

## I 鞭毛軸糸と軸糸ダイニンの構造と運動機構の解明

Molecular structure and mechanism of flagellar axonemes and axonemal dyneins

桐間惇也・金谷直樹・白髪美咲・榊原 齊・清水洋輔・小嶋寛明・大岩和弘  
Kirima, J., Kanatani, N., Shiraga, M., Sakakibara, H., Shimizu Y., Kojima, H., 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である。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一分子レベルでの計測や試験管内再構成実験を行ない、ダイニンの運動機構と協働性を解析している。これまでに、*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、e、f が連続的に微小管上を運動する事や、ダイニン亜種 c、e、f が他の典型的なタンパク質モーターとは極めて異なる機能を持つ事を明らかにした。また、特性の異なるこれらの亜種を混合したときに生じる協働的運動の解析を行い、軸糸内でのダイニン亜種の協働性に関する知見を積み上げている。

ダイニン分子の構造解析では、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きた。さらに、生理学的条件下での構造解析を可能とする X線繊維回折法を鞭毛軸糸に適用する実験系を開発、これを用いて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。

## II 単一分子観察・測定技術によるタンパク質モーターの運動機構の解析

Single-molecule enzymology and nanometry of protein motors

渡利洋平・指宿良太・古田健也・古田茜・小嶋寛明・大岩和弘  
Watari, Y., Ibusuki, R., Furuta, K., Furuta, A., Kojima, H., Oiwa, K.

タンパク質モーターによる 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、さらにその高性能化・高機能化を進めてきた。独自に蛍光 ATP を合成して、これを用いて蛍光 ATP の結合・解離と F<sub>1</sub>-ATPase の回転運動とを同時計測することに成功、F<sub>1</sub>-ATPase の運動機構の一端を明らかにしてきた。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との組み合わせによって、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。

近年では、DNA の相補的結合を利用してナノメートルスケールの高次構造を設計・構築できる DNA origami 技術を活用、タンパク質モーターの集団的挙動を解析する実験系を構築して構造的束縛や数的束縛下でのタンパク質モーターが創出する協働性を評価する研究を開始している。運動方向の異なるキネシン 1 とキネシン 14 を一本の DNA tube に特定の数に結合させることで、分子間綱引きを行わせる実験系を確立してタンパク質モーターの運動特性に新たな知見を見出した他、細胞質ダイニンの運動活性の自己制御機構を明らかにした。細胞質ダイニンの 2 つのモーター領域が密接に結合した状態を取ることによって自己抑制的に運動活性が低下するが、外部からの力が加わるとこの抑制状態は解除されて、再帰的に活性化が進むことを明らかにした。

### III 生体分子を用いたバイオ情報処理技術の研究開発

Molecular signal processing technology inspired by cellular and protein functions

田中裕人・東佑一朗・松原成孝・佐川貴志・平林美樹・小嶋寛明・大岩和弘  
Tanaka, H., Higashi, Y., Matsubara, S., Sagawa, T., 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こと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難しい。そこで生体構成要素のメカニズムの応用が有望なアプローチの一つとなる。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。

### IV タンパク質モーターとタンパク質フィラメントの相互作用による自己組織的パターン形成

Self-organized pattern formation of protein motors and protein filaments

鳥澤嵩征・金谷直樹・苅田真由・大岩和弘  
Torisawa, T., Kanatani, N., Karita, M., Oiwa, K.

ダイニンの運動機能の評価法としての試験管内再構成実験を発展させて、自己駆動粒子の集団運動など自己組織的パターン形成のメカニズムを明らかにする試みを行っている。再構成系のガラス表面での微小管密度を上げて微小管同士の衝突頻度を向上させた。軸糸ダイニンで駆動される微小管は、衝突時にネマティック相互作用を示す。この相互作用の結果、直径 400  $\mu\text{m}$  にも及ぶメゾスコピックな渦構造が array 状に形成されることを見出した。数値計算によるシミュレーションから、微小管が示すわずかな運動軌跡のバイアスを、ネマティック相互作用に拠って集団として共有する過程を明らかにした。この実験系は、個々の素過程(微小管同士の衝突)を正確に記述することが可能であり、かつ集団挙動を観測できるもので、複雑系物理学の理論と実験を結ぶ橋渡しの研究と捉えられ、注目されている。

### V 昆虫の記憶形成神経回路の分子細胞学的解析

Molecular cell biological approaches for mechanism of memory formation in insect brains

桜井 晃・小嶋寛明・大岩和弘・吉原基二郎  
Sakurai A., Kojima H., Oiwa, K., Yoshihara, M.

