

課題番号	LR033
------	-------

**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 24 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研究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新しい方法論および装置を開発する。本年度は、昨年開発が始まった Circular orientation fluorescence emitter imaging (COFEI) の完成とその評価、および論文としての取りまとめを目的とする。また感染性の細菌であるマイコプラズマの滑走装置の研究が予想以上に進展したため、これを研究対象に組み入れ、3 次元マニピュレーションを行う生物試料とする。

2. 研究の実施状況

予定通り、COFEI のシステムが完成し、生物試料を対象にしてデータを取得することに成功した。中でも分子モーターである F1-ATPase やキネシンを対象にした結果については、学会発表を2件行い、論文として投稿中である。開発期間から取りまとめまでを考えると、たいへん順調に研究が実施された。この研究から派生した思わぬ技術として、光軸方向の角度も検出できる新しい原理の COFEI が考案され、このプロトタイプが倒立顕微鏡に実装された。

3 次元の位置検出手法については、細菌の観察への応用が順調に進んでいる。蛍光標識した *Mycoplasma mobile* の運動が初めて定量的に調べられ、XY 方向の滑走と Z 方向への変位に相関がみられることも見いだされた。しかし測定の精度がまだ十分な値に達していないこと、またデータの再現性が低いことなどから、結果の取りまとめにはまだ数年の期間が必要になると予想される。予想しなかった結果としては、高精度のトラッキングの過程で、ステップ状の運動が見いだされ、ステップのサイズが報告されている天然の分子モーターの中で最大の大きさ(70 ナノメートル)であることが詳細な解析から明らかになった。ステップ間の化学反応の待ち時間から、このバクテリアの運動のメカニズムに関する重要な知見も得られ、2件の学会発表を行い、成果も論文として投稿中である。

マニピュレーション技術は、哺乳類の気管に局在している繊毛への応用が進んでいる。3 次元光トラップ技術で繊毛の片端を捕捉、もう片端がガラスについた状態で、繊毛の特徴である振動の振幅や周期が外部負荷にどう依存するかの測定に成功している。まだ再現性のある結果は得られていないものの、定量化が可能な計測システム自体は理想的な形で構築されており、来年度の研究課題として引き続き本実験を継続する予定である。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計4件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計4件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Adachi, K., Oiwa, K., Yoshida, M., Nishizaka, T., and Kinoshita, K., Jr. (2012). Controlled rotation of the F₁-ATPase reveals differential and continuous binding changes for ATP synthesis. <i>Nature communications</i> 3, 1022. 2. 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. 3. Sato, C., Manaka, S., Nakane, D., Nishiyama, H., Suga, M., Nishizaka, T., Miyata, M., and Maruyama, Y. (2012). Rapid imaging of <i>mycoplasma</i> in solution using Atmospheric Scanning Electron Microscopy (ASEM). <i>Biochem Biophys Res Commun</i> 417, 1213-1218. 4. 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0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計17件</p>	<p>専門家向け 計16件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 木下佳昭, 中根大介, 政池知子, 水谷加奈, 宮田真人, and 西坂崇之. "マイコプラズマモービルの単一滑走装置におけるステップの直接観察." In <i>日本細菌学会 第86回総会. 幕張メッセ, 2013</i> 2. 木下佳昭, 中根大介, 政池知子, 水谷加奈, 宮田真人, and 西坂崇之. "Direct Observation of Unitary Step of Gliding Machinery in <i>Mycoplasma Mobile</i>." In <i>Blast XII. Hilton Tucson East Tucson, Arizona, USA, 2013.</i> 3. 内藤達也, 岡田 薫, 中山莉奈子, 政池知子, and 西坂崇之. "F₁-Atpaseの軸とシリンダーの結合寿命の測定." In <i>生体運動研究合同班会議プログラム. 広島大学大学院理学研究科 E棟102号階段大講義室, 2013.</i> 4. 藤村章子, 大和田慎介, 西坂崇之, and 矢島潤一郎. "N末端領域変異単頭キネシンによる微小管の3次元コークスクリュー運動." In <i>生体運動研究合同班会議プログラム. 広島大学大学院理学研究科 E棟102号階段大講義室, 2013.</i> 5. 田中晃弘, 中根大介, 西坂崇之, and 宮田真人. "Mycoplasma Mobile“あし”結合の方向性." In <i>生体運動研究合同班会議プログラム. 広島大学大学院理学研究科 E棟102号階段大講義室, 2013.</i> 6. 田中晃弘, 中根大介, 西坂崇之, and 宮田真人. "Gliding of <i>Mycoplasma Mobile</i> Can Be Explained by Directed Binding." In <i>Blast XII. Hilton Tucson East, Tucson, Arizona, USA, 2013.</i>

