても、幅広い違いを示すことが明らかとなった。

小松崎グループでは、一分子観察から得られたデータの解析と解釈の新しい手法を開発した。一分子観測法により得られるデータを解釈する際に、系を記述するモデルや方程式を設定せずに、データから構造遷移の複雑ネットワーク構造ならびに多次元自由エネルギー地形を再構成する手法を開発した。さらに、遷移の非統計性と分子記憶の関係、遷移状態概念の再考、熱揺らぎと蛋白質ダイナミクスのあいだの競合や協同性を解明し、「ダイナミクスから見た」蛋白質の構造構築原理の解明を目指した。

鈴木グループでは、蛋白質の水和環境を観察するための誘電スペクトル測定装置の開発を進め、得られたデータから蛋白質の水和環境を推定する解析手法を開発した。これにより、天然状態から変性状態に至る蛋白質の水和状態の定量的評価法の確立を目指した。開発した方法を三本木グループから提供されたシトクロム *c* の水和状態解析に応用し、高橋グループで実施する折り畳

み運動の特性評価や三本木グループの研究成果と合わせて総合的に考察した。

以上の研究テーマの追求の他に、生物物理学会年会(福岡、2008年)における国際シンポジウムを、JST 戦略的創造研究推進事業国際強化支援策のサポートにより開催するなど、構成メンバーが複数の国際シンポジウムを積極的に企画した。また、John Wiley & Sons 社より、*Advances in Chemical Physics* 誌の特集号「Single Molecule Biophysics: Experiments and Theories」を共編出版(2010年出版予定)するなど、研究成果の普及と成果を基にした国際的な研究者コミュニティの構築を行った。

本研究の直接の成果は、発表論文数や論文の質、学会発表などに反映されている。また、数字には表れにくい成果は、一分子時系列データと水和情報を基にした蛋白質のダイナミクス解明が、新しい研究の潮流として研究分野に認識されはじめていることに表れている。本研究期間の終了後も、これまでに確立した学問的基盤と国内外にわたる研究者ネットワークを活かし、研究を発展させたいと考えている。

§ 2. 研究計画に対する成果

(1) 当初の研究構想

蛋白質は、アミノ酸の配列によって規定される特定の構造に自発的に折り畳む性質を持つポリペプチド鎖である。蛋白質が折り畳む性質を理解することで、任意の構造を持つ蛋白質をデザインするなどの応用が可能になると予想される。本計画では、蛋白質が折り畳む性質を理解することを目的として、蛋白質一分子が折り畳むダイナミクスを観測し、得られるデータを解析する手法を開発すること、さらに、開発した手法を使って熱安定性の異なる蛋白質の性質を比較する研究を展開することを構想した。

変性した蛋白質とは、無数の異なる構造を持つ分子の集合体である。従って、変性した蛋白質が折り畳む過程では、多数の構造間を複雑にジャンプする運動が関与すると思われる。しかし、これまでの手法では、このような運動を観察することが不可能だった。この過程を直接一分子観察することで、蛋白質の折り畳みに関する理解が大きく進むと期待される。

本研究では、第一に蛋白質の折り畳み運動を観測するための新しい一分子実験法の開発を計画した。この手法を開発することで、蛍光ラベルした蛋白質を、レーザー光を照射したキャピラリーに一分子ごとに流し、分子が流れながら発する蛍光を輝線として検出できると期待した。本研究テーマは、大阪大学(平成 21 年度から東北大学に異動)における高橋グループが主に担当した。

本研究の第二のプロジェクトとして、一分子観察から得られたデータの解析と解釈の手法の開発を計画した。本研究で開発する一分子観測法で得られるデータを基にすることで、遷移の非統計性と分子記憶の関係、遷移状態概念の再考、熱揺らぎと蛋白質ダイナミクスのあいだの競合や協同性など、多面的な分子ダイナミクスの理解が進むと期待した。本研究テーマは、神戸大学(平成 19 年度より北海道大学に異動)における小松崎グループが担当した。

本研究の第三のプロジェクトとして、一分子観察に適した蛍光ラベル化蛋白質の製作と、異なる熱安定性を持つ蛋白質の特性を比較することを計画した。ほぼ同じ構造を持ちながら、100℃にもわたる熱安定性の差を示す複数の蛋白質について、一分子レベルの折り畳み運動を観察することで、熱揺らぎを蛋白質が利用する特性について知見が得られると期待した。本研究テーマは、広島大学における三本木グループが担当した。

以上の三グループにおける研究を推進するとともに、生物物理学(高橋)、理論物理学(小松崎)、生物学(三本木)という異なる領域を専門とする研究者間の理解を深めるために、全グループ参加の進捗報告会を頻繁に開催し、博士研究員や学生を含めた参加者全員による徹底的な討議を行うことを通じて相互理解を深めた。また、グループリーダーが他のグループを訪問して行う集中講義や、構成メンバーによる一週間から一カ月程度の国内短期留学などの取り組みも行った。

本計画で開発する観測手法、データ解析方法、試料調整方法は、熱安定性が異なるシトクロム *c* などの多様な一分子折り畳み運動を、光学基板の影響を除いた環境下で長時間観察することを

可能とする。本研究プロジェクトを通じて、一分子時系列情報を基に自由エネルギー地形を構築し、変性状態を含んだ蛋白質全体を俯瞰できる新たなバイオインフォマティクスにつながる、新しい一分子観察手法を確立できると期待した。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

当初の計画に従って研究を進める中で、蛋白質の特性を理解するには、蛋白質の水和環境についての探索が不可欠であり、メンバーを補強して新しい研究グループを立ち上げるべきとの結論に達した。特に、蛋白質の水和状態を定量的に求める唯一の手段である誘電スペクトルの観測が必要だと考えた。そのため、平成 18 年度より、鈴木グループ（東北大学）を新たに立ち上げ、シトクロム *c* の水和環境を実験的に探求する研究テーマを追加した。具体的には、鈴木グループにおいて、蛋白質の水和環境を観察するための実験方法とデータ解析方法を開発する計画とした。さらに、三本木グループから提供される一連の蛋白質の水和環境を観測することを目的とした。

§3 研究実施体制

(○：研究代表者または主たる共同研究者)

(1) 高橋グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	高橋 聡	東北大学 (研究開始当時 大阪大学)	准教授～ 教授	H16.10～22.3 <small>H21年4月1日付教授採用</small>
	鎌形 清人	東北大学 (研究開始当時 大阪大学)	特任研究員～ 助教	H18.4～22.3 <small>H21年4月1日付助教採用</small>
	小井川 浩之	東北大学 (研究開始当時 大阪大学)	特任研究員	H20.7～22.3
	鎌形 絵梨子	東北大学	技術補佐員	H21.4～22.3
	木下 雅仁	大阪大学	M2～D3	H16.10～20.3
	前田 晃央	大阪大学	M1～M2	H17.4～19.3
	小沼 剛	大阪大学	M2～D3	H18.4～22.3
	辰巳 哲馬	大阪大学	M1～M2	H18.4～20.3
	藤本 和也	大阪大学	M1～M2	H19.4～22.3
	門脇 喬之	大阪大学	M1～M2	H20.4～22.3
	山森 明弘	大阪大学	B4～M2	H19.4～22.3

② 研究項目

新しい一分子観察法の開発と折り畳み運動の測定

(2) 三本木グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	三本木 至宏	広島大学	准教授	H16.10～22.3
	園山 貴文	広島大学	M1～D3	H16.10～20.9
	山中 優	広島大学	B4～D3	H16.10～22.3
	小河 啓子	広島大学	M2	H18.4～19.3
	袴田 さやか	広島大学	M1～M2	H18.4～20.3
	武田 拓	広島大学	B4～M2	H17.4～20.3
	大淵麻利衣	広島大学	M2	H19.4～20.3

	小林 慶子	広島大学	M1～M2	H19.4～21.3
	佐野 涼子	広島大学	M1～M2	H20.4～22.3
	竹中 聖	広島大学	M1～M2	H20.4～22.3
	古賀 彩	広島大学	M1	H21.4～22.3
	井上 寛基	広島大学	M1	H21.4～22.3

② 研究項目

蛍光ラベル蛋白質の調製と物理化学測定

(3) 小松崎グループ(北海道大学電子科学研究所電子計測制御部門)

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	小松崎民樹	北海道大学 (研究開始当時 神戸大学)	准教授～ 教授	H16.10～22.3 H19年10月1日付教授採用
	Li, Chun Biu	北海道大学 (研究開始当時 神戸大学)	研究員～ 准教授	H16.12～22.3 H20年3月1日付准教授採用
	馬場昭典	北海道大学 (研究開始当時 神戸大学)	研究員	H16.12～22.3
	寺本央	北海道大学 (研究開始当時 神戸大学)	研究員～ 助教	H19.4～22.3 H20年6月16日付助教採用
	清一人	神戸大学	D1～D3	H18.4～22.3
	伊藤正寛	北海道大学	研究員	H21.6～22.3
	Demirplak, Must	神戸大学	研究員	H18.7～H19.6 転出⇒Fatih 大学(トルコ) Assistant Professor
	松永康佑	神戸大学	D2～研究 員	H16.10～H19.6 転出⇒横浜市立大学大学院国際総合 科学研究科博士研究員
	Tahmina Sultana	北海道大学	D1	H21.10～22.3
	Mesfin Asfaw	北海道大学	研究員	H21.8～22.3
	納多哲史	神戸大学	D1～D3	H17.4～H20.9
	中村友昭	神戸大学	M1	H19.4～H20.3

② 研究項目

一分子観察実験のための新しいデータ解析手法の開発

(4) 鈴木グループ

① 研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
--	----	----	----	------

○	鈴木 誠	東北大学	教授	H18.4～22.3
	森本展行	東北大学	准教授	H21.4～22.3
	陳 強	東北大学	准教授	H18.4～20.3
	宮崎 崇	東北大学	助手	H18.4～21.3
	和沢 鉄一	東北大学	産学連携研究員	H18.4～22.3
	最上讓二	東北大学	M1～D3	H18.4～21.3
	佐藤 淳	東北大学	M2	H18.4～19.3
	齋藤 静香	東北大学	M2	H18.4～19.3
	丹野則彦	東北大学	M2～D3	H18.4～22.3
	干欣穎	東北大学	M2	H18.4～19.3
	小川 翼	東北大学	M2～D2	H19.4～22.3
	神戸克仁	東北大学	M2	H19.4～20.3
	西田 誠	東北大学	M2	H19.4～20.3
	内橋 昭仁	東北大学	M2	H20.4～21.3
	土肥亜由美	東北大学	M2	H21.4～22.3
	土子 哲	東北大学	M2	H21.4～22.3
	宮下 雄介	東北大学	M1	H21.4～22.3

② 研究項目

蛋白質水和情報の抽出法の開発

§ 4 研究実施内容及び成果

§ 4. 1 新しい一分子観察法の開発と折り畳み運動の測定（東北大学 高橋グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

① 研究のねらい

高橋グループでは、「I 新しい一分子観察法の開発」と「III シトクロム *c* を使った一分子観察実験」の二つの研究項目を担当した。第一の研究項目では、蛋白質の折り畳み運動を観測するための新しい一分子実験法を開発することを目指した。この手法では、蛍光ラベルした蛋白質を、レーザー光を照射したキャピラリーに一分子ごとに流し、分子が流れながら発する蛍光を輝線として検出する。この手法により、蛋白質を光学基板に固定化することなく、長時間にわたって一分子観察することを目的とした。第二の研究項目では、開発した装置を使うことで、変性温度の異なるシトクロム *c* の折り畳み運動を一分子レベルで観測・比較することで、蛋白質が折り畳む特性の解明を目指した。

② 研究実施方法

高橋グループが担当した研究項目の「I 新しい一分子観察法の開発」に対して、以下の小項目を設定し、各項目を段階的に実施した。

- I-a 一分子蛍光観測装置の開発
- I-b 長時間データ取得法の開発
- I-c 蛍光分光装置の導入
- I-d 一分子観測混合セルの開発
- I-e 一分子観察用新規集光系の開発
- I-f 一分子観察用共焦点顕微鏡の製作
- I-g ラインフォーカス型共焦点顕微鏡の製作
- I-f 一分子蛍光像の収差をなくす特殊角形キャピラリーセル及びセルホルダーの製作

同様に、高橋グループが担当した第二の研究項目である「III シトクロム *c* を使った一分子観察実験」に対して、以下の小項目を設定した。

- III-a 色素一つを修飾したシトクロム *c* の一分子観察
- III-b 長時間過程の一分子観察
- III-c 色素二つを修飾したシトクロム *c* の観察
- III-d 熱安定性の異なるシトクロム *c* の一分子観測
- III-e 混合装置を使った非平衡条件での一分子観測

III-f 異なる蛋白質の自由エネルギー地形の解析

以上のなかで、I-b は、第三年次に開発をいったん中止した後に、最終年度に研究対象として再び取り上げた。一方で、III-c は研究計画を変更し実際には実施しなかった。多くの研究項目で顕著な成果を挙げた。

③ 研究成果

研究項目「I 新しい一分子観察法の開発」において設定した8つの小項目の中で、主な研究成果を説明する。簡便のために、以下の説明は成果として達成した順に行い、小項目の順とは一致していない。

一分子蛍光観測装置の開発(I-a)。蛋白質を一分子レベルで観察するために、蛍光色素を蛋白質にラベル化し、色素の発する蛍光を一分子レベルで検出する手法が用いられる。しかし、一分子蛍光観察のための従来方法は、蛋白質を光学基板に固定するなどの作業が必要であり、蛋白質の折り畳み過程の観察に応用しようとする場合には、さまざまなアーティファクトを引き起こすなどの問題が存在した。本研究では、蛍光色素をラベル化した蛋白質をフローセルに一分子レベルで流し、フローセルに励起レーザーを導入することで、蛋白質が蛍光を発しながら流れる過程をイメージングすることで、基板に固定しない一分子の連続観察を目指した。

試行錯誤の後に我々が開発した装置の概略図を図1に示す。この装置は、内径 50 μm のフローセル、フローセルに蛋白質試料を導くための送液ポンプ、蛍光色素を励起するための半導体レーザー、蛍光を集光するためのレンズ、蛍光検出のための EMCCD カメラにより構成される。このシステムのポイントは、一分子観察に使われる集光光学系としては開口率が比較的小さいレンズを使用して蛍光をイメージングしていることである。これにより、内径が 50 μm のフローセル断面のどの部分を分子が通過しても、ぼやけさせることなしに一分子を輝線として検出することを可能にした。このため、ぼやけた分子に由来するバックグラウンドの上昇を抑えて一分

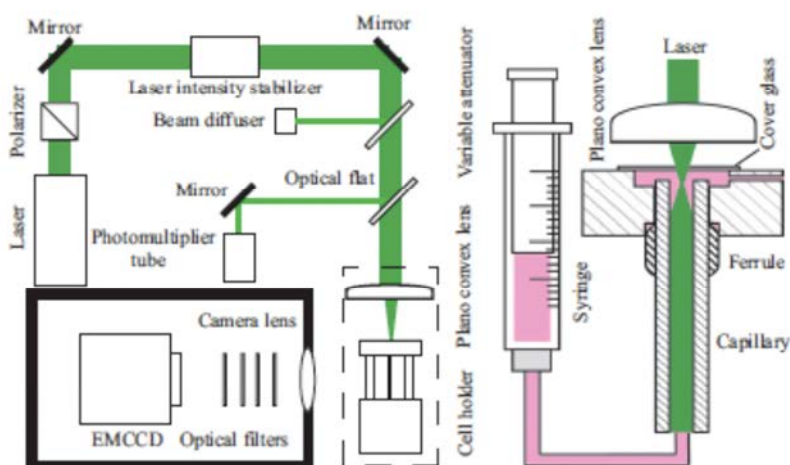


図1：開発した一分子観測装置の概略図 内径 75 μm のキャピラリーに蛍光色素ラベルした蛋白質の希薄溶液を流す。励起レーザーを、キャピラリーに沿って導入し、蛋白質からの蛍光を輝線として観測する。

子観測を行うことが可能になった。このシステムにより、ミリ秒程度の時間分解能で、基板に固定しない一分子を、数十ミリ秒程度の長さで一分子観測することが可能になった。

一分子観察用新規集光系の開発

(I-e)。上記で開発した一分子観察装置は、比較的 S/N 良く一分子時系列データを得ることができる利点を持つが、試料を極端な低濃度で観測する必要があるために、試料の送液系への吸着が起こりやすく、再現性のよい一分子観察が大変難しいという問題点があった。この問題点が存在するために、この手法を一般的に応用することは大変困難であった。そこで、より容易に一分子観察を行うための装置の改良を徹底的に行った。

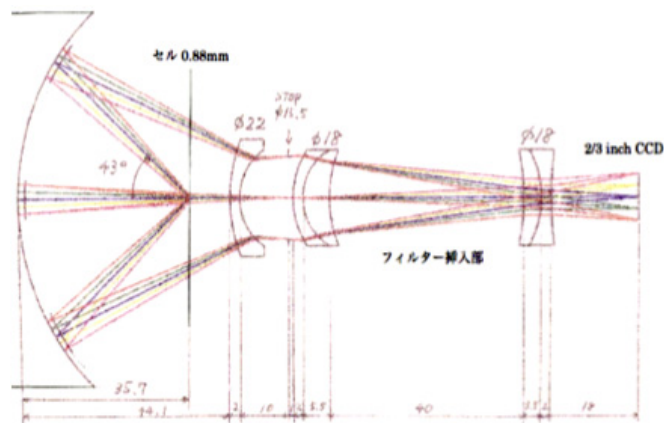


図 2 反射放物面鏡を基礎とした新規集光システムの光学設計。

第一の改良点は、反射放物面鏡を基礎とした新規集光システムを開発したことである(図2)。一般に、一分子観察に用いられる顕微レンズは開口率と拡大倍率がともに大きい特性を持つ。そのため、蛍光を集光する効率は良いけれども、焦点深度が浅く、視野も狭いという欠点も持っている。一方で、我々が開発した反射集光システムは、高い開口率を持ちながら拡大倍率が小さいというユニークな特性を持つ。そのため、ぼやけてイメージされる分子の割合を減らすとともに、高い集光効率を達成できた。

第二の改良点は、内径の小さなフローセルでも対応できる超低速送液システムの導入である。フランスの Fluigent 社が開発した圧力差をコントロールする送液システムは、ナノリットル毎分の超低流速を脈流なく達成できる。この送液システムを日本で最初に導入することで、内径が 10 μm 以下のフローセルを用いても、十分にゆっくりと試料溶液を送液することに成功した。内径が小さなフローセルを用いることは、比較的高濃度の試料を用いても、一分子観察が可能になることを示している。濃度が高い試料を用いることで、試料の送液システムへの吸着の効果を最低レベルにまで抑えることが可能になる。

第三の改良点は、小項目(一分子蛍光像の収差をなくす特殊角形キャピラリーセル及びセルホルダーの製作(I-g))と対応した新規フローセルの開発である。我々が開発した光学系は、断面が円形のフローセルを用いると結像が悪くなり、一分子を点としてイメージできない。内径が 50 μm のフローセルの場合は、イメージの質を落とさない角形のキャピラリーが市販されていたが、内径を 10 μm 以下にしたキャピラリーでは、断面が角形のキャピラリーが市販されていない。広範囲の業者

に特性のキャピラリーセルの製作の可能性を問い合わせたところ、ただ一社のみが製作を請け負って下さった。このセルを用いることも、装置の完成に必須であった。

第四の改良点として、蛍光ドナーとアクセプターをラベルした試料を用いて、両方の色素の発光を分光検出する装置を製作した。波長の異なる蛍光像を CCD の異なる領域にイメージングすることで、二つの蛍光色素間のエネルギー移動効率の観測が可能になった。

以上の改良を重ねることで、極めて実用的な一分子観察装置が完成した。この装置を用いることで、蛍光色素をラベル化した試料さえ用意すれば、実験を開始して一年程度の学生でも、一日の努力で多数の一分子観察を行うことが可能になった。

長時間データ取得法の開発 (I-b)。研究を開始して最初の二年間の努力で、試料を比較的ゆっくり流すことで、数百ミリ秒程度の長さの一分子データを検出するシステムを構築した。しかし、より長い時間の一分子観察は難しく、根本的な改善は上記で説明した項目（一分子観察用新規集光系の開発 (I-e)）が開発した後の最終年度に達成した。

上記で説明した一分子観察のための新規集光系では、Fluigent 社の送液システムを導入した。この送液システムは、超低流速での送液ができるとともに、フローを任意のタイミングで瞬時に止めることが可能である。従って、観察したい分子が集光系の中央付近に流れてきたらフローを止め、分子を光学系の中心部にトラップすることで、長時間の観察が可能になる。具体的には、一分子データを数秒以上の長時間にわたって得ることが可能になった(図3)。

フローを止めることで分子をトラッピングし、長時間の一分子観察が可能になったのは、放物面鏡を主体とした新規光学系を開発できたことが大きな要因である。通常の顕微鏡を使ったシステムでは、一分子を観察できる空間が狭いために、フローを止めても極めて短時間(ミリ秒程度)に分子が拡散してしまい、長時間の継続観察は不可能である。このように、開発した光学系はさまざまな応用研究に展開が可能である。

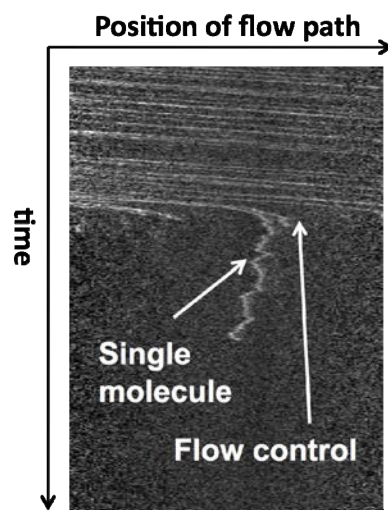


図3 フロートラッピングによる一分子の長時間観察。図の横軸はフローセル上の位置、縦軸は観測時間に対応する。フローを止めることで一分子(白線)の数秒以上の観察が可能になった。

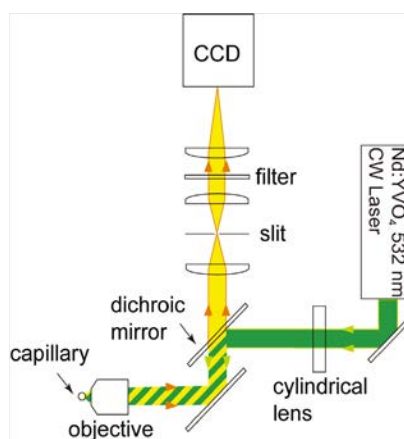


図4 ラインフォーカス型共焦点顕微鏡の概略図。空間フィルターとしてスリットを用い、キャピラリー(紙面に垂直方向に向いている)のイメージングを可能にする。

ラインフォーカス型共焦点顕微鏡の製作 (I-g)。第四年次から、新しい一分子のフロー観察のアイデアとして、ラインフォーカス型の共焦点顕微鏡の開発を開始した。通常の共焦点顕微鏡は、背景光を極端に減らした条件で一分子観察が可能である特徴を持つが、一分子を顕微鏡の焦点を通り過ぎる一瞬しか観察することができない。そこで、我々は比較的倍率の小さな顕微鏡を使い、通常の共焦点顕微鏡のピンホール型空間フィルターにあたる部分に、スリット型の空間フィルターを導入することで、分子が流れながら蛍光を発する過程を継続観察することを可能にした(図4)。開発した顕微鏡を、ラインフォーカス型共焦点顕微鏡と名付けた。

ラインフォーカス型共焦点顕微鏡の特徴は、背景光が大変少ない条件で、高時間分解能の一分子観察が可能であることである。これまでの実験で、100 マイクロ秒程度の時間分解能を容易に達成できることが判っている。さらに、平面型の微細加工光学セルを組み合わせられることも特徴である。例えば、PDMSなどのシリコン素材を使って流路の深さが2 μ mの極端に狭いセルを自由に工作し、一分子観察に用いることが可能になった。

そのほかの装置開発研究として「**蛍光分光装置の導入 (I-e)**」と「**一分子観測混合セルの開発 (I-d)**」を行った。前者の項目は、複数の蛍光色素をラベルした蛋白質について、蛍光波長を分離してデータを得ることを目的とした。このために、光学スループットが高いプリズム分光器を製作し、フローセルの軸上の異なる点から蛍光をイメージング分光することを可能にした。後者の項目では、鞘流セルを製作した。このセルでは、試料溶液とキャリアー溶液を流路に導入し、試料溶液を流路の中心部に、キャリアー溶液を流路の周辺部に、二層のさや状に流すことを可能にしている。このセルを用いることで、試料溶液とキャリアー溶液の拡散による混合が可能である。そのため、このセルを用いることで、溶液混合後の一分子観察が可能になった。

次に、研究項目「**III シトクロムcを使った一分子観察実験**」について、主な研究成果を説明する。**色素一つを修飾したシトクロムcの一分子観察 (III-a)**では、我々が開発した初期型の一分子観察装置を用いることで、酵母由来のシトクロムcに蛍光色素をラベルした試料について、平衡条件下で折り畳み転移の観察を行った。得られた一分子の蛍光強度の頻度分布には、中間状態と変性状態に対応する二つのピークが確認された。

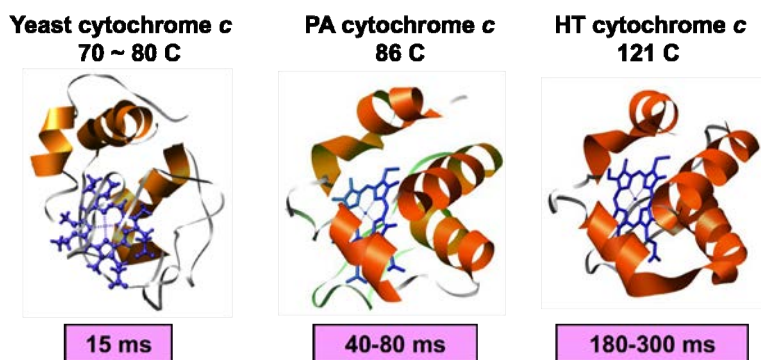


図5 異なる熱安定性を持つ cyt c の変性状態において観察された揺らぎ運動の時定数。

得られた時系列データの自己相関関数を計算したところ、中間状態は速い減衰を示したものの、変性状態の減衰は15ms程度と遅かった。この結果は、変性したシトクロム *c* の運動が比較的ゆっくり起こることを示している (M. Kinoshitaら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2007) **104**: 10453-10458)。

熱安定性の異なるシトクロム *c* の一分子観測 (III-c) について説明する。三本木グループより提供された熱安定性の異なるシトクロム *c* について、蛍光色素のラベル化を行い、変性状態における運動性の一分子観察を行った。一連の観測の結果、変性状態における遅い運動の時定数が、蛋白質の熱変性温度が高い蛋白質ほどゆっくりであることが判明した。この結果は、変性状態の蛋白質の特性が、折り畳んだ状態における特性を制御している可能性を示している (図 5)。

異なる蛋白質の自由エネルギー地形の解析 (III-f)。シトクロム *c* 以外の蛋白質の一分子レベルでの特性を調べるために、一本鎖モネリン、 β -ラクトグロブリン、マルトース結合蛋白質などの蛋白質の蛍光色素ラベルを行い、一分子レベルにおける運動性の観察を行った。これらのうち、一本鎖モネリンでは変性状態における比較的ゆっくりした運動の存在が確認された。また、マルトース結合蛋白質では、基質の結合型と解離型の二つの状態が区別して観察されたほか、各状態における蛍光強度分布幅が異なることが示された。 β -ラクトグロブリンにおいても、異なる蛍光強度を持つ状態間をジャンプする過程だと思われる信号が検出された。

長時間過程の一分子観察 (III-b)。一本鎖モネリンを対象として、折り畳み過程を一分子レベルで長時間観測することを試みた。次に、新規一分子観察装置を用いて、シトクロム *c* やマルトース結合蛋白質について、フロートラッピングを行った上で数秒にわたる長時間観察を行った。得られたデータから、蛋白質の長時間にわたる振る舞いを解明できると期待される。

④ 当初計画では想定されていなかった新たな展開の内容と展開状況

当研究で開発した数々の実験装置のなかで、もっともオリジナリティと新規性が高いものは、一分子観察用の反射光学系である。この光学系は、集光効率は顕微レンズ並みに高いものの、拡大倍率はカメラレンズと変わらない特性を持ち、幅広い視野を持っている。このような光学系はこれまで市販されていなかった。現在、この光学系は「ナノ微粒子観察・広視野顕微鏡レンズ」という品名で、光学設計を行ったオプトニカ社より市販されている。

上記の光学系を基礎とすることで、多くの応用研究の可能性が広がった。第一に、試料送液をストップすることによる蛋白質のトラップと長時間観測は、本光学系が完成した後の思いつきから実現した。第二に、この光学系を利用することで、どのような試料でも容易に一分子観察ができるようになった。例えば、脂質二重膜によるベシクルをフロー装置に流すことで、ベシクルに閉じ込めた

蛍光色素一分子の観察が可能であることを確かめている。これにより、膜蛋白質の一分子観察を比較的容易に行える可能性が広がった。第三に、水溶液中における蛋白質の並進拡散運動を直接観察することが可能になった。本光学系を用いることで、蛋白質が拡散運動により空間を変位する運動の観察ができる。これを用いることで、蛋白質の位置の変化が構造の変化とどのようにカップルするかを解明することが可能になるとと思われる。以上のように、本研究の成果は様々な方向に発展している。これは、開発した光学系の応用性が大変広いことを示している。今後も、我々が想定していない可能性が広がるものと期待している。

