

I 軸系ダイニンの構造と運動機構の解明

Molecular Structure and Mechanism of Axonemal Dyneins

榊原 齊・小嶋寛明・西浦昌哉・志鷹裕司・大岩和弘
Sakakibara, H., Kojima, H., Nishiura, M., Shitaka, Y., Oiwa, K.

軸系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。この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力学計測を行ない、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、鞭毛軸系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ー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作業仮説を提唱した。また、軸系を対象としたクライオ電子線トモグラフィやX線回折によって軸系内のダイニン腕の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。

II 軟体動物平滑筋のキャッチ機構に関する研究

In Vitro Reconstitution of the 'Catch' State of Molluscan Smooth Muscle

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。

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

大岩和弘・小嶋寛明・志鷹裕司・西浦昌哉

Oiwa, K., Kojima, H., Shitaka, Y., Nishiura, M.

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ーな材料を用いて、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も期待されている。

発表論文 List of Publications

- I-1 K. H. Bui (ETH Zurich, Switzerland), H. Sakakibara (NICT), T. Movassagh (ETH Zurich, Switzerland), K. Oiwa, T. Ishikawa (ETH Zurich, Switzerland) : Asymmetry of inner dynein arms and inter-doublet links in *Chlamydomonas flagella*, *Journal of Cell Biology*, 186 , 437-446 (2009)
- I-2 Q. Chen (University of Alberta), D. Y. Li (University of Alberta), K. Oiwa : Phenomenological simulation of self-organization of microtubule driven by dynein c , *Journal of Chemical Physics*,

- 130, 1-8 (2009)
- I-3 Q. Chen (University of Alberta), D. Y. Li (University of Alberta), Y. Shitaka (NICT), K. Oiwa : Behaviors of Microtubules (MTs) Driven by Biological Motors (Dynein c) at Collisions Against Micro-Fabricated Tracks and MTs for Potential Nano-Bio-Machines , *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9 , 5123-5133 (2009)
- I-4 K. Oiwa, S. Kamimura, H. Iwamoto (JASRI) : X-ray Fiber Diffraction Studies on Flagellar Axonemes , *Methods in Cell Biology*, 91, 89-109 (2009)
- I-5 H. Kojima (NICT), S. Toba (NICT), H. Sakakibara (NICT), K. Oiwa : Biophysical measurements on axonemal dyneins, *Methods in Cell Biology*, 92, 83-105 (2009)
- I-6 T. Katayama (Gunma University), M. Watanabe (Tokyo Medical University) , H. Tanaka (Gunma University) , M. Hino (Gunma University), T. Miyakawa (The University of Tokyo) , T. Ohki (Waseda University) , L. H. Ye (Gunma University), C. Xie (Gunma University) , S. Yoshiyama (Gunma University), A. Nakamura (Gunma University), R. Ishikawa (Gunma University), M. Tanokura (The University of Tokyo), K. Oiwa, K. Kohama (Gunma University) : Stimulatory effects of arachidonic acid on myosin ATPase activity and contraction of smooth muscle via myosin motor domain. , *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 298, 505-514 (2009)
- I-7 K. Oiwa : Structure and Force Generating Mechanism of Axonemal Dyneins, JST/CREST Symposium :Watching Biomolecules in Action (Osaka) ,2009
- I-8 K. Oiwa : Axonemal dyneins: Their own structures and arrangement in an axoneme, Seminar of Hannover Medical School (UK), 2009
- I-9 D. Yamamoto(Kanazawa University), A. Miyagi(Kanazawa University), K. Oiwa, T. Ando(Kanazawa University), H. Sakakibara(NICT) : Structural characterization of dynein-c by high-speed AFM, International Workshop Dynein2009(Kobe), 2009
- I-10 K. Oiwa, S. Toba(Osaka City University), H. Sakakibara(NICT), H. Iwamoto(JASRI) : X-ray fiber diffraction studies on *Chlamydomonas* flagellar axonemes, International Workshop Dynein2009 (Kobe), 2009
- I-11 志鷹裕司(NICT)・大岩和弘・小嶋寛明(NICT) : *In vitro* motility assayにおける微小管の進行方向性、第47回日本生物物理学会(徳島)、2009
- I-12 H. Sakakibara(NICT), D. Yamamoto(Kanazawa University), A. Miyagi(Kanazawa University), K. Oiwa, T. Ando(Kanazawa University) : Dissection of *Chlamydomonas* dynein-c by using high-speed AFM, The 49th American Society for Cell Biology Annual Meeting(San Diego), 2009
- I-13 D. Yamamoto(Kanazawa University), A. Miyagi(Kanazawa University), K. Oiwa, T. Ando(Kanazawa University), H. Sakakibara(NICT) : Nano-dissection of *Chlamydomonas* dynein-c by high-speed AFM、 JST/CREST Symposium :Watching Biomolecules in Action (Osaka), 2009
- I-14 清水洋輔(NICT)・吉雄麻喜(NICT)・伊藤恭平(長岡技術科学大学)・Pinfen Yang(Marquette 大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘・榊原 斉(NICT) : Radial spokesのhead-tailジョイントはそのフレキシビリティに方向依存性を持つ、生体運動合同班会議(中央大学)、2010
- I-15 西浦昌哉(NICT)・岩本裕之(JASRI)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : X線回折によって単一の鞭毛軸系の構造を解析する、生体運動研究合同班会議(中央大学)、2010
- I-16 大岩和弘 : 線毛運動機能への構成要素解析からのアプローチ –ダイニンの構造と機能を中心に–、

