

# Functional Nanometry of Biological Macromolecules

# 生体高分子超精密計測学

## I ショウジョウバエの性行動に対する 社会経験の作用機構の解明

Social modulation of courtship behavior in *Drosophila* males

山元大輔・佐藤耕世  
Yamamoto, D., Sato, K.

キイロショウジョウバエ野生型の雄成虫が、羽化後の集団生活経験に依存して雌への求愛活性を低下させる現象に着目して、その背後にある神経機構を分子および細胞レベルで明らかにすることを目指している。雄の求愛行動をトリガーする能力をもつ脳の介在ニューロン P1 が、羽化後の集団生活経験に依存して膜電流プロファイルを変化させる現象に着目して、その現象を制御する分子を、リボソーム親和性精製 (TRAP) の高感度化とそれによる RNA-seq 解析を通して明らかにする実験を進めている。

## II 寒冷耐性を制御する神経内分泌機構の解明

Neuroendocrine system for the regulation of cold tolerance in *Drosophila*

原 佑介・山元大輔・佐藤耕世  
Hara, Y., Yamamoto, D., Sato, K.

キイロショウジョウバエの雌成虫が示す温度依存的な食性の変化が、脳の機能をどのように変え、季節適応的な寒冷耐性の強化に作用するのか、そのメカニズムの解明を目指している。これまでに、寒冷耐性評価のための新たな実験系を構築した。本実験系を用いて、食餌中に含まれる脂肪酸のうちどの脂肪酸が寒冷耐性強化に重要であるのかを解析した。その結果、寒冷耐性強化に重要な脂肪酸種を特定することに成功した。

## III タンパク質モーター・ダイニンの運動機構の解明

Molecular mechanism of the molecular motor dyneins

石橋健太・榊原 斉・大岩和弘  
Ishibashi, K., Sakakibara, H., Oiwa, K.

タンパク質モーターの機能解析に用いてきた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解明している。試験管内再構成系において、発現系細胞質ダイニンで駆動される微小管はネマティック相互作用の結果、束化し、さらに束が蛇行することで渦構造を創出する。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が、ネマティック相互作用を介して集団として共有されていく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、かつ集団的挙動も観測できるため、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て注目されている。また、軸

糸断片から重合させた微小管束に軸糸から抽出した外腕ダイニンを加えて、24nmの構造周期を持つダイニン配列を自己組織的に微小管上に形成させた。これによってATP添加によってこの微小管束が繰り返し座屈運動を行う系を確立した。この微小管束座屈システムを“synthoneme”と名付け、この数値モデル化を進めた。これらの研究は、集団運動やアクティブマターと呼ばれる物理学の新分野の研究に、生物学の視点から関わるができる実験系を構築したものである。

## IV 単一分子観察・測定技術によるタンパク質モータの運動機構の解析

Single-molecule enzymology and nanometry of protein motors

古田 茜・大岩和弘・古田健也  
Furuta, A., Oiwa, K., Furuta, K.

光ピンセットや全反射励起蛍光顕微鏡システムなどの単一分子計測技術を駆使して、タンパク質モータ・ダイニンやキネシンの運動発生機構の解明を目指している。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技術を活用して、立体的に配置されたタンパク質モータ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ダイニンが創出する協働性を評価する研究を行っている。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に特定の数を結合させることで、分子間綱引きを行わせる実験系を確立、タンパク質モータの運動特性に新たな知見を見出した。また、タンパク質モータの運動機能を構成論的に解析する実験系として、細胞質ダイニンの微小管結合部位(MTBD)をアクチン結合タンパク質やDNA結合タンパク質と置換することで、アクチンフィラメントやDNAチューブを滑走させることができる新奇ダイニン分子を創出、アクチンフィラメントやDNAチューブの運動方向も簡易に操作することができることを示した。この結果は、タンパク質モーター一般が方向性のある運動を創出するメカニズムに迫るために重要な知見を与えている。

