

領域略称名：少数性生物学
領域番号：3306

平成25年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「少数性生物学一個と多数の狭間が織りなす生命現象の探求一」

(領域設定期間)

平成23年度～平成27年度

平成25年 6月

領域代表者

大阪大学・産業科学研究所・教授・永井健治

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	3
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	5
3. 研究の進展状況	8
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	12
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	13
6. 総括班評価者による評価	14
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	16
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）	19
9. 今後の研究領域の推進方策	24
10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画	26

1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を発展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

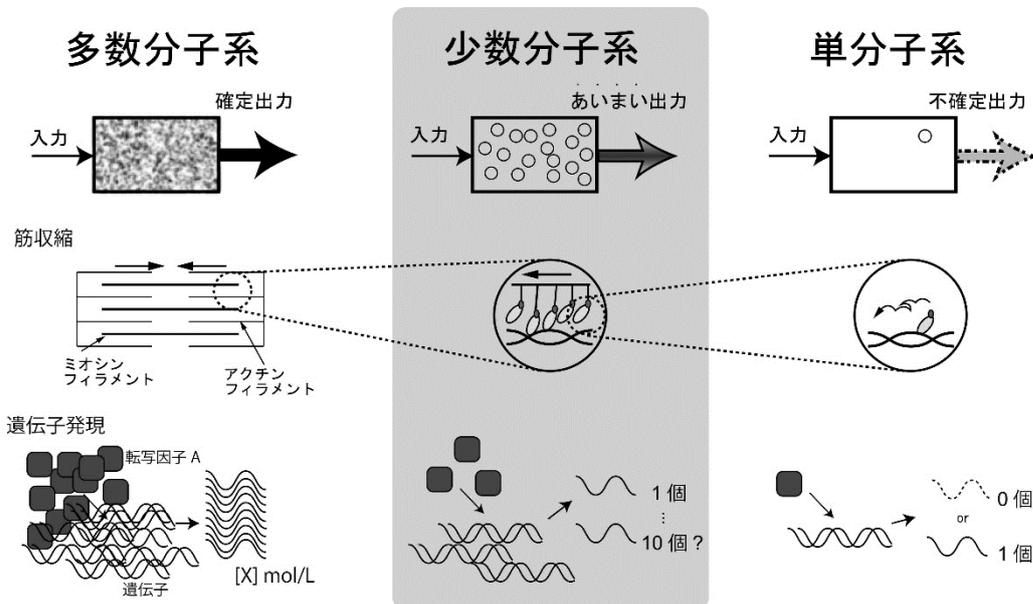
<領域の研究目的>

生命現象の本質の一つとして、“**数個から数10個程度**”の少数の要素分子から構成されるナノシステムが“**協働的**”に動作することが挙げられる(small number issue)。例えば、筋収縮において複数のアクチンとミオシンが協働して滑りが起きることなどがこれに該当する。これまでアクチン-ミオシンを含め“単分子”の素過程を観察した例は数多く報告されているものの、“少数分子間”で生まれる協働性の素過程を生きた細胞内において解析した報告は“皆無”であり、少数の要素分子が如何にして**極めて高い協働性**を生み出すのかについては全く分かっていない。少数分子が協働的に反応することで、出力の安定化に寄与する一方、分子の少数性に起因する不安定な出力も起こり得る。この反応の曖昧さが、ひいては、階層を越えたマクロな生命システムの動作安定性と一部の動作不安定性に結びつく可能性があり、生命の動作原理を理解する上で、極めて重要な観点といえよう。しかしながら、細胞内における少数の分子反応を扱う理論が未整備であったことに加え、少数分子の細胞内挙動を操作し計測する技術も無かったため、これまでほとんどアプローチされてこなかった。そこで本研究領域では、このような少数分子からなる生体システムを実験に供し、理論を構築するために以下の研究を展開する。

A01 分子数の計測と制御を可能にする基盤技術開発研究

A02 モデル生命現象に A01 で開発した技術で切り込む解析研究

A03 A02 で得られたデータをもとに、1分子系と多分子系のギャップを埋める少数分子系理論の構築、ならびにその理論を再構成系で検証する研究



<学術的背景・問題点>

分子生物学の進展により、様々な生命現象に関わる遺伝子が同定され、遺伝子産物(タンパク質)が形成する分子ネットワークがプロテオーム解析により網羅されつつある。また、タンパク質間の相互作用や酵素活性の強さなどは、生化学的解析により解離定数(K_d)やミカエリス定数(K_m)などの濃度のパラメータで“**確定的**”に表記され、それらのパラメータを分子ネットワーク内にインプットすることで、コンピュータ上に分子ネットワークが動作する様子を疑似計算できるようになってきた。