⑤ 成果とその位置づけや類似研究との比較

蛋白質一分子が発する蛍光を検出するために、これまでに開発されている手法は、大きく二つに分けられる。第一の手法は、共焦点顕微鏡を用いる手法で、背景光の少ない蛍光観察が可能だが、一分子を継続観察できる時間が短いという欠点を持っている。第二の手法は、蛋白質を光学基板に固定化し全反射励起を行う手法で、背景光が少ない条件で蛋白質を長時間観察できる利点を持っている反面、蛋白質と基板の間の相互作用が原因であるアーテファクトがしばしば生じることが報告されてきた(Talagaら、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2000) 97:13021-13026.)。本研究で開発した手法は、これらの欠点を補うと同時に、両者の利点、すなわち、基盤との相互作用を除去した状況下で長時間観測を可能とするものである。

次に、蛋白質の一分子データを得ることで明らかになった知見について強調したい。我々は、シトクロム *c* の変性状態における運動が、約 15ms の関連時間を持つことを示した。このような遅い運動性は、改良した実験装置でも観察されており、おそらく、変性した蛋白質の一般的な性質であると思われる。すなわち、折り畳んだ蛋白質の特性は、変性状態の物性と密接に関係することが推定される。以上の結果は、本研究の大きな成果である。

(2) 研究成果の今後期待される効果

① 成果の今後の発展見込

本研究を遂行することにより、蛋白質の物性を理解するために、一分子から得られる時系列データを解析するという研究スタイルを定着させることができた。蛋白質の折り畳みやさまざまな機能を理解するためには、蛋白質の運動性を解析する必要がある。一分子から得られる時系列データを解析することは、このための最も直接的な手法である。本研究により、一分子時系列データを得る方法、および、解析する方法を確立し、蛋白質の自由エネルギー空間がどのような特性を持つのかを問いただすことが可能になった。このような研究スタイルを確立したことは、本研究の大変大きな成果である。

本研究で開発した研究方法は、生命現象を検討するための基礎手段として、今後新しい研究分野を形づくると予想される。2008年12月に、我々はJSTの支援を受けて国際シンポジウムを企画した。このシンポジウムでは、一分子の時系列データを基にする実験手法として、蛍光分光法、AFMを使った蛋白質の引っ張り実験、X線散乱を用いた計測など、さまざまな手法の成果や可能性が議論された。本研究は、このような研究分野の流れを加速するものだと自負している。

② 想定される科学技術や社会への波及効果

第一に、本研究で進んだ蛋白質の折り畳み特性の理解は、蛋白質をより広く産業応用する際の大変重要な手がかりになることを強調する。蛋白質は、生体中においてさまざまな機能を発揮することで、生命活動を維持している。この蛋白質の機能を化学合成に利用することができれば、有機溶媒や毒性の高い金属触媒に頼らずに、常温常圧において複雑な化学反応を触媒できる可能性が広がる。また、蛋白質の一種である抗体を医療応用する研究も大変活発になされており、すでに大きなマーケットを形成している。

蛋白質を、化学産業や医療に応用しようとするときに大きな障害となっているのが、蛋白質の安定性や凝集性のコントロールである。これは、産業応用が可能な機能をもつ蛋白質や医療応用が可能な抗体を発見できても、見つけられた蛋白質は安定ではないことが多く、実用にならないことがしばしばあるためである。疎水的な高分子である蛋白質が、いかに凝集を防いで折り畳まれるのかを理解することは、蛋白質の産業応用に直結する重要性を持っている。蛋白質の折り畳みの問題は、40年以上も研究が続けられながら、いまだに応用が可能なレベルの理解が進まない大変難しいテーマである。この問題の解決には、基礎に立ち返った取り組みが必要である。

第二に、高橋グループで開発した新規光学系は、さまざまな応用実験の開発を可能にすることを指摘する。開発した光学系は、一分子から発せられる蛍光を、試料溶液をフローセルに流すだけで検出することを可能にする。また、共焦点顕微鏡と異なり、フローセルに流れる全ての分子を検出できる。これらの特徴を活かすことで、新たに開発が可能だと想定される機器の例を以下に列記する。

一分子の検出感度を持つセルソーター。 蛍光色素をラベル化した試料を、分岐したフローセルに流すことで、特定の波長の蛍光を発する分子の存在を手がかりとして細胞の選り分けが可能になる。あるいは、特定の分子のみを選り分けることも可能である。共焦点顕微鏡を用いることでも類似のソーターを作ることはできるが、この場合にはセルに流れる全ての分子を同じ感度で検出することができない。開発した光学系を使うことで、始めて可能になる装置である。

X線自由電子レーザーと組み合わせた一分子X線散乱観測装置。 現在、Spring8において、X線自由電子レーザー(XFEL)の建設が進められている。これにより発生する超高輝度のX線を用いることで、生体分子の一分子レベルにおけるX線散乱を観測し、構造を解析する可能性が議論

されている。この実験を実際に行おうとする場合、X線ビームの位置に蛋白質一分子を正確にタイピングよく導く必要がある。我々が開発した光学系は、このような実験を行う際に、分子の発する蛍光を手がかりに分子の位置をコントロールするための基礎技術となりうる。

以上のように、高橋グループにおける研究は、さまざまな応用を可能にすることで、科学技術の発展や社会還元に寄与すると考えられる。

4. 2 蛍光ラベル蛋白質の調製と物理化学測定(広島大学 三本木グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

① 研究のねらい

三本木グループでは、「II 一分子観察に適した蛍光ラベル化蛋白質の作製」を担当した。このテーマのねらいは、(A)蛋白質の折り畳み過程の一分子観察と水和状態の解析に用いる実験材料であるシトクロム *c* を作製すること、(B)安定性が異なるシトクロム *c* の物理化学的・生化学的性質から蛋白質の折り畳み形成の環境温度適応性を明らかにすること、の二つである。

表 1 研究に用いるシトクロム <i>c</i>		
チーム内での略称	由来する微生物の学名	最適生育温度(°C)
SV	<i>Shewanella violacea</i>	8
酵母シトクロム <i>c</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30
SA	<i>Shewanella amazonensis</i>	35
PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
PH	<i>Hydrogenophilus thermoluteolus</i>	52
HT	<i>Hydrogenobacter thermophilus</i>	72
AA	<i>Aquifex aeolicus</i>	85

研究に用いる7種類のシトクロム *c* (表1)は、広範な温度環境に適応する生物から単離したものである。これらのシトクロム *c* のうち、PA、PH、HT、およびAAは、いずれも細菌由来であり、ほぼ同一の折り畳み構造を持つ(図6)。さらにアミノ酸残基数は 80 前後であり、一次配列が最低でも 35%は一致している(図7)。

しかし、由来する生物の生育最適温度に対応して、これら7種のシトクロム *c* の安定性も大きく異なると考えられる。本研究では、これらのシトクロム *c* を調製し蛋白質の折り畳み過程の一分子観察と水和状態の解析に用いる。加えて、多分子系で安定性や酸化還元電位を測定・比較するとともに立体構造を決定する。得られる結果について、高橋グループで実

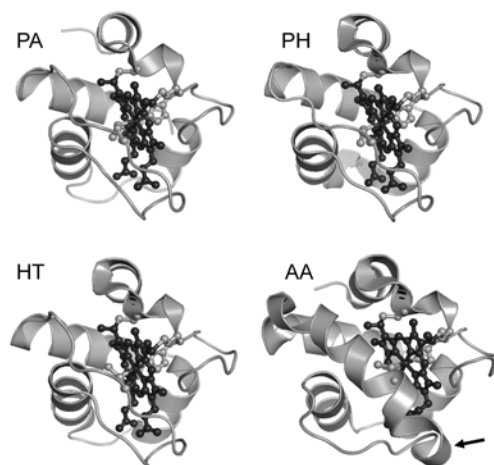


図6 PA、PH、HT、およびAAの主鎖立体構造比較。AAのみ他の3種にないヘリックス構造(矢印)を持つが、全体的に構造は類似している。

施する折れ畳み運動の特性評価と鈴木グループで実施する蛋白質変性への水和の影響評価と併せて総合的に考察する。

```

PA  EDPEVLFKNKGCVACHAIDTKMVGPAYKDVAAKFAGQAG-AEAE
PH  --DEALAKAKGCMACHAIDKKLVGPSYKDVAKKYTE-AD--VPK
HT  --NEQLAKQKGCMAChDLKAKKVGPAYADVAKKYAGRKD-AVDY
AA  ADGKAI FQQKGC GSGHQANVDIVGPSLKKIAQAYAGKEDQLIKE

```

② 研究実施方法

表1の7種類のシトクロム*c*遺伝子を大腸菌で発現させることで、本研究で必要とされる試料を作製する。

```

PA  LAQRINKSGVWGPIPMPPNA-----VSDDEAQT LAKWVLSQK
PH  LVEKVKKGGAGVWGPVPMPPHPQ----VAEADIEKIVRWVLT LK
HT  LAGKIKKGGSGVWGSVPMPPQN-----VTDAEAKQLAQWILS LK
AA  LKGEAPAIVDPAKEAI-MKPKQLTMLKGLSDAELKALADFILSHK

```

図7 PA、PH、HT、およびAAの一次構造比較。A

Aのみ他の3種にない挿入配列があり、この部分がヘリックス構造を形成している。一致するアミノ酸は黒色。

ねらい(A)を実現するために、三本木グループがはじめに試料の作製に取り組む。さらに、確立した作製方法をチーム内の他のグループに伝授し、試料をグループごとに供給できる体制を構築する。また、ねらい(B)を実現するために、安定性が異なるシトクロム*c*の熱力学的性質や酸化還元電位、多分子系での折れ畳み速度を測定する。以上をまとめて箇条書きにすると以下の通りになり、これらを研究目標に設定した。

- II-a 色素を一つ修飾したシトクロム*c*の作製
- II-b 熱安定性の異なるシトクロム*c*の発現系の確立
- II-c 色素を二つ修飾したシトクロム*c*の製作

③ 研究成果

研究対象とした7種類のシトクロム*c*について、本研究期間で実施した内容と得られた成果を表2にまとめる。

表2 本研究の実施内容とその成果							
シトクロム <i>c</i> 略称	SV	酵母シトクロム <i>c</i>	SA	PA	PH	HT	AA
折り畳み一分子観察の準備	未実施	試料作製完了	未実施	試料作製完了	試料作製完了	試料作製完了	未実施
発現法	確立済み	確立済み	確立済み	確立済み	確立済み	確立済み	確立済み
誘電緩和測定による水和状態	未実施	未実施	未実施	鈴木グループによる試料作	鈴木グループによる予備実	未実施	未実施

の解析				製・実験 実施	験実施		
立体構造	モデル化 可能	既知	モデル化 可能	既知	決定	期間以前 に決定	決定
安定性の 平衡論	CD, DS Cによる測 定実施	未実施	CD, DS Cによる測 定実施	CD, 蛍光 による測 定実施	CD, 蛍光 による測 定実施	CD, 蛍光 による測 定実施	CDによる 測定実施
平衡論に よる変性温 度 (°C)	90	未実施	88	86	108	121	131
安定性の 速度論	未実施	未実施	未実施	ストップ フロー法	ストップ フロー法	ストップ フロー法	未実施
酸化還元 電位測定	実施済み	未実施	実施済み	実施済み	実施済み	実施済み	実施済み
ヘム結合 による折り 畳み形成	未実施	未実施	未実施	CD測定 実施	CD測定 実施	CD測定 実施	CD測定 実施
原著論文 としての成 果発表数	1	0	投稿論文 準備中	1	2	2	2

色素を一つ修飾したシトクロム *c* の作製 (II-a) では、酵母シトクロム *c*、PA、PH、および HT について、高橋グループで折り畳み一分子観察するための色素修飾可能な変異をもつ試料を作製した (表 2)。本項目は平成 16 年度に完了する予定であったが、研究に用いるシトクロム *c* の種類を拡充したため、実施期間を延長し、平成 19 年度まで継続した。現時点で、予定したすべてのシトクロム *c* 試料の発現や変異体導入が終わっており、当初の計画目標を達成している。

熱安定性の異なるシトクロム *c* の発現系の確立 (II-b) では、7 種類すべてのシトクロム *c* について、発現系を構築した (表 2)。さらに開発したシトクロム *c* の発現法を、チーム内の他のグループに伝授し、各グループが試料を調製できる体制を構築した。具体的には、高橋グループから 2 名 (平成 17、18 年度)、小松崎グループから 1 名 (平成 17 年度)、鈴木グループから 1 名 (平成 18 年度) の研究員・大学院生を受け入れ、実習を行った。また、ウマ心筋シトクロム *c* の熱測定を実施するために、鈴木グループから大学院生 1 名を受け入れた (平成 21 年度)。なお鈴木グループでは、誘

電緩和測定のための試料調製を独自に実施できるようになっている。

7 種類のシトクロム*c*のうち、立体構造が未知であったPHおよびAAの構造を本研究期間中に決定した(図 6、表 2)。さらにシトクロム*c*の熱に対する安定性を、円偏光二色性(CD)スペクトル、および示差走査型熱量計(DSC)で測定し、平衡論に基づきそれぞれの安定化機構を考察した。速度論的な安定性については、ストップフロー法により蛍光スペクトルで測定した。なおストップフロー法の導入は、高橋グループの指導によった。さらに、これらのシトクロム*c*の機能との関連を調べるために、それぞれの酸化還元電位をサイクリックボルタモグラムにより測定した。

本目標を実現する過程で、各シトクロム *c* の細胞内での生合成過程を調べるとともに、ヘム結合と蛋白質部分の折り畳みの多分子観察にも着手し(表 2)、一分子の折り畳み運動の結果と対応づけた。

色素を二つ修飾したシトクロム *c* の製作(II-c)は、平成 18 年度に計画を一部変更して新たな方向性を打ち出したため、着手していない。着手しなかった理由は、色素を一つ修飾した試料のデータを積み重ねた方が一分子の情報を得やすいと判断したからである。その背景には、多分子実験より、酵母シトクロム *c* の部位ごとに構造形成のタイミングが異なることが示唆されたことがある。そこで、これまでの修飾部位より一次構造上ヘムに近い部位に色素を修飾できる変異を作製し、高橋グループに提供した。

④ 当初計画では想定されていなかった新たな展開の内容と展開状況

当初計画では想定されていなかった新たな展開として、AA が他のシトクロム *c* とは異なる折り畳み過程を持つことを明らかにしたことを挙げる。具体的には、他のシトクロム *c* はヘムが共有結合することが折り畳みの前提であるのに対して、AA はヘムが結合しなくても折り畳みが見られた。これは、AA の生合成におけるヘム挿入の機構が、他のシトクロム *c* と異なる可能性を示しており(図 8)、細胞内でのシトクロム*c*の成熟化に関して生物学的に興味深い結果である。また、シトクロム *c* の折り畳みにはヘムが必須という多くの研究者の思い込みを払拭する結果でもある。

⑤ 成果とその位置づけや類似研究との比較

本研究のユニークさは、安定性が異なる 7 種のシトクロム*c*を一堂に会し、系統的な分析が可能な点である。このようなアプローチにより、個々のシトクロム*c*の性質を比較し、蛋白質の安定化と折り畳みの機構に関する知見が得られた。

類似する先駆的な研究としては、フェレドキシンを対象とした蛋白質の安定化機構に関する先行研究例がある。さらに、最近ではコールドショック蛋白質を用いた研究例もある。しかし、これらの先行研究はいずれも、本研究のように数種類の蛋白質を扱うものではなく、由来する生物種の

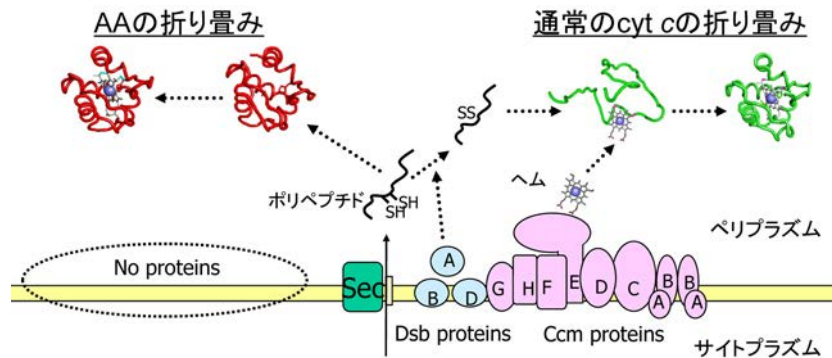


図8 細菌におけるAAの生合成経路と通常のシトクロムcの生合成経路の比較。通常は、ペリプラズムでDsbやCcm蛋白質の触媒作用によって、変性状態のポリペプチドにヘムが結合し、その後折り畳まれる。一方、本研究で見出したAAでは、これらの触媒作用がなくてもポリペプチドが素早く折り畳まれ、構造形成が完了してからヘムが挿入される。

温度適応範囲も狭い。さらに先行研究では、平衡論的な安定性を論じるのみであり、本研究のように安定性の他に蛋白質の折り畳みや生合成、機能といった多面的なアプローチはない。

したがって本研究には、対象とする蛋白質にバラエティがあるだけでなく、研究方法のアプローチも多面的である点で類似研究とは違うユニークさがある。さらに、三本木グループでは、対象とするシトクロムc遺伝子をすべてクローン化し、大腸菌を宿主に用いて発現させる実験系を確立している。蛋白質のみならず遺伝子も扱えるので、系統的な変異導入実験が可能である。これは研究実施上の強みとなっている。

以下、個別の成果ごとに、位置づけを議論する。**第一の成果は、他の研究グループへの試料の提供である。**三本木グループは、異なる変性温度を持つシトクロムcの発現法を確立し、試料の量産化に成功した(表2)。構築した実験系によって調製したシトクロムcを高橋グループおよび鈴木グループに提供し、それぞれの研究推進を支援した。

第二の成果は、安定性が異なるシトクロムcの構造を調べたことである。安定性が異なる4種類のシトクロムc(PA、PH、HT、およびAA)の構造を比較し、安定性の原因となるアミノ酸残基を特定した。具体的には、AAには他の3種にはないヘリックス構造が存在するため(図6)、AAは特に安定性が高いと結論した。

本研究期間以前に発表した論文(Oikawa *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **287**, 5527 (2005))では、安定性が大きく異なるPAとHTのわずか5つのアミノ残基を相互に入れ換え、2つのシトクロムcの安定性を逆転させることに成功した。このような双方向の変異導入によって、相同蛋白質の安定性を必要十分に検討できることを提唱し、それが蛋白質一般に適用できるものとして評価されている。

本研究期間では、PHの安定性がPAとHTの間であり、HTで見出された安定性に寄与する5つのアミノ酸残基のうち3つを持つことを明らかにした(Nakamura *et al.*, *Biochemistry*, **45**, 6115 (2006))。PA、PH、およびHTで得られた結果は、生物の温度環境に対する適応性を蛋白質のアミノ酸残基のレベルで説明できるものとして評価された。

蛋白質の低温適応性を知る目的で、好冷細菌由来のSVと、それと相同性が高いSAとの安定性を比較した。両者の安定性はほぼ同じであるが、両者が持つジスルフィド結合が安定化に寄与することを明らかにした。

以上の安定性実験は、円偏光二色性スペクトル、および示差走査熱量計を用いて行った平衡論的な手法に基づく。これらの手法は、三本木グループがすでに保有していた技術を駆使したものである。本研究期間中、高橋氏の指導により、ストップフロー法による平衡論的な蛋白質の安定性を測定する手法を三本木グループは導入でき、現在独自に速度論的な安定性を測定できるまでになっている。これは、高橋氏のリーダーシップが活かされた例である。

第三の成果は、安定性が異なるシトクロム *c* の折り畳み挙動を解明したことである。AAがヘムなしでも折り畳むことは、計画当初は想定していなかった。AAで見出されたヘムに依存しないシトクロム *c* の折り畳みは、これまでに報告がなく、シトクロム *c* 折り畳みと細胞内での成熟化の特例としてインパクトのある発見である。実際に、シトクロム *c* の成熟化に関する世界的権威である Stuart J. Ferguson は、「アポ型のAAの折り畳みの例は、シトクロム *c* では初めてだ」と三本木グループの研究結果を評した(図9)。

現在、ヘムに依存しないAAのユニークな折り畳み機構を、アミノ酸レベルから検討する実験に着手している。

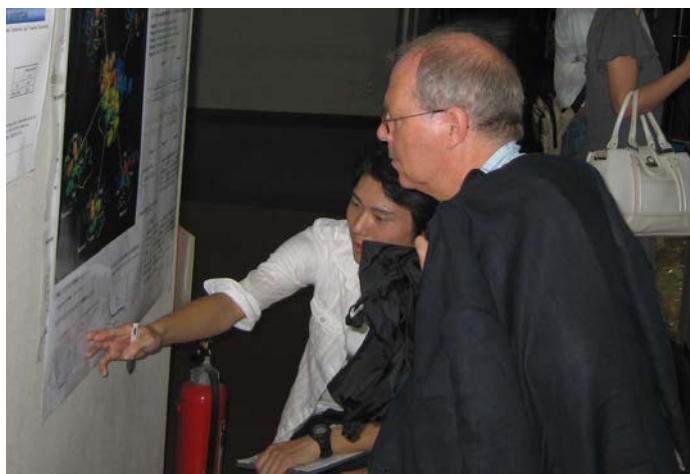


図9 三本木研究室を訪問した Ferguson とポスターを前に議論する三本木グループの博士課程3年生の山中(平成21年7月24日撮影)

第四の成果は、安定性が異なるシトクロム *c* の酸化還元挙動を明らかにしたことである。シトクロム *c* の折り畳みが完了すると、そのアウトプットとしてヘムの機能が発現し特有の酸化還元電位を示す。PA、PH、およびHTについて、酸化還元電位を測定し、安定性と対応づけた。その結果、ヘムを取り巻くポリペプチド鎖は、蛋白質の安定性のみならず、酸化還元電位も制御し

ていることが分かった。3種のシトクロムcを系統的に調べることで、機能の面からシトクロムcの折り畳みの問題を理解する契機となった。

以上の研究成果を、本研究期間中に8報の原著論文として国際誌に掲載した(表2)。

(2) 研究成果の今後期待される効果

① 成果の今後の発展見込

発展が見込まれる研究上の強み。本研究で対象としているシトクロムcは、由来する細菌の生育温度が異なるため、熱安定性が異なる。しかし、アミノ酸配列や立体構造はそれ程変わらない。したがって、わずかなアミノ酸の違いによってシトクロムcの安定性や機能に違いが生じている。このような蛋白質のセットは、蛋白質の折り畳み問題を蛋白質の安定性や構造、機能と関連付けて理解するのに適している。

折り畳みから安定化や機能までの理解。これまでの研究で、これらのシトクロムcの安定性に寄与するアミノ酸残基を同定することができた。今後三本木グループは、折り畳みや酸化還元電位を制御するアミノ酸残基をそれぞれのシトクロムcで特定する。これらの研究成果を統合することで、リボゾームで合成された蛋白質が折り畳み、構造を形成して安定化し、そして機能を持つようになるまでの仕組みをアミノ酸レベルで一続きに理解できる機会となり得る。このようにして、機能を持つ蛋白質の構造予測を可能にできる見込みがある。

ヘム結合の影響。三本木グループでは、シトクロムcの折り畳み過程におけるヘムの役割を明らかにする予定である。一般にヘム結合は、シトクロムcの折り畳みの引き金であり、その安定性の主たる要因である。この考え方に問題を提起したのが、特に安定性が高いAAである。AAと他のシトクロムcの性質を比較することで、ヘム結合と蛋白質の折り畳みや安定性との関わりに糸口を見つけられると考える。なおこの問題は、シトクロムcに限ったものではなく、他のヘム蛋白質に展開するものと期待できる。

生命史スケールでのヘム蛋白質の誕生と進化。現存するシトクロムcを対象とした以上の研究予定と並行して、生命史の視点を導入し、蛋白質の折り畳みの問題を考えてみたい。生命史の時間スケールで過去に遡って蛋白質の折り畳み問題を探ることで、今まで気づかなかった問題を認識できる可能性を期待する。

この期待の前提として、ヘムが生命誕生の前から地球上に存在していた可能性があるという生物地球化学者の考えを挙げる。もしこれが事実なら、シトクロムcやその他のヘム蛋白質は、ヘムの

構造と化学的特徴を制約条件として進化してきたはずである。そこで、ヘム蛋白質の起源を探り、その折り畳みについて現存する蛋白質と比較することから理解を深められないかと考えている。

ヘム蛋白質の起源について、モンモリロナイトと呼ばれる粘土成分は興味ある高分子である。これは、その構造中にヘムを取り込み、ヘム単独ではなし得ない機能を発現する。この結果から、蛋白質高分子が生命史上に出現する前に、ヘム含有高分子が存在し機能していたと推測できる。生物進化のみならず、その前段階にあったとされる化学進化の知見も必要となってくる。

チーム内連携の継続。現時点で、ここで対象としているシトクロム*c*を用いた折り畳みの一分子観察と誘電緩和による水和環境の観察が、それぞれ高橋グループと鈴木グループで着実に進展している。さらに、小松崎グループとの双方向の情報交換から、蛋白質折り畳み過程の自由エネルギー地形をネットワークとして捉える新しい理論や非線形なものとして現象を捉えることを学んだ。今後も、本チーム内の他のグループとの連携を継続して研究を展開し、多面的な視点から問題を捉えてゆければ、蛋白質折り畳みに関する理解が進むと考えている。

② 想定される科学技術や社会への波及効果

本研究で確立したシトクロム*c*の発現法を、国内外の研究者に紹介することを考えている。すでに数件の依頼があり、三本木グループでは前向きに対応している。

シトクロム*c*は、アポトーシス(プログラムされた細胞死)のトリガーとしての機能があり、医学関連の研究者がニッチな市場を形成している。そういった研究者らにとって最も必要とされるのが、ヒトの胎盤から調製されるヒトシトクロム*c*であるが、それは 10 μ g が 8 万 9 千円でシグマ社より市販されている。三本木グループでは、大腸菌によるヒトシトクロム*c*の発現にも成功し、培養液 1 リットル当たり 1mg(市場価格 890 万円に相当)調製できる。さらに、各種変異体の作製も可能なので、ヒトシトクロム*c*の発現法には、医学研究への波及効果が期待できる。

4.3 一分子観察実験のための新しいデータ解析手法の開発(北海道大学 小松崎グループ)

(1)研究実施内容及び成果

① 研究実施内容

小松崎グループは、「IV 一分子観察のための新しいデータ解析手法の開発」を担当し、一分子観察から得られたデータの解析と解釈の新しい手法を開発した。高橋グループが提案する一分子観測法により、長時間で高時間分解能の構造転移が頻繁に観測されることが期待される。このデータを解釈する際に、系を記述するモデルや方程式を予め設定し、そのモデルが描きうる範疇で解釈するのではなく、直接、データから構造遷移の複雑ネットワーク構造ならびに多次元自由エネルギー地形を再構成する手法を開発した。さらに、遷移の非統計性と分子記憶の関係、遷移状態概念の再考、熱揺らぎと蛋白質ダイナミクスのあいだの競合や協同性を解明し、「ダイナミクスから見た」蛋白質の構造構築原理を創出することを目指した。

② 研究実施方法

生体分子、細胞、組織、そして個体に至る生命システムは常に外界に晒(さら)されながら、ミクロレベルでの“刺激”がマクロレベルまで伝達し頑健な機能を作り出している。生体系の反応現象の多くは、複雑ななかを選択性や機能性を保有しており、これらが生命現象の豊かさの源泉となっている。生体機能とは「外界からの刺激に対する応答として始まる一連の構造変化とそれに伴う化学反応」であり、階層を越えた「状態変化」のつながりの産物といえる。そのような生命システムを理解するためのアプローチには、大別して、背後に存在する数理構造を提唱するトップダウン的構成論的手法と微視的な立場からマクロな現象の再現を試みるボトムアップ的還元論的手法が存在する。前者は大胆な仮定や粗視化のために自然と乖離したモデルに陥る可能性が存在する一方で、後者は個々の微視的事象を枚挙するだけであり、システム全体を捉えることは困難である。我々は“トップダウン”と“ボトムアップ”の両アプローチを橋渡しする概念や方法論を確立し、できるだけ自然現象に照らし合わせながら生命システムの階層性の論理や新しい概念を創出することを目的とし、「IV一分子観察のための新しいデータ解析手法の開発」に対して、以下の小項目を設定した。

- IV-a) 一分子時系列から系の動的構造を再構成する解析手法の開発
- IV-b) 時空間スケールの異なる階層的ダイナミクスの解析手法の開発
- IV-c) エルゴード測度解析と自由エネルギー地形を推定する時系列解析手法の開発
- IV-d) 情報理論的ノイズ・フィルタリング手法の開発
- IV-e) 一分子観測実験のデータ解析
- IV-f) 一分子計測時系列情報に依拠する階層的ダイナミクスの解析手法の深化と展開

③ 研究成果

一分子時系列から系の動的構造を再構成する解析手法の開発(IV-a)。局所平衡や詳細釣り合いを前提とせず、生体分子が持つ“動的な”状態およびそれらをつなぐネットワークを時系列情報から再構成する方法論を開発した。この方法論では、与えられた時系列データのある長さの時系列断片に分解し、「与えられた時系列に沿って次に現れる断片(未来配列)の情報を予測するうえで、どれくらいの長さの過去配列の情報を必要とするか？」を問い、その長さを同定する。さらに、「状態」を同じ遷移確率分布をもつ時系列断片の集合として定義する。このように状態を定義することで、すべての時系列断片は、固有の遷移確率分布を持つ状態に帰属できる。さらに、状態を繋ぐ状態遷移ネットワークを構成することができる。これは1分子時系列情報から離散的マルコフ確率過程を状態空間に構成したことに相当する。この作業により、種々の物理量を解析的に求めることが可能になる。

