

平成 24 年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価用〕

◆記入に当たっては、「平成 24 年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成 24 年 4 月 27 日現在

研究代表者 氏名	石渡 信一	所属研究機関・ 部局・職	早稲田大学・理工学術院・教授
研究課題名	タンパク質機能の 1 分子デザインとシステム構築		
課題番号	14002008		
研究組織 (研究期間終了時)	研究代表者 石渡 信一（早稲田大学・理工学術院・教授） 研究分担者 船津 高志（東京大学・大学院薬学系研究科・教授）		

【補助金交付額】

年度	直接経費
平成 14 年度	90,000 千円
平成 15 年度	89,100 千円
平成 16 年度	98,900 千円
平成 17 年度	107,240 千円
平成 18 年度	92,000 千円
総計	477,240 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)～(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

特別推進研究終了後の研究テーマと研究資金：

特別推進研究が終了するにあたり、整った研究体制を維持発展させるために前年度申請を行った。幸いヒアリングまで行ったが、最終的には採択されなかった。そのため、特別推進研究の5年が経過したのちに、改めて基盤研究(S)と(A)を申請し、基盤(A)が採択されたために、その後3年間は基盤(A)で研究を継続した。特別推進研究で開始した、遺伝子組換え技術を使ったアミノ酸置換分子モーターや、分子モーター断片などを使った実験、そしてGFP融合タンパク質を導入した細胞研究などが軌道に乗ったこと、1分子モーター力学解析も進んだこと、そして2004年度から3年間(1年延長したため4年間)HFSP(ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム)のグラントを、Rockefeller大のTarun M. Kapoor 当時准教授(現在、教授)と、当時オランダVrije大学のChristoph Schmidt教授とグループを組み採択され、当時我々が全く扱っていなかった染色体分配装置(紡錘体)のミクロ力学の研究を始めることができたことなどから、改めて基盤(S)に申請し、幸い2010年度から基盤(S)「生物運動の制御基盤：化学・力学フィードバックループ」での研究を継続している。

特別推進研究終了後の研究経過：

1 分子メカノケミストリー

ミオシンVとVIがアクチンフィラメントに結合した場合のADP結合能の負荷方向依存性を明らかにし、互いに逆方向に歩行運動する分子メカニズムと合致するような依存性を見出した。すなわち、どちらの分子モーターも、歩行する方向に対して後足(前方に内部負荷が加わると予測される方)からのADP解離が促進されることが分かった(Oguchiら、2008)。

ミオシンVがATP存在下で横方向に負荷を加えたところ、負荷に応じて双頭結合状態の滞在時間が長くなるが、歩行自体は正常に行われることが分かった(Oguchiら、2011)。

MCAKと呼ばれる微小管脱重合タンパク質が、1分子で、脱重合に伴って約1pNの力を発生する分子モーターであることが分かった。そのことから、MCAKが染色体分配に直接関わる分子モーターである可能性が示唆され、現在の通説とは異なるメカニズムが示唆された(Oguchiら、2011)。

筋収縮系の自励振動(SPOC)現象

SPOCについては、1988年に最初の報告をして以来、20年以上にわたって、主として実験的研究を進めてきた。SPOC現象を研究しているグループとしては、アメリカ、オーストラリア、フランス、イタリアにそれぞれ実験・理論のグループがあるが、質・量ともに我々のグループが圧倒的に先頭を走ってきた。しかし、1993年に英文でのレビューを発表したが、それ以来まとまった報告をしてこなかった。そこで、SPOC現象に関するこれまでの研究成果をまとめたレビューを2011年に発表した(Ishiwataら、2011)。さらに、SPOC現象の本質(サルコメア長の鋸波状振動、SPOCが発生する条件を示す状態図など)を表現できる数理モデルを構築することに成功した(Satoら、2011)。これは、次の3つの筋収縮系の特徴を偏微分方程式で表現したモデルである。1)クロスブリッジの形成確率が細い(アクチン)フィラメントと太い(ミオシン)フィラメントの間の距離(格子定数)に依存すること、2)筋線維の長さ方向について、外部からの負荷、クロスブリッジ(分子モーター)による駆動力、そして滑り運動に伴う分子摩擦力の3つの力が釣り合うこと、3)筋線維の太さ方向について、フィラメント格子構造とクロスブリッジに由来する弾性力が釣り合うこと。現在、この単位モデルを直列に弾性的に連結するという連結モデルを構築し、SPOC波の伝播を再現するなど、少しずつだが、SPOCメカニズムの全貌を再現できるモデルの構築を進めている。

染色体分配装置(紡錘体)と細胞分裂のミクロ力学

特別推進研究が始まってすぐ、HFSPのグラントを獲得することができ、Rockefeller大のKapoor教授グループとの共同研究を進めることができたことから、アフリカツメガエル卵の抽出液中に自己組織的に形成される染色体分配装置(紡錘体)のミクロ力学の研究を開始することができた。当初は一对のガラス微小針による操作に限られていたが、東大・工学部の下山勲研究室から板状のカンチレバーを供給していただけることになり、紡錘体を瞬時に圧縮し(圧縮力を定量)、その応答をみる実験が可能になった。その成果は*Nature Methods*(Itabashiら、2009)と*Cell*(Shimamotoら、2011)に発表した。紡錘体の粘弾性や、圧縮に対する自在な適応性を初めて明らかにすることができた。またこの手法を、癌細胞であるHeLa細胞に適用することにより、圧縮の方向に依存して、細胞分裂のタイミングを早めたり、遅くしたりという制御ができることを発見した(Itabashiら、2012)。このような、“力による細胞機能の制御”については、今後の展開が期待できる。

細胞機能への熱パルスの作用と、細胞温度のイメージング

1個の細胞の温度分布を時々刻々イメージングし、それと細胞機能との関係を調べるという研究は、その重要性にもかかわらず、これまでほとんどなされてこなかった。私たちは、独自に開発した局所熱パルスを与える手法をHeLa細胞に適用し、体温付近にある細胞に、たった0.2°Cの高さの熱パルスを加えたところ、温度が下降するのに伴って、Ca-burstとそれに引き続くCa振動が誘起されることを発見した(Tseebら、2008)。さらに、その原因がSERCA(Caポンプ)とIP3受容体(Caチャネル)の温度特性によっていることを明らかにした。さらに、化学合成グループと協力して、細胞に自動的に取り込まれ、細胞内温度をモニターすることができる温度感受性ビーズを作成してHeLa細胞に応用したところ、ビーズはエンドソームに取り込まれ、それが微小管の上を一定方向に移動すること、熱パルスに応じて運動速度が上昇することなどが分かった。つまり、我々は”歩くナノ温度計“を作ることができた(Oyamaら、2012)。

