

I 鞭毛と軸糸ダイニンの構造と運動機構の解明

Molecular Structure and Mechanism of Axonemal Dyneins

榊原 斉・小嶋寛明・西浦昌哉・大岩和弘
Sakakibara, H., Kojima, H., Nishiura, M., Oiwa, K.

軸糸ダイニンは微小管との間で滑り力を発生する ATPase であり、真核生物の繊毛や鞭毛の運動の原動力となっている。ダイニンの構造をクライオ電子線トモグラフィ、クライオ電子顕微鏡解析、X線小角散乱や X線繊維回折法を用いて解析するとともに、力学的・酵素学的特性に関して単分子レベルでの計測を行ない、ダイニンの運動機構と協同性を解析している。これまでに、鞭毛藻類 *Chlamydomonas* の鞭毛を材料として、この鞭毛軸糸から単離精製した内腕ダイニン亜種 c や亜種 f が連続的に微小管上を運動する事や、ダイニン亜種 c, f が他の典型的なタンパク質モータとは極めて異なる方法で機能している事を明らかにした。また、ダイニンの構造解析では、ヌクレオチド状態によるダイニンの分子構造変化を見出し、ダイニンの微小管滑り運動機構に関するモデルを提唱している。また、軸糸を対象としたクライオ電子線トモグラフィによって軸糸内のダイニン腕の 3 次元構造を明らかにし、ヌクレオチド状態に依存したダイニン腕のグローバルな構造変化を明らかにしている。また、生理学的条件で構造解析を可能とする X線繊維回折を鞭毛に適用する実験系を開発、これを用いて生理学的条件下での軸糸構成要素の構造周期を精密に測定することに成功した。これらの成果は、ダイニンと軸糸構造の研究分野において先導的かつ創造的研究であり、著名な国際学術誌に論文が掲載されている。

さらに、ダイニン機能の試験管内再構築実験を発展させた新たな実験系を開発した。これは、再構築実験での微小管の密度を上げることで、ネマティック相互作用としての微小管同士の衝突頻度を上げ、その結果、微小管の持つわずかな運動軌跡のバイアスを、集団として共有させることにある。この結果、メゾスコピックな渦構造の創発を確認した。これは、個々の素過程(微小管同士の衝突)の正確な記述が可能で、かつ集団挙動を観測できる新たな実験系であり、複雑系物理学の理論と実験を結ぶ橋渡しの実験系である。

II 軟体動物平滑筋のキャッチ収縮および

棘皮動物のキャッチ組織に関する研究

In Vitro Reconstitution of the ‘Catch’ State of Molluscan Smooth Muscle and Connective Tissue of Echinoderms

山田 章・大岩和弘
Yamada, A., Oiwa, K.

二枚貝の貝柱の筋肉は ATP をほとんど消費することなく張力を維持できる。これを「キャッチ」収縮と呼ぶ。このキャッチ収縮がどのような機構で生じるかを明らかにするために *in vitro* 機能再構成技術を使った研究を行なっている。我々は、この過程でムラサキガイのミオシンフィラメントに含まれ、ミオシンの配向に関わる新しいタンパク質を精製した。分子生物学的手法によってこのタンパク質の塩基配列を明らかにし *catchin* と命名した。また、ムラサキガイ前足糸牽引筋から *thick filament*, *thin filament*、及び可溶性画分を分離して、顕微鏡下に *catch* 維持状態を再現、精製したタンパク質要素でキャッチ収縮を再現することに成功した。これによって、キャッチ収縮に必要な最小限のタンパク質要素を *myosin*, *actin*, *twitchin* の 3 種類に特定した。キャッチ制御に関わるリン酸化の標的タンパク質が *twitchin* であることも明らかにした。この結果、キャッチ機構のほぼ全容を明らかにしつつある。さらに、*titin/connectin* 様タンパク質である *twitchin* が、広く動物界に存在していることに着目、これらの *twitchin* の生理学的役割を上述の *in vitro* 機能再構成技術で明らかにする試みを進めている。また、棘皮動物の結合組織が示すキャッチ現象についても、コラーゲン繊維間の架橋を促進する因子の精製を進めて、この分子機構の解明を進めている。

III 単一分子観察・測定技術による ATPase 機構の解析

Single-Molecule Enzymology and Nanometry of ATPases

小嶋寛明・古田健也・大岩和弘
Kojima, H., Furuta, K., Oiwa, K.