神経細胞数約 20 万でありながら、多様な行動を示し、高い記憶形成能力を持つキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) の脳は、脳機能の厳密な解析にとって極めて有用な研究対象である。加えて、キイロショウジョウバエは遺伝学の優れた実験材料であり、洗練された遺伝学的ツールが豊富に存在するため、最も高い精度と効率で単一細胞レベルの解像度で神経ネットワークの解析を行うことができる。このモデル動物を使って、摂食行動を引き起こす神経細胞への入力の様式、また、その統合状態の変化による記憶形成を解析、記憶形成を担う神経ネットワークの実態に迫り、記憶形成の基本原理解明する。

## 発表論文 List of Publications

- I-1 S. Toba (NICT), H. Iwamoto (JASRI), S. Kamimura (Chuo Univ.), K. Oiwa: X-ray fiber diffraction recordings from oriented demembrated *Chlamydomonas* flagellar axonemes. *Biophys. J.*, **108**, 2843-2853 (2015)
- I-2 桐間惇也・白髪美咲・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: Reconstruction of flagellar motility by the bottom up strategy, 第53回日本生物物理学会年会(金沢), 2015
- I-3 桐間惇也・白髪美咲・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘: Searching regulation factors responsible for switching waveform of *Chlamydomonas* flagella, 第53回日本生物物理学会年会(金沢), 2015
- I-4 J. Kirima, M. Shiraga, H. Kojima (NICT), K. Oiwa: Searching regulation factors responsible for switching waveform of *Chlamydomonas* flagella. The 2nd Joint Symposium of University of Putra Malaysia and University of Hyogo (Harima, Hyogo), 2015
- I-5 J. Kirima, M. Shiraga, H. Kojima (NICT), K. Oiwa: Reconstruction of flagellar motility by the bottom up strategy. The 2nd Joint Symposium of University of Putra Malaysia and University of Hyogo (Harima, Hyogo), 2015
- I-6 桐間惇也: Reconstitution of eukaryotic flagellar axonemes by the bottom-up strategy. Searching regulators of waveform switching, 関西原生生物合同セミナー(淡路), 2015
- I-7 桐間惇也: 真核生物鞭毛の構造と運動機能の再構築, ミクロ生物若手研究者集会(岩国), 2015
- II-1 古田 健也 (NICT): ダイニンを基に新しいモータータンパク質をデザインする, 第5回 分子モーター討論会(東京), 2015
- II-2 古田 茜 (NICT)・大岩 和弘・小嶋 寛明 (NICT)・古田 健也 (NICT): Designing novel biomolecular motors based on dynein and actin-binding proteins, 第53回 日本生物物理学会(金沢), 2015
- II-3 足立健吾(早稲田大)・大岩 和弘・吉田賢右(京都産業大)・木下一彦(早稲田大): 好熱菌由来の回転モーター F1 のカップリングスキーム, 第53回日本生物物理学会(金沢), 2015
- II-4 古田 茜 (NICT)・大岩 和弘・小嶋 寛明 (NICT)・古田 健也(NICT): Engineering approaches to biomolecular motors based on protein building blocks, 60th Biophysical Society Meeting (Los Angeles, USA), 2016
- II-5 大岩 和弘: Auto-inhibition mechanisms of mammalian cytoplasmic dynein, Biological Department Seminar at Emory University (Atlanta, USA), 2015
- II-6 古田 茜(NICT)・古田 健也(NICT)・小嶋 寛明(NICT)・大岩 和弘: Designing novel biomolecular motors based on dynein and actin-binding proteins, Biological Science Seminar of Albert Einstein College of Medicine (New York, USA), 2015
- II-7 古田 茜(NICT)・大岩 和弘・小嶋 寛明(NICT)・古田 健也(NICT): ダイニンを基に新しいアクチン系モータータンパク質をデザインする, 生体運動合同班会議, (キャンパスプラザ京都、京都), 2016
- III-1 N. Zhong, S. S. Yau, J. Ma, S. Shimojo, M. Just, B. Hu, G. Wang, K. Oiwa, Y. Anzai: Brain informatics-based big data and the wisdom web of things, *IEEE Intelligent Systems* **30**, 2-7 (2015)
- III-2 M. Hirabayashi(NICT), H. Oohashi (東京大): Modeling of generation of self-organized response in the analog circuit from dynamic memories coded on the neural network using multi-scale biological oscillations, Neuroscience 2015 (Chicago, USA), 2015
- III-3 平林 美樹(NICT): Novel prospects on biological applications of terahertz technologies, テラヘルツ応用システム研究会(埼玉), 2015
- III-4 平林 美樹 (NICT)・田中 秀吉 (NICT)・大橋 弘忠(東京大): Neural mechanism of information processing in modulation of neural activities driven by self-excited oscillation under control of self-organized criticality, 第38回日本神経科学大会(神戸), 2015
- III-5 平林 美樹 (NICT): Future of biological applications of terahertz technologies, 産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門セミナー(つくば), 2015
- III-6 M. Hirabayashi (NICT), H. Kojima (NICT), H. Oohashi (Univ. Tokyo): Self-organized critical phenomena in neural coding linked to synchronized high and low frequency oscillations, Society for Neuroscience's 44th annual meeting, (Washington DC, USA), 2015

