

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	医療への応用を目指した高解像 3 次元ナノマニピュレーション技術の開発
研究機関・ 部局・職名	学習院大学・理学部・教授
氏名	西坂 崇之

1. 当該年度の研究目的

蛋白質や核酸などの微小な生体分子から細胞に至るまで、生物試料を対象にした研究においては、光学顕微鏡は欠くことのできない強力なツールである。本研究課題では、本研究者がこれまで開発を進めてきた技術を発展させ、生体分子やその超構造の動態を明らかにするための研究を推進する。当該年度は、以下の6つの目標を設定した。1)市販の 3D 技術のリサーチへの応用という観点からの評価。2)光ピンセット装置への 3D 技術の組み込み。3)2)による試料の観察。4)3D 技術のべん毛運動観察への応用。5)検出精度の向上。6)分子モーターへの応用。

2. 研究の実施状況

- 1) NVIDIA 社のボードに対応したフォーマットとディスプレイは市販に安価で普及しており、これらの製品について、取得した画像の解析に用いることが可能なことが OpenGL の表現方式で確認できた。また米国立衛生研究所が提供している画像処理ソフトと Micro-Manager を組み合わせることで、画像取り込みを行いながら 3 次元表示が可能なことも確認できた。
- 2) 光ピンセットで補足した粒子について、光軸方向への力の測定に様々な条件下で成功した。力測定装置として光ピンセットを用いる場合、従来の方法では XY 方向の変位しか検出できないが、3D 検出技術と組み合わせることで 3 次元方向の力測定が可能なが示された。
- 3) 回転分子モーターである F_1 -ATPase に、開発中の新しい方法を応用した。回転観察に用いる微粒子に対して 3 次元のナノマニピュレーションを行い、サブユニット間の相互作用の見積もりを試みた。
- 4) べん毛に取り付けた粒子を 3 次元トラッキングすることで、1本のべん毛の運動を、高時間分解能かつ XYZ の方向に記録することに成功した。本申請課題の中での重要な位置づけとなる成果である。
- 5) 実験環境の温度を極限まで安定させることにより、検出系全体の精度を向上する方法論を検討している。プロトタイプの恒温室は問題なく機能しているが、大型の恒温室についてはばらつきが見られ、設計や温度安定のためのパラメータについて改善する必要があることが明らかになった。
- 6) 高い空間分解能を実現することにより、分子モーターの軸の回転半径の変化が化学状態によって異なることが発見された。この成果は原著論文として発表した (*Biophysical Journal*, 2011)。

様式19 別紙1
3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計6件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計5件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kim, K., Yajima, J., Oh, Y., Lee, W., Oowada, S., Nishizaka, T., and Kim, D. (2012). Nanoscale localization sampling based on nanoantenna arrays for super-resolution imaging of fluorescent monomers on sliding microtubules. <i>Small</i> 8, 892-900, 786. 2. Sato, C., Manaka, S., Nakane, D., Nishiyama, H., Suga, M., Nishizaka, T., Miyata, M., and Maruyama, Y. (2012). Rapid imaging of mycoplasma in solution using Atmospheric Scanning Electron Microscopy (ASEM). <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 417, 1213-1218. 3. Sugawa, M., Okada, K.A., Masaie, T., and Nishizaka, T. (2011). A change in the radius of rotation of F1-ATPase indicates a tilting motion of the central shaft. <i>Biophys J</i> 101, 2201-2206. 4. Tsuji, T., Kawai-Noma, S., Pack, C.G., Terajima, H., Yajima, J., Nishizaka, T., Kinjo, M., and Taguchi, H. (2011). Single-particle tracking of quantum dot-conjugated prion proteins inside yeast cells. <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 405, 638-643. 5. Yogo, K., Ogawa, T., Hayashi, M., Harada, Y., Nishizaka, T., and Kinoshita, K., Jr. (2012). Direct observation of strand passage by DNA-topoisomerase and its limited processivity. <i>PLoS one</i> 7, e34920. <p>(掲載済み一査読無し) 計1件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nishizaka, T., Hasimoto, Y., and Masaie, T. (2011). Simultaneous observation of chemomechanical coupling of a molecular motor. <i>Methods Mol Biol</i> 778, 259-271. <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計12件</p>	<p>専門家向け 計12件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 須河光弘、藤井文彦、政池知子、西坂崇之 (2011). Development of circular orientation fluorescence emitter imaging (COFEI) with the advanced TIRF microscopy. 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. 2. 政池知子、池上浩司、瀬藤光利、西坂崇之 (2011). F1-ATPase と繊毛軸糸をモデルとした、酵素とその集合体の動きの可視化 F1-ATPase and ciliary axonemes as models of imaging motions in enzymes and their assemblies. 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. 3. 西坂崇之 (2011). 分子モーターの動態を可視化する光学顕微鏡技術. 第5回 NIBB バイオイメージングフォーラム. 岡崎コンファレンスセンター. 4. 西坂崇之, 須河光弘, et al. (2011). Orientation of the g shaft and catalytic β subunit in F1-ATPase in the intermediate state revealed at the single-molecule level. Biophysical Society 55th Annual Meeting. Baltimore Convention Center, Maryland, USA. 5. 西坂崇之 and 政池知子 (2011). 分子モーターの動態を可視化する光学顕微鏡技術. 生体運動研究合同班・2011年班会議. 大阪市立大学・杉本キャンパス. 6. 西坂崇之, 矢島潤一郎, et al. (2011). Imaging structure and function of motor proteins under optical microscopes. 7th Asian Biophysics Association (ABA) Symposium & Annual Meeting of the Indian Biophysical Society (IBS). India Habitat Center, New Delhi, India. 7. 足立健吾, 西坂崇之 (2011). 回転モーターF1-ATPase の強制回転によるヌクレオチドアフィニティの操作 Manipulating the nucleotide Affinity in Rotary Motor of F1-ATPase by Forced Rotation. 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. 8. 矢島潤一郎 and 西坂崇之 (2011). キネシンモーターによる微小管の並進回転運動メカニズム. 生体運動研究合同班・2011年班会議. 大阪市立大学・杉本キャンパス. 9. 橋本優, 西坂崇之 (2011). ねじれた γ 軸を持つ F1-ATPase 変異体の高時間分解能回転観察 Observation of rotation of mutant F1-ATPase with twisted A at high temporal resolution. 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. 10. 西坂崇之 (2012). Application of 3-D prismatic optical tracking to single-molecule optical tweezers. Biophysical Society 56th annual meeting. San Diego Convention Center, San Diego, California, USA. 11. 西坂崇之 (2012). Single-Molecule Biophysics. PITTCON 2012. Orange County Convention Center, Orlando, Florida, USA. 12. 西坂崇之 (2012). Sub-diffraction limited imaging of sliding microtubules based on nanoscale localization sampling using nanoantenna arrays. Biophysical Society 56th annual meeting. San Diego Convention Center, San Diego, California, USA. <p>一般向け 計0件</p>