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

特別推進研究によって蓄えた、当時未発表のノウハウや成果を、研究期間終了後に次々と発表することができた、という印象を持っている。特別推進研究によって可能になった研究は、必ずしも5年間という研究期間内にまとめることができなかったが、我々のグループの実力アップにつながったと思う。

【原著論文】

2011年度（H23年）

- 1) Itabashi, T., Terada, Y., Kuwana, K., Kan, T., Shimoyama, I., and Ishiwata, S. “Mechanical impulses can control metaphase progression in a mammalian cell.” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2012). **in press.**
- 2) Oyama, K., Takabayashi, M., Takei, Y., Arai, S., Takeoka, S., Ishiwata, S., and Suzuki, M. “Walking nanothermometers: Spatiotemporal temperature measurement of transported acidic organelles in single living cells.” *Lab on a Chip*. **12**, 159-1593 (2012). DOI: 10.1039/C2LC00014H
- 3) Kobirumaki, F., Oyama, K., Serizawa, T., Mizuno, A., Kagemoto, T., Shimosawa, T., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Sarcomere imaging by quantum dots for the study of cardiac muscle physiology.” *J. Biomed. Biotech.* (2012) **in press.**
- 4) Oyama, K., Mizuno, A., Shintani, S., Itoh, H., Serizawa, T., Fukuda, N., Suzuki, M., and Ishiwata, S. “Microscopic heat pulses induce contraction of cardiomyocytes without calcium transients.” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **417(1)**, 607-612. (2012). DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.12.015
- 5) Suzuki, M., and Ishiwata, S. “Quasiperiodic distribution of rigor cross-bridges along a reconstituted thin filament in a skeletal myofibril.” *Biophys. J.* **101(11)**, 2740-2748 (2011). DOI: 10.1016/j.bpj.2011.10.040
- 6) Oguchi, Y., Ishizuka, J., S. E. Hitchcock-DeGregori., Ishiwata, S., and Kawai, M. “The role of tropomyosin domains in cooperative activation of the actin-myosin interaction.” *J. Mol. Biol.* **414(5)**, 667-680 (2011). DOI: 10.1016/j.jmb.2011.10.026
- 7) Fukuda, N., Inoue, T., Yamane, M., Terui, T., Kobirumaki, F., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., and Kurihara, S. “Sarcomere length-dependent Ca(2+) activation in skinned rabbit psoas muscle fibers: coordinated regulation of thin filament cooperative activation and passive force.” *J. Physiol. Sci.* **61(6)**, 515-523 (2011). DOI: 10.1007/s12576-011-0173-8
- 8) Serizawa, T., Terui, T., Kagemoto, T., Mizuno, T., Shimosawa, T., Kobirumaki, F., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Real-time measurement of the length of a single sarcomere in rat ventricular myocytes: a novel analysis with quantum dots” *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **301(5)**, C1116-C1127. (2011). DOI: 10.1152/ajpcell.00161.2011
- 9) Uda, J., Terui, T., Ohtsuki, I., Marumo, K., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Depressed contractile performance and reduced fatigue resistance in single skinned fibers of soleus muscle after long-term disuse in rats.” *J. Appl. Physiol.* **111(4)**, 1080-1087. (2011). DOI: 10.1152/jappphysiol.00330.2011
- 10) Shimamoto, Y., Maeda, Y., Ishiwata, S., Albert, J. Libchaber., and T. M. Kapoor. “Insights into the micromechanical properties of the metaphase spindle.” *Cell* **145(7)**, 1062-1074. (2011). DOI: 10.1016/j.cell.2011.05.038
- 11) Oguchi, Y., Uchimura, S., Ohki, T., Mikhailenko, S. V., and Ishiwata, S. “The bidirectional depolymerizer MCAK generates force by disassembling both microtubule ends.” *Nature Cell Biology.* **13(7)**, 846-852. (2011). DOI: 10.1038/ncb2256
- 12) Sato, K., Ohtaki, M., Shimamoto, Y., and Ishiwata, S. “A theory on auto-oscillation and contraction in striated muscle.” *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **105**, 199-207. (2011). DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2010.12.003
- 13) Ishiwata, S., Shimamoto, Y., and Fukuda, N. “Contractile system of muscle as an auto-oscillator.” *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **105**, 187-198. (2011).

2010年度（H22年）

- 14) Honda, H., and Ishiwata, S. “Two-dimensional periodic texture of actin filaments formed upon drying.” *BIOPHYSICS*. **7**, 11-19. (2011).
- 15) Terui, T., Shimamoto, Y., Yamane, M., Kobirumaki, F., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Regulatory mechanism of length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle: role of thin filament cooperative activation in the Frank-Starling relation.” *J. Gen. Physiol.* **136**, 469-482. (2010).
- 16) Kubota, H., Ishikawa, R., Ohki, T., Ishizuka, J., Mikhailenko, S.V., and Ishiwata, S. “Modulation of the mechano-chemical properties of myosin V by drebrin-E.” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **400(4)**, 643-648. (2010).