一方、生命現象を分子論的に理解するためには、生化学のような大多数分子の集合体(アンサンブル)の振る舞

いではなく、現象の素過程である個々の分子の振る舞いを捉える事が重要である。この観点から1分子生物学が近年大いに発達し、様々な生体分子の素過程が1分子レベルで観察されてきた。そこで見えてきたものは、生体1分子が示す出力が測定毎に異なり“不確定”である、というものである。ところが、多くの1分子測定データを平均化すると、生化学的手法で得られた測定値と一致することから、生体分子の素反応が何万回と繰り返され、平均として捉えた場合には確定的な出力を産み、細胞というマクロレベルでの安定応答を引き起こすという描像を多くの研究者が持つに至っている。

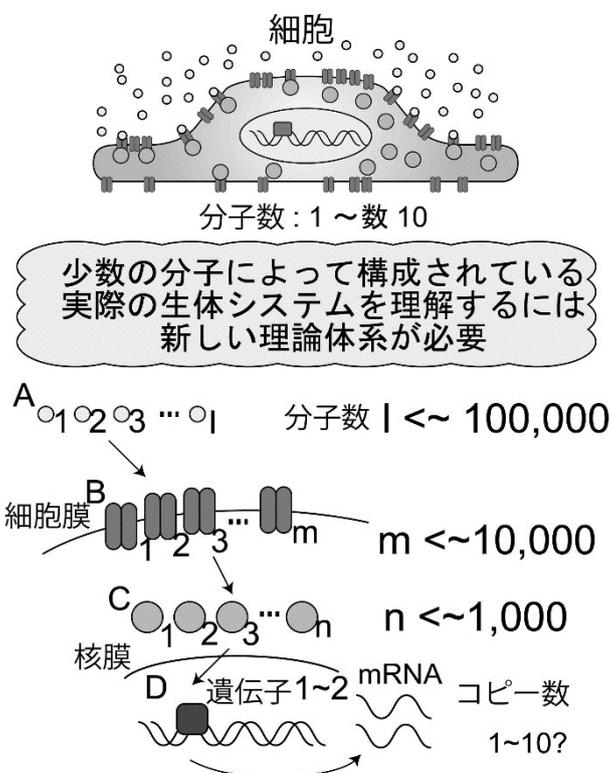
他方、GFP テクノロジーを用いたバイオイメージングによって、多くの生命現象が生きた細胞や個体内で観察されるようになったが、ここで見えてきたものは、生物が研究者のいわば恣意的な行為に対し、常に期待通りの安定した出力ではなく、時に予測不可能な不安定な挙動を示すというものである (**minority issue**)。この動作の曖昧さ、つまり大部分の安定さとともに一部の不安定性を許容できるところに生命システムの大きな特徴があるが、この描像は上述の生化学や1分子生物学からは見出す事は不可能である。

このミッシングリンクを考える上で重要な鍵は、少数の要素分子が共存する細胞内環境下での分子反応の素過程を観察し、より現実的な生命システムの動作描像に迫ることである。

<新学問領域「少数性生物学」の提唱>

そこで本研究領域では「個と多数の狭間である少数個の要素分子が織りなす化学反応システム」に注目し、**顕微光学、MEMS 工学、蛍光物理化学、合成有機化学、タンパク質工学、細胞生物学、システム生物学、数理科学の諸分野を融合することにより「少数性生物学」と称する新学問領域を形成する。**技術開発系と実験系、理論系の専門家が手を組み、従来とは異なる視点で生命現象にアプローチする。とくに、少数の生体分子からなる化学反応システムにおける分子間の**協働性、超コヒーレンス、自己組織化、ポアソン性、エルゴード性、多階層間相互作用**などの観点からのアプローチを進める。本領域で扱う生命現象は真核生物、原核生物を問わずあらゆる生物で見出される現象であることから生命現象一般を説明しうる統一的原理を提出できる可能性が高い。