開発した手法を、一分子観察されたフラビン還元酵素の構造揺らぎデータに適用した。図10に、本酵素の自己相関関数の実測値(Yang, H. *et al. Science* 302, 262(2003))を示す(実線)。同じ時系列データを基に、我々の方法で時間スケールに応じて変化

する状態遷移ネットワーク構造を解析し、そのマスター方程式から評価した事故相関関数も図に示した(黒色の○)。このデータは、長時間領域($\gg 0.1s$)では試料がブラウン拡散を呈するのに対し、短時間領域($\ll 0.1s$)では異常拡散を示している。我々が解析した状態遷移ネットワークに基づく理論値は、長短の時間領域で実測値を正しく再現していることがわかる。

各時間スケールにおける状態およびその状態遷移ネットワークはどのようになっているのだろうか？図中、異常拡散を示す32ms、120msおよび異常拡散からブラウン拡散に移行する480msにおける状態遷移ネットワークを可視化した。円は時系列から抽出された各状態を示し、円の大きさは時系列に沿ってその状態にどれくらい頻繁に滞在したか、換言すると、その状態がどれくらい安

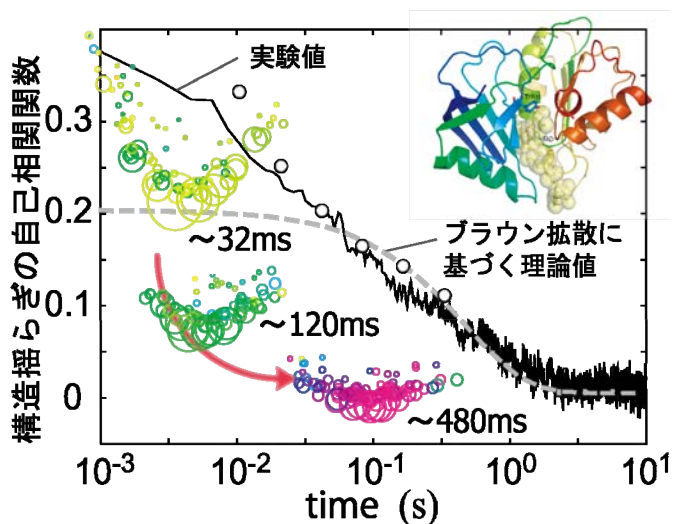


図10 観測時間の関数として変化するフラビン還元酵素の構造揺らぎの状態遷移ネットワーク(Liら *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008) : ○は時系列から構成した状態遷移ネットワークに基づく理論値。時間スケールの増大とともに非ブラウン拡散からブラウン拡散へ移行する実験値とよく一致しているのがわかる。対応するネットワーク構造の変化を追跡することで背後に存在する動的構造・分子記憶を時系列から自然に読み解くことができる。

定であるかを表している。円の色は各状態から(有意に)遷移している状態(ノード)の数を表し、黄色から赤色になるにつれて、より多くのノードと繋がっていることを意味する。ここで、“横軸”は各状態の平均色素分子間距離を、“縦軸”はあるノードからその他のノードへの(遷移確率分布で比べた)相対距離の期待値を表し、“縦軸”に対する分散が小さいほど、各状態からの遷移確率分布が類似していることを意味する。

図 10 に示すネットワーク構造は、①ブラウン拡散の時間領域に近づくにつれて、ネットワークがコンパクトになるとともに、ノード(状態)当たりのリンク数が増大し、状態遷移ネットワークのもつ多様性が減少すること、②異常拡散を示す時間領域において、状態間遷移をマルコフ過程と見做すために、ある有限の長さの時系列断片から状態を定義する必要があること、すなわち、局所平衡に基づくマクロな意味のネットワーク描像はこの短時間領域においては成り立たないこと、③通常拡散を呈する時間領域においては、より少数の状態から構成され、「過去の履歴を伴う必要のない局所平衡概念に基づく通常の準安定状態」として解釈されること、などを示している [Li, Yang, Komatsuzaki, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **105**, 536-541 (2008).]. また、一分子時系列から構成されたネットワーク上の各ノードから発する遷移(リンク)の多様性を評価する新たな指標を導出し、これまでよく使われている次数解析に比べて優れていることを示すことに成功した [Li, Yang, Komatsuzaki, *J. Phys. Chem. B in press*].

この他、ウェーブレット多重解像度解析と計算力学を融合し、時間スケールの異なる複数の時系列情報のあいだの情報伝達、情報伝達の方向性、強さを移動エントロピー (Schreiber, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 461 (2000)) を用いて定量化する方法論を考案した。これにより、各時間スケールにおける統計性や情報伝達のカスケード性を定量化できると期待される(投稿準備中)。

時空間スケールの異なる階層的ダイナミックスの解析手法の開発(IV-b)。ウェーブレット多重解像度解析を用いて、時系列データから時空間スケールの異なる階層構造を跨ぐ非断熱性および情報伝達を解析する方法論を定式化した。カオス理論と統計学における主成分解析を用いて、生体分子の階層的ダイナミックスを解析するための手法を開発した。後者では、天然状態を探し当てるための蛋白質の運動は、数学的に探索効率ももっともよいと知られる Levy 飛行的な弾道的拡散運動である可能性を指摘した [Matsunaga, Li, Komatsuzaki, *Phys. Rev. Lett.* **99**, 238103 (2007).].

タンパク質が機能を発揮する上では周辺にある水分子の存在が欠かせない。タンパク質と周りの水とが動的に相互作用していることを示唆する実験結果としては、溶媒分子の周りの水分子は、普遍的にバルク水とは違い早いピコ秒スケールの緩和と遅いナノ秒スケールという二段階緩和を示すことが知られている(Nandi ら、*J. Phys. Chem. B*, **101**, 10954 (1997))。また、鈴木グループの誘電緩和測定においては、電荷密度が高い溶質周辺に高い並進易動度をもつハイパーモーバイ

ル水と呼ばれる水の存在が示唆されてきたが、これまでの計算機実験の範疇では対応する“新しい動的な相”の存在が見出されていない。この事実は、タンパク質の周囲の水の動態場を理解するためには、水分子運動の適切な粗視化が必要である可能性を示している。我々は、タンパク質などの溶質周りの水の集団的な動きを抽出するための粗視化の方法論、ならびに、生体分子の構造変化と生体分子「近傍」の水の動態場との動的相互作用をラグランジェ協同構造と呼ばれる概念を通して解析する手法を新規に開発した。

手始めに、室温環境下における 11 対の A-T ペアからなる DNA 分子まわりの水分子の動態構造について解析を行った。例として、粗視化スケールを細かいものから粗いものへと変化させたと

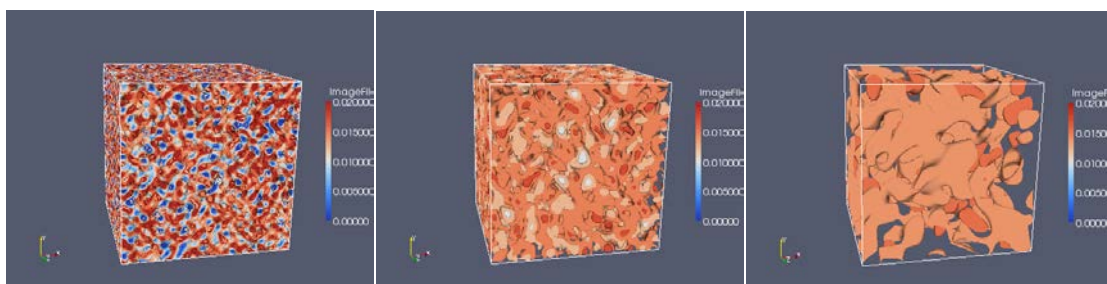


図 11: 水分子の密度場を粗視化したもの(右から粗視化スケール 1.0/0.625, 1.0/1.25, 1.0/2.5 (nm⁻¹))。水分子に隠れて見えないが、中央に DNA が存在している(システムサイズ 100Å³, 総原子数 90386、圧力 1atm, 温度 300K)。粗視化に当たって重要なことは、本来、系が持っている対称性並びに保存則を保つように粗視化をすることである。連続の式と呼ばれる保存則と整合するような粗視化をしている。

きの密度場を図 11 に示す。粗視化のスケールが粗くなるにつれて個々の水分子は見えなくなり、水の作り出す大域的な密度場が浮かび上がる。

次に、水が集団的に作り出す場が溶質分子の運動にどのような影響を与えるのかを調べるため、ラグランジェ協同構造(Lagrangian Coherent Structure, LCS)と DNA 分子の動力学との関係を解析した(図 12)。LCS とは、Haller (G. Haller ら、*Chaos* **10**, 99 (2000)など)により提案されたものであり、流れが二つに“泣き別れる”面に対応する。LCS を水分子が横切ることは困難であり、LCS 面の

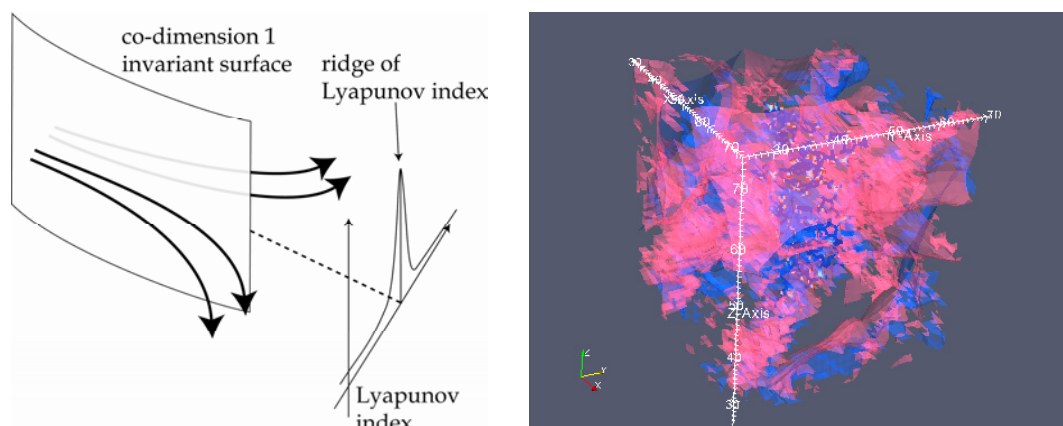


図 12: (左) ラグランジェ協同構造の概略図。ラグランジェ協同構造は、3次元空間上のベクトル場の分離面に相当する。(右) DNA 分子の周りの水が集団的に作り出す LCS のスナップショット。(赤: 時間を発展させると分かれていく流れの境界面、LCS、青: 時間反転したときの LCS。つまり時間発展させるとベクトル場の流れが接近していく境界面)

法線方向に面から引き離そうとする力が働く。従って、LCS は溶質分子の動力学および溶質分子周りの水分子の動力学を理解する上で重要な役割を果たすと思われる。

DNA との動力的な関係をみるために LCS のスナップショットを 1ps 間隔で DNA 分子を含む面で輪切りにしたものを図 13 に示す。図 13 の白の矢印で示した赤い LCS が DNA 分子に食い込み、再び離れるのに対応して、白丸で囲んだ部位の構造変化が起こっている。これは生体分子の構造変化が水の集団的な動態場の「幾何構造」によって決定される可能性があることを示している（投稿準備中）。我々が開発した解析手法は、生体分子の構造変化と生体分子「近傍」の水の動態場との動的相互作用を解明するとともに、ハイパーモバイル型の“新しい(動的な)相”の理論的な解釈を(将来的に)与えることが期待される。

エルゴード測度解析と自由エネルギー地形を推定する時系列解析手法の開発(IV-c)。どのように一分子時系列データから「状態」や「状態間の遷移」を定義するのが自然であろうか？一般に、時系列データの観測値に対するヒストグラムを正規分布の線形結合でフィットすることで状態が推定される。しかし、この手法は局所平衡の成立を前提としていること、一般に「正規」分布の重ね合わせで実験データが表わされる保証はないこと、などの問題点を持っている。

我々は、分布関数の形状、状態数、ならびに系についての性質(局所平衡など)を予め規定するのではなく、一分子時系列情報から局所平衡、詳細釣り合いの成立の可否を検証しながら多次元自由エネルギー地形を抽出する方法論を開発した[Baba, Komatsuzaki, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **104**, 19297-19302 (2007).]. 方法論の概略を図 14(左)に示す。時系列データからある観測時間幅 τ 以内の局所確率密度関数を算出し、局所確率密度関数間の近さを評価する Kantorovich 測度から定義される Kantorovich 計量空間におけるクラスター解析を行う。同じクラスターに帰属される局所密度関数群はほぼ同じ関数形をもつことが保証されることから、それらは局所平衡状態の候補の分布関数(一般には非ガウス分布)として考えることができる。このクラスター間の遷移時間および各“平衡時間”を評価することで、局所平衡の成立の可否を各候補に対して検定したうえで自由エネルギー地形を時系列情報から抽出することができる。

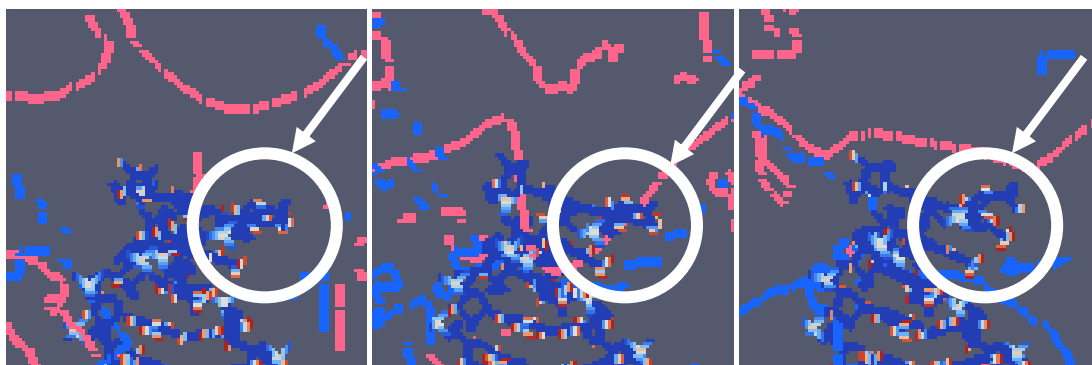


図 13 : LCS と DNA 分子の残基との相互関係

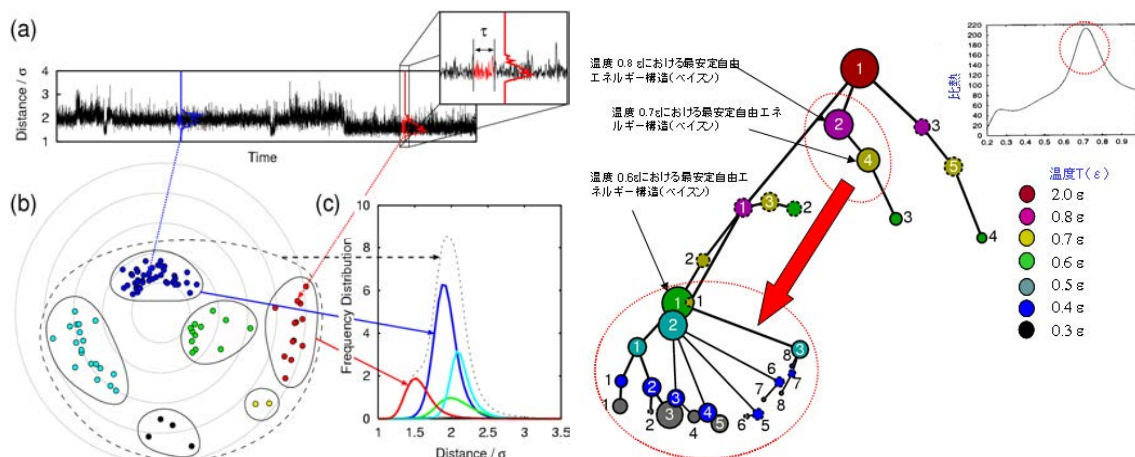


図 14(左): 局所平衡状態候補の抽出手法の概略: (a) 時系列データと局所確率密度関数; (b) Kantorovich 計量空間におけるクラスター解析; (c) 各クラスターに帰属される局所密度関数群から成る局所平衡状態の候補の分布関数 (一般には非ガウス分布)。(右): 各クラスターにおける滞在確率および遷移確率から構成された自由エネルギー地形のベイスン構造のあいだの繋がりを可視化したもの。各ノードは各温度での自由エネルギー地形上のベイスンに相当し、ノードの大きいほど滞在確率が大きく、自由エネルギーが低い。赤い矢印は変性状態から Collapse 状態へ転移する温度領域で、最安定な自由エネルギーベイスンが構造空間上で遷っていることを示している。Baba ら *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 19297 (2007)。

この手法を用いることで、自由エネルギー空間に関するさまざまな特性を明らかにすることができた。まず、時間スケールが長くなるにつれて、ある時間以内に頻繁に行き来し合う二つの準安定状態は融合すること、すなわち、時間スケールが増大するにつれて、地形はよりスムーズになり、準安定状態の数も減少することが示された。更に、時間スケールの増大につれ、“平衡”に達して「平均場」として取り扱える熱的な自由度の総数も増えることから、自由エネルギー地形の次元(地形を記述するのに要する次元の数)も、時間スケールの増大とともに減少することも見出した。また、我々は手法の汎用性を高めるためのアルゴリズムの自動化を行い、方法論の詳細に立ち入らずに幅広く利用して貰うための汎用化を行い、自由エネルギー地形の次元性を評価する方法論を開発した(論文執筆中)。

この研究成果において最も重要な知見は、蛋白質の構造変化に沿って“熱平衡に達する”自由度の数、すなわち、自由エネルギー地形の次元性、形態は時間スケールに依存して変化することである。これまでのタンパク質のエネルギー地形は、すべてアンサンブル描像に基づいているため、タンパク質は一分子レベルで実際にどのようなエネルギー地形を感じているのかという基本問題を回避してきたといえる。しかしながら、我々の研究成果は「一分子の構造変化に伴う“熱”とは何か」、「システムとして一分子が何に依って突き動かされ、熱揺らぎ環境下において機能を頑健に発現しているのか」を原理に立ち返って再考する必要性を明示している [Komatsuzaki, Baba, Kawai, Toda, Straub, Berry, *Adv. Chem. Phys. to be appeared* (2010).]。

情報理論的ノイズ・フィルタリング手法の開発 (IV-d)。時系列をシンボル化する際に損失する情報を最小にするためにはどのような手続きが最適であるかは未解決な難問である。ある2自由度力学系を例に取り上げて、得られるネットワークがもつ多様性(すべての状態の滞在確率に対するシャノン情報量)を最大にするように座標の時系列データをシンボル化すると、時系列情報の背後

に存在する相空間構造の非一様性を反映したネットワーク構造が再構成できることを見出した(投稿準備中)。この研究成果は基礎理論としては、一定の成功を取めたが、実際に得られる一分子時系列データはノイズのない「理想的な」力学系から構成されるものではなく、常に様々な観測ノイズが存在する。我々は、プリンストン大学の Haw Yang 博士が開発した、フィッシャー情報基準および Cramer-Rao 不等式の情報理論などに立脚し、実験により得られる一分子時系列情報から観測ノイズに埋もれた状態間遷移のシンボル列を抽出する Changing Point 解析法に基づいて、観測ノイズが相関をもたないガウス過程と見なせる場合には観測ノイズを情報理論的に除去できるデータ処理方法を開発した。

Change Point 解析は、一般に、「時系列の性質が有意に変化する時点(Change Point)」を、検出するための方法である(図 15)。Change Point を検出するための方法は、各時刻において、「その時刻以前の時系列」と「その時刻以後の時系列」が、等しいパラメータ(平均と分散)を持つガウス分布で尤もらしく記述できるかを、尤度比検定によって決定する。このプロットによって、ノイズの性質(蛍光ビーズなどの対照実験などで事前に確認することができる)が近似的にガウス過程である場合には、ノイズに埋もれている蛍光強度レベルの個数や Dwell time(図 15 の T_i) の広がりなどを検出することができる。たとえば、ショットノイズが顕著な場合にはポアソン統計分布を仮定することで除去することができる。我々は Change Point によって分割された各区間における蛍光強度の平均値だけでなく、高次モーメントも考慮に入れた新しい方法論も、開発している。スカラー量である時系列情報に埋もれている背後に存在する高次元性を部分的に評価できることが期待される。

一分子観測実験のデータ解析(IV-e)。実際の一分子観察によって計測された蛍光強度時系列情報には観測装置による測定誤差、光子統計に由来するショットノイズ、ブリンキングなどの光化学に由来する強度揺らぎ、色素分子の配向ダイナミクスなど、様々な実験誤差が含まれている。

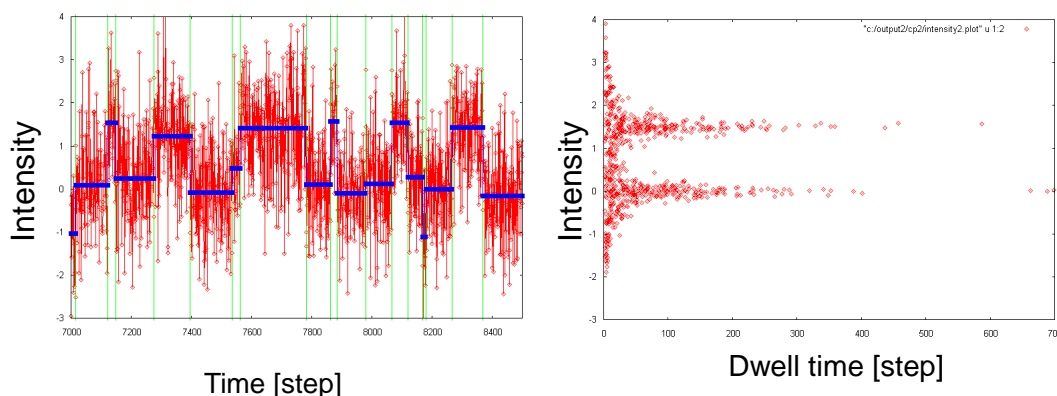


図 15: (左) (蛍光) 強度 0 および 1 を中心に分散 1 のガウスノイズが存在する時系列(赤色)に対する Change Point 解析例。検出された Change Point(緑色)によって、時系列は「区間(interval)」に分割される。各区間の平均値が、青色で示されている。(右) Change Point によって分割された各区間は、その区間における Intensity の平均値 (\hat{I}_i) と、区間の長さ (T_i) によって、特徴付ける。ここでは、すべての (\hat{I}_i, T_i) をプロットしている。

計測された蛍光強度時系列情報から解析に使いたい色素分子間距離の時系列情報に変換する方法論は、NIH の Gopich、Sazbo ら、プリンストン大の Yang らにより開発されてきた。前者は、予め物理モデルを想定し、共焦点スポットを通過するバースト時系列解析に対して立案されたものである。彼らの理論では、2-color FRET (Donor と Acceptor からの同時発光計測) と photon-by-photon での観測を大前提とし、2-color FRET は拡散による蛍光強度揺らぎと構造変化による蛍光強度揺らぎに分解し、photon-by-photon 観察はブリンキングなどの光化学に由来する強度揺らぎの寄与を見積もるために必要とされる。後者は、光子統計に由来するショットノイズなどの関数形(ポアソン分布関数)と無相関性を仮定するが、物理モデル全体を予め前提とする必要がない利点がある。

我々は、後者の Changing Point 解析手法に基づいて観測ノイズを情報理論的に除去できるデータ処理方法を作成し、名古屋大学と共同で機械受容イオンチャネル MscL のパッチクランプ電流時系列データを解析している。現在、(観測ノイズを除去する前の)生のパッチクランプ電流時系列データに基づく解析結果しかないが、膜に与える張力の大きさに依存して、キネティックが多様な変化(指数緩和からべき緩和へ)を示すこと、ならびにそれらの背後に存在する状態に依存して滞在時間分布が多様に変化する状態遷移ネットワークの存在の可能性を示した。

また、高橋グループにより観測される蛍光強度の経時変化から必要となる 1 分子時系列データを抽出するためのベースライン補正、蛍光強度の不均一性などの解析のデータ処理手法を考案した。たとえば、蛍光ビーズなどの対照実験などで観測ノイズの関数の正規性が近似的に満たされ、時間相関の時間スケールが問題とするシトクロム *c* の構造変化の時間スケールよりも短いことが判明した場合には、我々の情報理論に立脚する第二段階目のデータ処理手法が適用できることになる。高橋グループによる熱安定性が異なるシトクロム *c* の一分子観察時系列データの理論解析は、データ前処理方法の開発・改良を重ねている段階ではあるが、着実に解析理論はこのプロジェクトを通して装置開発とともに“共進化”を遂げており(装置開発、理論解析ともに研究成果も着実に上げてきている(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 4 報など))、年度内に自由エネルギー地形、状態空間ネットワークの理論解析に着手できるものと期待される。

この他、一分子計測時系列情報に依拠する階層的ダイナミックスの解析手法の深化と展開、量子ドットの一分子時系列解析によるブリンキング現象の状態ネットワーク解析などにも着手・推進し、多角的に解析手法の深化を行った。

以上をまとめると、いずれのテーマも当初の研究計画の達成度を概ね満足している。また、IV-c)における「一分子時系列情報に基づいて系の背後に存在する多次元自由エネルギー地形を構成できるか」という課題は研究代表者から発案されたものであり、IV-d)における情報理論的ノイズ・フィルタリングの課題も、研究代表者のリーダーシップのもと、高橋グループと小松崎グルー

プの間で小規模研究会をしばしば開催し、綿密な議論・打ち合わせを行っている中から生まれた研究成果であることを付記する。

④ 当初計画では想定されていなかった新たな展開の内容と展開状況

第一に、VI-a)を研究する過程で、社会学、生態学、WWW、代謝ネットワークなどにおいて重要な概念である“スモールワールド”(Barabasi *et al. Science* **286**, 509 (1999))を、蛋白質の構造空間解析に展開できる可能性を示すことができた。関連する研究として、Cafischら(*Curr. Opin. Struct. Biol.* **16**, 71 (2006))は、計算機実験により、ポリペプチドの最安定構造近傍の状態遷移ネットワークはスモールワールド構造を有していること、ランダムに組み替えたポリペプチドでは、スモールワールド構造は消失することなどを見出した。IV-a)で我々が開発した手法を展開することで、蛋白質におけるスモールワールド性を実験的に検証することができる。この方法では、蛋白質がもつ構造転移ネットワーク構造を、一分子観察実験を通して客観的に推定できる。

第二に、IV-a)と IV-c)を遂行する中で、情報エントロピーの概念を用いると、多次元エネルギー地形の複雑さや経路の多重性の複雑さを評価できることに気づいた。この発想に基づき、蛋白質をはじめとする多次元の自由度を持つ系について、人間には理解しにくい複雑なエネルギー空間の構造を、物理的意義を失わずに視覚的に表現する手法を開発した。この手法を使うと、折り畳みやすい配列を持つモデル蛋白質は、折り畳み構造を中心としたシンプルなエネルギー空間を持つが、折り畳みにくい配列をもつモデル蛋白質は、複数の副状態が複雑に連結した空間を持つことが示された(図 16)。また、経路多重性を定量化し、系が折れ畳む過程で、多重折れ畳み経路のあいだをどれくらい競合するかを評価することに成功した[Rylnanceら *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 18551-18555 (2006)., Komatsuzakiら *J. Chem. Phys.* **122**, 084714 (2005).]。この方法は、IV-c)における一分子観察実験データから構成される自由エネルギー地形を可視化・解析するうえでも極めて有用であるため、本プロジェクト期間終了後も引き続き、今後の高橋グループの「IIIシトクロムcを使った一分子観察実験」におけるデータ解析にも積極的に適用していく。

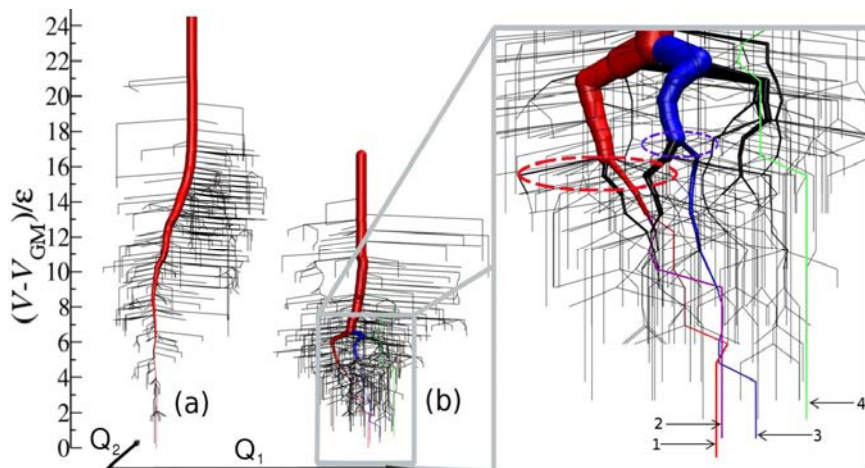


図 16: モデル蛋白質の多次元エネルギー地形の可視化。(a) ファネル型エネルギー地形; (b) 非ファネル型エネルギー地形。樹木の根のように、複雑に経路が絡まり合っているのが分かる。Rylnanceら *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 18551 (2006).