様式19 別紙1

図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/phys/nishizaka/
国民との科学・技術対話の実施状況	1) 研究室ホームページの刷新。 2) 特集記事の作成。学習院大学出身の著名なラジオパーソナリティ、小島慶子氏との対談形式のHPを公開した。 3) 10/22 学習院大学オープンキャンパスでの講演(「生命を支える『究極のマシン』に挑む」最先端科学紹介と研究室の紹介、参加 29 名)。 4) 「高校生新聞」の取材に応じ、研究室と学生に関する記事を掲載(7・8月号)。 5) 7/11 学習院女子高等科における出張講義(「体の中の蛋白質モーター」生物物理学の概念から最新の成果までを解説、参加 24 名)。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	130,000,000	55,170,000	9,950,000	64,880,000	0
間接経費	39,000,000	16,551,000	2,985,000	19,464,000	0
合計	169,000,000	71,721,000	12,935,000	84,344,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	55,071,416	9,950,000	0	65,021,416	66,373,743	-1,352,327	0
間接経費	16,551,000	2,985,000	0	19,536,000	16,551,000	2,985,000	0
合計	71,622,416	12,935,000	0	84,557,416	82,924,743	1,632,673	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	54,689,149	プレハブ冷蔵庫、レンズ、試薬 等
旅費	573,638	研究成果発表旅費(生物物理学会)等
謝金・人件費等	10,189,143	研究員人件費、アルバイト人件費
その他	921,813	学会参加費、修理費、論文掲載料等
直接経費計	66,373,743	
間接経費計	16,551,000	
合計	82,924,743	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
ダイレクトダイオード レーザー	D375C-16-11- 12-23	1	840,000	840,000	H23.5.24	学習院大学
バイオイメージング 用デジタルCMOSカ メラ	DC-152Q-CR0- F12 5.5MPixel	1	1,417,500	1,417,500	H23.6.27	学習院大学
灌流装置一式	RC-31、VC- 66MCS,SA-30NIK	1	722,190	722,190	H23.6.16	学習院大学
ダイレクトダイオード レーザー	D405C-100-11- 12-23	1	866,250	866,250	H23.6.22	学習院大学
全反射蛍光専用対 物レンズ150X	UAPON150XTIR F	1	1,160,250	1,160,250	H23.5.19	学習院大学
全反射蛍光専用対 物レンズ100X	UAPON100XTIR F	1	798,000	798,000	H23.5.19	学習院大学
グリーンレーザー	JUNO1000GM	1	1,995,000	1,995,000	H23.7.15	学習院大学
プレハブ冷蔵庫一 式	2700D×3600W×2400H 天吊型パネルヒータ方式床無 し3坪	1	5,355,000	5,355,000	H23.6.30	学習院大学
プレハブ冷蔵庫一 式	2000D×2500W×2000H パネルコイル内蔵床無し3 坪	1	5,617,500	5,617,500	H23.9.28	学習院大学

ドラフトチャンバー 及び実験台他一式	GA-42JC-3600T、MW-61AC-0900T、MW-61AC-3000T、DFV-17AC-12ALI、DFV-17AC-12ARI、CA-541S-0900S、CA-543S0900S、純水製造装置	1	7,214,550	7,214,550	H23.9.30	学習院大学
システム顕微鏡	BX53（微分干渉、位相差）	1	974,400	974,400	H23.9.8	学習院大学
ラボレコーダー SXGA高解像度高	LRH20000X-1	1	4,410,000	4,410,000	H23.10.7	学習院大学
分子運動解析システム PAL仕様	RAM:2GB、HD:1TB(RAID)、DVD±R/RW、20" TFT、C2-DIPAL動画ハードディスクレコードキット、OS: Windows、磁場制御用D/Aボード	1	1,050,000	1,050,000	H23.9.9	学習院大学
Axi DeflectionSystems一式	ConOptics製 Model412-2	1	3,956,400	3,956,400	H24.1.25	学習院大学
高速ポジショニング システム等一式	P-733.2DD型	1	2,782,500	2,782,500	H24.2.13	学習院大学