本研究領域に計画研究として参加している研究者は国際的に誇れる高い水準を有しているが、本邦における研究のさらなる広がり一層の先端的研究の推進が望まれる。本研究領域における研究協力のもとに、新たな手法を用いて先に記載した重要な問題点について取り組むことにより、従来なし得なかった先鋭的・独創的な研究成果が得られると見込まれる。その成果は従来の学問領域ではなし得なかった「生命とは何か？」の解明に寄与するのみならず、化学・物理学分野へもパラダイムの変革をもたらす可能性がある。後述するように、本研究領域では比較的若いメンバーで計画研究が構成され、若手育成にも力を入れるため、本領域の活動は将来にわたって我が国における当該分野・理工系分野の多大な発展に貢献できると考えられる。



2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究項目 A01 少数性の生物学研究に必要な技術開発と整備

本研究領域では「数」の観点で生物学を論じる必要がある。このため、「数」を正確に定量するための計測装置・顕微鏡技術開発を主として A01-1 班「細胞内分子数を定数解析するデバイスの開発—少数生体分子の計数化技術—」として、計画班研究代表者の野地(東大・工)のグループで細胞内の分子数を計測可能な1細胞デジタル ELISA 法の開発を行う。また、細胞内分子を定量可視化するための超解像顕微鏡技術を研究分担者の渡邊(理研・QBiC)・市村(理研・QBiC)のグループで開発を行う。連携研究者として、光学・顕微鏡技術のノウハウの提供を藤田(阪大・工)が、1分子生理学・超解像技術のノウハウの提供を岡田(理研・QBiC)が行う。

一方、分子の数を生細胞内で制御し、その結果生じる現象を様々な空間階層で捉えることで、「数」と「生理機能」の関係を見出す必要がある。そこで、A01-2 班「分子プローブと光摂動ツールの開発—少数生体分子の可視化・操作技術—」として、計画班研究代表の永井(阪大・産研)が、遺伝子にコードされた超解像計測に利用可能な蛍光タンパク質や化学発光性生理機能指示薬、および光遺伝学ツールの開発を行う。研究分担者の金原(東北大多元研)は、種々のケージド解除化合物の開発を行うことで分子数制御ツールの開発を行う。さらに、ゲノムに蛍光標識した遺伝子をコードすることで、過剰発現ではなく内在の分子数に近い数で蛍光標識したタンパク質を発現させ、かつ定量的に計数する技術の開発を研究分担者の堀川(徳島大・ヘルスバイオ)が行う。連携研究者として、遺伝子にコードされた蛍光プローブ開発の助言を小澤(東大・理)が、機能性有機化合物の作成に関する助言を浦野(東大医)が、RNA アプタマーのような機能性化合物作成に関する助言を山東(九大)が行う。

A01 班の公募班では、光遺伝学により細胞内状態・分子数を制御する技術を中心に、7名の公募班を採用している。井上(名工大・工)と山下(京大・理)は新規ロドプシンや新規 G タンパク質共役型光遺伝学ツールの開発を通じ、細胞内環境・分子数制御に与している。村越(基生研)はシナプス内分子数揺らぎの影響を調べるための CaMKII 制御プローブの開発を、水上(阪大・工)は新規光機能性プローブ BL タグを用いた生体分子の少数活性化技術の開発を行う。高橋(徳島大)は腸炎ビブリオ内という特殊な環境下における生体分子数の計測技術開発を、政池(東京理科大)は、エネルギー反応で必須のリン酸の微小領域中での計測技術開発を行う。さらに、藤原(京大・iCeMS)は3次元1分子超追跡法の開発を行うことで、少数分子の細胞内3次元動態を追跡する技術開発を行う。

研究項目 A02 少数性の生物学研究

A02 班では生命現象における少数性問題を、細胞内シグナル伝達・遺伝子情報探索および発現・生体リズムの3つの観点から具体的にアプローチする。本研究項目はその重要性から、計画班を3班、公募班を10班の構成からなる。