第8回DPB・難治性気道疾患研究会(東京)、2010

- I-17 T. Ishikawa(ETH Zurich), K. H. Bui(ETH Zurich), T. Movassagh(ETH Zurich), H. Sakakibara(NICT), K. Oiwa : 3D arrangement, conformation and ATP-induced structural change of inner and outer dynein arms revealed by electron cryo-tomography, Biophysical Society 54th Annual Meeting(San Francisco), 2010
- I-18 山本大輔(金沢大学)・宮城 篤(金沢大学)・大岩和弘・安藤敏夫(金沢大学)・榊原 斉(NICT) : 高速AFMによりクラミドモナス内腕ダイニンcを「解剖」する、第5回鞭毛ダイニン研究会(東京大学)、2010
- I-19 清水洋輔(NICT)・吉雄麻喜(NICT)・伊藤恭平(長岡技術科学大学)・P. Yang(Marquette大学)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘・榊原 斉(NICT) : Radial spokesのhead-tailジョイントはそのフレキシビリティに方向依存性を持つ、鞭毛・ダイニン機能研究会(東京大学)、2010
- I-20 K. Oiwa : Structure and force generating mechanism of axonemal dyneins, John Eccleston Syposium/Structural Biology Seminar (London), 2010
- I-21 K. Oiwa : Structure and function of dyneins in flagellar axonemes, The Annual Review Conference of the Global COE program of University of Hyogo, (Hyogo), 2010
- III-1 H. Takatsuki (Marshall University), K. M. Rice (Marshall University), S. Asano (Marshall University), B. S. Day (Marshall University), M. Hino (Gunma University), K. Oiwa, R. Ishikawa (Gunma University), Y. Hiratsuka (AIST), T. Q. P. Uyeda (AIST), K. Kohama (Marshall University), E. R. Blough (Marshall University) : Utilization of myosin and actin bundles for the transport of molecular cargo , *Small* , 6 , 452-457 (2009)
- IV-1 M. J. Moore (University of California, Irvine), T. Suda (University of California, Irvine), K. Oiwa : Molecular Communication: modeling noise effects on information rate, *IEEE Transactions On Nanobioscience*, 8, 169-180 (2009)
- IV-2 M. Hirabayashi (NICT), K. Oiwa, A. Nishikawa (Fuji University), F. Tanaka (University Of Tokyo), M. Hagiya (University Of Tokyo) : Toward self-assembly of phage-like nanorobot, *2009IEEE*, 211, 645-650 (2009)
- IV-3 M. Hirabayashi (NICT), H. Kojima (NICT), K. Oiwa : Design of True random one-time pads in DNA XOR cryptosystem , *Fourth International Workshop on Natural Computing*, I-4 , 1-10 (2009)
- IV-4 M. J. Moore (University of California, Irvine), A. Enomoto (University of California, Irvine), T. Nakano (University of California, Irvine), A. Kayasuga (NICT), H. Kojima (NICT), H. Sakakibara (NICT), K. Oiwa, T. Suda (University of California, Irvine) : Molecular communication: Simulation of microtubule topology. *International Workshop on Natural Computing, PICT IWNC2007* , 1 , 134-144 (2009)
- IV-5 平林美樹(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : Effective algorithm to encrypt information based on self-assembly of DNA tiles, 第6回国際核酸化学シンポジウム、53、 79-80 (2009)
- IV-6 J. Q. Liu (NICT), K. Oiwa : Networking science and information processing technology for nano-biological systems in the new millennium. *Fourth International ICST Conference on Nano-Networks* , *Nano-Net 09* , 1 , 1-18 (2009)
- IV-7 平林美樹(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : 生体分子を用いたソフトウェア・ハードウェア一体型暗号化処理システムの設計、計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会2009、580-583 (2009)
- IV-8 J. Q. Liu (NICT), K. Oiwa : Nano-biological information processing for nanobioscience : Signaling, mechanism and systems, *IEEE 9th International Conference on Nanotechnology(Italy)*, 2009

- IV-9 M. Hirabayashi(NICT), M. Ohta(Tohoku University), H. Kojima(NICT), K. Oiwa, D. A. Rufenacht (Hirshlanden Clinic)・B. Chopard (University of Geneva) : Numerical analysis on characteristic effects of stent implantation in cerebral vessels, 6th International Intracranial Stent Meeting (Sendai), 2009
- IV-10 K.Oiwa : Molecular-scale communication systems developed by protein motors' Functions, THERMEC'2009 (Berlin), 2009
- IV-11 K. Oiwa : Protein, Cell, Brain Biology-based Information Communications Technology – Bio ICT Researches in NICT- , Fourth International Workshop on Natural Computing(Himeji) , 2009
- IV-12 M. Hirabayashi(NICT), H. Kojima(NICT), K. Oiwa, H. Ohashi(University Of Tokyo) : A metaheuristic mechanism for strategic decision making, The 39th annual meeting of the Society of Neuroscience(Chicago), 2009
- IV-13 平林美樹(NICT)・小嶋寛明(NICT)・大岩和弘 : DNA上に構築されたバイナリーデータに対する顕微鏡を用いたビット単位シーケンスのためのDNAトランスデューサーの設計、第32回日本分子生物学会年会横浜)、2009
- IV-14 M. Hirabayashi(NICT), M. Ohta(Tohoku University),H. Kojima(NICT), K. Oiwa, D. A. Rufenacht(Hirshlanden Clinic), B. Chopard(University of Geneva) : Jet-fluid effects on the stented-flow structure in the cavity of cerebral aneurysm , Biophysical Society 54th Annual Meeting(San Francisco), 2010

科学研究費補助金等

平成19年度グローバルCOEプログラム (平成19年～23年度) 拠点番号 : A12
 研究課題 ピコバイオロジー : 原子レベルの生命科学
 拠点リーダー 吉川信也