タンパク質モータによる ATP 加水分解過程を単一分子レベルで可視化するためにエバネッセント光を利用した蛍光顕微鏡システムを開発して、さらにその改良を行なってきた。このシステムにおいて、背景迷光は極限的に除去され、単一蛍光分子を溶液中で観察することが可能となったほか、単一蛍光分子のタンパク質上での配向を約 5 度の精度で決定することができるようになった。基質となる ATP 分子は蛍光色素で修飾を行ない、ある種のタンパク質モータによる分解反応に対して ATP と同程度、あるいは加水分解可能な基質能があることを明らかにした。これまでに、蛍光 ATP

と F₁-ATPase の回転運動とを同時計測することに成功、F₁-ATPase の運動機構の一端を明らかにした。また、光ピンセット法を用いた単一分子レベルの力学測定によって、植物ミオシンや細胞質ダイニンの張力発生、ステップ距離を測定し、その分子機構に関する新たな知見を得ている。

IV 生体分子を用いた分子通信技術の研究開発

Molecule Communication Technology Based upon Protein Motors' Functions

平林美樹・小嶋寛明・大岩和弘
Hirabayashi, M., Kojima, H., Oiwa, K.

分子通信技術は、バイオサイエンス、ナノテクノロジー、および情報技術を融合する技術開発の一つであり、生体構成要素（細胞など）に見られる情報伝達や信号発信のメカニズムを応用して、ナノスケール機器間の情報伝達の実現を目標とする研究開発である。ナノスケール機器間の情報伝達においては、このサイズの電気装置、光学装置および動力源を作製するのは極めて困難であり、現行の情報伝達技術を直接応用することは事実上不可能であるため、生体構成要素に見られるメカニズムの応用がもっとも有望なアプローチといえる。本研究分野では、生体信号および生体情報伝達のメカニズムを理解して、生体材料や非生体材料もしくはバイオフィレンドリな材料を用いて、ナノスケールコミュニケーションに必要な生体信号や生体情報伝達のメカニズムを人工的に再現、さらにナノスケールコミュニケーションに向けて、新しい理論的基礎を確立することを目指している。この研究開発は、分子コンピュータにおけるナノスケールのゲート間での情報伝達、ピンポイントでの薬物送達など、医学的応用、現行の情報伝達技術では伝えられない感情や現象をも伝える情報伝達などの応用を視野に入れたものである。

発表論文 List of Publications

- I-1 Yutaka Sumino (愛知教育大学), Ken H. Nagai(東京大学), Yuji Shitaka(NICT), Dan Tanaka(名古屋大学), Kenichi Yoshikawa(京都大学), Hugues Chaté (CEA-Saclay, France), Kazuhiro Oiwa : Large scale vortex lattice emerging from collectively moving microtubules, *Nature* 483, 448-452, 2012
- I-2 芦刈憲彦 (広島大学)・志鷹裕司 (NICT)・藤田康介 (広島大学)・小嶋寛明 (NICT)・大岩和弘・坂上弘之 (広島大学)・高萩隆行 (広島大学)・鈴木 仁 (広島大学) : Climbing rates of microtubules propelled by dynein after collision with microfabricated walls, *Japanese Journal of Applied Physics*, 51, P02BL03, 2012
- I-3 大岩和弘 : Structure and Force Generating Mechanism of Axonemal Dynein, *International Workshop on Picobiology* (先端科学技術支援センター), 2012
- I-4 清水洋輔 (NICT)・小嶋寛明 (NICT)・大岩和弘・榊原 斉 (NICT) : 鞭毛内で隣接する「遅