A02-1 班「細胞内情報伝達の少数性生物学—生命システムにおけるポアソン性の解析—」として、計画班研究代表者の石島(東北大・多元研)が大腸菌べん毛モーター制御に係る細胞内シグナル伝達機構解明を行う。研究分担者の栃尾(京大・工)は、幅広いダイナミックレンジをもつ細胞表面受容体のダイナミクスを分子個性の観点から解析するとともに、細胞内生体分子の構造変化を直接可視化する為、格子欠陥ナノダイヤモンドやラマン分光法を利用した計測を行う。連携研究者の原田(京大・iCeMS)は1分子生理学や格子欠陥ナノダイヤモンドを利用した研究に関する助言を行う。

A02-2「遺伝子発現の少数性生物学—少数分子による情報探索原理の解明—」では、計画班研究代表者の前島(遺伝研)が、生物における少数性の代表例である遺伝情報に着目し、染色体構造ゆらぎの1分子計測を行うこ

とで、遺伝情報が少数の転写因子によってどのように探索され、読み出されているかを探る。研究分担者である谷口(理研・QBiC)は、1分子計測を礎として、遺伝子発現のゆらぎの定量計測を行う。連携研究者の高橋(理研・QBiC)は前島らが得た実験データをもとに粒子系シミュレーションを行うことで、細胞モデル構築を行う。吉村(京大・生命)は、遺伝情報の橋渡しを行う核内物質輸送制御に関しての技術提供を行う。

A02-3 生体リズムの少数性生物学—生命システムにおけるターンオーバー制御と分子少数性—では、計画班研究代表者である上田(東大・医)や研究分担者の大出(東大・医)、研究協力者の鶴飼(理研・CDB)のグループを中心に、少数の構成因子・分子からなる概日リズムシステムがどのように頑健性と適応性を両立しているかにアプローチする。

少数性が関与する生物学現象は多岐に渡るため、当研究項目においては10件の公募班を組み込んでいる。矢島(東大・総合文化)、広瀬(産総研)らは、モータータンパク質であるキネシンやダイニンを題材として少数のモーター分子の協働性について研究を行う。桑田(京大・生命)、曾和(法政大・生命)、川岸(法政大・生命)らは、それぞれ巨大複合体である核膜孔複合体、べん毛回転モーター、異物排出ポンプの協働的動作原理メカニズムを探る。笠井(京大・再生医科研)は G タンパク質共役型受容体からのシグナル伝達経路分岐のメカニズム研究から、シグナル伝達分子の個性・多様性・協働性について、小嶋(勝)(阪大・基礎工)は、少数分子でも働く生物時計の動作メカニズムについて研究を行う。並木(東大・医)は少数分子の空間的コーディネートによるシナプス機能制御についてアプローチし、丹羽(東工大・生命理工)は細胞内における少数発現量タンパク質のフォールディングメカニズムについて研究を行う。小嶋(誠)(名大・理)は、FlhF が何分子結合することによりビブリオ菌の極に1本だけべん毛モーターを形成するメカニズムを研究する。

研究項目 A03 少数性の生物学の理論構築と in vitro 再構成による検証

A03 班では、A01,A02 班で得られた生物における少数性を説明する理論モデルの構築及び、少数性生物学を再現する再構成系の構築を行う。

A03-1「少数分子反応ネットワーク理論の構築—少数性と階層性の観点からのモデリング—」では、計画班代表者の富樫(神戸大・システム情報)が少数性生物学の理論構築を行う。研究分担者の小松崎(北大・電子研)、連携研究者の李(北大・電子研)、寺本(北大・電子研)らのグループでは、1分子時系列データ解析技術の開発及び、データの背後にある高次ダイナミクスを抽出し、分子の個性や多様性を取り入れた少数分子生体システムのダイナミクスにアプローチする。

A03-2 少数分子生体システムの再構成—複合体構成分子の数の制御と理論検証—において、計画班代表者の今田(阪大・理)、研究分担者の南野(阪大生命機能)が細菌のべん毛タンパク質輸送システムを再構成することで、超分子複合体の協働性メカニズム及び分子計数機構の解明を行う。研究分担者の内橋(金沢大・理工)は、高速分子間力顕微鏡による、ナノメートルオーダーでの複数分子複合体動作機構の直接可視化を行う。連携研究者の竹内(東大・先端研)は、マイクロ流路デバイスを提供することで、分子複合体再構成に関する助言を行う。