- III-7 平林 美樹 (NICT) : An analysis on control mechanisms of natural vibration in DNA nanostructures using a biomimetic parametron model, 第 3 8 回日本分子生物学会年会第 88 回日本生化学大会合同大会 (神戸ポートアイランド、神戸), 2015
- III-8 田中 裕人 (NICT)・松川忠司 (NICT)・成瀬 康 (NICT)・富成 征弘 (NICT)・岡田真人 (東京大)・曾和義幸 (法政大)・川岸郁朗 (法政大)・小嶋 寛明 (NICT) : Development of chemical substance sensor by using micro-organism (*E. coli*), 日本生物物理学会年会 (金沢), 2015
- III-9 田中 裕人 (NICT)・成瀬 康 (NICT)・岡田 真人 (東京大)・富成 征弘 (NICT)・梅原 広明 (NICT)・佐川 貴志 (NICT)・小嶋 寛明 (NICT) : 人工知能技術のバイオ細胞への応用, ワークショップ「人工知能による科学・技術の革新」(大阪), 2015
- III-10 田中 裕人 (NICT) : 生物の感覚能力を理解し、使う, 未来 ICT シンポジウム 2016 (東京), 2016
- III-11 田中 裕人 (NICT)・松川忠司 (NICT)・富成 征弘 (NICT)・數田 恭章 (NICT)・成瀬 康 (NICT)・岡田真人 (東京大)・曾和義幸(法政大)・川岸郁朗(法政大)・小嶋 寛明 (NICT) : 大腸菌を使った化学物質センサーの開発: 大腸菌の(誘因)アミノ酸種識別能力を使って, 生体運動合同班会議 (京都), 2016
- III-12 佐川 貴志 (NICT) : 大腸菌が応答できない時間と走化性タンパク質発現量の関係, 第 21 回べん毛研究交流会 (山形県, 天童市), 2015
- III-13 佐川 貴志 (NICT) : Effect of the expression level of the chemotaxis proteins to the kinetic property of the signal processing of *Escherichia coli*, 第 53 回日本生物物理学会年会 (金沢市), 2015
- III-14 大岩 和弘 : 情報通信技術におけるバイオミメティクス -タンパク質モータから大腸菌の化学受容まで-, サントリーグローバルイノベーションセンター セミナー (京都), 2015 (Invited)
- IV-1 鳥澤 嵩征 (NICT)・古田 健也 (NICT)・豊島陽子 (東京大) : 細胞質ダイニンの運動制御機構, *生体物理* **55**, 127 -132 (2015)
- VI-2 鳥澤 嵩征 (NICT)・谷口大相 (明治大) : 微小管-キネシン系における広域ネットワーク構造の形成と崩壊, 第 5 回分子モーター討論会 (東京), 2015
- IV-3 鳥澤 嵩征 (NICT) : Spontaneous formation and rupture of a multiscale contractile network in a motor-driven microtubule system, 物質化学研究室セミナー (北海道大学, 札幌), 2015
- IV-4 T. Torisawa (NICT), D. Taniguchi (Meiji Univ.), S. Ishihara (Meiji Univ.), K. Oiwa: Storage and abrupt release of elastic energy in the microtubule network being contractile by kinesin Eg5, The American Society for Cell Biology, 2015 Annual Meeting (San Diego, CA, USA), 2015
- IV-5 谷田 桜子 (東京大)・古田 健也 (NICT)・西川 香里 (東京大)・小嶋 寛明 (NICT)・佐野 雅己 (東京大) : Pattern formation of microtubules driven by kinesin, 第 53 回 日本生物物理学会 (金沢), 2015
- IV-6 金谷直樹・鳥澤嵩征(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : Polar or nematic motion of collective microtubules driven by dyneins, 第 53 回日本生物物理学会年会 (金沢), 2015
- IV-7 D. Taniguchi (Meiji Univ.), T. Torisawa (NICT), K. Oiwa, S. Ishihara (Meiji Univ.) : Formation and rupture of a contractile network in a motorized cytoskeletal system, International Symposium on Synergy of Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2015 (京都), 2015
- IV-8 大岩 和弘 : タンパク質モータの協働性と集団運動による自己組織的パターン形成, 分子ロボティクス研究会 (金沢), 2015 (Invited)
- IV-9 N. Kanatani, H. Kojima (NICT), K. Oiwa : Dynamic alignment and millimeter-scale vortex formation of microtubules driven by different types of dynein. Proceedings of 9th EAI International Conference on Bio-Inspired Information and Communications Technologies (NewYork, USA), 2015 (Invited)
- V-1 櫻井 晃(NICT)・小嶋 寛明 (NICT)・吉原 基二郎 (NICT) : A neural correlate of Pavlovian conditioning in *Drosophila* brain, 第 38 回日本神経科学大会 (神戸), 2015
- V-2 A. Sakurai (NICT), H. Kojima (NICT), M. Yoshihara (NICT) : A neural correlate of Pavlovian conditioning in *Drosophila* brain, Neurobiology of *Drosophila*, Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, USA), 2015