- い」ダイニン e と「速い」ダイニン c の in vitro 解析、生体運動研究合同班会議 (筑波大学)、2012
- I-5 Khanh Huy Bui (Paul Scherrer Institute), Tandis Movassagh (PSI), Gaia Pigino(PSI), 榎原 齊(NICT), Ryosuke Yamamoto(東京大学), Hironori Ueno(東京大学), Aditi Maheshwari(PSI), Chikako Shingyoji(University of Tokyo), Ritsu Kamiya (University of Tokyo), Kazuhiro Oiwa, Takashi Ishikawa(PSI) : In Situ structural analysis of axonemal dyneins in flagella/cilia by electron cryotomography, 9th International Conference on AAA Proteins (熊本市国際交流会館), 2011
- I-6 西浦昌哉(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘・岩本裕之(SPring-8 / JASRI) : End-on回折による単一鞭毛軸糸の構造解析、第6回鞭毛・ダイニン機能研究会 (東京大学)、2011
- I-7 清水洋輔(NICT)・榎原 齊(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : 「遅い」ダイニン e と「速い」ダイニン c の鞭毛内ペアリングを考える、第 6 回鞭毛・ダイニン機能研究会 (東京大学)、2011
- I-8 西浦昌哉(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘・岩本裕之(SPring-8 / JASRI) : 単一な真核細胞鞭毛軸糸の X 線回折像、日本動物学会第 82 回大会 (旭川市大雪クリスタルホール)、2011
- I-9 榎原 齊(NICT)・清水洋輔(NICT)・大岩和弘・小嶋寛明(NICT) : クラミドモナス内腕ダイニン e の分子形態、日本生物物理学会 第 49 回年会 (兵庫県立大学・姫路書写キャンパス)、2011
- I-10 榎原 齊(NICT), 大岩和弘 : Molecular organization and force-generating mechanism of dynein, *the FEBS Journal*, Vol.278, No.17, P2964-2979, 2011
- II-1 山田 章(NICT)・吉雄麻喜(NICT)・小嶋寛明(NICT) : 二枚貝以外の軟体動物に見られる「キャッチ機構」、Biophysical Society 56th Annual Meeting (San Diego, California, USA), 2012
- II-2 山田 章(NICT) : キャッチ筋とキャッチ結合組織 -2 つの生物組織の硬さ変化の分子機構にせまる-、第 6 回 Σ -KARC 連携セミナー (大阪大学)、2012
- II-3 山田 章(NICT)・吉雄麻喜(NICT)・小嶋寛明(NICT) : 軟体動物の筋肉のキャッチ状態においてアクチンフィラメントはミオシン頭部のない太いフィラメントにも結合する、生体運動研究合同班会議 (筑波大学)、2011
- II-4 山田 章(NICT)・吉雄麻喜(NICT)・小嶋寛明(NICT) : 軟体動物の筋肉に見られるキャッチ状態においてアクチンフィラメントはミオシン頭部のない太いフィラメントにも結合する、日本生物物理学会第 49 回年会 (兵庫県立大学姫路書写キャンパス)、2011
- II-5 竹花康弘 (東工大)・池谷知昭 (東工大)・山田 章 (NICT)・田守正樹 (東工大)・本川達雄 (東工大) : 細胞を破壊したキャッチ結合組織 (ナマコ真皮) に対する真皮抽出物の効果、日本動物学会第 82 回大会 (旭川市大雪クリスタルホール)、2011
- III-1 古田健也 (NICT)・豊島陽子 (東京大学)・大岩和弘・小嶋寛明(NICT) : 再構成実験とシミュレーションによる分子モーターのアンサンブル特性の探究、日本生物物理学会 (兵庫県立大学姫路書写キャンパス)、2011
- III-2 古田健也(NICT)・平林美樹(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : Molecular-scale communication

systems developed by combination of DNA and protein motors, THERMEC '2011(Quebec city convention center), 2011

- III-3 古田健也(NICT)・豊島陽子(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: Cooperative transport by defined numbers of processive and nonprocessive kinesin motors, Gordon Research Conferences (Colby-Sawyer College, New London, USA), 2011
- IV-1 平林美樹(NICT)・西川明男(法政大学)・田中文昭(東京大学)・川又生吹(東京大学)・萩谷昌己(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: 人工 DNA 構造体の応用基盤 - 遺伝情報担体を越えた集団知能プログラミングによる機能設計、第 34 回日本分子生物学会年会(パシフィコ横浜)、2011
- IV-2 平林美樹(NICT)・西川明男(法政大学)・田中文昭(東京大学)・川又生吹(東京大学)・萩谷昌己(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: 分子スイッチの人工設計を通じた遺伝子制御システムの多様性の起源に関するリバーエンジニアリング及び構成的解析、第 38 回国際核酸化学シンポジウム(北海道大学 クラーク会館)、2011
- VI-3 平林美樹(NICT)・西川明男(法政大学)・田中文昭(東京大学)・萩谷昌己(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: DNA暗号化システムの安全かつ有効な応用に関する解析、The Sixth International Conference on Bio-Inspired Computing: Theories and Applications (Parkroyal Penang Resort, Penang), 2012
- IV-4 平林美樹(NICT)・西川明男(法政大学)・田中文昭(東京大学)・川又生吹(東京大学)・萩谷昌己(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: DNA ナノロボットを用いたアンビエントインテリジェンスとスマート環境、17th International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (California Institute of Technology, Pasadena, California, USA), 2011
- IV-5 平林美樹(NICT)・大橋弘忠・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: 意思決定におけるメタヒューリスティック・ストラテジーの普遍性に基づく判断予測を利用した次世代型コミュニケーションシステムの設計、第 34 回日本神経科学大会(パシフィコ横浜)、2011
- IV-6 平林美樹(NICT)・西川明男(法政大学)・田中文昭(東京大学)・萩谷昌己(東京大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: ネットワーク型分子ロボットの設計 -環境制御に向けて-、IEEE NANO 2011 (Portland Marriott Downtown Waterfront, Portland, Oregon, USA), 2011

大学院生命理学研究科

博士課程後期	該当なし
博士課程前期	該当なし

科学研究費補助金等

該当なし