公募班では理論、再構成それぞれ2件ずつ組み込むことで、計画班研究を補う。石原(東大・総合分化)が少数分子世界の細胞情報伝達理論の構築を、栗津(広大・理)が細胞反応場の実効的分子数の少数性と状態・機能最適化の統計力学的研究を行う。一方、濱田(北陸先端)はミクロ小胞内に構成した DNA の分子挙動から、細胞内の少数分子システムの作動原理を研究し、鈴木(中央大理工)はリポソームの膜構造による内封分子の少数性維持メカニズムに迫る。

以上の A01、A02、A03 の研究項目により、生物における少数性の「計測・制御・研究・理論・再構成」を推進する。これら各項目間は密接に連携しており、次ページの図に示すような循環的アプローチを推進する。研究領域内

では共同研究を積極的に推進しており、**現在70件超の領域内共同研究**が行われている(平成25年6月時点)。総括班は事務的なサポートはもちろん、15の連携企業による技術支援班を設置しており、領域会議への積極的参加を通じて研究者間と直接連携をはかっている。この結果、少数性生物学の発展に寄与するデバイス開発等についての**産学共同研究も16件進行中**である。このような研究組織間連携により少数性生物学を学問として確立し、生命現象の動作原理の解明を目指す。

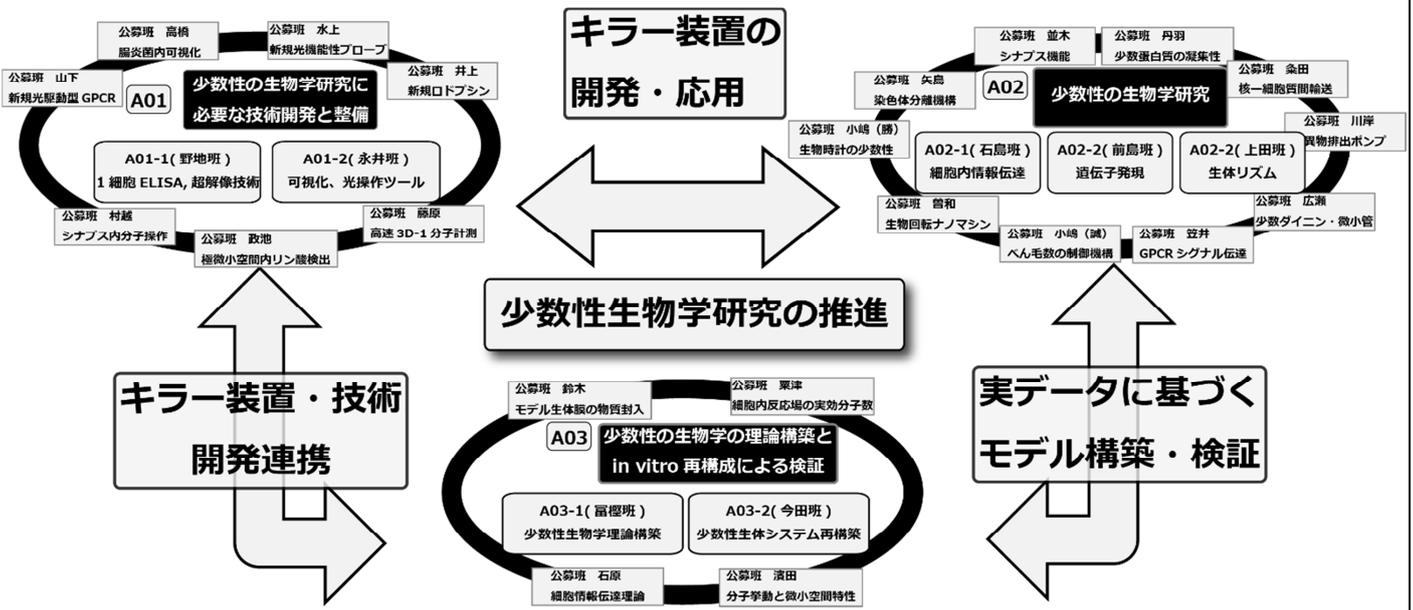


図 1 研究項目間の連携状況

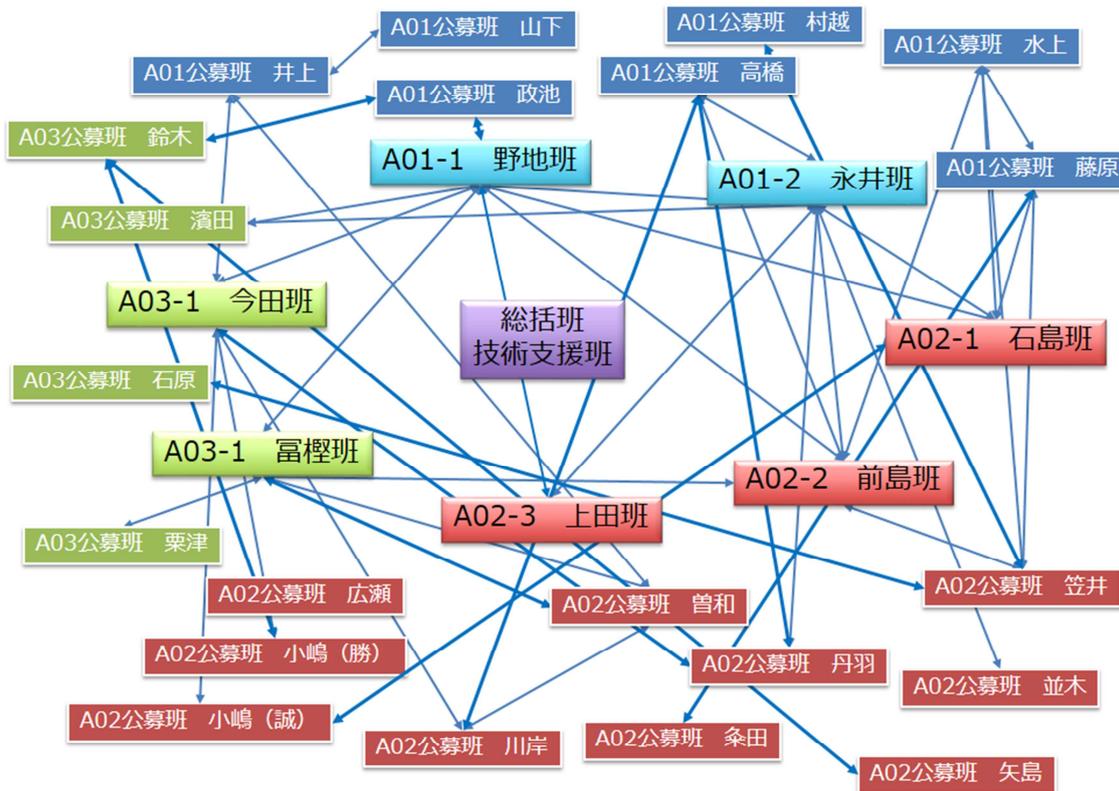


図 2 各計画班・公募班の共同研究相関図

3. 研究の進展状況〔設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する〕（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように進展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

当領域は、細胞の内外で繰り広げられる分子間・細胞間の化学反応や相互作用の中でも、特に少数の要素によって担われている生命現象に着目し、従来の科学的描像やパラダイムの妥当性を検証する研究を推進する。具体的には、従来の生命科学では定量的に扱われることが少なかった、分子（細胞）間の協働性、超コヒーレンス、自己組織化、ポアソン性、非マルコフ性、エルゴード性、多階層間相互作用などの観点から生命現象を見つめ直し、以て生命システムの正確性・頑健性・適応性に迫る。このために掲げた設定目的は以下の通りである。

1. 既存の学問分野の枠に収まらない振興・融合領域の創成を目指すもの
2. 異なる学問分野の研究者の共同研究等の推進により研究領域の発展を目指すもの
3. 多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究を推進し、研究領域の発展を目指すもの（生物学、化学、物理学、工学、および数理科学それぞれの異なる視座からの共同研究など）
4. 当該領域の研究の発展が他の研究領域の発展に大きな波及効果をもたらすもの（例えば現在の分子生物学・生化学・生物物理学への技術や方法論、理論の適用）