- 17) Ishiwata, S., Shimamoto, Y., and Suzuki, M. "Molecular motors as an auto-oscillator." *HFSP J.* **4(3)**, 100-104. (2010).
- 18) Watanabe, M., Ishiwata, S., and Liou, Y. "A Potential Role of Actin Filament Polymerization / Depolymerization in Smooth Muscle Contraction." *Adapt. Med.* **2(1)**, 23-28. (2010)
- 19) Mikhailenko, S.V., Oguchi, U., and Ishiwata, S. "Insights into the mechanisms of myosin and kinesin molecular motors from the single-molecule unbinding force measurements." *J Royal Soc. Interface.* **7**, S295-306.(2010)
- 20) Uchimura, S., Oguchi, Y., Hachikubo, Y., Ishiwata, S., and Muto, E. "Key residues on microtubule responsible for activation of kinesin ATPase." *EMBO J.* **29**, 1167-1175. Mar 11, (2010).
- 21) Fukuda, N., Terui, T., Ishiwata, S., Kurihara, S. "Titin-based regulations of diastolic and systolic functions of mammalian cardiac muscle." *J.Mol. Cell. Cardiol.* **48(5)**:876-881. (2010)

2009 年度 (H21 年)

- 22) Oguchi, Y., Mikhailenko, S. V., Ohki, T., Olivares, A.O., De La Cruz, E.M., and Ishiwata, S. "Robust processivity of myosin-V under off-axis loads." *Nat. Chem Biol.* **6(4)**, 300-305. (2010).
- 23) Gorbacheva, L., Pinelis, V., Ishiwata, S., Strukova, S. M., and Reiser, G. "Activated protein C prevents glutamate-and thrombin-induced activation of nuclear factor-kB in cultured hippocampal neurons." *Neurosci.* **165(4)**, 1138-1146. (2010).
- 24) Sato, T., Shimozawa, T., Fukasawa, T., Ohtaki, M., Aramaki, K., Wakabayashi, K., and Ishiwata, S. "Actin oligomers at the initial stage of polymerization induced by increasing temperature under low ionic strength: Study with Small-angle X-ray scattering." *BIOPHYSICS.* **6**, 1-11. (2009).
- 25) Kubota, H., Mikhailenko, S. V., Okabe, H., Taguchi, H., and Ishiwata, S. "D-loop of actin differently regulates the motor function of myosins II and V." *J. Biol. Chem.* **284**, 35251-35258. (2009).
- 26) Gorbacheva, L., Davidova, O., Sokolova, E., Ishiwata, S., Pinelis, V., Strukova, S., and Reiser, G. "Endothelial protein C receptor is expressed in rat cortical and hippocampal neurons and is necessary for protective effect of activated protein C at glutamate excitotoxicity." *J. Neurochem.* **111**, 967-975. (2009).
- 27) 板橋岳志、鈴木和也、高木潤、石渡信一 "紡錘体の力学計測" *生物物理*、Vol.49, 250-251.(2009).
- 28) Shimamoto, Y., Suzuki, M., Mikhailenko, S. V., Yasuda, K., and Ishiwata, S. "Inter-sarcomere coordination in muscle revealed through individual sarcomere response to quick stretch. " *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 11954-11959. (2009).
- 29) Matsuba, D., Terui, T., O-Uchi, J., Tanaka, H., Ojima, T., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. "Protein kinase A-dependent modulation of Ca²⁺ sensitivity in fast skeletal muscle reconstituted with cardiac troponin." *J. Gen. Physiol.* **133(6)**, 571-581. (2009).
- 30) Ohki, T., Ohno, C., Oyama, K., Mikhailenko, S. V., and Ishiwata, S. "Purification of cytoplasmic actin by affinity chromatography using the C-terminal half of gelsolin." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **383(1)**, 146-150. (2009).
- 31) Liou, Y.-M., Watanabe, M., Yumoto, M., and Ishiwata, S. "Regulatory mechanism of smooth muscle contraction studied with gelsolin-treated strips of Taenia Caeci in Guinea Pig. " *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **296**, C1024-C1033. (2009).

2008 年度 (H20 年)

- 32) Itabashi, T., Takagi, J., Shimamoto, Y., Onoe, H., Kuwana, K., Shimoyama, I., Gaetz, J., Kapoor, T. M., and Ishiwata, S. "Probing the mechanical architecture of the vertebrate meiotic spindle. " *Nature Methods.* **6(2)**, 167-172. (2009).
- 33) Tseeb, V., Suzuki, M., Oyama, K., Iwai, K., and Ishiwata, S. "Highly thermosensitive Ca²⁺ dynamics in a HeLa cell through IP3 receptors." *HFSP J.* **3**, 117-123. (2009).
- 34) Shimozawa, T., and Ishiwata, S. "Mechanical distortion of single actin filaments induced by external force: Detection by fluorescence imaging." *Biophys. J.* **96**, 1036-1044. (2009).
- 35) Fukuda, N., Terui, T., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., and Kurihara, S. "Titin and troponin: central players in the Frank-Starling mechanism of the heart." *Curr. Cardiol. Rev.* **5**, 119-124. (2009).
- 36) Oguchi, Y., Mikhailenko, S.V., Ohki, T., Adrian O. Olivares., Enrique M. De La Cruz., and Ishiwata, S. "Load-dependent ADP binding to myosins V and VI: Implications for subunit coordination and function." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 7714-7719. (2008).
- 37) Shimamoto, Y., and Ishiwata, S. "Mechanism of spontaneous oscillation emerging from collective molecular motors." *In Physics of Self-Organization Systems* (ed. by S. Ishiwata and Y. Matsunaga), World Scientific, Singapore, 2008, pp. 47-56. (2008).
- 38) Fukuda, N., Granzier, H. L., Ishiwata, S., and Kurihara, S. "Physiological functions of the giant elastic protein titin in mammalian striated muscle." *J. Physiol. Sci.* **58**, 151-159. (2008).
- 39) Gorbacheva, L.R., Storozhevyykh, T.P., Pinelis, V.G., Davydova, O.N., Ishiwata, S., and Strukova, S.M. "Activated protein C via PAR1 receptor regulates survival of neurons under conditions of glutamate excitotoxicity." *Biochemistry (Moscow)* **73**, 717-724. (2008).
- 40) Mikhailenko, S. V., Oguchi, Y., Ohki, T., Shimozawa, T., Olivares, A. O., De La Cruz, E. M., and Ishiwata, S.

“How load and the nucleotide state affect the actin filament binding mode of the molecular motor myosin V.” *J. Korean Phys. Soc.* 53, 1726-1730. (2008).