## 大学院生命理学研究科

ピコバイオロジー専攻博士課程3年

桐間 惇也：Reconstitution of structure and functions of an eukaryotic flagellum with bottom-up strategies

博士前期課程

金谷 直樹：タンパク質モーターを用いた集団運動形成メカニズムの研究

渡利 洋平：モーター蛋白質の動作原理解明に向けた分子進化的機能再構成

指宿 良太：構成論的手法によるタンパク質モーターの運動メカニズムの探求

学部4年生

白髪 美咲：構成論的手法を用いた鞭毛運動の必須要素の特定

苅田 真由：クラミドモナスセルモデルを用いた自己駆動粒子の凝集パターンの形成メカニズム

東 佑一朗：ウェアラブル脳波計を用いた実環境での脳波計測

松原 成孝：走化性を利用した大腸菌の個体判別法の開発

## 科学研究費補助金等

1 CREST 戦略的創造研究推進事業（平成25年度～平成30年度）研究分担者

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」研究領域

研究課題名 細胞間接着・骨格の秩序形成メカニズムの解明と上皮バリア操作技術の開発

研究代表者 月田早智子（大阪大学大学院）

2 科学研究費補助金（平成26年度～平成28年度）基盤研究(C) 課題番号 26440089

研究課題名 自己組織的構成法による真核生物鞭毛の運動機構の解明

研究代表者 大岩和弘（兵庫県立大学、情報通信研究機構）