第三に、IV-a)、IV-b)、IV-c) を研究する過程で、「熱的に揺らいでいる環境下において、構造変化を駆動する力は何であるのか？熱ゆらぎ環境下で反応の方向を決めているものは何か？そもそもゆらぎの中で決定性がどれだけ残っているのか？」という基本問題を考察するに至った。生体分子の周囲の揺らぎをどのように“表現”し、“評価”するのかという作業自体、理論的に確立してはいない。IV-b)では、古典分子動力学シミュレーションに基づいて、ミクロな分子物性の情報をある程度反映した方法論に基づいて解析を進めているが、タンパク質の折畳みの時間スケールまで計算機実験を敢行し、実時間追跡することはほぼ不可能といえる。IV-b)と相補的な研究課題として、熱ゆらぎと溶質分子に内在する自由度間の(非線形)相互作用を考慮に入れた多次元ランジュバン方程式と呼ばれる記述体系に基づいて、熱揺らぎ存在下における分子運動の「一分子基礎学」とも言うべき理論の定式化に成功した。熱ゆらぎ環境下において、反応を記述すべき座標を、溶質分子の座標と速度、更には熱浴による乱雑力と摩擦係数の関数として定式化することで、「熱雑音の存在下において」構造変化の終状態(どういう構造変化をその後迎えるのか)をほぼ完全に予測できる理論的枠組みを提案した。この理論を深化させることで、熱的に揺らぐ環境下において、生体機能が効率よく発現する原理が解明されるものと期待される(米国科学アカデミー紀要に投稿したが、半年以上レフリーとの議論・やり取りを経た結果、レフリー側の意見が二分し、残念ながら受理に至らなかったが、現在、*J. Chem. Phys.*などに投稿中)。

以上のように、当初計画では想定されていなかった新たな展開・方向性も生じている。

⑤ 成果の位置づけや類似研究との比較

小松崎グループのアプローチは、「一分子レベルの時系列情報のみが得られるとき、如何にして背後に存在する準安定状態およびそれらのネットワーク構造を構成できるか？」という問いに対するさまざまな挑戦である。現在、この問いに一般的な手法を与えようと正面から取り組んでいる研究者はほとんど皆無である。例えば、前出のフラビン還元酵素の一分子実験やその後の解析(Min *et al. Phys. Rev. Lett.* **94**, 198302 (2005))でも、べき型ガウスノイズをもつ一般化ランジュバン方程式と呼ばれる物理モデルをあらかじめ想定し、実験結果を再現するようにパラメータをフィットしているに過ぎない。

生命系は、進化の所産として、機能発現のために最適化された多次元自由エネルギー地形を獲得した「種」のみが生き残ったとする説があるが、熱的に揺らいでいる環境下で、数 $k_B T$ のイベントである分子機能が頑健に発現する基本原理は明らかにされていない。我々が開発した解析手法は、生体分子が熱的に揺らぐ環境下において、どのようなエネルギー地形ならびに状態空間のネットワークを感じながら、機能を発現しているのかについての強固な情報を観測される時系列デー

々に基づいて提出する画期的な手法である。

生命システムを理解するための理論的アプローチには、大別して、トップダウン的な構成論的アプローチ(数理モデルの提唱)とボトムアップ的な還元論的アプローチ(計算機実験の敢行)が存在する。前者は自然と乖離した我田引水型のモデルに陥る危険性が高く、後者は計算機能力による限界が存在する。我々が開発した手法は一分子時系列情報に基づいて、これらの「トップダウン」と「ボトムアップ」の両アプローチを橋渡しするまったく新しい方法論である。この手法は、予めモデルを限定せずに、熱的に揺らぐ環境下において、如何に蛋白質が折り畳み機能を生むのかを“一分子時系列情報に基づいて系自身に語らせる”ための方法論であり、トップダウンとボトムアップの利点を繋ぐ新しい生命システム理解を創出するものと自負している。

(2) 研究成果の今後期待される効果

① 研究成果の今後の発展見込み

本研究プロジェクトを通じて開発した一分子時系列解析基盤は、将来的に公開する予定である。現在、本プロジェクトの成果を通して、プロジェクトチーム以外に、国内外(たとえば、福井大学、名古屋大学、理研、プリンストン大、UCLA(米)、Dortmund 工科大(独)、ルーヴェン・カトリック大(ベルギー))の一分子計測のグループなどの共同研究を実施中/プログラムの公開に関する問い合わせを受けている。現在、一分子観察に関連するほとんどの研究は、(当然ながら)観察技術の開発に主眼を置いている。一分子観察に関連する理論研究に関しては、我々のほかに、NIHのGopich、Szabo、プリンストン大に移ったYang、MITのSilbey、Caoなどの、未だに少数である(国内には我々のグループ以外にはいない)。また、かれらのほとんどが、観測された蛍光強度揺らぎの測定結果から、解析したい物理量(色素分子間距離の一次元時系列)を抽出する方法論に(現時点では)終始している。情報理論的ノイズ・フィルタリング手法の開発(IV-d)はまだ発展できる可能性を大いに秘めており、今後、我々が開発した「1分子時系列情報から背後に存在する多次元自由エネルギー地形や状態遷移ネットワークを抽出する」時系列解析理論との有機的な統合が強く望まれる。また、一次元の蛍光強度時系列に留まらず、開発された解析理論は、一分子イメージングの解析への展開も期待される。

本研究成果のもっとも重要な点は、実際に観測される一分子時系列情報に基づいて、マイクロとマクロを橋渡しするメソスケールで生起する生命現象を解析・予測するための新しい統合型ダイナミクス基盤技術を創出できたことにある。まだ「一分子」生物学、「一分子」基礎科学は揺籃期にあるといえる。一分子レベルで生命システムを観察することを通して、できるだけ自然現象に照らし合わせながらマイクロとマクロを橋渡しする生命システムの全体像を解き明かす「一分子システムバイオロジー」が将来的に創出されることが期待される。

これまでの JST/CREST チーム型研究で一分子観察技術の開発に関連する研究課題で理論研究者を積極的に加えたのは、私の知る限り、高橋聡教授が最初である(その後、幾つかのプロジェクトにおいても、理論家を加えている研究課題が散見されるが、極少数である)。前述のとおり、海外でも理論研究者が一分子観察の研究に従事するようになったのは、ごく最近のことであり、国内では小松崎グループ以外にはまだ皆無といえる。その意味で、小松崎グループの研究成果は高橋聡教授の高い先見性とリーダーシップに端を発していると断言できる。

② 想定される科学技術や社会への波及効果

現在、物質、材料、生体などのマイクロからマクロに至る現象をシームレスに扱えるマルチスケールシミュレーション技術を開発することは、次世代科学技術のブレークスルーを創出するうえで最重要課題のひとつである。そこでは、マイクロとマクロをつなぐ各階層の時間スケールが分離していること(ハーケンの隷属原理)を前提とし、速いスケールの運動を段階的に粗視化して、「場」として非平衡統計力学の枠組みのなかで取り扱い、高精度モデルから粗視化モデルへ移行していく戦略が考えられている。しかしながら、メソスケールで生起する生命現象においては、その隷属原理の前提そのものが問われており、「揺らぎを伴うメソスコピックな非平衡性」と「分子の個別性が重要となるミクロスコピックな化学反応・構造変化」が連続した時間スケールを介して動的に結合している可能性が高い。現実の細胞内化学反応や RNA の転写過程などの高次な現象は隷属原理を前提とするマルチスケールシミュレーション技術をもってしても、現実問題として計算が極めて困難である対象の一例である。それゆえ、生命システムの 1 分子観測データから時間スケールを跨ぐ階層的な動態構造を読み解く本方法論は、従来のマルチスケールフィジックスに対して、隷属原理を越えた「新しいマルチスケールフィジックス」の創出に繋がるものと今後高く期待される。

蛋白質の構造形成の一分子観察およびその理論解析は社会への大きな利益が期待できる課題でもある。例えば、従来のバイオインフォマティクスは一次元のアミノ酸配列情報と天然構造(エネルギー地形上の一点)の関係性に焦点を絞っている。開発する解析基盤技術を用いて一分子時系列情報から状態遷移ネットワークなどを定量化することで、一点情報を遥かに越えた情報を提供することができ、まったく新たなバイオインフォマティクスを展開することができる。近年、アミロイドなどの凝集体を作るタンパク質が数多く発見され、アルツハイマー病などの原因となることが知られているが、これら凝集体の形成機構の解明には、最安定構造の 1 点情報だけでなく、多次元自由エネルギー地形などに基づく状態遷移ネットワークを俯瞰することが極めて重要である。それゆえ、本研究課題は医薬・創薬など周辺分野の進展に大きく貢献するとともに、計算機実験で到達できなかった生命現象の全体像を理解する上で学術上の突破口を拓くものと期待される。

4. 4 蛋白質水和情報抽出法の開発(東北大学 鈴木グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

① 研究のねらい

鈴木グループでは、「V 一分子観察のための蛋白質水和情報抽出法の開発」を担当した。このテーマのねらいは、天然状態から変性状態に至る中間過程の水和状態の定量的評価法の確立である。開発した方法を、三本木グループで蛋白質安定性解析の対象としているシトクロム c の水和状態解析に応用し、得られた知見をもとに高橋グループで実施する折れ畳み運動の特性や三本木グループの成果とあわせて総合的に考察する。

② 研究実施方法

鈴木グループが担当した研究項目の「V 一分子観察のための蛋白質水和情報抽出法の開発」に対して、以下の小項目を設定し、各項目を段階的に実施した。

- V-a 蛋白分子水和特性解析装置の構築
- V-b シトクロム c の誘電スペクトル測定による水和状態解析
- V-c 変性温度の異なるシトクロム c の水和状態解析
- V-d 水和測定プローブの設計と校正法の開発とシトクロム c 水和測定への適用
- V-e 蛍光・色素プローブによる溶媒情報抽出
- V-f 核磁気共鳴法による水和状態解析

本報告では、上記の研究項目にとらわれずに、主な研究成果を紹介する。

③ 研究成果

はじめに、「マイクロ波誘電緩和スペクトルから水和情報を抽出する手法の開発」について、説明する。本研究開始までに、蛋白質水溶液の誘電緩和スペクトルから水和層をもつ蛋白質分子の水和層の誘電緩和特性の抽出が可能であった。しかし、水和層のなかに複数の緩和成分が含まれる時、それぞれの量的な評価が困難な場合があった。そのため、溶液理論に立ち戻ることで、スペクトルの解析理論を構築した。

粒子の溶液中へのサスペンションを取り扱う溶液理論として Wagner や Hanai の理論、および Asami の方法が知られている。これらの方法を応用すると、蛋白質周囲の水和水を球状もしくは回転楕円体状の粒子と見なし、この粒子が一様分散した溶液について、粒子部分の誘電緩和スペクトルを抽出できる。これは、蛋白質周囲の水和層の誘電緩和スペクトルだと捉えることができる。しかし、この方法だけでは、水和層の体積は任意のパラメータであり、水和水とバルク水の境界を一

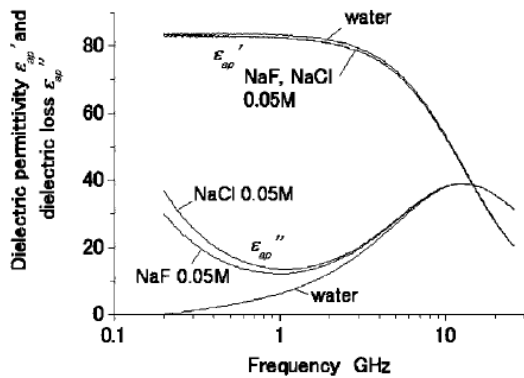


図 17 塩水溶液の誘電スペクトルの例

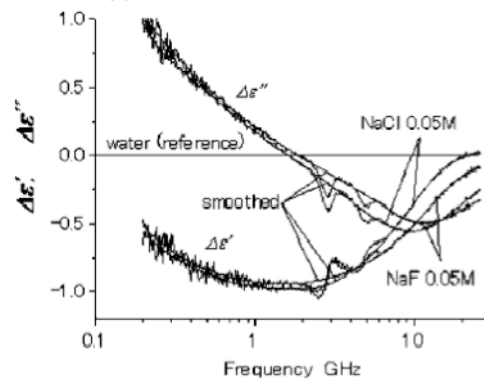


図 18 差誘電スペクトル(図 17 から)

意に定めることが難しい。本研究では、 ϕ スキャン法という新しい手法を開発し、水和水とバルク水の境界を検出する方法を開発した。

まず、基準となる誘電プローブで測定した蛋白質水溶液の 0.2–26 GHz の誘電緩和スペクトルには、プローブの電気長特有の共振ノイズが含まれている。このノイズを取り除くために、電気長の異なるプローブを使って同一の水溶液を測定して得たスペクトルを用いることで、共振ノイズのないデータを得る共振ノイズ低減法を開発した。この方法で、試料溶液のスペクトル $\epsilon_w^*(f)$ と参照溶液のスペクトル $\epsilon_{ap}^*(f)$ をペアで測定し(図 17)、差スペクトルを得る作業を繰り返し平均した差スペクトル $\Delta\epsilon^*(f)$ を得る(図 18)。このとき、 $\Delta\epsilon^*(f)$ は式 (1) のように書ける。

$$\Delta\epsilon^*(f) = \Delta\epsilon'(f) - i\Delta\epsilon''(f) = \epsilon_{ap}^*(f) - \epsilon_w^*(f) - i\frac{\sigma}{2\pi f\epsilon_0} \quad (1)$$

ここで、 σ は蛋白質の外液の導電率にほぼ等しい。従って、この方法により、蛋白質水溶液と参照溶液の誘電スペクトルを、正確に観測することが可能である。

次に、得られたデータから、蛋白質周囲の水和水の誘電スペクトルを計算する。Hanai 混合理論式 (2) を用いることで、蛋白質水溶液の誘電スペクトル $\epsilon_{ap}^*(f)$ と参照液の誘電スペクトル $\epsilon_w^*(f)$ から、水和水の体積分率 ϕ をパラメータとして、溶質の誘電スペクトル $\epsilon_q^*(f)$ を求めることができる。

$$\epsilon_q^* = \left\{ \epsilon_{ap}^* - (1-\phi) \left(\frac{\epsilon_{ap}^*}{\epsilon_w^*} \right)^{\frac{1}{3}} \epsilon_w^* \right\} / \left\{ 1 - (1-\phi) \left(\frac{\epsilon_{ap}^*}{\epsilon_w^*} \right)^{\frac{1}{3}} \right\} \quad (0 < \phi < 1) \quad (2)$$

ここで、体積分率 ϕ が実際の水和水と溶質の体積分率 ϕ_B より十分に大きければ、 $\epsilon_q^*(f)$ は外液の誘電スペクトル $\epsilon_w^*(f)$ に近いものとなる。一方で、 ϕ を減少させて $\phi = \phi_B$ に達したとき、 $\epsilon_q^*(f)$ は水和水と溶質の誘電スペクトルに等しくなるはずである。この ϕ_B を決定できれば、水和水の水の数 N_{total} などを求めることができる。本研究で開発した ϕ スキャン法は、

(2) 式における ϕ 値を少しずつ変化させて水和水の誘電スペクトルを計算し、最も適切な ϕ_B を決定する手法である (図 19)。

ϕ -scanning analysis

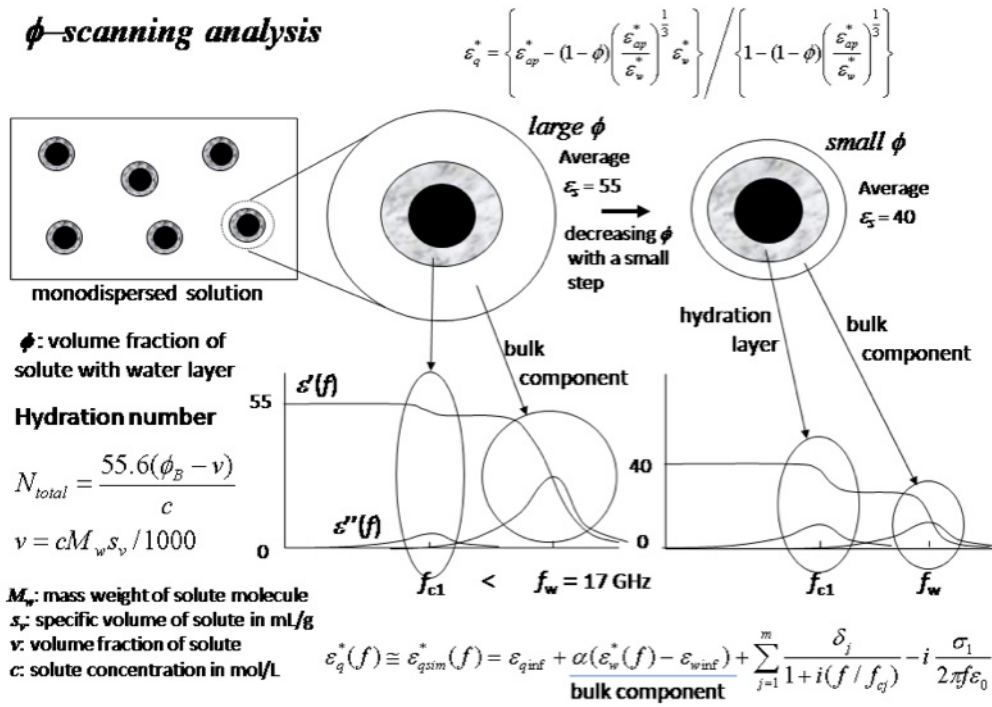


図 19 ϕ スキャン解析の原理図

次に、最適な ϕ 値を決定するために、各 ϕ 値で決定した水和した蛋白質分子の誘電緩和スペクトルについてデバイ成分解析を行い、物理的にもっとも確からしいパラメータの組み合わせを求め、 ϕ 値を決定する手法を採用した。すなわち、式(2)において体積分率 ϕ を ϕ_B より大きい値で水和した蛋白質分子の誘電緩和スペクトル $\epsilon_q^*(f)$ を求めたとき、図 19 に示すようにバルク水の誘電緩和成分が1つの溶質を含む球体に多く含まれることになる。すなわち、 $\epsilon_q^*(f)$ はバルク

$$\epsilon_q^*(f) \cong \epsilon_{qsim}^*(f) = \epsilon_{qinf} + \alpha(\epsilon_w^*(f) - \epsilon_{winf}) + \sum_{j=1}^m \frac{\delta_j}{1 + i(f/f_{c_j})} \quad (3)$$

水の誘電緩和スペクトル成分といくつかのデバイ緩和成分の和で近似できる(式(3))。

ここで、どの ϕ においてもベストフィットの組 (f_{c_i}, δ_i) と α を求め、 $\epsilon_q'(f)$ と $\epsilon_{qsim}'(f)$ の差からフィッティング誤差を評価した。デバイ成分数 m を1から開始し、フィッティングが不合格のときは成分を増やす。シトクロム c 水溶液では、 $m = 1 \sim 2$ で $3 \sim 26 \text{ GHz}$ の誘電スペクトルの実部をフィットできた。ここで、体積分率 ϕ を小さくすれば、バルク水の誘電緩和成分 α が小さくなり最終的に0になる ϕ が存在する。これを水和層境界 ϕ_B とした。以上の方法により、水和層の量を決定するのが ϕ -スキャン解析である。

ここで主に解析した試料は、PA cyt c (wild type)およびウマ心筋(HH) cyt c である。三本木グループではすでに、変性温度の異なる cyt c の変性熱や変性エントロピー等を調べている。本誘電緩和

和分光法でも変性温度の異なる cyt *c* の酸変性過程における水和状態の変化を調べることで、蛋白質の熱安定性に新たな議論の切り口になることが期待できる。実際、変性温度が 73℃と比較的安定な HH cyt *c* に対して、本誘電緩和分光解析により、水和状態として天然状態と MG 状態の間に中間の水和状態があることを確認する結果を得ている。以上のように、本解析により、熱変性過程、酸変性過程と蛋白質構造の関連に関する新たな知見を、水和解析を通して提供できる。

以上の主要テーマの他に、以下のテーマでも進展があった。「アンフォールドした蛋白質分子のモデルとしての荷電高分子の水和状態の誘電緩和スペクトル解析」では、蛋白質が天然状態から変性状態に変化すれば、球状だった蛋白質がランダムコイル状の構造になる。従って、この形状変化に対応できる解析法を開発する必要がある。そのために、荷電高分子を変性蛋白質のモデルとして誘電緩和スペクトル解析を行った。「小容量型計測プローブの開発」では、これまでに使われていた測定セルでは、10–20 mg/mL という高濃度の試料を約 3.5 mL も必要としていたことを改善するため、小容量の誘電緩和測定セルの開発を行った。0.2 ~ 26 GHz で使用する 3.5mm プローブと 1 ~ 50 GHz で使用する 1.9 mm プローブで、誘電スペクトル既知の試料(エタノール 3.5 mol%, 8.0 mol% 水溶液)に対して測定し、各周波数ごとに補正係数をもとめる方法である。これにより、プローブ形状の小容量化にも対応できる見通しを得た。また、誘電緩和分光法以外に水の情報抽出する可能性を調べるために、「蛍光色素や PFG-SE NMR 法を利用した水和情報抽出法の検討」を行った。蛍光色素として選んだリボフラビンアルカリハライド塩水溶液中で Hofmeister 系列に従った酸解離定数のシフトを示したものの、必ずしも誘電緩和スペクトルと単純な相関は得られず、現象解明には時間を要するためそこで終了とした。PFG-SE NMR 法は水溶液中の平均的プロトン並進拡散係数を測定する方法であり、ヨウ化カリウム塩等の水溶液や poly(acrylamidemethylpropane sulphonic acid) 等の荷電高分子水溶液中で、低い限られた濃度範囲で純水中より高い拡散係数をもつことが観測された。この方法は、水和そのものを観測できるわけではないが、溶液全体の特性から水和状態を推察する上で、誘電緩和分光法と相補的な情報を得ることができることを確認した。

④ 成果とその位置づけや類似研究との比較

本研究のユニークさは、蛋白質分子その他水中に分散する容質分子の水和状態を定量的に評価する方法であり、しかも水和層のダイナミクス(誘電緩和周波数)の異なる成分を誘電緩和強度から量的な比率として定量的に評価できるようになった点である。とくに、バルクの水より誘電緩和周波数の高いハイパーモバイル水と、溶質分子との相互作用で束縛された通常の水和水を区別し、定量できる。これらの情報は、赤外分光法や NMR 分光法など、他の手法による水和情報を凌駕している。

以下、個別の成果ごとに、位置づけを議論する。第一の成果は、**蛋白質分子水和層の誘電緩和特性の精密測定が可能になったこと**である。測定法を応用することで、アルカリハライド塩の水溶液の誘電緩和特性の論文を発表した [Miyazaki, Suzuki, *et al. J. Phys. Chem. A*112, 10801-10806 (2008)]。

第二の成果は、**シトクロム c の酸変性過程の水和状態の変化を定量的に明らかにした**ことである。これにより、開発した手法が蛋白質の研究に実用的に応用可能であることが示された [Wazawa, Suzuki *et al.* 論文投稿準備中]。

第三の成果は、**荷電高分子鎖や変性した蛋白質分子には、水和層以外の1GHz以下に見られる誘電緩和が存在することを見出した**ことである。さらに、この成分は、単分散した誘電体によるものではなく、イオンなどの空間分布のゆらぎを伴う系の分極効果である可能性を示した。また、水和層には、通常の束縛水のほかにハイパーモバイル水や、type IIの誘電緩和過程があることを見出し、これらを分離して定量的評価できるようになった。従って、荷電高分子水溶液、変性した蛋白質、電解質水溶液など、さまざまな試料の誘電緩和スペクトルをマイクロ波領域で精密にデバイ成分分解できるようになった。このことは、マイクロ波領域の誘電緩和特性の研究を大きく進展させるものと期待できる [Tanno, Wazawa, Suzuki *et al.* 投稿準備中]。

第四の成果は、**荷電高分子の誘電緩和スペクトルから、疎水性水和に相当する誘電緩和成分と、ハイパーモバイル水成分がともに排他的に水和層を形成していることを明らかにした**ことである [Miyazaki, Uchihashi, Wazawa, Suzuki *et al.* 投稿準備中]。

⑤ 当初計画では想定されていなかった新たな展開

本研究により、カルボキシル基、スルホン酸基、硫酸基、リン酸基等をもつ高分子鎖にはハイパーモバイル水が形成されることがわかった。これらはどれも大きな一価イオンである。このハイパーモバイル水は、水分子の回転運動性が高いことから、系の自由エネルギーの安定化にエントロピーとして寄与すると思われる。また、運動蛋白質の場合には、力発生に直接かかわる可能性がある。

運動蛋白質の他に、DNA 二重鎖がハイパーモバイル水をもつことが予備観測により確認された。このことは、運動する蛋白質の機能に、ハイパーモバイル水が重要な役割を担う可能性を示唆する。この線の上にたって、ATP 加水分解反応に注目すると、エネルギー論における水和状態の重要性がすでに指摘されている。実際、ATP 等のリン酸化合物の水和状態を調べると、どれもハイパーモバイル水を持つことがわかった。従って、本研究により、生命系のエネルギー論を新たな視点で構築する足掛かりができてきたことになる。

(2) 研究成果の今後期待される効果

① 成果の今後の発展見込

発展が見込まれる研究上の強み。本研究で蛋白質分子の水和状態の把握や、蛋白質と基質の相互作用における水和状態の変化など、またDNAとDNA結合タンパクの相互作用の解明などに、熱力学的理解および物理化学的理解を結びつける架け橋的な情報を提供できるところが強みである。この蛋白質の水和情報の抽出手法は、生命系のエネルギー源であるATPの加水分解反応とそれを利用する多くの生体酵素反応と生命機能の解明研究の切り口としてその重要性が認識され、新学術領域研究としてATPのエネルギーを溶液論と一分子計測技術およびこの研究で開発した水和解析法を統合してその解明に向けて研究を開始した。これを契機として、生命機能の多くの分野にその知見が波及していくことが期待される。

折り畳みから安定化や機能までの理解。これまでの研究で、蛋白質の折れ畳みにおける分子間力に水和層がどのように影響するかはいまだによく理解されてはいない。最近の統計力学的な解析から、水の並進エントロピー効果がきわめて重要であることが京都大の木下正弘らによって指摘されていることでもあり、水和情報を定量的に得ることは科学的議論の基盤として重要な位置づけとなる。三本木グループで研究中の様々な熱安定性のシトクロム *c* に対して、系統的に水和状態とその熱変性過程の変化を調べて行くことで、フォールディングプロセスにおける水和の直接的役割が見えてくると思われる。この場合、水和状態で観測されたバルク水より運動性の低い通常の意味の蛋白質分子表面に拘束された水と、バルク水より運動性の高いハイパーモバイル水のそれぞれの熱力学的役割を明らかにするためには、溶液理論による水のエントロピーの評価や、小松崎グループで最近解析を展開しつつある水分子間の協分的分極効果のエネルギー論的究明をさらに発展することが必要である。

チーム内連携の継続。現時点で、三本木グループとのシトクロム *c* の提供を受けて、酸変性過程での水和状態を明らかにしつつあり、今後とも継続して蛋白質の安定性と水和状態の関連を理解するために連携を継続して行きたい。高橋グループと小松崎グループの一分子観察研究では、蛋白質の折れ畳みが進行する経路を解明しつつある。この経路の物理的背景として、水和情報が重要な因子となることは確実であり、今後とも連携を継続していきたい。

② 想定される科学技術や社会への波及効果

水和状態の定量的なキャラクター化が可能になったことで、蛋白質の構造をより具体的実験に基づいた議論が可能になり、蛋白質分子の表面性、フレキシビリティ、周りの荷電状態、水和層の動きやすさなど、これまででない詳細な情報を提供できることは、蛋白質科学のさらなる発展に寄与できると考える。また、蛋白質以外にも、水に分散するすべての系、たとえばコロイド科学やナノ粒子の医学的、薬学的応用においても、基盤的な重要な情報を提供できると思われる。

§ 5 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 40 件)