2007年度 (H19年)

- 41) Terui, T., Sodnomsuren, M., Matsuba, D., Udaka, J., Ishiwata, S., Ohtsuki, I., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Troponin and titin coordinately regulate length-dependent activation in skinned porcine ventricular muscle.” *J. Gen. Physiol.* **131**, 275-283. (2008).
- 42) Udaka, J., Ohmori, S., Terui, T., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., Kurihara, S., and Fukuda, N. “Disuse-induced preferential loss of the giant protein titin depresses muscle performance via abnormal sarcomeric organization.” *J. Gen. Physiol.* **131**, 33-41. (2008).
- 43) Kawaguchi, K., Ishiwata, S., and Yamashita, T. “Temperature dependence of the flexural rigidity of single microtubules.” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **366**, 637-642. (2008).
- 44) Shimamoto, Y., Suzuki, M., and Ishiwata, S. “Length-dependent activation and auto-oscillation in skeletal myofibrils at partial activation by Ca^{2+} .” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **366**, 233-238. (2008).
- 45) Gorbacheva, R. L., Storozhevskiy, T. P., Pinelis, V. G., Ishiwata, S., and Strukova, M. S. “Protease-activated receptor (PAR) I-mediated anti-apoptotic effect of activated protein C on glutamate excitotoxicity in hippocampal neurons.” *Thromb. Haemost.* 98, 1150-1152. (2007).
- 46) Shimamoto, Y., Kono, F., Suzuki, M., and Ishiwata, S. “Non-linear force-length relationship in the ADP-induced contraction of skeletal myofibrils.” *Biophys. J.* **93**, 4330-4341. (2007).

【国際会議への招待講演】

- 1) 石渡信一 「ナノとマクロが直結する生物運動系(Bio-motile system directly coupling “nano” and “macro”)」 ナノ学会第9回大会 (北大) 2011.6.2-4
- 2) Ishiwata, S. “Contractile system of muscle as an auto-oscillator: Coupling between Nano and Macro” 17th International Biophysics Congress (IBC), Beijing (China) Oct 30- Nov 3, 2011
- 3) Ishiwata, S. “Mechanochemistry of biomotile systems: From single molecules to supramolecular assemblies” The 1st KIAS Conference on Subcellular Dynamics (Korea) July 25-28, 2011
- 4) Ishiwata, S. “Heart is an organ in which macro and nano are directly coupled” Seminar at Boston Biomedical Research Institute, (Boston, USA) July 15, 2011
- 5) Ishiwata, S., Ohki, T., Kubota, H., Oguchi, Y., Shimamoto, T., and Mikhailenko, S. V. “Polymerization, strain and function of actin as a substrate for myosin motors.” The 4th Mechano-Biology Workshop, Singapore, Nov. 9-12, 2010
- 6) Ishiwata, S. “Hierarchical chemo-mechanical feedback loop in bio-motile systems” International Symposium on “Fifty years of biophysics research at Nagoya University” Nagoya University Japan, March 12-14, 2010.
- 7) Ishiwata, S., Oguchi, U., Mikhailenko, S. V., Suzuki, M., Sato, K., Ohtaki, M., Shimamoto, Y., Suzuki, K., Takagi, J., and Itabashi, T. “Self-organization in Biomotile Systems - Molecular motors, Auto-oscillation (SPOC) in muscle and Meiotic spindle –“1st POSTECH Workshop on Physics of Self-Organization in Bio/Nano-Systems, Pohang, S. Korea, January 27-29, 2010.
- 8) Ishiwata, S., Oguchi, Y., Uchimura, S., Muto, E., Suzuki, K., Takagi, J., Itabashi, T. “Mechanochemistry of Microtubule Systems: Single-Molecule Motors and Meiotic Spindle” The 3rd Mechanobiology Workshop, National University of Singapore, Singapore, November 3-5, 2009.
- 9) Ishiwata, S. “Dynamic Aspects of Actin Filament: Single-molecule Analysis” Maeda ERATO Workshop, Nagoya Nov. 23-24, 2008.
- 10) Ishiwata, S. “Single-molecule Mechanochemistry of Protein Motors and Cytoskeleton” The 5th International Conference on Advanced Materials and Devices, Ramada Plaza Jeju Hotel, Jeju(Korea) Dec. 12-14, 2007.
- 11) Ishiwata, S. “Single-molecular Mechanochemistry on Protein Motors” Taiwan-Japan Bilateral Symposium on Research and Education of Nanotechnology, National Cheng Kung University (Taiwan) Dec. 2-7, 2007.
- 12) Ishiwata, S. “Molecular Mechanism of Protein Motors” Handai Nanoscience and Nanotechnology International Symposium, Osaka University (Osaka) Sept. 26-28, 2007.
- 13) Ishiwata, S. “Single-molecule mechanochemistry of motor proteins” German Nanotechnology Forum 2007 (Tokyo) 2007.6.11

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

基盤研究（A）

課題名：細胞運動システムの階層的機能構築

期間：平成19年度－平成21年度

直接経費 40,100,000 円 間接経費 12,030,000 円 総額 52,130,000 円

振興調整費

課題名：階層別分子動態可視化のための先端技術開発

期間：平成20年度－平成22年度

直接経費 65,599,418 円 間接経費 19,679,825 円 総額 85,279,243 円

基盤研究（S）

課題名：生物運動の制御基盤；化学力学フィードバックループ

期間：平成22年度－平成26年度

直接経費 167,500,000 円 間接経費 50,250,000 円 総額 217,750,000 円

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

1) 微小管の上を1分子で歩行運動するキネシン分子モーター（二つの頭部をもつ）の結合破断力が、歩行する向きと、その逆向きに負荷を加えた場合とで異なることや、単頭結合と双頭結合で破断力がほぼ2倍異なること、さらに、キネシン分子が微小管に結合する際には、まず単頭で結合し、その後ある速度で双頭結合に移行すること、キネシン・微小管結合が平衡状態になったあとも、単頭結合と双頭結合とはある速度で行き来していること（Kawaguchi ら、2003）、そして著しい成果として、キネシンの場合には、ADP の結合能（結合定数）が負荷の方向に依存するという、力学酵素の本質を突く性質（Uemura & Ishiwata, 2003）などが、特別推進研究の過程で明らかになったが、それと同じ手法を、その後、アクチンフィラメント上を1分子で互いに逆向きに歩行運動するミオシン V と VI 分子モーターについて適用した（Oguchi ら、2008）。その結果、ADP 結合能の負荷方向依存性がミオシン V と VI とで逆になること（歩行モデルに合致）や、それまで知られていなかった新しい第三の状態を導入して初めて、全てのデータを説明できることなどが分かった。さらに、ミオシン V は、横方向の負荷に対して安定であること（Robust）など、1分子モーターにとって好都合な性質が備わっていることが判明した（Oguchi ら、2010）。さらに昨年、特別推進研究の過程で培った、光ピンセットによるビーズの操作技術や、遺伝子操作技術を組み合わせ、MCAK と呼ばれる微小管脱重合タンパク質が、実は力を発生する分子モーターであることを証明し、染色体分配機構に一石を投じることができた（Oguchi ら、2011）。