7. 田中晃弘, 中根大介, and 西坂崇之. "“あし”の結合の方向性で説明されるmycoplasma Mobileの滑走運動." In 日本細菌学会総会 第86回総会. 幕張メッセ, 2013.
8. 須河光弘, 山口真, 柴田桂太郎, 藤井文彦 政池知子, 豊島陽子, 矢島潤一郎, 神隆, and 西坂崇之. "受像偏向蛍光イメージングによる分子モーターの運動計測" In 生体運動研究合同班会議プログラム. 広島大学大学院理学研究科 E棟 1 0 2号階段大講義室, 2013.
9. 木下佳昭, 中根大介, 水谷佳奈, 宮田真人, and 西坂崇之. "マイコプラズマモービレゴーストのステップ検出 Detection of Steps of Mycoplasma Mobile Gliding Ghost." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
10. 内藤達也, 岡田薫, 政池知子, and 西坂崇之. "F1-Atpase のシリンダーから中心軸を引き抜く力の測定 Unbinding Force Measurements of the Shaft from the Cylinder of F1-Atpase." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
11. 藤村章子, 橋本優, 足立健吾, 中山莉奈子, 政池知子, and 西坂崇之. "等方性と偏光変調性の2つの全反射型蛍光顕微鏡を組み合わせる Combining of Isotropic Tirmand Polarization-Modulation Tirm." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
12. 田中晃弘, 中根大介, 西坂崇之, and 宮田真人. "Mycoplasma Mobile の滑走運動に方向性を持たせる“あし”の結合 Directed Binding of Mycoplasma Mobile May Cause Directed Displacement in Gliding." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
13. 政池知子, 池上浩司, 中山莉奈子, 瀬藤光利, and 西坂崇之. "F1-Atpase と繊毛軸系の機能に関する構造変化 Motions in F1-Atpase and Ciliary Axonemes That Drive Functions." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
14. 須河光弘, 小林大, 松井貴志, 政池知子, and 西坂崇之. "Conformational Changes in the B Subunits of F1-Atpase Revealed by Fret Measurements During the Rotation of the Γ Subunit." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
15. 丸山雄介, 海老原達彦, 中根大介, 西山英利, 西坂崇之, 千田美紀, 三尾和弘, 須賀三雄, 千田俊哉, 宮田真人, and 佐藤主税. "大気圧電子顕微鏡 (Asem) によるタンパク質微結晶とマイコプラズマの液中観察 Direct Electron Microscopy of Protein Crystals and Mycoplasma Cells in Solution Using the Atmospheric Sem." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.
16. 永縄達也, 下澤東吾, 政池知子, and 西坂崇之. "3次元トラッキングによるin Vitro アクチンフィラメントモーターリテーアッセイ Three-Dimensional Tracking of Gliding Actin Filament in an in Vitro Motility Assay." In 日本生物物理学会 第50回年会. 名古屋大学・東山キャンパス, 2012.

様式19 別紙1

	<p>一般向け 計1件</p> <p>1. 西坂崇之“体の中にある分子モーターの謎” 豊島コミュニティ大学 学習院大学 2012 5/26</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/phys/nishizaka/lab/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. 【大学のホームページにおける特集記事の作成】 学習院大学のホームページ内の「研究の現場から」と題される特集コーナーにおいて、理系に限定せず文系の大学生でも理解できるような簡易的な研究紹介記事を作成に協力した。 http://www.gakushuin.ac.jp/univ//new/research/nishizaka.html また高校生を対象にした「SakuLIFE」のインタビュー記事の作成に協力し、教員プロフィールという形で研究内容の概略を紹介した。 http://sakulife.com/interview_t/vol6.html</p> <p>2. 【研究室ホームページの更新】 学科で公開している自身の研究室のホームページの更新を行った。 http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/phys/nishizaka/lab/ 昨年度に作製した特集記事は、大学内での評価も高いため、そのままの形で残っており、また理学部のトップページからのリンクも作っている。 http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/top/ http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/phys/nishizaka/lab/kagakusanpo/index.html</p> <p>3. 【オープンキャンパスでの講演と研究室の紹介】 オープンキャンパスにおいて、学部全体の説明会が開催され、その中で研究室の内容が説明された。</p> <p>4. 【高校における出張講義】 5/30(水)に雙葉高等学校で、また 7/9(月)に学習院高等科で講義を行った。生物物理学の概念から最新の成果まで、幅広い内容を解説した。現役の研究者による科学の解説は高校生にとって得難い経験であると考え、一般的な講義の形はとらず、最先端科学の紹介を中心としながら、身近な例も取り入れる構成とした。</p> <p>5. 【一般向けの講演】 5/26(土)に、学習院大学内で、一般向けの講演を2時間にわたり行った。豊島区が主体となり、「としまコミュニティ大学」という形で進めている講座プログラムである。多くの来場者が訪れ、地域との関わりを持つまたとない機会となった。 http://www.city.toshima.lg.jp/shogaigakushu/shogaigakushu/21470/003336.html</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	

様式19 別紙1

その他	
-----	--

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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	65,120,000	35,650,000	29,230,000	0
間接経費	39,000,000	19,536,000	10,695,000	8,769,000	0
合計	169,000,000	84,656,000	46,345,000	37,999,000	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	-1,352,327	35,650,000		34,297,673	34,268,607	29,066	0
間接経費	2,985,000	10,695,000		13,680,000	13,680,000	0	0
合計	1,632,673	46,345,000	0	47,977,673	47,948,607	29,066	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	19,021,502	インテリジェントHPLCポンプ、ピペットマン、試薬
旅費	402,775	研究成果発表旅費(生物物理学会)等
謝金・人件費等	14,759,330	研究員人件費、派遣労働者費
その他	85,000	学会参加費、講習会費等
直接経費計	34,268,607	
間接経費計	13,680,000	
合計	47,948,607	

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
インテリジェント HPLCポンプ一式		1	7,665,000	7,665,000	2012/4/4	学習院大学
高安定性ステージ		1	945,000	945,000	2012/6/29	学習院大学
Yb. Fiber Laser一 式	YLR-10-LP-Y12	1	1,879,000	1,879,000	2012/5/29	学習院大学