1. Sano, R., Kameya, M., Wakai, S., Arai, H., Igarashi, Y., Ishii, M., Sambongi, Y. Thiosulfate oxidation by a thermo-neutrophic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, in press (2010).
2. Takenaka, S., Wakai, S., Tamegai, H., Uchiyama, S., Sambongi, Y. Comparative analysis of highly homologous cytochromes c_5 for their stability and function. *Biosci. Biotech. Biochem.*, in press (2010).
3. Shinnosuke Kawai and Tamiki Komatsuzaki : “Dynamic pathways to mediate reactions buried in thermal fluctuations II: numerical illustrations using a model system”, *J. Chem. Phys.*, **131** : 224506-9pages (2009).
4. Shinnosuke Kawai and Tamiki Komatsuzaki : “Dynamic pathways to mediate reactions buried in thermal fluctuations. I. Time-dependent normal form theory for multidimensional Langevin equation”, *J. Chem. Phys.*, **131** : 224505-11pages (2009).
5. Chun Biu Li, Haw Yang, and Tamiki Komatsuzaki 'New Quantification of Local Transition Heterogeneity of Multiscale Complex Networks Constructed from Single-Molecule Time Series', *J. Phys. Chem. B*, **113** (44), pp 14732–14741(2009).
6. Kobayashi, Y., Sonoyama, T., Takeda, T., Sambongi, Y. “Effects of cysteine introduction into three homologous cytochromes c ” *Biosci. Biotech. Biochem.*, **73**, 1227-1229 (2009).
7. Obuchi, M., Kawahara, K., Motooka, D., Nakamura, S., Yamanaka, M., Takeda, T., Uchiyama, S., Kobayashi, Y., Ohkubo, T., Sambongi, Y. “Hyperstability and crystal structure of cytochromes c_{555} from hyperthermophilic *Aquifex aeolicus*” *Acta Cryst.*, **D65**, 804-813 (2009).
8. Yamanaka, M., Mita, H., Yamamoto, Y., Sambongi, Y. Heme is not required for *Aquifex aeolicus* cytochrome c_{555} polypeptide folding. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **73**, 2022-2025 (2009).
9. Sonoyama, T., Hasegawa, J., Uchiyama, S., Nakamura, S., Kobayashi, Y., Sambongi, Y. “Stability enhancement of cytochrome c through heme deprotonation and mutations” *Biophys. Chem.*, **139**, 37-41 (2009).
10. Takeda, T., Sonoyama, T., Takayama, S. J., Mita, H., Yamamoto, Y., Sambongi, Y. “Correlation between stability and redox potential of three homologous cytochromes c from two thermophiles and one mesophile.” *Biosci. Biotech. Biochem.*, **73**, 366-371 (2009).
11. Kinoshita, M., Suzuki, M. “A statistical mechanical analysis on the hypermobile water around a large solute with high surface charge density” *J. Chem. Phys.*, **130**, 014707(1-11) (2009).
12. Uzawa, T., Nishimura, C., Akiyama, S., Ishimori, K., Takahashi, S., Dyson, H. J., Wright, P. E. “Hierarchical folding mechanism of apomyoglobin revealed by ultra-fast H/D exchange coupled with 2D NMR” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**, 13859-13864 (2008).
13. Hakamada, S., Sonoyama, T., Ichiki, S., Nakamura, S., Uchiyama, S., Kobayashi, Y., Sambongi, Y. “Stabilization mechanism of cytochrome c_{552} from a moderately thermophilic bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*” *Biosci. Biotech. Biochem.*, **72**, 2103-2109 (2008).
14. Kimura, T., Maeda, A., Nishiguchi, S., Ishimori, K., Morishima, I., Konno, T., Goto, Y., Takahashi, S. “Dehydration of mainchain amides in the final folding step of single chain monellin revealed by time-resolved infrared spectroscopy” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105**, 13391-13396 (2008).
15. Miyazaki, T., Mogami, G., Wazawa, T., Kodama, T., Suzuki, M. “Measurement of the Dielectric Relaxation Property of Water-Ion Loose Complex in Aqueous Solutions of Salt at Low Concentrations”, *J. Phys. Chem. A*, **112**, 10801-10806 (2008).
16. Chun Biu Li, Haw Yang, and Tamiki Komatsuzaki 'Multiscale Complex Network of Protein Conformational Fluctuation Buried in Single Molecule Time Series' *Proceedings*

- of National Academy of Sciences USA, **105**, 536-541 (2008).
17. Matsumoto, S., Yane, A., Nakashima, S., Hashida, M., Fujita, M., Goto, Y. and Takahashi, S. A Rapid Flow Mixer with 11- μ s Mixing Time Microfabricated by a Pulsed-laser Ablation Technique: Observation of a Barrier-limited Collapse in Cytochrome c Folding. (2007) *J. Am. Chem. Soc.* **129**, 3840-3841.
 18. Nishiguchi, S., Goto, Y. and Takahashi, S.: Solvation and Desolvation Dynamics in Apomyoglobin *J. Mol. Biol.* **373**, 491-502 (2007).
 19. Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki 'Construction of effective free energy landscape from single molecule time series' *Proceedings of National Academy of Sciences USA* **104**(49),19297-19302 (2007)
 20. Yasuhiro Matsunaga, Chun Biu Li, and Tamiki Komatsuzaki 'Anomalous Diffusion in Folding Dynamics on Minimalist Protein Landscape' *Physical Review Letters* **99**, 238103 (4pages) (2007).
 21. Kinoshita, M., Kamagata, K., Maeda, M., Goto, Y., Komatsuzaki, T., Takahashi, S. "A New Technique for the Investigation of Folding Dynamics of Single Proteins for Extended Time Periods." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 11453-11458 (2007).
 22. Lee, Y. H., Tamura, K., Maeda, M., Hoshino, M., Sakurai, K., Takahashi, S., Ikegami, T., Hase, T., Goto, Y. "Cores and pH-dependent dynamics of ferredoxin-NADP⁺ reductase revealed by H/D exchange." *J. Biol. Chem.* **282**, 5959-5967 (2007).
 23. Miyake, D., Ichiki, S., Tanabe, M., Oda, T., Kuroda, H., Nishihara, H., and Sambongi, Y. "Thiosulfate oxidation by a moderately thermophilic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*" *Arch. Microbiol.*, **188**, 199-204 (2007).
 24. Ogawa, K., Sonoyama, T., Takeda, T., Ichiki, S., Nakamura, S., Kobayashi, Y., Uchiyama, S., Nakasone, K., Takayama, S.J., Mita, H., Yamamoto, Y., Sambongi, Y. Roles of a short connecting disulfide bond in the stability and function of psychrophilic *Shewanella violacea* cytochrome *c5*. *Extremophiles*, **11**, 797-807 (2007)
 25. Rylance, G. J., Johnston, R. L., Matsunaga, Y., Li, C. B., Baba, A. & Komatsuzaki, T. "Topographical complexity of multidimensional energy landscapes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 18551-18555 (2006).
 26. Nakamura, S., Ichiki, S., Takashima, H., Uchiyama, S., Hasegawa, J., Kobayashi, Y., Sambongi, Y., Ohkubo, T. "Structure of cytochrome *c*₅₅₂ from a moderate thermophilic bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*: Comparative study on the thermostability of cytochrome *c*." *Biochemistry*, **45**, 6115-6123 (2006).
 27. Takahashi, Y., Sasaki, H., Takayama, S. J., Mikami, S., Kawano, S., Mita, H., Sambongi, Y., Yamamoto, Y. "Further enhancement of the thermostability of *Hydrogenobacter thermophilus* cytochrome *c*₅₅₂." *Biochemistry*, **45**, 11005-11011 (2006).
 28. Uzawa, T., Kimura, T., Ishimori, K., Morishima, I., Matsui, T., Ikeda-Saito, M., Takahashi, S., Akiyama, S., Fujisawa, T. "Time-Resolved Small Angle X-ray Scattering Investigation on the Folding Dynamics of Heme Oxygenase: Implication of the Scaling Relationship for the Submillisecond Intermediates of Protein Folding" *J. Mol. Biol.* **357**, 997-1008, (2006).
 29. Chun Biu Li, Akira Shojiguchi, Mikito Toda, and Tamiki Komatsuzaki 'Dynamical Hierarchy in Transition States of Reactions' *Few-Body Systems* **38**,173-179 (2006)
 30. Shintaku, M., Matsuura, K., Yoshioka, S., Takahashi, S., Ishimori, K., Morishima, I. "Absence of a detectable intermediate in the compound I formation of horseradish peroxidase at ambient temperature" *J. Biol. Chem.* **280**, 40934-40938, (2005).
 31. Kimura, T., Akiyama, S., Uzawa, T., Ishimori, K., Morishima, I., Fujisawa, T., Takahashi, S. "Specifically collapsed intermediate in the early stage of the folding of ribonuclease A" *J. Mol. Biol.* **350**, 349-362, (2005).
 32. Wadai, H., Yamaguchi, K., Takahashi, S., Kanno, T., Kawai, T., Naiki, H., Goto, Y. "Stereospecific amyloid fibril formation of a peptide fragment of β 2-microglobulin" *Biochemistry*, **44**, 157-164, (2005).

33. Kameda, A., Hoshino, M., Higurashi, T., Takahashi, S., Naiki, H., Goto, Y. "NMR characterization of refolding of β 2-microglobulin trapped by prolyl cis-trans isomerization" *J. Mol. Biol.* **348**, 383-397, (2005).
34. Yamaguchi, K., Takahashi, S., Kawai, T., Naiki, H., Goto, Y. "Seeding-dependent propagation versus maturation of amyloid fibril conformation" *J. Mol. Biol.* **352**, 952-960, (2005).
35. Kojima, N., Yamanaka, M., Ichiki, S., Sambongi, Y. "Unexpected and elevated production of Aquifex aeolicus cytochrome c_{555} in *Escherichia coli* cells lacking disulfide oxidoreductases" *Biosci. Biotech. Biochem.* **69**, 1418-1421 (2005).
36. Chun Biu Li, Yasuhiro Matsunaga, Mikito Toda, and Tamiki Komatsuzaki 'Phase Space Reaction Network on a Multisaddle Energy Landscape: HCN isomerization' *Journal of Chemical Physics* **123**, 184301(1)-184301(13) (2005).
37. Tetsunari Kimura, Takanori Uzawa, Koichiro Ishimori, Isao Morishima, Satoshi Takahashi, Takashi Konno, Shuji Akiyama and Tetsuro Fujisawa. "Specific collapse followed by slow hydrogen-bond formation of beta-sheet in the folding of single-chain monellin." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 2748-2753 (2005).
38. Kenta Oikawa, Shota Nakamura, Takafumi Sonoyama, Atsushi Ohshima, Yuji Kobayashi, Shin-ichi J. Takayama, Yasuhiko Yamamoto, Susumu Uchiyama, Jun Hasegawa, and Yoshihiro Sambongi. "Five Amino Acid Residues Responsible for the High Stability of *Hydrogenobacter thermophilus* Cytochrome c_{552} : RECIPROCAL MUTATION ANALYSIS." *J. Biol. Chem.*, **287**, 5527-5532 (2005).
39. Shin-ichi Ichiki, Shota Nakamura, Tadayasu Ohkubo, Yuji Kobayashi, Jun Hasegawa, Susumu Uchiyama, Hirofumi Nishihara, Keiko Mizuta and Yoshihiro Sambongi. "Cloning, expression, crystallization, and preliminary X-ray characterization of cytochrome c_{552} from a moderate thermophilic bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*." *Acta Crystal.* **F61**, 395-398 (2005).
40. Tamiki Komatsuzaki, Kyoko Hoshino, Yasuhiro Matsunaga, Gareth J. Rylance, Roy L. Johnston and David J. Wales "How Many Dimension is Required to Approximate Potential Energy Landscape of A Model Protein?" *Journal of Chemical Physics* **122**, 084714 (2005).

(2) その他の著作物(総説、書籍など)

1. 三本木至宏、山中優、長谷川淳、内山進. 熱安定性が異なるシトクロム c の構造と折り畳み. *熱測定*, 37, 9-16 (2010).
2. 山中優、三本木至宏. シトクロム c 生合成とシステムの進化. *化学と生物*, in press (2010).
3. Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki 'Multidimensional Energy Landscapes in Single Molecule Biophysics' *Advances in Chemical Physics*, John-Wiley & Sons, Inc. in press.
4. Satoshi Takahashi and Kiyoto Kamagata "Staring at a protein: ensemble and single molecule investigations on prtein folding dynamics" *Advances in Chemical Physics*, John-Wiley & Sons, Inc. in press.
5. Tamiki Komatsuzaki, Akinori Baba, Shinnosuke Kawai, Mikito Toda, John E. Straub, R. Stephen Berry "Ergodic Problems for Real Complex Systems in Chemical Physics" *Advances in Chemical Physics*, ed. by R. S. Berry, D.M. Leitner, T. Komatsuzaki, John-Wiley & Sons, Inc. in press.
6. C. B. Li and T. Komatsuzaki , "Extracting the Underlying Unique Reaction Scheme from a Single-Molecule Time Series" in *Cell Signaling Reactions: Single-Molecular Kinetic Analysis* (Springer) in press.
7. "Kinetics and Nonlinear Dynamics of Complex Many-Body Systems" *Advances in Chemical Physics*, ed. by R. S. Berry, D.M. Leitner, T. Komatsuzaki, John-Wiley & Sons, Inc. in press
8. "Single Molecule Biophysics: Experiments and Theories" *Advances in Chemical Physics*, ed. By T. Komatsuzaki, S. Takahashi, M. Kawakami, Haw Yang and Robert Silbey John-Wiley & Sons, Inc. in press

9. 鎌形清人・木下雅仁・高橋 聡「一分子測定法による蛋白質の折り畳み研究の展開」生物物理 **49**, 282-287 (2009).
10. 高橋 聡・鎌形清人「蛋白質を基板から解き放つ：蛋白質の折り畳み運動の解明を目指した一分子観察法の開発」BIOINDUSTORY シーエムシー出版 (2009).
11. 若井暁、三本木至宏. 微生物による無機硫黄化合物の酸化—研究の現状と未来—. 極限環境微生物学会誌, 8, 39-43 (2009).
12. 高橋 聡「蛋白質の可視化とダイナミズム」タンパク質科学実験 III 3章 化学同人 (2009).
13. 三本木至宏, 「食べ物も作る微生物たち」, 広島大学公開講座シリーズ7「分子から見た生命の不思議」p.60-81 (深宮齊彦 編著, 広大生物圏出版会, 2009年3月30日発行)
14. 平松弘嗣・高橋 聡 「蛋白質への応用」 顕微赤外・顕微ラマン分光法の基礎と応用 5章5節 技術情報協会 (2008).
15. 小松崎民樹「1分子時系列情報から我々は何を学び取ることができるか？」物性研究 **91**,121-130(2008) (invited)
16. 小松崎民樹「1分子時系列情報から読み解く生体分子の状態遷移ネットワーク」日本生物物理学会誌 生物物理 **48**(5), 282-283 (2008) (invited)
17. 松永康佑・小松崎民樹「高分子とカオス—異常拡散と階層的規則性—」日本高分子学会誌 高分子 **57**(2), 58-61 (2008)(invited)
18. 白川智弘・郡司ペギオ幸夫・小松崎民樹「惑星科学と非線形科学の接点:化学反応から生物計算まで」日本惑星科学会誌 遊星人 **16**(4) 322-329 (2007) (invited)
19. 鈴木 誠、宮崎 崇、”高分解マイクロ波誘電分光による筋肉タンパク周りの水の回転運動特性と筋肉収縮の分子メカニズム”、生物物理、**273**, (47-5), 295-301 (2007).
20. 納多哲史・馬場昭典・小松崎民樹「水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス」物性研究 **86-1**, 123-129 (2006)
21. 星野恭子・松永康佑・Gareth J. Rylance, Roy L. Johnston, David J. Wales, 小松崎民樹「タンパク質エネルギー地形における構造多様性と多次元エネルギー地形の新しい可視化手法」物性研究 **86-1**, 117-122 (2006)
22. Chun Biu Li, M. Toda, and T. Komatsuzaki, Geometrical Structure buried in the Phase Space of Stochastic Structural Transition 物性研究 **86-1**,77-81 (2006)
23. 湊上壮太郎・小松崎民樹・戸田幹人編「複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題 III—タンパク質とその周辺—(研究会報告)」物性研究 **86-1**, 37-154 (2006)

(3) 国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 54 件、国際会議 34 件)

1. Sambongi Y. (Hiroshima University) “ATP hydrolysis in extremophilic microorganisms”, International Symposium on Hydration and ATP Energy, Sendai Japan, March 8-10 (2010).
2. Tamiki Komatsuzaki "Dynamical Origin of Change of States in Chemical Reactions and Conformation Changes--Toward Biological Functions under Thermal Fluctuation" RIES-CIS Mini-workshop on Nano/Bio/Quantum Science, National Chiao Tung University ,Taiwan, Dec. 10, 2009 (invited).
3. T. Komatsuzaki : “Extracting a Multidimensional Free Energy Landscape from a Scalar Single-Molecule Time Series”, International Symposium of Joint Research Network on Advanced Materials and Devices 「彫」, Hotel NIDOM, Hokkaido, March 25, 2010 (invited).

4. 鈴木 誠、最上譲二、児玉孝雄:ATPの加水分解反応における反応物・生成物の水和状態とその反応自由エネルギーへの寄与について 日本生体エネルギー研究会 第35回討論会、旭川、12/18-20 (2009).
5. Sambongi Y. (Hiroshima University) "ATP hydrolysis in extremophilic microorganisms", International Symposium on Hydration and ATP Energy, Sendai Japan, March 8-10 (2010).
6. Makoto Suzuki: Hydration analysis of polyelectrolytes and proteins under enzyme reaction by dielectric relaxation spectroscopy.、中性子構造生物研究会、いばらき量子ビーム研究センター、1/26-27 (2010).
7. Makoto Suzuki, High rotational mobility of water around polyelectrolytes and actin filaments interacting with myosin and its thermodynamic meanings, Solvation and Bioactive Compounds: Bridging theory, Computation and Experimentt, Max Planck Institute for Mathematics in the Sciences, Leipzig, Germany, January 7-10 (2010).
8. 山森明弘 「蛋白質-分子基質結合ダイナミクスの観察」 蛋白質の基質結合や構造変化における分子揺らぎの意義を討論する会、東北大、3/4-3/5 (2010).
9. 鎌形清人 「キャピラリー内トラップによる蛋白質-分子ダイナミクスの長時間観察」 蛋白質の基質結合や構造変化における分子揺らぎの意義を討論する会、東北大、3/4-3/5 (2010).
10. 小松崎 民樹(北大電子研)「1 分子時系列情報から我々は何を読み解くことができるのか？」 第1回バイオ単分子研究会、新世代研究所(お茶の水)、平成21年5月25日.
11. 小松崎 民樹(北大電子研) "Exploring Multiscale Complex Network and Effective Free Energy Landscape by using Single-Molecule Time Series"階層性を持つ大自由度力学系の時系列解析(理研和光キャンパス)平成21年5月25日-30日.
12. 高橋聡「蛋白質折り畳み運動を観測するための一分子蛍光検出法の開発」CREST 中山チーム、第6回ミーティング、宮城県岩沼市、5月29日-30日.
13. 小松崎 民樹(北大電子研)「状態変化における『偶然と必然』の数理 高等研究所2009年度研究プロジェクト「諸科学の共通言語としての数学の発掘と数理科学への展開」研究会、国際高等研究所、京都府、平成21年6月12-13日.
14. 高橋聡「流路を流れる一分子の連続観察:蛋白質の折り畳み研究への応用」SNAMS シンポジウム、東北大学多元物質科学研究所、6月12日.
15. 馬場 昭典(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研) 「Construction of an Effective Free Energy Landscape from Single-Molecule Time Series」多体化学系の反応ダイナミクスに関する国際シンポジウム(京都大学百周年時計台記念館、京都市)平成21年6月22日-24日.
16. Tamiki Komatsuzaki(北大電子研), "Multiscale Complex Network and Effective Free Energy Landscape extracted from Single-Molecule Time Series ", Telluride Workshop on Single Molecule Dynamics, Telluride, CO USA, June 22-June 26, 2009.
17. Satoshi Takahashi (東北大学), " Staring at a Protein: Single-molecule and Ensemble Investigations of Protein Folding ", Telluride Workshop on The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions, Telluride, CO USA, June 29-July 3, 2009.
18. Tamiki Komatsuzaki(北大電子研), "Free Energy Landscape for Single Molecule", Telluride Workshop on The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions, Telluride, CO USA, June 29-July 3, 2009.
19. 鈴木 誠 (東北大学大学院工学研究科), 誘電緩和分光で観る ATP 加水分解反応における水の役割, 第103回水科学研究会, 東京海洋大, 平成21年10月7月4日.
20. Makoto Suzuki (Tohoku Univ.) Introduction of Scientific Research on Innovative Areas "Hydration and ATP energy", International Mini-Workshop on "Hydration and ATP Energy", Uji, Kyoto, July 11 (2009).

21. 小松崎 民樹(北大電子研)「時系列情報から読み解く数理モデル —生体分子の階層的な構造揺らぎを例に一」第 15 回創発システム・シンポジウム 創発夏の学校 2009 (インテック大山研修センター、富山市) 2009 年 8 月 8 日-10 日.
22. Chun Biu Li (北大電子研)"What is the Relevant Information in Modeling the Dynamics of Complex Systems from Measurements? Dynamics of complex systems 2009 -複雑系解析における未解決問題への新しい挑戦 -(北海道大学、札幌市)平成 21 年 8 月 31 日-9 月 2 日.
23. 小松崎民樹(北大電子研)「状態変化の数理：化学反応の起源を探る」 Dynamics of complex systems 2009 -複雑系解析における未解決問題への新しい挑戦-(北海道大学、札幌市)平成 21 年 8 月 31 日-9 月 2 日.
24. 高橋 聡 (東北大学) 「一分子観察と多分子観察による蛋白質の折り畳み運動」生物物理学会・東北支部シンポジウム (石島秋彦 (東北大学) 主催) 仙台平成 21 年 9 月 11 日.
25. 三本木至宏, 若井暁, 佐野涼子 (広島大学大学院生物圏科学研究科), 化学独立栄養細菌による硫黄代謝, 第 61 回日本生物工学会, 名古屋, 平成 21 年 9 月 25 日.
26. 三本木至宏 (広島大学大学院生物圏科学研究科), 超好熱性細菌のシトクロム *c* から見えた蛋白質安定化と生合成の仕組み, 日本生物高分子学会 2009 年度大会, 広島, 平成 21 年 11 月 20 日.
27. Tamiki Komatsuzaki "Construction of an Effective Free Energy Landscape from Single-Molecule Time Series" 1st Annual Protein and Peptide Conference, BIT's 4th Life Spring Forum on protein folding and diseases -celebrating 60 years of Prof. Scheraga's science (1948-2008), Shenzhen, April 22-24, 2008 (invited).
28. Tamiki Komatsuzaki, Extracting Multiscale Complex Network of Protein Fluctuation from Single-Molecule Time Series, Telluride Summer Workshop "Characterizing Landscapes: From Biomolecules to Cellular Networks" organized by Jianpeng Ma and Jin Wang, July 6-12, 2008 (invited).
29. Takahashi, S., Konuma, T., Goto, Y., Fujisawa, T., American Crystallographic Association, 2008 Annual Meeting, May 31~June 5, 2008, Knoxville, Tennessee, USA "Time-Resolved Small-Angle X-ray Scattering Study of Protein Folding".
30. 小松崎 民樹 「1 分子時系列情報から生体分子機能の複雑さを解読する」分子研シンポジウム (岡崎) 2008 年 6 月 13-14 日.
31. Takahashi, S., XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, August 24~30, 2008, Osaka, Japan "Protein folding dynamics by time resolved SAXS and single molecule fluorescence spectroscopy".
32. 鈴木誠 「水・ATP 加水分解とは何か？」生物物理学会・東北支部シンポジウム (石島秋彦 (東北大学) 主催) 仙台 2008 年 8 月 30 日.
33. Chun Biu Li, "An Information-theoretic Approach to unveil the Multiscale Dynamics of Biophysical Systems: Information Flows among Different Scales" Dynamics of complex systems 2008 -- 数学的予測方式の可能性と諸分野からのニーズ -- (北海道大学) 2008 年 9 月 1-3 日.
34. 小松崎 民樹, 化学反応や生体高分子の構造転移における「偶然と必然」の数理を探る Dynamics of complex systems 2008 -- 数学的予測方式の可能性と諸分野からのニーズ -- (北海道大学) 2008 年 9 月 1-3 日.
35. 小松崎 民樹 「1 分子計測から読み解く状態遷移ネットワーク—機械受容チャネルを例に」生理研研究会 「膜機能分子ダイナミクスの分子機構解明に向けて」2008 年 9 月 4-5 日(岡崎).
36. 高橋 聡 「一分子観察法による蛋白質の折り畳みダイナミクスの解析」第 3 回生体分子システムの物理科学研究会 (大阪) 2008 年 9 月 13 日.

37. 高橋 聡 「フロー型連続検出法による蛋白質の折り畳み過程の一分子解析」第64回日本物理学会（岩手）2008年9月20-23日.
38. Chun Biu Li, "On the search of new mathematical frameworks to unveil the multiscale dynamics of complex systems" Workshop on Interfacial dynamics on the boundaries of physics, chemistry, biology and mathematics, Nov. 20, 2008 (Hokkaido) (invited).
39. Tamiki Komatsuzaki "Multiscale Complex Network and Effective Free Energy Landscape Extracted from Single-Molecule Time Series" Symposium on Linking single molecule spectroscopy and energy landscape perspectives, organized by Tamiki Komatsuzaki (Hokkaido University, Japan) Haw Yang (Lawrence Berkeley National Laboratory, USA) at 46th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Dec 3 -5, 2008(Fukuoka) (organizer's talk).
40. Satoshi Takahashi "Progress in the single molecule fluorescence spectroscopy for the time-series analysis of protein folding" Symposium on Linking single molecule spectroscopy and energy landscape perspectives, organized by Tamiki Komatsuzaki (Hokkaido University, Japan) Haw Yang (Lawrence Berkeley National Laboratory, USA) at 46th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Dec 3 -5, 2008 (Fukuoka).
41. Tamiki Komatsuzaki "What can we learn about the mechanism of complexity in kinetics and dynamics from scalar time series?" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, organized by Satoshi Takahashi (Osaka Univ., Japan), Masaru Kawakami (JAIST, Japan), Tamiki Komatsuzaki (Hokkaido Univ., Japan) , Dec 7 -9, 2008(Osaka) (organizer's talk).
42. Satoshi Takahashi "STARING AT A PROTEIN: Single-Molecule and Ensemble Investigations of Protein Folding Dynamics" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, organized by Satoshi Takahashi (Osaka Univ., Japan), Masaru Kawakami (JAIST, Japan), Tamiki Komatsuzaki (Hokkaido Univ., Japan) , Dec 7 -9, 2008 (Osaka).
43. Chun Biu Li "Data-driven Modeling of Single Mechanosensitive Ion Channels from Time Series Analysis" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7 -9, 2008(Osaka) (invited talk).
44. 小松崎 民樹 「1分子時系列情報から読み解く生体機能の階層構造」第64回日本物理学会（岩手）2008年9月20-23日.
45. 鈴木 誠（東北大学大学院工学研究科），モータータンパクの相互作用において水和状態は変化するのか？，日本生物物理学会46回年会シンポジウム，平成20年12月3日.
46. Chun Biu Li 「Understanding the Multiscale Dynamics of Complex Biological Systems from Single Molecule Experiments」日本生物物理学会シンポジウム「レア・イベントから創薬へ（岐阜大学桑田一夫氏、東京大学分子細胞生物学研究所北尾彰朗氏主催）」（福岡）2008年12月3-5日.
47. 清一人、馬場昭典、Chun Biu Li、小松崎民樹 「1分子計測から読み解く状態遷移ネットワーク—機械受容チャネルを例に」日本生物物理学会シンポジウム「イオンチャネルゲーティングのダイナミクスをイメージする（老木成稔氏（福井大学）、曾我部正博氏（名古屋大学）主催）」（福岡）2008年12月3-5日.
48. 鈴木誠 「モータータンパクの相互作用における水和状態の変化」生物物理第46回年会シンポジウム「水を主役とした化学エネルギー変換論」（東北大学鈴木誠、九州工大学児玉孝雄主催）」（福岡）2008年12月3-5日.

49. Satoshi Takahashi, "Staring at a Protein: Single-molecule and Ensemble Investigations of Protein Folding" First Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences Experiments and Simulations, Korea Institute for Advanced Study Seoul, Korea 2009.2.28-3.1.
50. Tamiki Komatsuzaki "Multiple-Time-Scale State Network Topography buried in Single Molecule Time Series" Telluride workshop on *Energy Landscapes: Negotiating the Black Diamonds*, Telluride Science Research Center, CO, USA, April 2-6, 2007.
51. 馬場 昭典 「生体分子の一分子時系列解析：局所平衡状態と自由エネルギー地形」 「非線形振動子系の物理学：現代的問題とその解析」基礎物理学研究所（京都）2007年6月5-7日.
52. 小松崎民樹 「生体分子時系列情報から我々は何を学び取ることができるか？」分子研研究会 分子科学における連成シミュレーションの基礎理論と応用（岡崎）2007年8月29-31日.
53. 馬場昭典 「時系列から見る運動の階層性」日本物理学会 第62回年次大会(北海道大学) 2007年9月21-24日.
54. 小松崎民樹 「1分子時系列情報から我々は何を学び取ることができるか？」統計数理研究所研究会 「非線形科学と統計科学の対話」(統計数理研究所、広尾) 2007年11月26-28日.
55. 寺本央 「Aiming at the universal understanding of molecular systems in terms of theories of dynamical system」若手研究会 「理論化学のフロンティアを探る」(岡崎コンファレンスセンター、岡崎) 2008年1月15日-17日.
56. 鈴木誠(東北大院工学)、高分解マイクロ波誘電分光と PFG-SE H-NMR により確認された、イオン、高分子鎖、タンパク質の周りのハイパーモバイル水とその化学的・生理学的意義、第3回 LSW 研究会シンポジウム、札幌、January 11, (2008).
57. Satoshi Takahashi "A New Perspective on the Dynamics of Protein Folding Revealed by Single Molecule Fluorescence Spectroscopy" International Symposium on Hierarchy and Holism, Okazaki, February 21-23, 2008.
58. 鈴木誠、宮崎崇(東北大院工学)、イオン・高分子・蛋白質周りの水のマイクロ波誘電緩和特性とその生物学的重要性、第55回応用物理学関係連合講演会、分光学会 THz 分光部会・THz 電磁波技術研究会 合同企画シンポジウム、日本大学理工学部 船橋キャンパス、2008年3月27日.
59. 高橋聡 「バルク観察と一分子観察による蛋白質の折り畳みダイナミクス」第六回日本蛋白質科学会年会(京都) 4月24日~26日、2006年.
60. Satoshi Takahashi and Tetsuto Fujisawa "Collapse and search dynamics of protein folding detected by time-resolved small angle X-ray scattering" *The Second International Symposium on the Frontier of Applied Mathematics*, Tsinghua University, Beijing, China, June 8-9, 2006.
61. 小松崎民樹 「1分子計測時系列情報から読み取るたんぱく質系の動的構造」ダイナミクス研究会(岐阜) 6月23-24日、2006年.
62. Satoshi Takahashi and Tetsuto Fujisawa "Collapse and search dynamics of protein folding detected by time-resolved small angle X-ray scattering" *XIII International Conference on Small-angle Scattering Kyoto*, July 9-13, 2006.
63. 小松民樹 「1分子時系列情報から解読される生体分子系の状態空間構造」第46回生物物理若手の会夏の学校(神戸) 7月28-31日、2006年.
64. Satoshi Takahashi "Collapse and Search Dynamics of Protein Folding Detected by Time-Resolved Measurements of Protein Compactness" *International Workshop on Protein Dynamics and Biological Application of Time-resolved Spectroscopy*, Kobe, August 18-19, 2006.