2) 横紋筋（骨格筋、心筋）収縮系を収縮と弛緩の中間活性化条件にすると、各サルコメアの長さが鋸波状に自発的に振動する SPOC と名付けた自励振動が生じる。特別推進研究の期間には、その振動条件の詳細な検討を行う一方、ネコ、ウサギ、イヌ、ブタ、ウシといった異なる心拍（静止心拍が1分あたり300から50）をもつ動物から調製し徐膜した筋線維（あるいは筋原線維）の SPOC 周期と SPOC 波の伝播速度を調べ、それが、各動物の静止心拍とほぼ比例関係にあること、すなわち強く相関することを見出した（Sasaki ら、2005, 2006）。その後、SPOC 機構に関するモデルを構築することができた（Sato ら、*Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2011）。モデルは、次の3つの性質を、それぞれ線形の偏微分方程式で表現したものである。I) ミオシン分子モーターとアクチンとの結合速度定数が、相互作用の距離に依存すること、II) 筋線維の長さ方向の力のつり合い（分子摩擦を考慮）、そして、III) 筋線維の幅方向の弾性的な力のつり合い（ミオシン・アクチン結合のクロスブリッジに由来する弾性と、サルコメアの弾性要素に依存する受動的な弾性のつり合い）。その結果、各サルコメア長の鋸波状の振動波形や、活性化条件と横方向の弾性率とに依存する2次元状態図（相図）を作ることに成功し、それが実験結果に合致すること、さらに、活性化条件を弱めたところに SPOC 波とは異なる“弱振動”が見られることを予言し、それが実験結果によって証明されることとなった。このように、ほとんど基本的な収縮・制御機構は判明したと思われる筋収縮系の特性について、特別推進研究による研究成果をもとに新しい局面を開拓できた。

3) 横紋筋の構造・機能単位であるサルコメアと、見かけの構造が似ているものとして、染色体分配装置（紡錘体）を取り上げ、そのマイクロ力学の研究を開始し、外力に対する構造安定性について新しい性質を明らかにした（Itabashi ら、2009）。また、カパルスによって細胞（HeLa）の染色体分配が、力の加える方向に依存して、加速されたり、減速されたりするという著しい性質を発見した（Itabashi ら、2012）。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

研究の客観的評価と、他のグループによる引用について：

我々の研究テーマ自体、テーマに関するアプローチの仕方、そして興味の持ち方が必ずしも時流に合ったものではないこともあって、論文の被引用数は爆発的に多いとは言えない。しかしそれは今後将来にわたって変わらないものではないと期待している。

1) Fujiwara 論文 (*Nat. Cell Biol.*, 2002)

アクチンフィラメントの重合・脱重合には ATP の加水分解が伴う。つまり単純な平衡論ではなく、ATP が ADP と無機リン酸 (Pi) に加水分解されるエネルギー消費過程と共役した非平衡過程である。従って、重合と脱重合の行き来が釣り合いに達したあとの、アクチンフィラメントとモノマーとの間の重合・脱重合の過程は単なる確率的なものではなく、方向性をもったものになりうる。つまり、平衡状態ではなく、定常状態となる。具体的には、構造的な方向性をもつアクチンフィラメントの一方の端 (B 端とよぶ) で重合が継続し、他方の端 (P 端とよぶ) ではそれと同じ速度での脱重合が継続するという“トレッドミル機構”が存在することが四半世紀前に理論的に予測され、溶液実験によって間接的に証拠づけられていた。本論文は、その非平衡過程が1本のフィラメント上で生じていることを、蛍光イメージング手法によって証明したものである。*Nature Cell Biol.* の発表号に、News and Views としてミニレビューが紹介され、表紙にも「Actin treadmilling」と紹介された。

この論文は筆頭著者藤原郁子の博士論文の主要部分をなすものだが、藤原はその後 Yale 大学に留学し、同じ手法を使って ADP や Pi の影響を調べ、*Proc Natl Acad Sci USA* に発表した。その論文も高い評価を得ている。

この論文は、その後 100 件近く引用されており、細胞骨格の主要因子であるアクチンフィラメントの重合機構の素過程を示したものとして、高く評価されている。

2) Uemura 論文 (*Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2004)

1 分子でアクチンフィラメントの上を歩行運動するミオシン V 分子モーターは、36 nm のステップで一方向に運動することが知られているが、本論文では、当時としては世界最高の高時間・高空間分解での顕微解析を行い、36 nm ステップが 12+24 nm の二つのサブステップからなっていること、BDM というアクトミオシン ATPase の阻害剤を加えると 24 nm のサブステップの発生が遅れ、12 nm のサブステップのあとの滞在時間が伸びることから、24 nm のサブステップは ADP の解離とそれに引き続く ATP の結合過程に対応していることが示唆された。しかも、サブステップを伴わない 36 nm ステップが有意に存在することから、各ステップ運動には 2 つのルートが存在するという、2 ルートメカニズムを初めて提唱した。

この論文は 80 件以上引用されており、1 分子歩行モーターの運動機構の理解に寄与するところが大きい。

3) Uemura 論文 (*Nat. Struct. Biol.*, 2003)

この論文は 60 件以上引用されているが、我々としては、分子モーターという力学酵素の本質を捉えた、非常に重要な成果だと自己評価している。キネシン分子に歩行方向に負荷を加えると、ADP の結合能が上昇し、逆方向に負荷を加えると低下することを示したものだが、外力によって分子歪を加えると酵素活性が変化するという意味で、分子モーター自ら分子内応力を発生することによって方向性の運動を生み出すという、分子モーターの運動機構の本質につながる発見だと自己評価する。ADP の結合能というのは、平衡状態での特性なので、計測の高時間分解能を必要とせず、モデルフリーの結果として、信頼性が高い。その意味で、引用数以上の価値のある成果であると自己評価している。