### 発表論文 List of Publications

- I-1 佐藤耕世・原 佑介 (NICT)・Rindner D. J. (東北大)・伊藤弘樹 (東北大)・山元大輔 (NICT) : 超高感度な遺伝子発現解析システム STRAP による経験依存的な行動発現を制御する遺伝子の解明 第45回日本分子生物学会年会 ワークショップ「多様な病因に潜む共通メカニズムから探る神経発達障害のネオパソロジー」 (千葉) 2022
- I-2 佐藤耕世・原 佑介 (NICT)・Rindner D. J. (東北大)・伊藤弘樹 (東北大)・山元大輔 (NICT) : 超高感度な遺伝子発現解析システム STRAP による経験依存的な行動発現を制御する遺伝子の解明 第45回日本分子生物学会年会 サイエンスピッチ (千葉) 2022
- I-3 佐藤耕世・原 佑介 (NICT)・Rindner D. J. (東北大)・伊藤弘樹 (東北大)・山元大輔 (NICT) : 超高感度な遺伝子発現解析システム STRAP による経験依存的な行動発現を制御する遺伝子の解明 第45回日本分子生物学会年会 ポスターセッション (千葉) 2022
- I-4 佐藤耕世・山元大輔 (NICT) : 遺伝子解析方法 特願2022-189772 2022
- II-1 原 佑介 (NICT)・佐藤耕世・郷康弘 (自然科学研究機構)・山元大輔 (NICT) : Diet-dependent electrical and transcriptional changes in brain insulin-producing cells for adaptation to environmental stresses. 第15回日本ショウジョウバエ研究集会 (名古屋) 2022
- II-2 原佑介 (NICT)・田中良弥 (名古屋大)・古波津創 (NICT)・佐藤耕世・山元大輔 (NICT) : *Drosophila subobscura* の脳内インスリン産生ニューロンは吻運動を制御して種特異的な求愛行動を生み出す 第45回日本神経科学大会 (沖縄) 2022

- III-1 I. Guido (MPI), A. Vilfan(MPI), K. Ishibashi(NICT), H. Sakakibara(NICT), M. Shiraga, E. Bodenschatz(MPI), R. Golestanian(MPI), K. Oiwa : A Synthetic Minimal Beating Axoneme, *Small* **18**, 2107854 (2022) <https://doi.org/10.1002/smll.202107854>
- III-2 K. Oiwa : Creation of novel molecular motors and chemo-sensors on the basis of motor proteins' function and bacterial chemotaxis behavior. The 2nd "Molecules, Materials, Devices and Systems" Workshop at Columbia University (New York, USA) 2022
- III-3 S. Tamai, K. Sato, H. Sakakibara (NICT), K. Oiwa : The waveform and beat frequency of a sperm flagellum of *Drosophila melanogaster*. 第60回日本生物物理学会年会 (札幌) 2022
- III-4 I. Guido (MPI), K. Ishibashi (NICT), E. Bodenschatz (MPI), A. Vilfan (MPI), R. Golestanian (MPI), H. Sakakibara (NICT), K. Oiwa : Reconstitution of the axonemal beating by bottom-up strategy. 第60回日本生物物理学会年会 (札幌) 2022
- III-5 S. Tamai, H. Sakakibara (NICT), K. Sato, K. Oiwa : Helical bending waves superimposed on large helical waves of an extremely long sperm flagellum of *Drosophila melanogaster*. 第67回米国生物物理学会年会 (San Diego CA, USA) 2023
- III -6 S. Tamai, K. Sato, K. Oiwa : Helical bending waves superimposed on large helical waves of an extremely long sperm flagellum of *Drosophila melanogaster*. Cold Spring Harbor Asia, CILIA & CENTROSOMES (Awaji, Japan) 2023

## 生命科学専攻

### 博士後期課程

佐川美咲：タンパク質モータの協同的運動特性の創出メカニズム

### 博士前期課程

中山慎太郎：タンパク質モータが一方向性を生み出すメカニズムの解明

中村公祐：繊毛虫類 *Spirostomum ambiguum* の伸長運動メカニズムの解明

## 科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金(令和4年度～令和6年度) 基盤研究(B) 課題番号 22H02726  
研究課題名 行動発現のポテンシャルを作り出すニューロン操作技術の創出  
研究代表者 佐藤耕世
- 2 科学研究費補助金 (令和2年度～令和5年度) 挑戦的研究 (開拓) 課題番号 20K20583  
研究課題名 クシクラゲ櫛板の分子構造の解明と運動性フォトニック結晶開発に向けた基盤研究  
研究代表者 稲葉一男 (筑波大学)  
研究分担者 大岩和弘
- 3 科学研究費補助金 (令和3年度～令和6年度) 基盤研究(B) 課題番号 21H02455  
研究課題名 昆虫精子鞭毛の運動解析から明らかにする鞭毛波形成・伝播の普遍的メカニズム  
研究代表者 大岩和弘