65. Chun Biu Li “Extracting Conformational Dynamics on a Photon by Photon basis in Single Molecule Electron Transfer” 「蛋白質の機能運動と折り畳み運動」蛋白質研究所セミナー 大阪大学 9月 28-29 日.
66. 三本木至宏 “高温性水素細菌の硫黄代謝機構”日本学術振興会先端研究拠点事業—拠点形成型—セミナー(広島)平成 18 年 10 月 6 日.
67. Satoshi Takahashi and Tetsuto Fujisawa “Collapse and search dynamics of protein folding detected by time-resolved small angle X-ray scattering” *Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan*, Okinawa, November 12-16, 2006.
68. Tamiki Komatsuzaki “A construction of the underlying free energy landscape from single molecule time series” *Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan*, Okinawa, November 12-16, 2006.
69. Makoto Suzuki “Dielectric relaxation study of protein hydration and hyper-mobile water found around actin filaments” *Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan*, Okinawa, November 12-16, 2006.
70. Takanori Uzawa, Tetsunari Kimura, Koichiro Ishimori, Isao Morishima, Toshitaka Matsui, Masao Ikeda-Saito, Satoshi Takahashi, Shuji Akiyama, Tetsuro Fujisawa, Generality of Initial Collapse Demonstrated by Scaling Relationship for Submillisecond Intermediates of Protein Folding” *Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan*, Okinawa, November 12-16, 2006.
71. Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Akio Maeda, Yuji Goto and Satoshi Takahashi, “Detection of Folding Dynamics of Freely Flowing Proteins in Solution at the Single Molecule Level” *Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines"* Kobe, December 12-16, 2006.
72. Tamiki Komatsuzaki “What can one learn about the underlying free energy landscape or dynamical structure from single molecule time series?” *Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines"* Kobe, December 12-16, 2006.
73. Makoto Suzuki “Increase of Rotational Mobility of Water around Actin Filaments upon Interaction with Myosin and its Physiological Meanings” *The 4th Open Workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”* Kyoto, December 18-19, 2006.
74. Satoshi Takahashi, “Detection of Folding Dynamics of Freely Flowing Proteins in Solution at the Single Molecule Level” *The 4th Open Workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”* Kyoto, December 18-19, 2006.
75. Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Akio Maeda, Yuji Goto and Satoshi Takahashi “Detection of Folding Dynamics of Freely Flowing Proteins in Solution at the Single Molecule Level” *Third Japanese-French Seminar on Structural Dynamics of Proteins* Grunobele, France, January 2007.
76. Tamiki Komatsuzaki “Dynamical Hierarchy of Transitions in Chemical Reactions” *DYNAMICS OF COMPLEX SYSTEMS - mathematical modeling, method and prediction -*, Hokkaido, Japan, March 19-20, 2007.
77. 高橋聡 「レーザーラマン散乱法と X 線小角散乱法によるヘムオキシゲナーゼの研究」分子研研究会 「ヘム代謝に関わる酵素の分子科学」(岡崎) 3 月 19-20 日、2007 年.
78. Satoshi Takahashi “Collapsed conformations of proteins observed in the submillisecond time domain of protein folding” *US-Japan Symposium on Folding and Design*, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania USA, May2-5, 2005.
79. 高橋聡 「蛋白質の折り畳みダイナミクス：バルク観察からの知見と一分子観察の可能性」蛋白質研セミナー (大阪) 2005 年 5 月 26-27 日.

80. Tamiki Komatsuzaki 'Dynamical Hierarchy of Transitions in Chemical Reactions and Protein Dynamics' Center for Integrative Multiscale Modeling and Simulation Seminar, California Institute of Technology, Pasadena, California USA, July 21, 2005.
81. Tamiki Komatsuzaki 'Complexity of Dynamics on Multidimensional Energy Landscapes in Chemical reactions & Proteins' Telluride Summer Workshop "Energy Landscapes: Dynamics and Optimization", organized by David J. Wales (Univ. of Cambridge), Christian Shoen (MPI) and Karl H. Hoffmann (TU Chemnitz), Telluride, Colorado USA, July 24-August 6, 2005.
82. 高橋聡「蛋白質の折り方を学ぶ：バルク観察と一分子観察によるアプローチ」第四回ナノサイエンスサマー道場（長野）2005年8月16-18日.
83. Tamiki Komatsuzaki 'Dynamical Hierarchy in Transitions of Chemical Reactions: Definability of No-return Transition State' Workshop on "Critical stability of few-body quantum systems", the Max-Planck Institut fur Physik Komplexer Systeme (Dresden, Germany) October 16-22, 2005.
84. 高橋聡「蛋白質の折り畳みダイナミクス研究：バルク観察と一分子観察によるアプローチ」理研シンポジウム（葉山）2005年11月9-10日.
85. 高橋聡、鶴澤尊規（京大）、藤澤哲郎（理研・Spring8）「時分割 X 線小角散乱法による蛋白質の折り畳みダイナミクス：「収縮と探索」機構の提案」第19回放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム（名古屋）2006年1月9日.
86. 高橋聡「集団観察と一分子観察による蛋白質の折り畳みダイナミクス：「収縮と探索」機構の提案」統合バイオサイエンスセンター創設5周年シンポジウム（岡崎）2006年2月6日.
87. 小松崎民樹「水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス」第61回日本物理学会（領域12「水の生物物理学」シンポジウム）（愛媛）3月27-30日.
88. Tamiki Komatsuzaki "How can We Extract Dynamical Information from Time Series Data ?" Japan-U.S. workshop on Dynamical Foundation of Functions and Energy Transfer in Protein Systems (Chicago, US) November 1-6 (2004).

② 口頭講演 （国内会議 81 件、国際会議 21 件）

平成21年度 国内33件 国際1件

1. 佐野涼子, 亀谷将史, 若井暁, 新井博之, 五十嵐泰夫, 石井正治, 三本木至宏（広大院・生物圏, 東大院・応生工）, 中性好熱性硫酸化細菌由来 Sox の生化学と遺伝情報, 日本農芸化学会中四国支部会, 松山, 平成22年1月23日
2. 佐田晃樹, 古賀彩, 山中優, 三本木至宏（広大院・生物圏）, 高温菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* 由来シトクロム c の安定化機構, 日本農芸化学会中四国支部会, 松山, 平成22年1月23日
3. 伊藤 正寛, 馬場 昭典, 李 振風, 小松崎 民樹：「複雑ネットワークから階層的なツリー構造 (disconnectivity graph) を構成する方法論に関する一考察」、日本生物物理学会 2009年度北海道支部例会、北海道大学理学部（2010-03-09）
4. 寺本 央, 小松崎 民樹：「溶質分子の構造変化に際しての水の役割」、日本物理学会、岡山大学津島キャンパス（2010-03-22）
5. 最上譲二, 児玉孝雄, 鈴木誠、ATP加水分解の誘電水解析、日本物理学会第65回年次大会、岡山大、3/20-23 (2010).
6. 最上譲二, 和沢鉄一, 森本展行, 松林伸幸, 鈴木誠、誘電緩和分光法によるリン酸バッファの水解析、日本物理学会第65回年次大会、岡山大、3/20-23 (2010).
7. Kiyoto Kamagata and Satoshi Takahashi "Long-time observation of a single molecule trapped in a capillary cell: application for protein folding" Gordon Research Conference

- “Protein Folding Dynamics”, CA:Ventura Beach Marriott, January 10-15,2010
8. 河合 信之輔(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研)「熱揺らぎ環境下における化学反応の偶然と必然」日本化学会第 89 春季年会(2009)(船橋) 3 月 27 日~30 日
 9. 寺本央(北大電子研)、小松崎民樹(北大電子研)「安定/不安定多様体の折り畳みパターンを通じた分子動力学の解明」理論化学討論会(東京大学本郷キャンパス 武田先端知ビル 武田ホール) 5 月 29 日
 10. Hiroshi Teramoto (北大電子研), Tamiki Komatsuzaki (北大電子研) “Understanding high dimensional molecular dynamics in terms of stable/unstable manifolds ”反応化学討論会(大宮ソニックシティ) 6 月 3 日
 11. 寺本 央(北大電子研)「多自由度 Hamilton 系における安定/不安定多様体の可能な折り畳みパターンとそれらの力学系の性質との関係」力学系研究集会「双曲型力学系から大自由度力学系へ」(京都大学吉田キャンパス) 8 月 17 日-22 日
 12. 高橋聡「高橋研における一分子観察実験：現状報告」,2009 年度「タンパク質・ゲノム構造」勉強会,長野,2009 年 9 月 3 日-9 月 5 日
 13. 馬場 昭典(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研)「一分子観測時系列に基づく多次元自由エネルギー地形の構成」第 3 回 分子科学討論会(名古屋大学東山キャンパス、名古屋) 9 月 21 日-24 日
 14. 河合 信之輔(北大電子研), 小松崎 民樹(北大電子研), Larregaray Pascal (Univ. Bordeaux)「反応 $O+OH \rightarrow H+O_2$ における非統計性と反応動力学」第 3 回 分子科学討論会(名古屋大学東山キャンパス、名古屋) 9 月 21 日-24 日
 15. 寺本央(北大電子研)、小松崎民樹(北大電子研)「多自由度系における安定/不安定多様体の折り畳みパターンおよびそれを通じた力学系の理解」日本物理学会 2009 年秋季大会(熊本大学、熊本市) 9 月 25 日-28 日
 16. Tetsuichi Wazawa, Takashi Miyazaki, Takafumi Sonoyama, Yoshihiro Sambongi, Makoto Suzuki,「誘電緩和分光による酸性から中性 pH 領域における *Pseudomonas aeruginosa* シトクロム c の水和解析」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 31 日(2009).
 17. Takuya Takahashi, Hiromu Ishio, Tomoki Shiomi, Makoto Suzuki, 「A T P 加水分解における周囲の水のダイナミクスと分極電荷の計算」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 31 日(2009).
 18. Akira Tsuchiko, Yoshiyuki Tanaka, Tetsuichi Wazawa, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, 「誘電緩和分光法による DNA オリゴマーの水和状態解析」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 30 日(2009).
 19. Norihiko Tanno, Takashi Miyazaki, Tetsuichi Wazawa, Makoto Suzuki, 「ポリビニルスルホン酸およびそのアルカリ金属塩水溶液の水和特性」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 30 日(2009).
 20. Ayumi Dohi, Takashi Miyazaki, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, 「高分子電解質ハイドロゲルの膨潤に及ぼすハイパーモバイル水の効果」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 30 日(2009).
 21. Tsubasa Ogawa, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, 「ハイパーモバイル水を形成する高分子水溶液におけるプロトン拡散係数」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 30 日(2009).
 22. George Mogami, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, 「リン酸中和反応のエントロピー変化に対する誘電水和解析への応用」、生物物理第 47 回年会、徳島、10 月 30 日(2009).
 23. Yusuke Miyashita, Tetsuichi Wazawa, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, 「誘電緩和分光法によるシトクロム c の中間変性状態における水和状態の温度依存性」、生物物理第 47 回年会、徳島、11 月 1 日(2009).

24. Takashi Sagawa, Makoto Suzuki, Tetsuichi Wazawa, Tsubasa Ogawa, 「PFG-SE H-NMR によって明らかにしたアクチン水溶液中のプロトン拡散係数の増大：重合の寄与」、生物物理第 47 回年会、徳島、11 月 1 日(2009).
25. Tatsuya Osada, Takashi Sagawa, Masahiro Hirose, Tetsuichi Wazawa, Makoto Suzuki, 「誘電緩和分光法によるアクトミオシンの水和解析:ADP 型と AMPPNP 型の比較」、生物物理第 47 回年会、徳島、11 月 1 日(2009).
26. 鈴木 誠 (東北大学大学院工学研究科), 新学術領域研究「水和と ATP」第 1 回公開シンポジウム, 1 月 22 日
27. 鈴木 誠 (東北大学大学院工学研究科), アクトミオシン ATP 加水分解サイクルにおける水和変化 2: 吸熱反応とハイパーモバイル水, 生体運動合同班会議、1 月 9 日
28. 児玉孝雄 1、鈴木誠 2 (1 九州工大、2 東北大院・工) ATP エネルギー論 1, (慈恵大馬詰教授主催) 筋生理の集い, 東京, 12 月 13 日
29. 鈴木誠 1、児玉孝雄 2 (1 東北大院・工、2 九州工大) ATP エネルギー論 2, (慈恵大馬詰教授主催) 筋生理の集い, 東京, 12 月 13 日
30. 山中優, 三本木至宏 (広島大学大学院生物圏科学研究科), 相同蛋白質比較から見えてきたシトクロム c フォールディングにおける補因子ヘムの役割, 日本農芸化学会中四国支部合同大会, 沖縄, 10 月 31 日
31. 竹中聖 1, 為我井秀行 2, 三本木至宏 1 (1 広大院・生物圏, 2 日大・文理), *Shewanella* 属細菌由来 cytochrome c の比較, 日本農芸化学会中四国支部合同大会, 沖縄, 10 月 31 日
32. 佐野涼子 1, 亀谷将史 2, 若井暁 1, 新井博之 2, 五十嵐泰夫 2, 石井正治 2, 三本木至宏 1 (1 広大院・生物圏, 2 東大院・応生工), 好熱性細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* による硫黄化合物酸化機構の解明, 日本農芸化学会中四国支部合同大会, 沖縄, 10 月 31 日
33. 小井川浩之、鎌形清人、高橋聡 「マイクロ秒時間分解一分子追跡による蛋白質折り畳み運動の観測」第 36 回生体分子科学討論会 (北海道), 6 月 19 日-20 日
34. 鎌形清人、後藤祐児、高橋聡 「キャピラリー内とラップによる一分子長時間観測：蛋白質の折り畳みへの応用」第 9 回蛋白質科学会年会 (熊本), 5 月 20 日-22 日

平成 20 年度 国内 7 件 国際 2 件

1. Tamiki Komatsuzaki "Extracting the multiscale complex network of protein fluctuations from single-molecule time series" Single Molecule Biophysics Winter Workshop 2009 Aspen Center for Physics, Steven M. Block, Stanford University (organizer), January 4-10, 2009(Aspen CO USA)
2. C. B. Li, H. Yang, T. Komatsuzaki, "Complex multi-scale networks of protein fluctuation dynamics from single-molecule time series" 6th Asian Biophysics Association (ABA) Symposium, at Hong Kong University of Science and Technology, January 11-15, 2009
3. 河合信之輔、小松崎 民樹 「液相反応の動力学－熱浴下における反応の決定性」第二回分子科学討論会 (福岡) 9 月 24～27 日 (2008)
4. 竹中 聖, 三本木至宏 「*Shewanella* 属シトクロム c の発現と安定性, 機能の比較」日本農芸化学会中四国支部第 21 回講演会 (岡山) 2008 年 5 月 24 日
5. 山中優、大淵麻利衣、三本木至宏 「超耐熱シトクロム c の構造的特徴と特異なヘム獲得過程」日本農芸化学会中四国支部第 23 回講演会 (高知) 2009 年 1 月 24 日
6. 小林慶子、園山貴文、三本木至宏 「3 種の相同シトクロム c を用いた安定性に関する系統的研究」日本農芸化学会中四国支部第 23 回講演会 (高知) 2009 年 1 月 24 日

7. 児玉孝雄、鈴木誠 「ATP エネルギー論 1」 (慈恵大馬詰教授主催) 筋生理の集い (東京) 2008 年 12 月 13 日
8. 鈴木誠、児玉孝雄 「ATP エネルギー論 2」 (慈恵大馬詰教授主催) 筋生理の集い (東京) 2008 年 12 月 13 日
9. 和沢鉄一¹、宮崎崇¹、神戸克仁¹、園山貴文²、三本木至宏²、鈴木誠¹ (1 東北大院・工, 2 広大院・生物圏) 誘電緩和スペクトル測定による ATP 加水分解反応の水和解析, 生物物理第 46 回年会, 福岡, 12 月 3-5 日

平成 19 年度 国内 16 件 国際 10 件

1. 木下 雅仁・鎌形 清人・前田 晃央・後藤 祐児・小松崎 民樹・高橋 聡、蛋白質の折り畳み運動を観測するための一分子測定手法の開発、第 45 回日本生物物理学会 12 月 21-23 日 (横浜) (2007)
2. 鎌形 清人・木下 雅仁・後藤 裕児・高橋 聡、非平衡条件下の蛋白質一分子の折りたたみ軌跡の直接観察、第 45 回日本生物物理学会 12 月 21-23 日 (横浜) (2007)
3. 山森 明弘・前田 晃央・木下 雅仁・鎌形 清人・後藤 祐児・高橋 聡、 β シートを多く含む一本鎖モネリンの折りたたみ挙動の一分子観察、日本化学会第 88 回春期年会 (3 月 26 日~29 日、東京) (2008)
4. 木下 雅仁・鎌形 清人・前田 晃央・後藤 祐児・小松崎 民樹・高橋 聡、蛋白質の折り畳み運動を一分子レベルで観測するための新手法の開発、日本化学会第 88 回春期年会 (3 月 26 日~29 日、東京) (2008)
5. 佐野涼子、山中優、園山貴文、三本木至宏 (広大院生物圏)、好熱性細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* のチオ硫酸酸化活性、日本農芸化学会中四国支部会、山口、平成 19 年 9 月 15 日 (2007)
6. 武田拓、園山貴文、三本木至宏 (広大院生物圏)、シトクロム *c* の構造・安定性と酸化還元機能の関係、日本農芸化学会中四国支部会、山口、平成 19 年 9 月 15 日 (2007)
7. 佐野涼子¹、西原宏史²、亀谷将史³、新井博之³、石井正治³、五十嵐泰夫³、三本木至宏¹ (¹ 広大院生物生産、² 茨大農、³ 東大院農)、好熱性水素細菌によるチオ硫酸酸化機構、日本農芸化学会中四国支部会、徳島、平成 20 年 1 月 26 日 (2008)
8. 山中優、三本木至宏 (広大院生物圏)、超好熱性細菌 *Aquifex aeolicus* のシトクロム *c*₅₅₅ の構造形成、日本農芸化学会中四国支部会、徳島、平成 20 年 1 月 26 日 (2008)
9. Tamiki Komatsuzaki “Multiple-Time-Scale State Space Landscape buried in Single Molecule Time Series” *Telluride Workshop, The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions*, Telluride Science Research Center, CO, USA, August 13-24, 2007
10. Tamiki Komatsuzaki “What will we “talk with” nature?” *The Complexity of Kinetics and Dynamics in Many Degrees of Freedom Systems*, Hokkaido, Oct 22-23, 2007
11. 寺本 央、小松崎 民樹「生体分子における振動エネルギーから力学的エネルギーへの変換機構」第一回分子科学討論会、9 月 17-20 日 (2007)
12. 寺本 央、小松崎 民樹「生体分子の振動エネルギーから力学的エネルギーへの変換機構」日本物理学第 62 回年次大会 9 月 21-24 日 (2007)
13. 清 一人、小松崎 民樹「1 分子時系列情報から抽出する複雑ネットワーク : Kantorovich 計量空間における動態構造」日本物理学会 第 62 回年次大会 9 月 21-24 日 (2007)
14. Chun Biu Li, Haw Yang, 小松崎 民樹「Complex Multiscale Networks and Information Flows for Protein Dynamics from Single-molecule Time Series」第 45 回日本生物物理学会 12 月 21-23 日 (横浜) (2007)
15. Chun Biu Li, Haw Yang、小松崎 民樹 「Multiscale Complex network of protein

- conformation fluctuations in single molecule time series」 日本生物物理学会北海道支部例会 (北海道大学) 3月18日 (2008)
16. 清一人、小松崎 民樹 「1分子時系列から抽出する複雑ネットワーク」 日本生物物理学会北海道支部例会 (北海道大学) 3月18日(2008)
 17. Makoto Suzuki, Xinying Gan, Tetsuichi Wazawa, Takashi Miyazaki (東北大院工学), Evidence of hyper-mobile water : Enhanced proton diffusion coefficients in F-actin solutions with bound myosin S1 by PFG-SE NMR, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan “Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 18. 鈴木誠、Gan Xinying, 和沢鉄一、宮崎崇 (東北大院工学)、ハイパーモバイル水の証拠:F-actin 水溶液中のプロトン拡散係数は純水より大きく myosin-S1 結合でさらに増大、日本生物物理学会第45回年会、横浜、12月21-23 (2007).
 19. Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki, “How can One Extract Free Energy Landscapes from Single Molecule Time Series?” *Energy Landscapes: Negotiating the Black Diamonds*, Telluride, CO, USA, April 2-6, 2007
 20. 竹中聖 (広大院・生物圏)、三本木至宏 (広大院・生物圏) “*Shewanella violacea* シトクロム c_5 におけるジスルフィド結合の役割” 日本農芸化学会中四国支部 第18回講演会(広島)平成19年5月12日.(2007)
 21. Chun Biu Li, Akira Shojiguchi, Mikito Toda, and Tamiki Komatsuzaki “The Dynamical Origin of Chemical Reactions: How and Why Systems can React from One State to the Other” *THE THIRD SHANGHAI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NONLINEAR SCIENCES AND APPLICATIONS*, Shanghai, China, June 6-11, 2007
 22. Chun-Biu Li, Tamiki Komatsuzaki “Extracting Protein Conformational Dynamics on a Photon-by-Photon Basis in Single Molecule Experiments”, *THE THIRD SHANGHAI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NONLINEAR SCIENCES AND APPLICATIONS*, Shanghai, China, June 6-11, 2007
 23. Yasuhiro Matsunaga, Chun-Biu Li, Tamiki Komatsuzaki “Anomalous Diffusion in Folding Dynamics of Minimalist Protein Landscape” *THE THIRD SHANGHAI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NONLINEAR SCIENCES AND APPLICATIONS*, Shanghai, China, June 6-11, 2007
 24. Tamiki Komatsuzaki, Multiple-Time-Scale State Space Landscape buried in Single Molecule Time Series, The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions (Telluride, Colorado, America) Aug.12-24, 2007
 25. Hiroshi Teramoto, Tamiki Komatsuzaki, Geometrical structure under bond selective chemistry, The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions (Telluride, Colorado, America) Aug.12-24, 2007
 26. Chun Biu Li and Tamiki Komatsuzaki "Capturing the multiple-time-scale dynamical state-network in the time series of single molecule experiments", Division of Physical Chemistry, "Single Molecule Spectroscopy, Imaging and Manipulation of Biomolecular Systems" ACS conference, Boston, Aug 19-23 (2007)

平成18年度 国内10件 国際2件

1. Tamiki Komatsuzaki, “Water Field Dynamics in the Vicinity of Proteins” Center for Integrative Multiscale Modeling and Simulation Seminar, California Institute of Technology, Pasadena, California USA, 8月22日 (2006).
2. 前田晃央, 木下雅仁, 鎌形清人, 今野卓, 後藤祐児, 高橋聡 「新規一分子蛍光検出装置による一本鎖モネリンの折り畳み運動の長時間観察」 第33回生体分子科学討論会, 名工大, 平成18年7月14日~15日.(2006)
3. 馬場 昭典・小松崎 民樹 「生体分子の一分子時系列解析: 測定値の分布関数による状態推定法」 理論化学シンポジウム 湘南・逗子 9月14-16日.(2006)

4. 三本木至宏, 田辺京, 西原宏史 “高温性水素細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* の硫黄代謝機構” 日本農芸化学会中四国支部 第16回講演会(愛媛)平成18年9月15日~16日.(2006)
5. 池田拓未, 山口奈穂, 西原宏史, 三本木至宏 “高温性水素細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* の ATP 合成酵素の活性測定と遺伝子解析” 日本農芸化学会中四国支部 第16回講演会(愛媛)平成18年9月15日~16日.(2006)
6. 馬場 昭典・小松崎 民樹 「測定値の分布形状に基づく一分子時系列解析法：局所エルゴード状態の推定と自由エネルギー面の再構築」日本物理学会 2006年秋季大会 千葉 9月23-26日.(2006)
7. 山口奈穂, 池田拓未, 西原宏史, 三本木至宏 “高温独立栄養細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* の ATP 合成酵素の遺伝子解析” 日本農芸化学会中四国支部 第17回講演会(香川)平成19年1月27日(2007).
8. 納多哲史・馬場 昭典・小松崎 民樹 「生体分子の構造変化における周囲の水の動態場に観測される流体力学的構造」 第61回日本物理学会 鹿児島 3月18-21日.(2007)
9. 清一人・小松崎 民樹 「一分子時系列情報に潜む状態遷移ネットワークの構成論と可視化技術の開発」 第61回日本物理学会 鹿児島 3月18-21日.(2007)
10. 松永康佑・Chun Biu Li・小松崎 民樹 「タンパク質の階層的ダイナミクスにおける多様な時空間スケールでの協同現象」第61回日本物理学会 鹿児島 3月18-21日.(2007)
11. Mustafa Demirplak・小松崎 民樹 「Causal structures of ε-machine constructed from time series: Analogy with dynamical systems theory」 第62回日本物理学会 鹿児島 3月18-21日.(2007)
12. Chun Biu Li “Detection of Phase Space Geometrical Structure Buried in Time Series” *DYNAMICS OF COMPLEX SYSTEMS - mathematical modeling, method and prediction -*, Hokkaido, Japan, March 19-20, 2007.