4) Sasaki 論文 (*J. Muscle Res. Cell Motil.*, 2005, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006)

これらの論文は、ラット、ウサギ、イヌ、ブタ、ウシの心臓から調製した徐膜心筋線維において、中間活性化条件で見られる SPOC 現象の振動周期や SPOC 波の伝播速度が、それぞれの動物の静止心拍と強く相関する（ほとんど比例関係にある）ことを示したものである。このことは、心拍はペースメーカー細胞が生み出す電気信号の周期によって決まっており、収縮系（筋線維）はそれに従って作動する受動的な運動装置であるという、筋生理学の常識に一石を投じるものである。もし、筋収縮系に固有の性質である SPOC 特性が心拍機構において何らかの役割を演じていることが分かれば、教科書が書き換えられることになるだろう。未だ被引用数は少ないが、今後状況が一変する可能性がある。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	"Direct observation of polymerization-depolymerization dynamics of single actin filaments." Fujiwara, I., Takahashi, S., Tadakuma, H., Funatsu, T. and Ishiwata, S. (2002). <i>Nature Cell Biol.</i> 4 , 666-673.	1本のアクチンフィラメントを蛍光像として直視し、フィラメントの両端での重合・脱重合のダイナミクスを定量的に解析したもので、1) 定常状態に達したあとで、フィラメントの全長はほぼ一定に保たれつつ、一方の端（B端）では重合成長が継続し、他方（P端）では脱重合が生じるという“トレッドミル”機構を実証し、2) 重合・脱重合が確率的に生じていることを定量的に示すことに成功した。	90
2	"Mechanochemical coupling of two substeps in a single myosin V motor." Uemura, S., Higuchi, H., Olivares, A.O., De La Cruz, E.M. and Ishiwata, S. (2004). <i>Nature Struct. Mol. Biol.</i> 11 , 877-883	一分子でアクチンフィラメントの上を歩行運動できるミオシンVモーターのステップ運動を、当時としては最高速度、最高空間分解能で計測し、36 nmのステップが12+24 nmのサブステップに分解できること、ミオシンATPaseの阻害剤を添加すると、12 nmサブステップ後の滞在時間が大幅に長くなることなどを発見し、新しい運動モデルを提案した。	84
3	"Loading direction regulates the affinity of ADP for kinesin" Uemura, S. and Ishiwata, S. (2003). <i>Nature Struct Biol.</i> 4 , 308-311	微小管に結合しているキネシンのADP結合能が、外力の向きによって異なるという、化学酵素として持つべき化学・力学共役の特徴を1分子力学操作によって初めて明らかにした。	61
4	"Myosin V is a left-handed spiral motor on the right-handed actin helix." M. Yusuf Ali, Uemura, S., Adachi, K., Itoh, H., Kinoshita, Jr., K. and Ishiwata, S. (2002). <i>Nature Struct. Biol.</i> 9 , 464-467.	アクチンフィラメントの上を1分子で歩く分子モーターであるミオシンVが、左巻の超らせんを辿って運動することを証明した。	62
5	"A new muscle contractile system composed of a thick filament lattice and a single actin filament." Suzuki, M., Fujita, H. and Ishiwata, S. (2005). <i>Biophys. J.</i> 89 (1), 321-8.	横紋筋のサルコメアを構成する太いフィラメントの束（A帯）の端に、直径1 μmの一本のアクチンフィラメントを光ピンセットによって操作して挿入し、発生力が分子モーターの数揺らぎによって変動することを明らかにした。“Nano-muscle”と命名。	9
6	"Equilibrium and transition between single- and double-headed binding of kinesin as revealed by single-molecule mechanics" Kawaguchi, K., Uemura, S., and Ishiwata, S. (2003). <i>Biophys. J.</i> 84 , 1103-1113.	微小管へのキネシン分子モーターの結合が、単頭結合と双頭結合の2種類あること、結合する際に単頭結合から双頭結合への転移があること、そして、ある時定数で単頭結合と双頭結合との間の行き来があることを証明した。	28
7	"Auto-oscillations of skinned myocardium correlating with heartbeat." Sasaki, D., Fujita, H., Fukuda, N., Kurihara, S. and Ishiwata, S. (2005). <i>J. Muscle Res. Cell Motil.</i> 26 , 93-101	各種動物（ラット、ウサギ、イヌ、ブタ、ウシ）から調製した除膜心筋線維について、Ca非存在下、ATPに過剰のADPと無機リン酸を加えて得られる中間活性化条件で発生する自励振動（SPOC）の周期やSPOC波伝播速度が、静止心拍と強く関連することを示し、SPOCの生理的役割が示唆された。	15
8	"Identification of a strong binding site for kinesin on the microtubule using mutant analysis of tubulin." Uchimura, S., Oguchi, Y., Katsuki, M., Usui, T., Osada, H., Nikawa, J., Ishiwata, S. and Muto, E. (2006). <i>EMBO J.</i> 25 , 5932-5941.	微小管を構成するチューブリン分子にアミノ酸変異を導入することに成功し、キネシン分子モーターの結合部位（とくに強結合に関わる部位）を同定した。	13
9	"GroEL mediates protein folding with a two successive timer mechanism." Ueno, T., Taguchi, H., Tadakuma, H., Yoshida, M. and Funatsu, T. (2004). <i>Molecular Cell</i> , 14 , 423-434.	シャペロニンの反応サイクルに2つの律速過程があり、1つめは変性タンパク質をシャペロニンの空洞に落とし込む過程、2つめは空洞内部で変性タンパク質を折り畳む過程に相当するというモデルを提唱した。	53
10	"On-chip cell sorting system using laser-induced heating of a thermo-reversible gelation polymer to control flow." Shirasaki, Y., Tanaka, J., Makazu, H., Tashiro, K., Shoji, S., Tsukita, S. and Funatsu, T. (2006). <i>Anal. Chem.</i> 78 , 695-701.	生体試料をマイクロチップの流路に流し、蛍光標識した生体分子を温度感受性ゲルを用いて分離・回収する技術を開発した。	47

