

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 25 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に、新しい光学顕微鏡システムを構築する。当該年度では、これまでに開発した技術を実際の生体分子に応用して最終的なデータを取得し、学会発表および論文発表という形で発信する。対象となる生体分子の候補は以下の5点である。①世界最小の回転分子モーターである F_1 -ATPase。②最小のゲノムを持つ生物であるマイコプラズマの中で、最も滑走速度が速い *Mycoplasma mobile*。③細胞内小胞輸送を担う kinesin-微小管系。④マウスの気道上皮細胞の繊毛。⑤未知の滑走メカニズムを持つバクテリア。

2. 研究の実施状況

光学顕微鏡下における粒子の高精度3次元トラッキングについて、研究目的で掲げた全ての生物試料において実際に測定に成功した。得られた新しい成果については、平成 25 年度のみで合計 41 件の学会発表(海外における発表 6 件、1 件のポスター賞を含む)を行うことができ、研究スタッフが4名の研究グループとしては画期的な成果を上げることができたと考えている。中でも①と④においては、ナノマニピュレーションによる力測定に成功し、本研究課題で開発した装置の有用性を当該分野の研究者に広く認めてもらうことができた。⑤については、未知のメカニズムで運動するフラボバクテリウム・ジョンソニエ (*Flavobacterium johnsoniae*)に注目し、細胞表面に突出した接着蛋白質のらせん上の流れの直接検出に成功し、これも新しい切り口として複数の学会発表を行い、次の研究課題としてつながっている。

最もめざましい成果として、②の試料である *Mycoplasma mobile* について、学術誌である米アカデミー紀要 (*Proceedings of National Academy of Science USA*) の原著論文としての発表が決定した。マイコプラズマは宿主に接着して病原となるが、その際に、表面を滑るように動く「滑走運動」が感染に重要だということが分かっている。この滑走運動のメカニズムは、分子レベルにおいてまったく分かっていなかったが、本課題において開発された高精度の光学顕微鏡を用い、人間が歩くように、決まった距離を一歩一歩刻みながら前進するという運動様式を明らかにした。バクテリアが決まった歩幅で進むことを観察したのは世界で初めてのことである。バクテリアの感染の仕組みについても深い関わりがある知見であるため、医療への波及効果も期待される。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件 1. 西坂崇之, 藤村章子, 加藤孝信, 矢島潤一郎, 細胞骨格の in vitro での運動を三次元的に追跡する, <i>生体の科学</i>, 2013. 64 (6): p. 558-563. (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件 2. Kinoshita, Y, D. Nakane, M. Sugawa, T. Masaike, K. Mizutani, M. Miyata, T. Nishizaka, Unitary Step of Gliding Machinery in <i>Mycoplasma mobile</i>, <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i>, in press.</p>
<p>会議発表 計 41 件</p>	<p>専門家向け 計 41 件 1. 須河光弘, 政池知子, 山口真, 柴田桂太郎, 豊島陽子, 矢島潤一郎, 神隆, 西坂崇之, Development of circular orientation fluorescenceemitter imaging (COFEI), in 日本顕微鏡学会第69回学術講演, ホテル阪急エキスポパーク, 2013/5/20~22, 公益社団法人日本顕微鏡学会. 2. 西坂崇之, 須河光弘, 木下佳昭, 政池知子, Intuitive but quantitative approach to image singlecells and molecules, in 日本顕微鏡学会第69回学術講演会, ホテル阪急エキスポパーク, 2013/5/20~22, 公益社団法人日本顕微鏡学会. 3. 木下佳昭, 中根大介, 政池知子, 水谷加奈, 宮田真人, 西坂崇之, Unitary Step of Gliding Machinery in <i>Mycoplasma mobile</i>, in 日本マイコプラズマ学会第40回学術集会, 秋葉原UDX GALLERY, 2013/05/23~24, 日本マイコプラズマ学会. 4. 内藤達也, 岡田薫, 政池知子, 西坂崇之, Measurement of lifetime of the bond between the shaft and the cylinder in single F1-ATPase, in The 8th Asian Biophysical Association (ABA) Symposium, Ramada Plaza Jeju Hotel, 2013/05/26~29, Asian Biophysics Association (ABA) Korean Biophysical Society. 5. 藤村章子, 大和田伸介, 西坂崇之, 矢島潤一郎, Three-dimensional corkscrewing motion of a microtubule driven by single-headed kinesins with mutations in the N terminal region, in The 8th Asian Biophysical Association (ABA) Symposium, Ramada Plaza Jeju Hotel, 2013/05/26~29, Asian Biophysics Association (ABA) Korean Biophysical Society. 6. 西坂崇之, D. Kim, 須河光弘, 政池知子, Imaging of Function and Orientation of Single Motor Proteins Under Advanced Optical Microscopy, in The 8th Asian Biophysical Association (ABA) Symposium, Ramada Plaza Jeju Hotel, 2013/05/26~29, Asian Biophysics Association (ABA) Korean Biophysical Society. 7. 加藤孝信, 岩瀬寿仁, 瀬藤光利, 池上浩司, 西坂崇之, 政池知子, マウス気管繊毛の3次元運動</p>