平成17年度 国内15件 国際5件

1. 松本周三(阪大)・屋根晃(阪大)・後藤祐児(阪大)・橋田昌樹(京大)・藤田雅之(レーザー研)・中島聡(阪大)・高橋聡(阪大)「フェムト秒レーザー加工を利用した高速混合装置の改良とシトクロムcの折り畳み初期過程の解明」第32回生体分子科学討論会(神戸)2005年6月23-24日
2. 松本周三(阪大)・屋根晃(阪大)・後藤祐児(阪大)・橋田昌樹(京大)・藤田雅之(レーザー研)・中島聡(阪大)・高橋聡(阪大)「フェムト秒レーザー加工を利用した高速混合装置の開発：蛋白質の折り畳み研究への応用」レーザー学会第343回研究会(広島)2005年12月12日
3. Akinori Baba(神戸大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大), A construction of multidimensional free energy landscape from an ensemble of single molecule time series of biomolecules, Telluride Summer Workshop "Energy Landscapes: Dynamics and Optimization", organized by David J. Wales (Univ. of Cambridge), Christian Shoen (MPI) and Karl H. Hoffmann (TU Chemnitz), Telluride, Colorado USA, July 24-August 6, 2005
4. Yasuhiro Matsunaga(神戸大), Chun Biu Li(神戸大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大) “Time series analysis of collective motions in proteins” Telluride Summer Workshop "Energy Landscapes: Dynamics and Optimization", organized by David J. Wales(Univ. of Cambridge), Christian Shoen (MPI) and Karl H. Hoffmann (TU Chemnitz), Telluride, Colorado USA, July 24-August 6, 2005
5. Chun Biu Li(神戸大), Mikito Toda(奈良女子大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大) “Origin of Stochastic Transition on Multi-dimensional Energy Landscape” Telluride

- Summer Workshop "Energy Landscapes: Dynamics and Optimization", organized by David J. Wales (Univ. of Cambridge), Christian Shoen (MPI) and Karl H. Hoffmann (TU Chemnitz), Telluride, Colorado USA, July 24-August 6, 2005
6. Chun Biu Li (神戸大), Mikito Toda (奈良女子大) and Tamiki Komatsuzaki (神戸大) "Vibrational energy redistribution via geometrical structures in the multi-dimensional phase space of chemical reaction" Telluride Summer Workshop "Condensed Phase and Gas Phase Vibrational Dynamics", organized by David M. Leitner (Univ. of Nevada) and Peter Hamm (University of Zurich), Telluride, Colorado USA, August 6-13, 2005
 7. Tamiki Komatsuzaki (神戸大) "How does single molecule time series tell us about the underlying multidimensional free energy and state space landscapes?" Telluride Summer Workshop "Single Molecule Measurements: Theory and Experiment", organized by Jianshu Cao (MIT), Telluride, Colorado USA, August 6-13, 2005
 8. Chun Biu Li(神戸大)・松永康佑(神戸大)・戸田幹人(奈良女子大)・小松崎民樹(神戸大) 「Dynamical Reaction Conduit in Chaotic Multi-dimensional Phase Space: Molecular Motions and the Origin of Stochastic Transitions」 第9回理論化学討論会(京都) 5月17-19日(2005)
 9. 馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「1分子時系列の背後に潜む自由エネルギー曲面を如何に再構成するか?」第9回理論化学討論会(京都)5月17-19日(2005)
 10. 納多哲史(神戸大)・馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス」第32回生体分子科学討論会(神戸)6月23-24日(2005)
 11. 馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「生体分子の一分子時系列情報に基づく遷移配列解析: 自由エネルギー面の再構成と分子記憶」第9回日本物理学会秋期年会(同志社)9月19-22日(2005)
 12. Chun Biu Li(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「Dynamical Reaction Conduit in Chaotic Multi-dimensional Phase Space: Molecular Motions and the Origin of Stochastic Transitions」第9回日本物理学会秋期年会(同志社)9月19-22日(2005)
 13. 納多哲史(神戸大)・馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「粗視化された「水の間」を用いたポリアラニンの構造転移に伴う水の集団運動の解析」第9回日本物理学会秋期年会(同志社)9月19-22日(2005)
 14. 馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「一分子時系列に基づく多次元自由エネルギーランドスケープと分子記憶」分子構造総合討論会(東京)9月27-30日(2005)
 15. 戸田幹人(奈良女子大)・小松崎民樹(神戸大) 「高次元状態空間構造に見る蛋白質系における分子機能のダイナミクス基盤」シンポジウム「大自由度力学系としてみる蛋白質系の動力学構造」第9回日本生物物理学会(札幌)11月23-25日(2005)
 16. 納多哲史(神戸大)・馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「生体分子と粗視化した水の動的相互作用の抽出」第61回日本物理学会(愛媛)3月26-30日(2006)
 17. Chun Biu Li(神戸大)・馬場昭典(神戸大)・小松崎民樹(神戸大) 「1分子時系列情報から構成される状態空間構造: 反応遷移ネットワーク構造」第61回日本物理学会(愛媛)3月26-30日(2006)
 18. 小路口暁(奈良女子大)・Chun Biu Li(神戸大)・小松崎民樹(神戸大)・戸田幹人(奈良女子大) 「HCNの異性化反応の非エルゴード性」第61回日本物理学会(愛媛)3月26-30日(2006)
 19. 小松崎民樹(神戸大) 広島大学ナノテク・バイオ・IT融合教育プログラム「化学反応における選択性と統計性—なぜ、如何にして反応は生起するのか?」6月10日(2005)(依頼)
 20. 小松崎民樹(神戸大) 「高次元相空間における法双曲的不変多様体・安定(不安定)不変多様体が織り成す化学反応ネットワーク描像: 蛋白質フォールディング

のにおける一方向性の力学的原理」北海道大学数学科複雑系セミナー（北海道）9月5日（2005）（依頼）

平成16年度 国内1件

1. 高橋 聡（阪大・蛋白研）、木下雅仁（京大院・工）「蛋白質の折り畳みダイナミクス／バルク観測からの知見と一分子観測の可能性」“複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会（神戸大）3月14-16日(2005)

③ ポスター発表（国内会議 95 件、国際会議 47 件）

平成21年度 国内29件 国際6件

1. C. Li, H. Yang and T. Komatsuzaki "Quantifying the Local Transition Heterogeneity of Multiscale Complex Networks Reconstructed from Single-Molecule Time Series"第47回日本生物物理学会年会(アスティとくしま) 10月30日～11月1日
2. 寺本 央、小松崎民樹「水の集団運動の解析およびそれを通じた溶質分子と水分子の動力的相互作用の解明」第47回日本生物物理学会年会(アスティとくしま) 10月30日～11月1日
3. 清 一人、Chun Biu Li、小松崎民樹「機械受容型イオンチャンネルダイナミクスの統計的解析」第47回日本生物物理学会年会(アスティとくしま) 10月30日～11月1日
4. Tamiki Komatsuzaki, Chun Biu Li, Akinori Baba "Extracting Complex Network and Effective Free Energy Landscape of Protein Fluctuation from Single-Molecule Time Series", Biophysical Society 54th Annual Meeting, 2月20-24日、サンフランシスコ
5. 河合 信之輔、小松崎 民樹: 「熱ゆらぎ環境下での化学反応の偶然と必然」、第日本物理学会 65 回年次大会、岡山大学津島キャンパス (2010-03-23)
6. 伊藤 正寛、馬場 昭典、李 振風、小松崎 民樹: 「複雑ネットワークから階層的なツリー構造 (disconnectivity graph) を構成する方法論に関する一考察」、日本物理学会 第 65 回年次大会、岡山大学津島キャンパス (2010-03-23)
7. 宮川尚紀, Chun Biu, 小松崎民樹: 「多変数確率過程の背後に存在する集団運動の数理」日本物理学会第 65 回年次大会、岡山大学津島キャンパス (2010-03-23)
8. 寺本 央、小松崎 民樹: 「Roles of water molecules for structural transitions of solute molecules」、International Symposium on Joint Research Network for Advanced Material and Devices "彫"、苫小牧市ホテルニドム (2010-03-25)
9. 馬場昭典、小松崎民樹: 「Multidimensional Energy Landscapes in Single Molecule Biophysics」、International Symposium on Joint Research Network for Advanced Material and Devices "彫"、苫小牧市ホテルニドム (2010-03-25)
10. C. Li, H. Yang and T. Komatsuzaki: "Extracting and Quantifying the Multiscale Complex Networks Constructed from Single-Molecule Time Series"、International Symposium on Joint Research Network for Advanced Material and Devices "彫"、苫小牧市ホテルニドム (2010-03-25)
11. 丹野則彦、宮崎崇、和沢鉄一、鈴木誠、水中で強く荷電した高分子鎖のハイパーモバイル水形成、日本物理学会第 65 回年次大会、岡山大、3/20-23 (2010).
12. 小川翼、森本展行、鈴木誠、電解質高分子水溶液中におけるバルクより高い並進拡散係数、日本物理学会第 65 回年次大会、岡山大、3/20-23 (2010).
13. Kiyoto Kamagata and Satoshi Takahashi "Development of single molecule detection based on flow system and its application to protei structural dynamics" International Symposium of Joint Research Network on Advanced Materials and Devices "Chou" Hotel NIDOM,

Hokkaido, March 25, 2010

14. 小井川浩之、鎌形清人、後藤祐児、高橋聡、ライン共焦点顕微鏡による蛋白質折り畳みのマイクロ秒分解一分子追跡、新学術領域：揺らぎと生体機能 第三回公開シンポジウム、名古屋、12月20-21日
15. 鎌形清人、後藤祐児、高橋聡、キャピラリー内トラップによる一分子の長時間観察：蛋白質の折り畳みへの応用、新学術領域：揺らぎと生体機能 第三回公開シンポジウム、名古屋、12月20-21日
16. Kiyoto Kamagata and Satoshi Takahashi, "Long-time observation of a single molecule trapped in a capillary cell: application for protein folding" JST/CREST Symposium: Watching Biomolecules in Action'09, Osaka, December 15-17
17. 和沢鉄一 1、宮崎崇 1、神戸克仁 1、園山貴文 2、三本木至宏 2、鈴木誠 1 (1 東北大院・工, 2 広大院・生物圏) 誘電緩和スペクトル測定による ATP 加水分解反応の水和解析, 生物物理第 46 回年会, 福岡, 12月3-5日
18. 木下正弘 1、鈴木誠 2 (京都大・エネルギー理工学研, 2 東北大院・工) 溶質近傍のハイパーモバイル水に関する理論解析, 生物物理第 46 回年会 (福岡) 12月3-5日
19. 土子 哲 1, 田中 好幸 2, 和沢 鉄一 1, 森本 展行 1, 鈴木 誠 1 (1 東北大院・工, 2 東北大院・薬), 誘電緩和分光法による DNA オリゴマーの水和状態解析, 高分子討論会, 熊本, 9月16-18日
20. 小川翼、宮崎崇、森本展行、鈴木誠 (東北大院・工)、ハイパーモバイル水を形成する高分子(PAMPS)水溶液におけるプロトン拡散係数, 高分子討論会, 熊本, 9月16-18日
21. 土肥 亜由美, 宮崎 崇, 森本 展行, 鈴木 誠 (東北大院・工), 高分子電解質ハイドロゲルの膨潤に及ぼすハイパーモバイル水の効果, 高分子討論会, 熊本, 9月16-18日
22. 丹野則彦, 宮崎 崇, 和沢 鉄一, 鈴木 誠 (東北大院・工), ポリビニルスルホン酸およびそのアルカリ金属塩水溶液の水和特性, 高分子討論会, 熊本, 9月16-18日
23. 小松崎民樹(北大電子研)、馬場明典(北大電子研)「1 分子時系列情報から読み解く (有効) 自由エネルギー地形」特定領域研究「膜超分子モーターの革新的ナノサイエンス」班会議 (万国津梁館、沖縄) 6月17日-19日
24. 李 振風(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研)「Innovative Multiscale Modeling of Biological Systems on the Single Molecule Level」特定領域研究「膜超分子モーターの革新的ナノサイエンス」班会議 (万国津梁館、沖縄) 6月17日-19日
25. 河合信之輔(北大電子研)、小松崎民樹(北大電子研)「Determinism and fluctuation in condensed phase chemical reactions」多体化学系の反応ダイナミクスに関する国際シンポジウム (京都大学百周年時計台記念館、京都市) 6月22日-24日
26. 清 一人(北大電子研)、李 振風(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研)「Time series analysis of mechanosensitive ion channel dynamics」多体化学系の反応ダイナミクスに関する国際シンポジウム (京都大学百周年時計台記念館、京都市) 6月22日~24日
27. 馬場 昭典(北大電子研)、小松崎 民樹(北大電子研)「Free energy landscape from single molecule time series of biomolecules」多体化学系の反応ダイナミクスに関する国際シンポジウム (京都大学百周年時計台記念館、京都市) 6月22日-24日
28. 李 振風 (北大電子研)"Data-driven Multiscale Modeling of Single Molecule Experiments from Time Series Analysis" International Symposium "Innovative Nanoscience of Supermolecular Motor Proteins(京都大学芝蘭会館、京都市)9月8日-10

日

29. 山中優¹, 大淵麻利衣¹, 河原一樹², 元岡大介³, 中村昇太⁴, 内山進⁵, 小林祐次³, 大久保忠泰², 三本木至宏¹ (広大院・生物圏¹, 阪大院・薬², 大阪薬大³, 阪大・微研⁴, 阪大院・工⁵), 超安定性と特異なへム獲得過程を示すシトクロム *c* の構造的特徴, 第9回日本蛋白質科学会年会, 熊本, 5月20日-22日
30. 古賀彩, 小林慶子, 佐田晃樹, 三本木至宏 (広大院 生物圏), 相同シトクロム *c* の安定性の平衡論と速度論, 第9回日本蛋白質科学会年会, 熊本, 5月20日-22日
31. 門脇喬之、鎌形清人、小井川浩之、櫻井一正、後藤祐児、高橋 聡 「一分子測定法に寄る乳性蛋白質 β -ラクトグロブリンの折り畳み過程の観測」生物物理第47回年会 (徳島), 10月30-11月1日。
32. 山森明弘、鎌形清人、飯島一生、芳坂貴弘、後藤祐児、高橋聡 「二重標識したマトース結合蛋白質の基質結合と折りたたみの一分子観測」生物物理第47回年会 (徳島), 10月30-11月1日
33. 小井川浩之、鎌形清人、後藤祐児、高橋聡 「ライン共焦点顕微鏡による蛋白質折り畳みのマイクロ秒分解一分子追跡」生物物理第47回年会 (徳島), 10月30-11月1日
34. 鎌形清人、後藤祐児、高橋聡 「キャピラリー内トラップによる一分子の長時間観察: 蛋白質の折り畳みへの応用」生物物理第47回年会 (徳島), 10月30-11月1日
35. 鎌形清人、後藤祐児、高橋聡 「キャピラリー内とラップによる一分子長時間観測: 蛋白質の折り畳みへの応用」第9回蛋白質科学会年会 (熊本), 5月20日-22日

平成20年度 国内11件 国際10件

1. Kiyoto Kamagata, Masahito Kinoshita, Yuji Goto, Satoshi Takahashi "Direct Observation of Single-molecule Trajectories of Protein Folding using a New Sheath Flow Cell" Annual Meeting of Japanese Biophys. Soc. Fukuoka, Dec. 3-5 (2008).
2. Kazuya Fujimoto, Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Yuji Goto, Yoshihiro Sambongi, Akinori Baba, Tamiki Komatsuzaki, Satoshi Takahashi, "Denatured state dynamics of cytochrome c551 observed by single molecule fluorescence intensity measurements" Annual Meeting of Japanese Biophys. Soc. Fukuoka, Dec. 3-5 (2008).
3. Kazuya Fujimoto, Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Yuji Goto, Yoshihiro Sambongi, Akinori Baba, Tamiki Komatsuzaki, Satoshi Takahashi "Denatured state dynamics of cytochrome c551 observed by single molecule fluorescence intensity measurements" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7-9, 2008 (Osaka).
4. Kiyoto Kamagata, Masahito Kinoshita, Yuji Goto, Satoshi Takahashi "Direct Observation of Single-molecule Trajectories of Protein Folding using a New Sheath Flow Cell" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7-9, 2008 (Osaka).
5. Hiroyuki Oikawa, Kiyoto Kamagata, and Satoshi Takahashi, "Development of a new optical system for single-molecule detection of protein folding" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7-9, 2008 (Osaka).
6. Li Chun Biu, Tamiki Komatsuzaki "Capturing the Multiple-Time-Scale Dynamical State-Space-Network in the Time Series of Single Molecule Experiment" 1st Annual Protein and Peptide Conference, Shenzhen, April 22-24, 2008

7. Hiroshi Teramoto and Tamiki Komatsuzaki, "Toward Understanding of Dynamical Origin of Mode-Selectivity in Complex Systems" The 2nd International Symposium on Molecular Theory for Real Systems, Aug 4 -6, 2008 (Okazaki, IMS)
8. S. Kawai and T. Komatsuzaki, "Reaction dynamics in condensed phase - Determinacy of the reaction in a noisy environment-" STEREO DYNAMICS 2008, Oct. 13-18, 2008 (China)
9. Akinori Baba, and Tamiki Komatsuzaki "Multidimensional energy landscape from single molecule time series" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7 -9, 2008 (Osaka) (poster award)
10. Kazuto Sei, Li Chun Biu, and Tamiki Komatsuzaki, "Toward the understanding of the gating dynamics for the mechanosensitive ion channel" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7 -9, 2008 (Osaka)
11. Hiroshi Teramoto, and Tamiki Komatsuzaki "Elucidation of mode-selectivity of biomolecule" Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories, Dec 7 -9, 2008 (Osaka)
12. Kazuto Sei, Chun Biu Li, Takeshi Nomura, Hitoshi Tatsumi, Tamiki Komatsuzaki, "Data-driven time series analysis of Mechanosensitive ion channel gating dynamics" 6th Asian Biophysics Association (ABA) Symposium, at Hong Kong University of Science and Technology, January 11-15, 2009.
13. 寺本 央、小松崎 民樹「符号化可能力学系の時系列から Markov 分割を構成する方法論および異なる Markov 分割から構成される Markov 確率過程間の関係に関する研究」第 64 回日本物理学会 (岩手) 9 月 20-23 日
14. 和沢鉄一 1、宮崎崇 1、神戸克仁 1、園山貴文 2、三本木至宏 2、鈴木誠 1 (1 東北大院・工, 2 広大院・生物圏) 誘電緩和スペクトル測定による ATP 加水分解反応の水和解析, 生物物理第 46 回年会, 福岡, 12 月 3-5 日
15. 馬場昭典、小松崎民樹 「局所平衡状態解析：一分子観測時系列から自由エネルギー地形を読み取る」日本生物物理学会 (福岡) 12 月 3-5 日
16. 清一人、馬場昭典、Chun Biu Li、小松崎民樹 「機械受容イオンチャネルの統計的解析—ゲーティング機構の解明に向けて—」日本生物物理学会 (福岡) 12 月 3-5 日
17. 寺本央、小松崎民樹 「生体分子のモード選択性の解明」日本生物物理学会 (福岡) 12 月 3-5 日
18. 山中優, 大淵麻利衣, 河原一樹, 中村昇太, 大久保忠泰, 元岡大介, 小林祐次, 三本木至宏 「超耐熱性シトクロム c の構造とヘムの取り込み」第 8 回日本蛋白質科学会年会 (東京) 2008 年 6 月 10 日-12 日
19. 最上讓二、児玉孝雄、鈴木誠 「誘電緩和分光によるネイティブ状態および酸変性状態の *Pseudomonas aeruginosa* シトクロム c の水和解析」生物物理第 46 回年会 (福岡) 12 月 3-5 日
20. 木下正弘、鈴木誠 「溶質近傍のハイパーモバイル水に関する理論解析」生物物理第 46 回年会 (福岡) 12 月 3-5 日
21. 和沢鉄一、宮崎崇、神戸克仁、園山貴文、三本木至宏、鈴木誠 「誘電緩和スペクトル測定による ATP 加水分解反応の水和解析」生物物理第 46 回年会 (福岡) 12 月 3-5 日

平成 19 年度 国内 24 国際 10

1. 前田 晃央, 木下 雅仁, 鎌形 清人, 今野 卓, 後藤 祐児, 高橋 聡、「一分子検出

- 法による一本鎖モネリンの折り畳みダイナミクスの解明」日本蛋白質科学会・第七回年会、仙台、5月24日～26日
2. Kiyoto Kamagata, Masahito Kinoshita, Yuji Goto and Satoshi Takahashi “Development of A New Sheath Flow Cell for the Detection of Protein Folding Dynamics at the Single Molecule Level” The 67th Okazaki Conference “Molecular Science and Chemical Biology of Biomolecular Function” Okazaki, Nov. 10~11, 2007.
 3. 小沼 剛・木村 哲就・松本 周三・後藤 祐児・藤澤 哲郎・高橋 聡、時分割 X 線小角散乱法によるバルナーゼの折り畳み中間体の研究第 45 回生物物理学会年会、横浜、平成 19 年 12 月 21 日-23 日.
 4. 辰巳 哲馬・木下 雅仁・後藤 祐児・高橋 聡、高速混合によるアポミオグロビン折り畳み初期収縮の観察、横浜、平成 19 年 12 月 21 日-23 日.
 5. T. Konuma, T. Kimura, S. Matsumoto, Y. Goto, T. Fujisawa, S. Takahashi, “Time-resolved small angle x-ray scattering study on the burst phase intermediate in the folding of barnase”, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 6. T. Tatsumi, M. Kinoshita, Y. Goto, S. Takahashi, “Observation of the initial collapse in apomyoglobin folding by ultra-rapid mixing”, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 7. M. Kinoshita, K. Kamagata, Y. Goto, S. Takahashi, “Improvements in the technique for the detection of single proteins for extended time periods”, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 8. K. Kamagata, M. Kinoshita, Y. Goto, S. Takahashi, “Development of a new sheath flow cell for the detection of protein folding dynamics at the single molecule level”, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 9. 山中優¹、大淵麻利衣¹、高山真一²、高橋陽太²、三田肇²、山本泰彦²、三本木至宏¹ (¹ 広大院生物圏、² 筑波大化学系)、耐熱性シトクロム *c* の細胞内での構造形成、第 7 回日本蛋白質科学会年会、仙台、平成 19 年 5 月 24 日～26 日
 10. 袴田さやか、園山貴文、三本木至宏 (広大院生物圏)、高温細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* 由来シトクロム *c* の安定化機構、第 45 回生物物理学会年会、横浜、平成 19 年 12 月 21 日-23 日
 11. Kazuto Sei and Tamiki Komatsuzaki “Complex network extracted from single molecule time series: Dynamical structure in Kantorovich metric space” International Symposium on Molecular Theory for Real Systems, Katsura, Kyoto, July 27-29, 2007
 12. Li Chun Biu, Tamiki Komatsuzaki “Capturing the multiple-time-scale dynamical state-network in the time series of single molecule experiments” *ACS National Meeting: Single Molecule Spectroscopy, Imaging and Manipulation of Biomolecular Systems*, Boston, August 19-23, 2007
 13. Akinori Baba, Tamiki Komatsuzaki "Effective energy landscape from single molecule time series" *the 9th RIES-Hokudai International Symposium*, Creative Research Initiative "Sousei", Sapporo, Jan. 27, 2008
 14. Hiroshi Teramoto, Tamiki Komatsuzaki "A method to extract intermittent regular and chaotic behavior and their local properties from 1-dimensional time series" *the 9th RIES-Hokudai International Symposium*, Creative Research Initiative "Sousei", Sapporo, Jan. 27, 2008
 15. 馬場 昭典、小松崎 民樹「一分子時系列から自由エネルギー地形を読み取る」分子研研究会 分子科学における連成シミュレーションの基礎理論と応用 (岡崎) 8 月 29-31 日
 16. Li Chun Biu, Tamiki Komatsuzaki 「Novel method and theory of multi-time-scale

- dynamical state-network from time series of single molecule experiments」日本物理学会 第 62 回年次大会 9 月 21-24 日
17. 寺本 央、小松崎 民樹「生体系時系列データから動力学諸量を抽出する方法論」第 45 回日本生物物理学会 12 月 21-23 日 (横浜)
 18. 寺本 央、小松崎 民樹 「反応性自由度は反応に際して如何にしてエネルギーを獲得するのか？」 大規模計算と分子のダイナミクス (岡崎コンファレンス センター、岡崎) 2 月 18 日-19 日
 19. 寺本 央、小松崎 民樹 「時系列データから間欠的なカオスおよび規則的挙動を抽出するための方法論」 日本物理学会 第 63 回年次大会プログラム (近畿大学、大阪) 3 月 22 日-26 日
 20. 最上譲二、宮崎崇、鈴木誠 (東北大院工学)、フェノールレッドの吸光スペクトルに及ぼす水構造破壊作用をもつ高分子の効果、日本生物物理学会第 4 5 回年会、横浜、12 月 21-23 (2007).
 21. 宮崎崇、鈴木誠 (東北大院工学)、溶質周りの水の誘電緩和特性の分布情報解析、日本生物物理学会第 4 5 回年会、横浜、12 月 21-23 (2007).
 22. 神戸克仁、宮崎崇、和沢鉄一、園山隆文、三本木至宏 (広島大院生物圏)、鈴木誠 (東北大院工学)、天然状態と変性状態における PA シトクロム c の水和解析、日本生物物理学会第 4 5 回年会、横浜、12 月 21-23 (2007).
 23. 磯崎洋、宮崎崇、鈴木誠 (東北大院工学)、剛直な荷電高分子の水和特性に及ぼす NaCl 濃度の影響、日本生物物理学会第 4 5 回年会、横浜、12 月 21-23 (2007).
 24. 内橋昭仁、宮崎崇、鈴木誠 (東北大院工学)、誘電緩和測定によるポリアイオネン周囲の水の回転運動性の解析、日本生物物理学会第 4 5 回年会、横浜、12 月 21-23 (2007).
 25. Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki (東北大院工学) , Analysis of water structure breaking effect by microwave dielectric spectroscopy, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 qnd 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan, “Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 26. George Mogami, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki (東北大院工学) , Effect of polymers as water structure maker or breaker on the visible light absorption spectra of phenol red solution, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 qnd 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan “Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 27. Makoto Nishida, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki (東北大院工学) , Spatial variation of dielectric property of hydration layer around solutes in alkali-halide solution, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 qnd 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan “Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 28. Tsubasa Ogawa, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki (東北大院工学) , Enhanced proton diffusion in highly charged polymer aqueous solutions, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 qnd 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan, ”Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 29. Norihiko Tanno, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki (東北大院工学) , Effect of Mg salt on the dielectric relaxation of water around poly-2-acrylamide-2-methylpropane sulfonic acid, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 qnd 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan “Molecular Approach to Complex Liquids System”, Fukuoka, November 21-25 (2007).
 30. Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, Determination of hydration volume in alkali halide aqueous solutions by dielectric relaxation spectroscopy, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January

- 24-25 (2008).
31. Tsubasa Ogawa, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, Enhancement of proton diffusion coefficients in highly charged polymer aqueous solutions, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 32. Takashi Miyazaki, H. Isozaki, Makoto Suzuki, Salt effect on the hyper-mobile water formation around rigid charged polymer PBDT, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 33. George Mogami, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, An approach to measure local water activity in solution by dye molecules, The 5th Open workshop “Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules”, Nara, January 24-25 (2008).
 34. Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Akio Maeda, Yuji Goto, Tamiki Komatsuzaki, Satoshi Takahashi, “A New Technique for the Investigation of Folding Dynamics of Single Proteins for Extended Time Periods” The 21st Symposium of the Protein Society, Boston USA, July 21-25, (2007).

平成 18 年度 国内 5 件、国際 17 件

1. Daisuke Miyake, Shin-ichi Ichiki, Miyako Tanabe, Takahiro Oda, Hisao Kuroda, Hirofumi Nishihara, and Yoshihiro Sambongi “Thiosulfate Oxidation by a Moderate Thermophilic Hydrogen-Oxidizing Bacterium, *Hydrogenophilus thermoluteolus*” 11th International Symposium on Microbial Ecology ISME -11, Vienna . Aug. 20-25 (2006).
2. George Mogami, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, “Information of water structure by fluorescent probes” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
3. Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, “Analysis method of classifying hydration shells of solutes by microwave dielectric spectroscopy” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
4. Makoto Nishida, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, “Formation mechanism of hyper-mobile water in alkali-halide solutions” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
5. Norihiko Tanno, Makoto Suzuki, “Microwave dielectric relaxation analysis of the property of hyper mobile water formation of sulfonic groups of AMPS” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
6. Shizuka Saito, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, “Mechanical property of poly(vinyl-alcohol)-chondroitin-4-sulfate gel having hyper-mobile water, Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
7. Tsubasa Ogawa, Takashi Miyazaki, Makoto Suzuki, Diffusion coefficients of proton in polymer gels with hyper-mobile water”, Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
8. Hideyuki Komatsu, XinYing Gan, Takashi Miyazaki, Akinori Sarai, Makoto Suzuki, “Calorimetric titration of F-actin solution with potassium chloride” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
9. Chun Biu Li and Tamiki Komatsuzaki, “Extracting Dynamics from Time Series Data of Single Molecule Experiments on a Photon-by-Photon Basis” Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meetins of the Biophysical Society of Japan 沖縄 11 月 12-16 日

10. Kazuto Sei and Tamiki Komatsuzaki, "Randomness and Memory in Single Molecule Time Series" Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meetins of the Biophysical Society of Japan 沖縄 11月 12-16日.
11. Sachiko Sato, Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki, "A Discrete Wavelet Time Series Analysis: The Hierarchy of Dynamics of Biomolecules" Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meetins of the Biophysical Society of Japan 沖縄 11月 12-16日.
12. Kiyoto Kamagata, Masahito Kinoshita, Yuji Goto, Satoshi Takahashi, "Development of sheath-flow system to observe protein folding events at a single-molecule level". Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
13. Akio Maeda, Masahito Kinoshita, Kiyoto Kamagata, Takashi Konno, Yuji Goto, Satoshi Takahashi, "Multiple time scales in the folding dynamics of single chain monellin revealed by single molecule measurements" Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
14. Masahito Kinoshita, Yuji Goto, Satoshi Takahashi, "The assessment of the new apparatus for the single molecule detection of protein folding." Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Okinawa, November 12-16, 2006.
15. Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki "A Local ergodic state analysis of single molecule time series" Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines" 舞子ビラ 12月 12-16日
16. Chun Biu Li and Tamiki Komatsuzaki "Extracting Protein Conformational Dynamics on a Photon-by-Photon Basis in Single Molecule Electron Transfer" Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines" 舞子ビラ 12月 12-16日
17. Satoshi Noda, Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki "A Persistence of Long-Time Memory in Coarse-Grained Site-Velocity Field of Liquid Water" Discussion on "Theory and simulation of biomolecular nano-machines" 舞子ビラ 12月 12-16日
18. 園山貴文, 武田拓, 袴田さやか, 三田肇, 山本泰彦, 三本木至宏 "相同性の高い細菌シトクロム *c* の構造, 安定性, 機能" 日本蛋白質科学会 (京都) 平成 18 年 4 月 24 日~26 日
19. 山中 優, 大淵麻利衣, 三田肇, 山本泰彦, 三本木至宏 "耐熱性シトクロム *c* の安定性と細胞内での構造形成の関係" 日本蛋白質科学会 (京都) 平成 18 年 4 月 24 日~26 日
20. 納多哲史 「水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミックス」 第 46 回生物物理若手の会夏の学校 神戸 7 月 28-31 日
21. 清一人 "Analysis of Generalized Langevin Dynamics in terms of Computational Mechanics" 第 47 回生物物理若手の会夏の学校 神戸 7 月 28-31 日
22. 小松崎 民樹 「1 分子時系列解析と分子科学」 第二回 連成シミュレーションフォーラム 福岡 2 月 2-3 日

平成 17 年度 国内 13 件、国際 3 件

1. 木村哲就 (阪大)・鶴澤尊規 (京大)・石森浩一郎 (京大)・森島績 (京大)・高橋聡 (阪大)・今野卓 (福井大)・秋山修志 (理研)・藤澤哲郎 (理研)「一本鎖モネリンの折り畳みにおける特異的な初期収縮の役割」日本蛋白質科学会、福岡、平成 17 年 6 月 30 日-7 月 2 日
2. 木下雅仁 (阪大)・後藤祐児 (阪大)・高橋聡 (阪大)「酵母シトクロム *c* の折り畳み過程の一分子測定」日本生物物理学会第 43 回年会 (札幌) 11 月 23-25 日