【研究期間終了後に発表した論文】			
No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	"The bidirectional depolymerizer MCAK generates force by disassembling both microtubule ends." Oguchi, Y., Uchimura, S., Ohki, T., Mikhailenko, S. V. and Ishiwata, S. (2011) <i>Nature Cell Biol.</i> 13 , 846-852	MCAK は微小管の両端に結合して脱重合を誘起するタンパク質であることが知られていたが、1分子あたり約 1 pN の力を発生する分子モーターであることを明らかにした。このことで、MCAK が染色体分配に関与する分子モーターである可能性が出てきた。	5
2	"Load-dependent ADP binding to myosins V and VI: Implications for subunit coordination and function." Oguchi, Y., Mikhailenko, S. V., Ohki, T., Olivares, A. O., De La Cruz, E. M. and Ishiwata, S. (2008). <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</i> 105 , 7714-7719.	アクチンフィラメントの上を歩く分子モーターで、互いに逆向きに歩くミオシン V と VI の ADP 結合能が、負荷の向きによって異なること、しかも、V と VI とでは ADP 結合能の負荷方向依存性が逆になることを示した。	32
3	"Disuse-induced Preferential Loss of the Giant Protein Titin Depresses Muscle Performance via Abnormal Sarcomeric Organization." Udaka, J., Ohmori, S., Terui, T., Ohtsuki, I., Ishiwata, S., Kurihara, S. and Fukuda, N. (2008). <i>J. Gen. Physiol.</i> 131 , 33-41.	ラットの後ろ足を 6 週間固定した影響を、ヒラメ筋のサルコメアの構造と機能の両面から詳細に調べた。その結果、巨大弾性タンパク質タイチンが顕著に減少し、太いフィラメントがわずかに短くなるといった変化がみられることが分かった。	22
4	"Microscopic detection of thermogenesis in a single HeLa cell." Suzuki, M., Tseeb, V., Oyama, K. and Ishiwata, S. (2007). <i>Biophys. J.</i> 92 , L46-L48.	一個の HeLa 細胞の温度を顕微鏡下で計測できるマイクロ温度計を作成し、細胞に接触させて温度を計測。イオノマイシンの添加に伴って 1°C の温度上昇が見られることを発見した。	16
5	"Non-linear force-length relationship in the ADP-induced contraction of skeletal myofibrils." Shimamoto, Y., Kono, F., Suzuki, M. and Ishiwata, S. (2007). <i>Biophys. J.</i> 93 , 4330-4341.	1 本の骨格筋筋原線維を一对のガラス微小針によって両端固定し、柔らかい方の微小針の曲げを定量することで発生力を測定。Ca 非存在、ATP に過剰の ADP を共存させることによって発生する張力が、非線形的な張力-筋節長関係という異常な性質を示すことを発見。さらに自励振動する新しい条件も発見。	18
6	"Mechanical distortion of single actin filaments induced by external force: Detection by fluorescence imaging." Shimozawa, T. and Ishiwata, S. (2009). <i>Biophys. J.</i> 96 , 1036-1044.	1 本のアクチンフィラメントの両端に結合した直径 1 μm のビーズを光ピンセットで捕捉・操作することで、フィラメントに 20 pN ほどの引張り負荷を加えたところ、アクチン分子の Cys374 残基付近の構造が歪み、アクチンモノマー型になることを発見した。	7
7	"Probing the mechanical architecture of the vertebrate meiotic spindle." Itabashi, T., Takagi, J., Shimamoto, Y., Onoe, H., Kuwana, K., Shimoyama, I., Gaetz, J., Kapoor, T. M. and Ishiwata, S. (2009). <i>Nature Methods.</i> 6 (2), 167-172.	アフリカツメガエル卵の抽出液中に自己組織形成された紡錘体（染色体分配装置）のマイクロ力学を、一对の板状カンチレバーを活用して研究。その粘弾性的性質を明らかにするとともに、圧縮に対して自動的に対応して小さな紡錘体が自発的に再編成されることを発見した。	14
8	"Highly thermosensitive Ca ²⁺ dynamics in a HeLa cell through IP3 receptors." Tseeb, V., Suzuki, M., Oyama, K., Iwai, K. and Ishiwata, S. (2009). <i>HFSP J.</i> 3 , 117-123.	HeLa 細胞に局所的な熱パルス（幅 1 秒程度、温度上昇 0.1-数°C）を加えたところ、細胞質中の Ca イオンは、温度が高い状態では ER に取り込まれるが、温度低下に伴って、大量に放出され（Ca-burst）、その後振動することを発見。これが SERCA と IP3 受容体の温度特性に帰着することを証明した。	6
9	"Inter-sarcomere coordination in muscle revealed through individual sarcomere response to quick stretch." Shimamoto, Y., Suzuki, M., Mikhailenko, S. V., Yasuda, K. and Ishiwata, S. (2009). <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</i> 106 , 11954-11959	1 本の骨格筋筋原線維を Ca 非存在下、ATP に過剰の ADP を共存させることで活性化した状態で、一对のガラス微小針を操作してカパルスを与えることによって得られる、サルコメアの応答性を解析。近接サルコメア間に応答の協同性があることを発見。	10
10	"Robust processivity of myosin V under off-axis loads." Oguchi, Y., Mikhailenko, S. V., Ohki, T., Olivares, A. O., De La Cruz, E. M. and Ishiwata, S. (2010). <i>Nature Chem. Biol.</i> 6 (4): 300-305	アクチンフィラメントの上を 1 分子で歩行運動するミオシン V 分子モーターに、1 pN 程度の横方向の負荷を加えたところ、歩行自体はほとんど影響を受けずに歩行し続けることを見出した。歩行運動の各ステップの負荷依存性を解析し、未知のパラメータ情報を得た。	8

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

目立った研究成果の幾つかは、早稲田大学と共同研究先の広報を通じてプレスリリースするように心がけた。その結果、以下のような新聞報道やインターネットによる広報がなされた。全ての成果は、細胞分裂、染色体分配、紡錘体構造、細胞状態のナノ計測といった、基礎生物科学としての成果であり、具体的な社会への還元に至るまでは時間がかかると思われる。