	<p>解析と力測定, in 新学術研究領域「シリア・中心体による生体情報フローの制御」第2回領域会議プログラム, ルブラ王山(名古屋), 2013/6/17~18, 日本生物物理学会.</p> <p>8. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, マイコプラズマモービレのあしとシアル酸の結合様式はヌクレオチド状態によって変化する, in 新学術領域研究「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性」第一回全体会議, 名古屋大学 東山キャンパス ES総合館, 2013/06/28~30, 平成24年度文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性」.</p> <p>9. 中根大介, 佐藤啓子, M. J. McBride, 中山浩次, 西坂崇之, 戦車のような仕組みで動くバクテリア, in 第7回細菌学若手コロッセウム, 広島エアポートホテル, 2013/08/04~9, 細菌学若手コロッセウム.</p> <p>10. 西坂崇之, 中根大介, Single-Molecule Imaging of Protein Conformations under Advanced Optical Microscopes, in Protein Dynamics, Telluride Science Research Center, Telluride CO, 2013/08/05~9, Telluride Science Research Center .</p> <p>11. 政池知子, 池上浩司, 瀬藤光利, 鈴木裕, 西坂崇之, 蛋白質1分子の構造変化と化学反応を可視化する, in 2013年度 若手イメージング研究会, 東京理科大学, 9/07~8, 東京理科大学総合研究機構イメージングフロンティア研究部門.</p> <p>12. 政池知子, 西坂崇之, 蛋白質の動きとはたらきを直接見て調べる, in 第22回 日本バイオイメーjing学会学術集会・公開講座, 東京大学薬学部講堂, 2013/09/14~16, 日本バイオイメーjing学会.</p> <p>13. 加藤孝信, 岩瀬寿仁, 政池知子, 池上浩司, 瀬藤光利, 西坂崇之, Three-dimensional motion of an isolated murine tracheal cilium under load, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>14. 三上渚, 政池知子, 須川光弘, 西坂崇之, Advanced TIRF microscopy to detect single-molecule conformational changes in both azimuth and axial axis using polarization switching, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>15. 小高祥子, 中根大介, 西坂崇之, Three-dimensional tracking of tank-like motility apparatus of the gliding bacterium, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>16. 須河光弘, 小林大, 松井貴志, 政池知子, Analysis of the ATP-waiting form of F1-ATPase by</p>
--	--