3. 前田晃央 (阪大)・木下雅仁 (阪大)・今野卓 (福井大)・後藤祐児 (阪大)・高橋聡 (阪大)「蛋白質の折り畳み運動の長時間測定を目指した一分子蛍光検出装置の開発」日本生物物理学会第 43 回年会 (札幌) 11 月 23-25 日
4. 松本周三 (阪大)・屋根晃 (阪大)・後藤祐児 (阪大)・橋田昌樹 (京大)・藤田雅之 (レーザー研)・中島聡 (阪大)・高橋聡 (阪大)「シトクロム c の折り畳み初期収縮過程における蛍光および共鳴ラマン散乱の時分割測定」日本生物物理学会 43 回年会 (札幌) 11 月 23-25 日
5. 鶴澤尊規 (京大)・西村千秋 (Scripps)・秋山修志 (理研) 石森浩一郎 (京大)・高橋聡 (阪大)・H. Jane Dyson (Scripps)・Peter Wright (Scripps)「サブミリ秒分割 H/D 交換と NMR を用いたアポミオグロビンの折り畳みにおけるヘリックス形成機構」日本生物物理学会第 43 回年会 (札幌) 11 月 23-25 日
6. 園山貴文 (広大院・生物圏)、小河啓子 (広大院・生物圏)、三本木至宏 (広大院・生物圏)、多様なグラム陰性菌由来のシトクロム c の安定性と構造の関係、日本蛋白質科学会、福岡、平成 17 年 6 月 30 日-7 月 2 日
7. 山中 優 (広大院・生物圏)、三本木至宏 (広大院・生物圏)、シトクロム c の安定性と細胞内での構造形成の関係、日本蛋白質科学会、福岡、平成 17 年 6 月 30 日-7 月 2 日
8. Chun Biu Li (神戸大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大) "Dynamical Hierarchy in Transitions of Chemical Reactions" International Symposium on Ultrafast Intense Laser Science 4 (Big Island, Hawaii) December 10-14, 2005.
9. Chun Biu Li(神戸大), Yasuhiro Matsunaga(神戸大), Mikito Toda(奈良女子大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大)" Geometrical structure of the multidimensional phase space transport in chemical reactions" Pacifichem 2005 (Honolulu, Hawaii) December 15-20, 2005
10. Satoshi Noda(神戸大), Akinori Baba(神戸大) and Tamiki Komatsuzaki(神戸大) How does a polypeptide give rise to the helix-coil transition with interacting the surrounding water field? Pacifichem 2005 (Honolulu, Hawaii) December 15-20, 2005
11. 納多哲史(神戸大)・小松崎民樹(神戸大)「水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス」第 9 回理論化学討論会 (京都) 5 月 17-19 日
12. 納多哲史(神戸大)・馬場 昭典(神戸大)・小松崎 民樹(神戸大)「生体分子の構造転移に伴う近傍の「水の間」の協同的運動」第 9 回日本生物物理学会 (札幌) 11 月 23-25 日
13. 馬場 昭典(神戸大)・小松崎 民樹(神戸大)「一分子時系列からの多次元自由エネルギー地形の再構築と分子記憶」第 9 回日本生物物理学会 (札幌) 11 月 23-25 日
14. Chun Biu Li(神戸大)・小松崎 民樹(神戸大)「多次元エネルギー地形の状態空間構造に基づく生体分子系の構造転移ダイナミクスの原理的理解」第 9 回日本生物物理学会 (札幌) 11 月 23-25 日
15. 松永康佑(神戸大)・Chun Biu Li(神戸大)・小松崎 民樹(神戸大)「タンパク質系の協調的運動に対するカオス時系列解析」第 9 回日本生物物理学会 (札幌) 11 月 23-25 日
16. 佐藤 祥子(神戸大)・馬場 昭典(神戸大)・小松崎 民樹(神戸大)「離散ウェーブレット変換を用いた一分子時系列における動力学的階層性の解析」第 9 回日本生物物理学会 (札幌) 11 月 23-25 日

平成 16 年度 国内 13 件、国際 1 件

1. 木下雅仁 (京大院・工)、後藤祐児、高橋 聡 (阪大・蛋白研)「新規一分子測定を用いたシトクロム c の折り畳み転移の研究」生物物理学会年会, 京都, 平成 16 年

12月 13-15日

2. 西口慎吾、後藤祐児、高橋 聡 (阪大・蛋白研)「時分割 IR 分光法を使ったアポミオグロビンのフォールディング中間体におけるヘリックス環境」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
3. 松本周三、屋根 晃、後藤祐児、高橋 聡 (阪大・蛋白研)、橋田昌樹 (京大・化研)、藤田雅之 (レーザー総研)、中島聡 (阪大基礎工)「フェムト秒レーザー加工を利用した高速混合装置の改良とシトクロム c の折り畳み初期収縮の解明」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
4. 西口慎吾 (阪大・蛋白研)「時分割 IR 分光法を使ったアポミオグロビンのフォールディング中間体におけるヘリックス環境」“複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会 (神戸大) 3月 14-16日 (2005)
5. 松本周三 (阪大・蛋白研)「フェムト秒レーザー加工を利用した高速混合装置の改良とシトクロム c の折り畳み初期収縮の解明」“複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会 (神戸大) 3月 14-16日 (2005)
6. 及川健太 (広大院・生物圏)、中村昇太 (阪大院・薬)、高山真一 (筑波大・化学)、小林祐次 (阪大院・薬)、山本泰彦 (筑波大・化学)、内山進 (阪大院・工学)、長谷川淳 (第一製薬)、三本木至宏 (広大院・生物圏)「好熱性水素細菌 *Hydrogenobacter thermophilus* シトクロム c の大腸菌での発現と安定性」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
7. 市来伸一 (広大院・生物圏)、中村昇太 (阪大院・薬)、大島淳 (阪大院・薬)、小林祐次 (阪大院・薬)、長谷川淳 (第一製薬)、内山進 (阪大院・工学)、西原 宏史 (茨城大・農)、三本木至宏 (広大院・生物圏)「高温性水素細菌 *Hydrogenophilus thermoluteolus* cytochrome c-552 の構造と安定性の関係」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
8. 園山貴文 (広大院・生物圏)、内山進 (阪大院・工学)、中村昇太 (阪大院・薬)、大島淳 (阪大院・薬)、小林祐次 (阪大院・薬)、三本木至宏 (広大院・生物圏)「*Pseudomonas aeruginosa* のシトクロム c551 とその変異体を用いた蛋白質安定化機構の解明」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
9. 小島信祐、山中優、三本木至宏 (広大院・生物圏)「シトクロム c の生合成過程におけるチオール・ジスルフィド酸化還元制御の役割」生物物理学会年会, 京都, 平成 16年 12月 13-15日
10. 下野昌宣・小松崎民樹 (神戸大理)「生体高分子の構造転移キネテックスにおける Ruggedness による加速現象」生物物理学会年会 (京都) 12月 13-15日 (2004)
11. Chun Biu Li, Yasuhiro Matsunaga, Mikito Toda+ and Tamiki Komatsuzaki (Kobe Univ. and +Nara Women's Univ.)“Geometrical Structure of Phase Space for Chemical Reaction Dynamics: What Kinds of Molecular Motions are Associated with Phase Space Modes in Chaos?”International Symposium on Atoms, Molecules, and Clusters in Intense Laser Fields 2, Tokyo, January 24-25, 2005
12. 馬場昭典 (神戸大理)、木下雅仁、高橋聡 (阪大蛋白研)、小松崎民樹 (神戸大理)「一分子時系列の背後に潜む自由エネルギー曲面を如何に再構成するか?」“複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会 (神戸大) 3月 14-16日 (2005)
13. Chun Biu Li, Yasuhiro Matsunaga, Mikito Toda (Nara Women's Univ.) and Tamiki Komatsuzaki (Kobe Univ.) “Geometrical Structure buried in the phase space of Stochastic Structural Transition: Perspectives from Time Series Analysis” “複雑な多谷

ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会
(神戸大) 3月 14-16日(2005)

14. 納多哲史、馬場昭典、小松崎民樹(神戸大理)「水の場としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス」“複雑な多谷ポテンシャルエネルギー面上で生起する動力学諸問題:蛋白質とその周辺”研究会(神戸大) 3月 14-16日(2005)

(4) 受賞・報道等

① 受賞

- ・ 日本化学会第88回春季年会 学生講演賞(平成20年4月10日付け)木下 雅仁(大阪大学・蛋白研)「蛋白質の折り畳み運動を一分子レベルで観測するための新手法の開発」
- ・ 日本蛋白質科学会若手奨励賞(平成20年6月11日付け)鎌形 清人(大阪大学・蛋白研)「鞘流セルを使用した一分子計測による蛋白質の折り畳み中間状態の平行化時間の推定」
- ・ 馬場昭典博士が Institute for Protein Research Seminar on New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories にてベストポスター賞を受賞した。“Multidimensional energy landscape from single molecule time series”(大阪)(平成20年12月7-9日)
- ・ 2008年度日本農芸化学会中四国支部学生奨励賞を小林慶子(広島大学・大学院生)が受賞。「シトクロムcのフォールディングに関する研究」

② マスコミ(新聞・TV等)報道

- ・ 日刊工業新聞 2006年2月28日第31面「たんぱく質：収縮運動で規則性」
- ・ 化学工業日報 2006年3月1日第6面「たんぱく質の折り畳み現象：放射光活用で実証」
- ・ Akinori Baba and Tamiki Komatsuzaki 'Construction of effective free energy landscape from single molecule time series' *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**(49),19297-19302 (2007)の論文が11月20日日刊工業新聞11面(蛋白質の折り畳み運動解析に新手法)、11月21日日刊工業新聞25面(蛋白質の折り畳み運動一分子レベルで解析)、ならびに11月22日北海道新聞朝刊2面に取り上げられた。また、科学技術振興機構(JST)からも「たんぱく質の折り畳み運動を読み解く新手法を開発」としてプレスリリースされた。(11月20日)

(5) 成果展開事例

① 実用化に向けての展開

- ・ 高橋グループが開発した新規光学系が、「ナノ微粒子観察・広視野顕微鏡レンズ」という品名で有限会社オプトニカ(Tel: 0774-63-2492 代表 岩橋 賢治)より製品化された。さらに、この光学系の平行光束部分を増やすことで、二色性フィルターを組み込むなどの応用実験を可能にする改良型の装置設計を進めており、いずれ市販する予定である(高橋)。
- ・ 本研究で開発したシトクロムcの大腸菌での発現法について、国内外の研究者に対して紹介・指導を行っている。現時点で、5件以上の打診があり、技術移転を実施している(三本木)。
- ・ JST戦略的創造研究推進事業国際強化支援策「一分子観察による蛋白質の新しい動的描像:実験と理論」(阪大蛋白研 高橋聡准教授代表)に採択され、生物物理学会年会でJST協

賛の初めての国際シンポジウム、蛋白研セミナーを主催運営した。シンポジウムの成果として、John Wiley & Sons, Inc. *Advances in Chemical Physics*から特集号「Single Molecule Biophysics: Experiments and Theories」を共編出版(2010年出版予定)する(小松崎民樹(北大)、高橋聡(東北大)、川上勝(北陸先端大)、Haw Yang(プリンストン大)、Robert Silbey(MIT)共編)(小松崎・高橋)。

- 日米二国間交流事業共同研究に採択され、現在実施中。課題名「生体系の複雑性と多様性の解明を目指した一分子計測技術の創生」(H21～22)(小松崎民樹(北大)、高橋聡(東北大)、Haw Yang(プリンストン大)、Irina Gopich(NIH)による共同研究)(小松崎・高橋)。
- 国内外のセミナーおよび複数の夏の学校等で、研究者に対し本研究プロジェクトで開発した1分子解析理論や実験について紹介・指導を行っている(小松崎・高橋)。
- 本研究により、蛋白質やDNA二重鎖の他に、ATP等の高エネルギーリン酸化合物もハイパーモバイル水を持つことがわかった。すなわち、分子の水和環境を視点に持つことで、生命系のエネルギー論を構築できる可能性がある。これを前面にだして、ATPのエネルギー論を展開すべく、鈴木を代表者として科学研究費補助金の新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」として領域研究を提案した。平成20年度11月に採択が決まり、9つの計画研究と24件の公募研究により、現在2年目の研究を進めているところである(鈴木・三本木)。

② 社会還元的な展開活動

- 本研究成果を元に、日本生物物理学会会誌「生物物理」執筆、*Adv. Chem. Phys.*の共編などを行い、「一分子時系列情報から構成されるマイクロとマクロをつなぐシステムバイオロジー」の提言を行った(全員)。
- 生物物理学会年会でJST協賛の初めての国際シンポジウム「Linking single molecule spectroscopy and energy landscape perspectives」(小松崎(北大)、Yang(UC Berkeley)主催、福岡、2008年)、蛋白研セミナー「New Approaches to Complexity of Protein Dynamics by Single Molecule Measurements: Experiments and Theories」(高橋(阪大)、小松崎(北大)、川上(北陸先端大)、Yang(UC Berkeley)、Silbey(MIT)主催、大阪、2008年)、Telluride Workshop「The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions」(小松崎、李(北大)、Berry(シカゴ大)主催、コロラド、2009年)を運営し、周辺領域の研究者を集め、得られた成果の普及活動を行った(小松崎・高橋)。
- 蛋白質科学の基礎を、本研究成果を反映させる形でまとめ、東京工業大学(2006年)、分子科学夏の学校(2008年)、奈良先端大学(2008年)、兵庫県立大学(2008年)などにおいて、集中講義等を行った(高橋)。
- 本研究成果について、アウトリーチ活動として、第46回生物物理若手の会夏の学校(2006年)、分子研シンポジウム(2008年)、第15回創発システム・シンポジウム創発夏の学校(2009年)などで講師を務め、大学院生、博士研究員などの次世代を担う若手研究者に対して普及活動を行った(小松崎)。
- 本研究成果をインターネット(URL;<http://mlns.es.hokudai.ac.jp>)で公開し、一般に情報提供している(小松崎)。
- 三本木グループの研究成果について、広島大学のアウトリーチ活動として、公開講座を行い、その内容を解説した書籍を発行した。2008年8月22日に公開講座を広島大学近くの公共施設で実施し50名近くの一般聴衆(高校生も含む)を集め、本研究の成果を分かりやすく説明し

た。書籍は、広島大学公開講座シリーズ 7「分子から見た生命の不思議」(深宮齊彦 編著, 広
大生物圏出版会)として 2009 年 3 月 30 日に発行された(三本木)。

- 大学1～2年生向けの教科書を、高橋グループの研究を一部反映させる形で分担執筆した。
書籍は、タンパク質科学実験法3「タンパク質のはたらきを知る」(長谷、高尾、高木編、化学同
人)として、2009 年 8 月 31 日に発行された(高橋)。

§ 6 研究期間中の主な活動（ワークショップ・シンポジウム等）

平成 17 年度

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2005 年 5 月 20 日	The 2nd group meeting on experimental and theoretical approaches for single molecule dynamics of protein folding	大阪大学 蛋白質 研究所	12 名	チーム内ミーティング (主催:高橋 聡)
2006 年 1 月 13-14 日	The 3rd group meeting on experimental and theoretical approaches for single molecule dynamics of protein folding	広島大 学 学 士 会 館	15 名	チーム内ミーティング (主催:三本木至宏)
2005 年 11 月 23-25 日	第 9 回日本生物物理学 会 シンポジウム「大 自由度力学系としてみ る蛋白質系の動力学構 造」	札幌	100 名	蛋白質は、マイクロレ ベルで見ると、非線形な振 動モードが相互作用する 多自由度カオス系であ る。構造多様かつ超多次 元エネルギー地形上で生 起するダイナミックス は、カオスを内在する熱 的環境下で特異的な基質 に対して、多くの場合、 数 k_{BT} の自由エネルギー 差で、選択的に応答をす る機構を備えている。近 年、解明されつつある高 次元カオス力学系におけ る統計性と規則性、局所 エルゴード性、局所主成 分解析、分子機能のエン ネルギー 地形設計を論じ、 熱揺らぎの環境下におい て頑健かつ選択的に発現 する蛋白質系の分子機能 の動的設計原理を探る。 (主催:小松崎民樹ら)

平成 18 年度

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2006 年 4 月 6 日	チーム内ミーティング	阪大・ 蛋白研	およそ 15 名	阪大、神戸大の 2 機関の 合同会議。研究成果およ び共同研究打ち合わせ (主催:高橋 聡)
2006 年 4 月 23 日	日本蛋白質科学会第六 回年会ワークショップ/ 「水と蛋白質が織り成	京都国際 会館	およそ 100 名	オーガナイザー／高橋聡 (阪大蛋白研)・神取秀樹 (名工大)

	す機能発現のメカニズム」			
2006年 6月21-22 日	チーム内ミーティング	神戸大	およそ25名	阪大、広大、東北大、神戸大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:小松崎民樹)
2006年 9月8日	チーム内ミーティング	大阪大・ 蛋白研	およそ15名	阪大、神戸大の2機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:高橋 聡)
2006年 9月28-29 日	大阪大学蛋白質研究所 セミナー 「蛋白質の機能運動と 折り畳み運動」	大阪大・ 蛋白研	およそ100 名	オーガナイザー/新井宗仁(産総研)、池口満徳(横浜市大)、高橋聡(阪大蛋白研)、西村千秋(Scripps)
2007年 1月9日	チーム内ミーティング	大阪大・ 蛋白研	およそ15名	阪大、神戸大の2機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:高橋 聡)
2007年 3月4-6日	チーム内ミーティング	宮城県ホ テル松島 大観荘	25名	阪大、神戸大、広島大、東北大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:鈴木誠)

平成19年度

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2007年 8月 13-24日	Telluride Workshop on The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions	Telluride Science Research Center, CO, USA	30	化学反応から蛋白質に至るダイナミクスやキネティクスにおける階層性、複雑性に関する総合討論会(主催:小松崎民樹、シカゴ大R. S. Berry 教授らとの共催)。
2007年 8月 29-31日	分子研研究会 分子科学における連成シミュレーションの基礎理論と応用	分子科学 研究所	40	時間・空間に階層構造を持つ複雑な多自由度の現象に関する基礎理論から実際の計算手法に至るまでの総合討論(主催:小松崎民樹、九州大学高見利也特任准教授らとの共催)。
2007年 9月	第6回チーム内ミーティング	大阪大学	30名	阪大、広大、東北大、北大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:高橋 聡)
2007年 9月 21-24日	日本物理学会領域 11&12の合同セッション 「反応過程における巾的揺らぎの起源とその	北海道大 学	150	反応過程における巾的揺らぎの起源とその可能性に関して、理論家と実験家をミックスした討論会。(主催:小

	可能性」			松崎民樹、奈良女子大戸田幹人准教授との共同主催)
2007年 11月 26-28日	統計数理研究所研究会「非線形科学と統計科学の対話」	統計数理研究所	30	非線形科学と統計科学の両視点から、現実データからの帰納的な情報抽出と背後に存在する非線形現象への新しい理解の可能性を討論した(主催:小松崎民樹、伊庭幸人氏との共同主催)
2008年 2月 24-29日	Dynamical Foundation of Functions and Energy Transfer in Protein Systems	奈良女子大学	15	蛋白質などの機能ダイナミックスに関するミニ国際ワークショップ(主催:小松崎民樹、奈良女子大戸田幹人氏との共同主催)
2008年 3月 8~9日	第7回チーム内ミーティング	広島大学	30名	阪大、広大、東北大、北大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:三本木至宏)

平成20年度

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2008, April 22-24	BIT's 4th Life Spring Forum on protein folding and diseases, 1st Annual Protein and Peptide Conference	Shenzhen, China	100	コーネル大学の Prof. Scheraga の60年間の研究業績を祝うシンポジウム, 小松崎が program committee の一員
2008年 7月18-19日	「タンパク水和現象の理解に向けて」	大阪ガーデンパレス	14名	タンパク質分子の水和現象について溶液化学理論面の理解の現状について情報交換を行った。(主催:鈴木 誠)
2008年 9月5-7日	第8回チーム内ミーティング	北海道大学	25名	阪大、広大、東北大、北大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:小松崎民樹)
2008年 10月10-11日	「タンパク水和現象の理解に向けて」	大阪ガーデンパレス	11名	タンパク質分子の水和現象について溶液化学理論面と実験面の理解と現状の問題点について情報交換を行った。(主催:鈴木 誠)
2008年12月 3日~5日	日本生物物理学会「Linking single molecule spectroscopy and energy landscape perspectives」シンポジ	福岡国際会議場	200名	JST 協賛のシンポジウムで、本研究成果の国内外への発信。講演者:高橋 聡、小松崎民樹、Haw Yang (UC Berkeley)、Irina

	ウム			Gopich (NIH), Jianshu Cao (MIT), Ophir Flomenbom (MIT) (敬称略). Haw Yang 氏との共同主催
2008年 12月8～9 日	蛋白研セミナー「A New Perspective on the Dynamics of Single Protein: Experiments and Theories」	大阪大学	60名	本研究成果の国内外への発信。おもな講演者: 上記の日本生物物理学会シンポジウムの講演者に加えて、柳田敏雄、猪飼篤、木寺詔紀、B. Schuler, E. Paci, D. Brockwell, 佐甲靖志, 佐々木祐次, 川上勝ら (敬称略). 主催: 高橋聡、小松崎民樹、北陸先端大 川上勝
2009年1月 24-28日	An International Workshop on Dynamical Foundation of Functions in Biological Systems	小樽	16名	蛋白質機能に関するダイナミクス基盤に関するワークショップ: 主な講演者: Steve Berry (シカゴ大)、John E. Straub (ボストン大)、David Leitner (ネバダ大)、木寺詔紀、高田彰二、戸田幹人ら 主催: 小松崎民樹

平成 21 年度

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2009年3月7 -9日	第9回チーム内ミーティング	仙台秋保 ホテルクレ セント	23名	大阪大、北大、広大、東北大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催: 鈴木 誠)
H21年6月 22-24日	International Symposium on "Reaction Dynamics of Many-Body Chemical Systems"	京都大学	100	少数多体系からタンパク質や細胞に至る広義の反応ダイナミクスに関する国際会議。研究成果である一分子解析による自由エネルギー地形の構成方法について報告した。(主催: 小松崎民樹ら)
H21年6月 29日-7月3 日	Workshop on The Complexity of Dynamics and Kinetics in Many Dimensions	Telluride, CO, USA	13	タンパク質のエネルギー地形および一分子計測に関する実験、理論に携わる研究者を一堂に集め、研究成果の普及活動とともに、今後の解くべき研究課題に関する徹底討論を行った。(主催: 小松崎民樹ら)

2009年7月 26日	International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC14)におけるオーラルセッション“New Trends in Bioinorganic Chemistry”のプログラムチェア	名古屋	約100名	生物無機化学における一分子観察法を含む新規実験手法について、12人の著名な研究者による口頭セッションを企画・実施した(高橋 聡。大阪大学・水谷泰久教授、奈良先端科学技術大学院大学・廣田俊教授との共同主催)。
2009年9月 18-20日	第10回チーム内ミーティング	広島大学	28名	東北大、東北大、北大、広大の4機関の合同会議。研究成果および共同研究打ち合わせ(主催:三本木至宏)
2010年3月4 -5日	蛋白質の基質結合や構造変化における分子揺らぎの意義を討論する会	東北大学	約40名	分子揺らぎについて、実験、理論双方の観点から議論を行い、最新動向の情報共有と意見交換を行った。(主催:鎌形清人、高橋聡、横浜市大・瀧上壮太郎助教、北陸先端大・芳坂貴弘教授との共同開催)
2010年3月 11-13日	第11回チーム内ミーティング(最終報告会)	松島	25名	東北大、東北大、北大、広大の4機関の合同会議。研究成果のまとめ(主催:高橋聡)

§ 7 結び

本研究で追求したテーマは、CRESTプログラムによる息の長いサポートがなければ実現不可能でした。成果が出にくくとも、5年かけてじっくり可能性を追求できたことについて、何よりも感謝しております。本プログラムの成果は、本報告書でまとめた研究面の成果に限りません。研究期間中にメンバーのプロモーションが相次いだこと(准教授から教授へ2名、博士研究員から准教授へ1名、博士研究員から助教へ2名など)、メンバーの一人が代表となることで新領域研究が立ち上がったこと、博士課程や修士課程の学生さん達の教育を存分に行える場となったこと、国内外に新しい研究者のネットワークを形作れたことなど、このプログラムを起点としたさまざまな発展がありました。CRESTプログラムが、日本の若い科学者を育て、萌芽的な科学技術を育てる重要プログラムとして、今後も発展することを願っています。

本プログラムに関わる多くの皆さんに、お礼を申し上げます。特に、研究における全面的なサポートのみならず、我々が企画した国際シンポジウムでもご講演をいただくなどの協力をいただいた柳田領域代表と、毎回のチームミーティングでのさまざまなアドバイスを通して、本チームの第五、第六のメンバーとも言える寄与をいただいた児玉前領域参事と石井現領域参事に、心から感謝いたします。

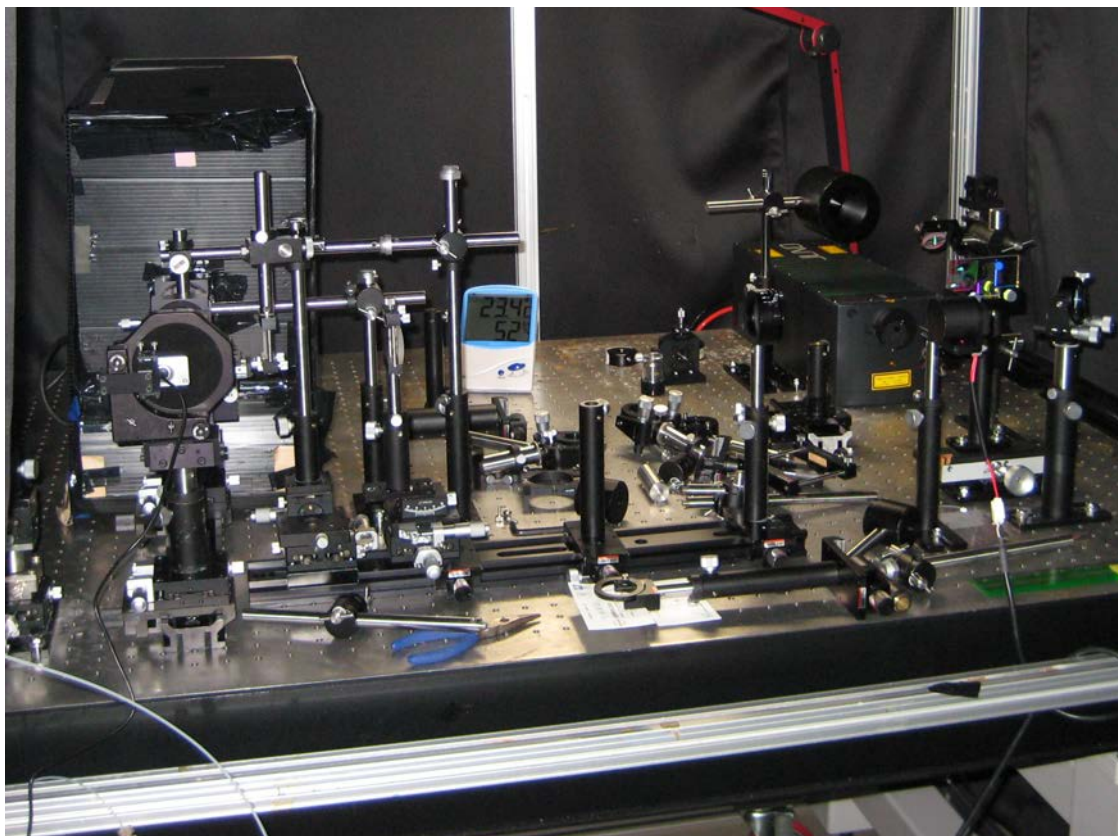


図 23 高橋グループで開発した一分子観察装置。左の円形のユニットが反射放物面鏡である

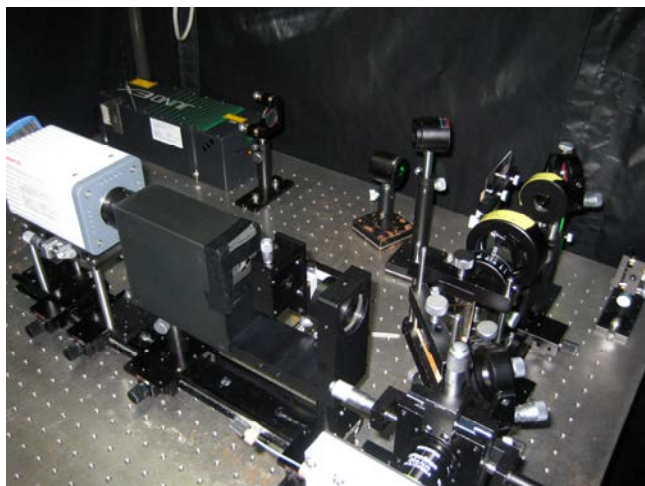


図 24 高橋グループで開発したラインフォーカス型共焦点顕微鏡 手前にレーザーが設置されている。



図 25 2008年3月に広島大学で開催されたチームミーティングの様子。時間無制限で行う口頭発表の他に立食形式でのポスター発表も行い、徹底的な議論を行った。半年ごとのチームミーティングの結果、学生さんを含めた全員の名前とプログレスをメンバーが共有するようになった。