【新聞掲載】（研究代表者のみ）

- 1) 早大、外力で細胞分裂を制御－細胞分裂に張力は必要か否かの議論に終止符
毎ナビニュース 2012年4月17日
- 2) 「細胞分裂、力で制御可能＝再生医療に応用期待＝早大など」
時事通信 2012年4月17日
- 3) 「外部から張力・圧縮加え 細胞分裂を制御」
日刊工業新聞 2012年4月17日
- 4) 「細胞内を歩く「ナノ温度計」開発／ミクロンサイズの細胞内小器官内部の温度変化／早大が世界で初めて測定」
科学新聞 2012年3月23日掲載
- 5) 「染色体分配／たんぱく質が糸短く／早大、「引っ張る力」解明」
日経産業新聞 2011年度6月28日掲載
- 6) 「染色体分配の分子メカニズム／解明につながる新知見」
科学新聞 2011年6月3日掲載
- 7) 「染色体分配の原動力解明」
静岡新聞 2011年5月30日掲載
- 8) 「WABIOS 1周年記念シンポジウムの様子と研究発表内容に関して」シンガポール時事速報 2010年9月16日
- 9) 「神経内輸送／横方向の力に強く／早大、機能の一端を解明」
日経産業新聞 2010年3月17日掲載
- 10) 「早稲田大、東京大など共同／MEMS カセンサーと蛍光顕微鏡で」
科学新聞 2009年1月23日掲載
- 11) 「染色体分配装置は頑丈 早大チームが分析、外圧受けても修復」
秋田魁新報 2009年2月17日掲載
- 12) 「早大と東大、染色体分配の力学特性を計測する新手法開発」
日刊工業新聞 2009年2月12日掲載
- 13) 「細胞分裂時に染色体を分配／紡錘体は頑丈で柔軟／早大チーム解明」
河北新報 2009年2月11日掲載
- 14) 「紡錘体は頑丈で柔軟 早稲田大・石渡教授らのチーム 染色体分配解明に弾み」
岩手日報 2009年2月9日掲載
- 15) 「細胞分裂装置”紡錘体” /世界初 力学特性を明らかに」
科学新聞 2009年1月23日掲載
- 16) 「細胞分裂で働く力測定／早大など新手法／微小センサー活用」
日経産業新聞 2009年1月20日掲載

【実用化など】

Kamei et al. (*Nat. Methods* 6: 79-81 (2009)) で開発した顕微鏡が、シグマ光機(株)によって製品化された。この装置は細胞系譜や神経発生の研究者などに利用されている。

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

藤原郁子（2003年3月博士号取得）日本学術振興会特別研究員（DC2）を経て、Yale大学（Tom Pollard 研）に博士研究員として留学、その後、NIHの研究員となり（現在）に至る。

鈴木団（2002年4月～2005年3月：早稲田大学物理学科助手、2005年3月博士号取得）

早稲田 ASMeW の研究員になり、MBA を取得後、早稲田大学が独力でシンガポールに設立した研究所 (WABIOS) の常勤の主任研究員として、細胞機能への熱パルス法、温度分布イメージングを主テーマに研究を継続中。
（現在）早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所主任研究員（兼：早稲田大学研究院准教授）

下澤東吾（現在）学習院大学・理学部・物理学科・博士研究員

島本勇太（2008年博士号取得後、早稲田大学物理学科助手）（現在）Rockefeller 大学・博士研究員

留学してから3年を経過して、昨年 Cell 誌に、アフリカツメガエル卵抽出液中で自動的に形成される紡錘体の内部におけるマイクロ粘弾性を解明。染色体の移動運動の力バランスを明らかにした。

Sergey V. Mikhailenko 特別推進研究や 21COE（“多元要素からなる自己組織系の物理”（物理系：石渡信一代表）の博士研究員などを経て、（現在）早稲田大学・理工学術院・G30 担当助教

大木高志（2006年秋～2007年3月）特別推進研究博士研究員

（現在）早稲田大学・理工学術院・客員講師

上村想太郎（2001年9月博士課程1年入学、2004年3月博士号取得）

博士号取得後、Stanford 大の Steven Chu 教授（ノーベル物理学賞受賞者、現在、アメリカエネルギー庁長官）研究室の博士研究員になり、2年間かけて独力で組み上げた1分子操作・解析用顕微鏡を活用して、リボソーム上での mRNA によるタンパク質合成、遺伝子コードが如何にタンパク質のアミノ酸配列へと翻訳されるのか、その分子機構に踏み込んだ研究を行い、Nature 誌上に発表。その後、一旦日本に帰国し、東大の助手として勤務したが、その間 JST の“さきがけ”研究に採択されたのを機会に助手を辞し、再度アメリカに戻り、Nature の Article に結びつく著しい成果を上げた。その結果、横浜理研のユニットリーダーとして迎えられ、若手研究者として世界をリードする研究を進めている。

2006年9月～2007年3月 東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室助手

（現在）理化学研究所 横浜研究所オミックス基盤研究領域 LSA システム構築グループ ゲノム解析技術展開ユニット ユニットリーダー

東條正（2002年開始時～2003年3月）

早稲田大学理工学総合研究センター・客員研究員

（現在）日本大学文理学部物理生命システム科学科・助教

多田隈尚史（2002年開始時～2003年9月）

早稲田大学理工学部物理学科・助手

（現在）東京大学大学院新領域創成科学研究科・助教

座古保（2002年開始時～2003年9月）

早稲田大学理工学総合研究センター・客員研究員

（現在）理化学研究所 基幹研究所 前田バイオ工学研究室 専任研究員

上野太郎（2002年開始時～2007年3月）

早稲田大学大学院理工学研究科・博士後期課程学生

（現在）東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室・特任研究員

白崎善隆（2002年開始時～2007年3月）

早稲田大学大学院理工学研究科・博士後期課程学生

（現在）理化学研究所横浜研究所 免疫アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノミクス研究グループ
基礎科学特別研究員

山岸舞（2003年9月～2007年3月）

早稲田大学理工学総合研究センター・客員研究員

（現在）理化学研究所横浜研究所 免疫アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノミクス研究グループ
リサーチアソシエイト

角田誠（2004年3月～2007年3月）

東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室・助手

（現在）東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室・講師

岡部弘基（2004年3月～2007年3月）

東京大学大学院薬学系研究科・博士後期課程学生

（現在）東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室・助教

飯塚怜（2006年4月～2007年3月）

日本学術振興会特別研究員 PD

（現在）東京大学大学院薬学系研究科生体分析化学教室・助教