	<p>single-pair FRET measurement, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>17. 中根大介, 佐藤啓子, 和田浩史, M. Mark, 中山浩次, 西坂崇之, Bacterium moves like a tank, in 第51回日本生物物理学会年会 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>18. 政池知子, 池上浩司, 瀬藤光利, 鈴木裕, 西坂崇之, 1個から数個の分子が引き起こす運動と酵素反応のイメージング, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>19. 藤村章子, 大和田慎介, 西坂崇之, 矢島潤一郎, Three-dimensional corkscrewing motion of a microtubule driven by single-headed kinesins with mutations in the N-terminal region, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>20. 内藤達也, 岡田薫, 政池知子, 西坂崇之, Measurement of lifetime of the bond between the shaft and the cylinder in single F1-ATPase, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>21. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, Nucleotide-dependent interaction between legs of <i>Mycoplasma mobile</i> and sialyllactose, in 第51回日本生物物理学会年会, 国立京都国際会館, 2013/10/28~30, 日本生物物理学会.</p> <p>22. 政池知子, 鈴木裕, 西坂崇之, プローブの向きと位置から蛋白質の局所構造変化を検出する, in 日本顕微鏡学会第57回シンポジウム, 愛知県産業労働センター, 2013/11/15~16, 公益社団法人日本顕微鏡学会.</p> <p>23. 中根大介, 西坂崇之, 戦車のような仕組みで動くバクテリア, in 第29回日本微生物生態学会大会, 鹿児島大学郡元キャンパス, 2013/11/24~25, 日本微生物生態学会.</p> <p>24. 下澤東吾, 橋本優, 井合健太郎, 宗行英朗, 政池知子, 西坂崇之, 回転軸をねじったF1-ATPase 変異体の回転特性解析, in 日本生体エネルギー研究会 第39回討論会, 静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2013/12/11~13, 第39回日本生体エネルギー研究会.</p> <p>25. 内藤達也, 岡田薫, 政池知子, 西坂崇之, F1-ATPaseの軸とシリンダーの結合寿命の測定, in 日本生体エネルギー研究会 第39回討論会 静岡県コンベンションアーツセンター グランシップ, 2013/12/11~13, 第39回日本生体エネルギー研究会.</p> <p>26. 下澤東吾, 橋本優, 井合健太郎, 宗行英朗, 政池知子, 西坂崇之, 回転軸をねじったF1-ATPase 変異体の回転特性解析, in 日本生体エネルギー研究会第39回討論会, 静岡大学, 2013/12/18~</p>
--	---

20. 日本生体エネルギー研究会.
27. 内藤達也, 岡田薫, 政池知子, 西坂崇之, F1-ATPaseの軸とシリンダーの結合寿命の測定, in 日本生体エネルギー研究会第39回討論会, 静岡大学, 2013/12/18~20, 日本生体エネルギー研究会.
28. 加藤孝信, 岩瀬寿仁, 政池知子, 池上浩司, 瀬藤光利, 西坂崇之, 負荷をかけた状態での単離マウス気管上皮シリアの三次元運動, in 生体運動研究合同班・2014年班会議, 千葉大学西千葉キャンパス, 2014/01/10~12, 生体運動合同班.
29. 小高祥子, 中根大介, 西坂崇之, 滑走するバクテリアがつくる巨大渦パターン, in 生体運動研究合同班・2014年班会議, 千葉大学西千葉キャンパス, 2014/01/10~12, 生体運動合同班.
30. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, 光ピンセットで明らかになったマイコプラズマモービレ滑走運動の化学力学共役, in 生体運動研究合同班・2014年班会議, 千葉大学西千葉キャンパス, 2014/01/10~12, 生体運動合同班.
31. 須河光弘, 小林大, 松井貴志, 政池知子, 西坂崇之, CONFORMATIONAL CHANGES IN THE β SUBUNITS OF F1-ATPase REVEALED BY FRET MEASUREMENTS DURING ROTATION OF THE γ SUBUNIT, in Biophysical Society Annual Meeting 2014, San Francisco, California, 2014/02/15~19, Biophysical Society.
32. 西坂崇之, 中根大介, Single-molecule imaging of protein conformations under advanced optical microscopes, in 1st International Conference on Nano-Bio-Medicine Convergence (NBMC-2014), Pusan Nat'l University, 2014/02/24~25.
33. 中根大介, 小高祥子, 西坂崇之, Large-scale vortex lattice emerging from gliding bacteria 滑走するバクテリアがつくる巨大渦パターン, in 第19回 べん毛研究交流会, 広島県民文化センター(鯉城会館), 2014/03/01~03, べん毛研究交流会.
34. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, Unitary step and nucleotide-dependent binding change of gliding machinery in *Mycoplasma mobile*, in 第19回 べん毛研究交流会, 広島県民文化センター(鯉城会館), 2014/03/01~03, べん毛研究交流会.
35. 小高祥子, 中根大介, 西坂崇之, バクテリアの集団運動による巨大渦パターン形成, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.
36. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, 最先端の光学顕微鏡技術で明らかになるマイコプラズマモービレの滑走メカニズム, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホ

様式19 別紙1

	<p>ール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.</p> <p>37. 中根大介, 佐藤啓子, 中山浩次, 西坂崇之, 戦車のような仕組みで動くバクテリア, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.</p> <p>38. 久留島潤, 林幾江, 中根大介, 西坂崇之, 菅井基行, 富田治芳, 腸球菌バクテリオシンBac41による殺菌メカニズムの解析, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.</p> <p>39. 田中晃弘, 中根大介, 西坂崇之, 宮田真人, 滑走細菌Mycoplasma mobileの”あし”の結合の方向性, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.</p> <p>40. 木下佳昭, 中根大介, 宮田真人, 西坂崇之, 最先端の光学顕微鏡技術で明らかになるマイコプラズマモービルの滑走メカニズム, in 第87回日本細菌学会総会, 東京都江戸川区船堀・タワーホール船堀, 2014/03/26~28, 日本細菌学会.</p> <p>41. 中根大介, 小高祥子, 佐藤啓子, 和田浩史, M. Mark, 中山浩次, 西坂崇之, Bacterium moves like a tank, in 日本農芸化学会 2014年度大会, 明治大学生田キャンパス, 2014/03/27~30, 日本農芸化学会.</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計2件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計2件</p> <p>立体視表示方法及び観測装置, 西坂崇之, 学校法人 学習院, 特願 2014-023749(出願番号), 2014/2/10, 国内</p> <p>顕微鏡観察方法及び装置, 西坂崇之, 三上渚, 学校法人 学習院, 特願 2014-074162(出願番号), 2014/3/31, 国内</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>Web サイトの名称:「Nishizaka.lab」</p> <p>Web ページの題名:「独自の光学顕微鏡技術を用いて生物物理学の課題に挑む」</p> <p>URL http://www.gakushuin.ac.jp/univ/sci/phys/nishizaka/lab/index.html</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>オープンキャンパス、8月3日、4日、10月25日、学習院大学、学習院大学受験希望者、30名程度、研究室での研究内容、成果の紹介</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計1件</p>	<p>『学習院大学 研究力』(日経 BP 社ムック)2014年3月31日、P64~67、「光学顕微鏡を独自開発し分子モーターの仕組みを解明」</p>

様式19 別紙1

その他	該当なし.
-----	-------

4. その他特記事項 該当なし.

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

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	100,770,000	29,230,000	0	
間接経費	39,000,000	30,231,000	8,769,000	0	
合計	169,000,000	131,001,000	37,999,000	0	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	29,066	29,230,000	0	29,259,066	29,229,465	29,601	0
間接経費	0	8,769,000	0	8,769,000	8,769,000	0	0
合計	29,066	37,999,000	0	38,028,066	37,998,465	29,601	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	16,107,577	倒立型顕微鏡、デジタルCMOSカメラ、試薬等
旅費	1,296,336	研究成果発表旅費(日本顕微鏡学会)等
謝金・人件費等	11,686,352	研究員人件費、アルバイト人件費
その他	139,200	学会参加費、英文校正料
直接経費計	29,229,465	
間接経費計	8,769,000	
合計	37,998,465	

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
EYELA/低温恒 温器	LTI-700E	1	635,250	635,250	2013/11/5	学習院大学
倒立方顕微鏡	IX83P2ZF	1	1,932,525	1,932,525	2014/2/25	学習院大学
デジタルCMOSカメ ラ	ZYLA-4.2-CL10- P	1	1,275,750	1,275,750	2014/3/10	学習院大学
デジタルCCDカメラ	DU-897E-CS0- BV3	1	2,417,625	2,417,625	2014/3/11	学習院大学