計画研究毎の進展状況

A01-1 野地班

1. 「非標識」のタンパク質を 1 分子の検出感度で計測する全く新しい手法を開発し、これを1細胞中のターゲットタンパク質のカウンティングに応用する事を目指している。研究は順調に進んでおり、100 万個のマイクロチャンネルを用いた1分子デジタルELISAの実証実験は成功した。さらに、これを用いて1細胞毎に酵素分子を計測する実験にも成功している。これによって、臨床検体中の1細胞解析が可能になると期待される。我々は Lab-on-a-chip 分野と 1 分子生物物理学研究を融合する全く新しい試みに成功したが、現在においてもこの融合研究における成功例は多くはない。本研究は、この成果をさらに分子細胞生物学および、臨床検査領域に拡大しようとする前例の無い試みでもある。
- 2,3. 1細胞内の分子数や分子濃度の計測を行うと、多くの場合それらの値は正規分布となる。しかしながら、正規分布とわずかに異なる分布形状が見出された場合に、その分布のズレが真にずれているのか、計測の誤差によるものなのかを見極めることは、少数性生物学の遂行に不可欠である。そこで、このようなズレを評価するべく、本領域にて理論を担当する A03-1 班の小松崎とデータ評価のための理論作成に取り組んだところ、理論的にデータのズレを説明することに成功した。本法を利用すれば領域内で得られた、その他の計測データの理解に大いに役立つと考えている。
4. 本研究により1細胞のレベルで、目的のタンパク質の「個数」という一番根源的な情報を取り出す方法が確立すれば、これまでの生物学にはなかった新しい概念を提供できる。つまり、これまでの生物学において、タンパク質は濃度という概念で考えられてきた。これは、発色や吸収、比色と言った古典的分析手法によって得られた方法であり、多くの細胞や溶液の平均値の情報で、個々の細胞の情報はマスクされてしまう。これによって、あいまいな情報であった濃度の変化という情報が、1細胞内の個数の変化という確度の高いものに変化するため、細胞内部システムの理解が飛躍的に進歩すると考えられる。

A01-2 永井班

1. 細胞内の生体分子数に摂動をかけ、どのような反応が起きるかを可視化によって捉える技術の開発を目指している。可視化技術は蛍光による超解像観察と化学発光による高感度観察の二つを柱として基盤技術開発を行っている。既に高輝度化学発光タンパク質を開発し、さらにそれを改変して機能指示薬を作製しリアルタイム機能イメージングに成功した。励起光を照射しないため、原理的に蛍光法よりも高いシグナル/バックグラウンド比が得られ、検出感度が理論上格段に高くなるこの技術は、少数性生物学にとどまらず、広く生物学全般に、そして化学や物理学、医学研究等にも応用が期待され、従来の枠組みに収まらない融合学問領域の創成が大いに期待される。既に化学発光タンパク質による超解像法などの共同研究を海外の物理系研究者と開始している。
- 2,3. 本計画研究班が有する技術を応用して、少数の転写因子がどのようにして遺伝子の情報を迅速かつ的確に検索するのかについて A02-2 班の計画班代表者前島一博と、計算機科学者である連携研究者高橋恒一、蛍

光タンパク質 1 分子測定の専門家である分担研究者谷口雄一と共同研究を実施している。これまでのところ、ヌクレオソームの「揺らぎ」がタンパク質分子によるゲノム DNA の情報検索を助けていることが明らかになり、情報検索原理の理解が進んだ。また、我々が開発した高速光スイッチング蛍光タンパク質を利用した長時間の超解像観察を可能にする新規バイオイメージング法について A01-1 班の渡邊朋信分担研究者や藤田克昌連携研究者らとの共同研究が進行中である。さらに、A01-1 班の岡田康志連携研究者との共同研究により高輝度化学発光タンパク質の多波長化に成功している。

4. 現在、生物学全般で蛍光によるバイオイメージングが行われている。その一方で、光照射により細胞やタンパク質の機能を制御する光遺伝学(オプトジェネティクス)を利用した研究も盛んになってきた。この両者を併用した実験法が求められているが、いずれの技術も光照射が不可欠な技術であることから、複数の生理機能を光で制御し、可視化することは困難である。当計画研究で報告した発光性機能センサーは光照射が不必要なため、光遺伝学との併用が可能であり、従って、今後他の研究領域の発展に大きな波及効果をもたらす技術になるものと期待される。

A02-1 石島班

1. 細胞内情報伝達を少数性という観点からアプローチすることは、既存の拡散現象では定性的にしか語られてこなかった問題を定量的に説明するための必須事項である。さらに、生命科学の発展のみならず、社会科学への大いなる提案が期待できる。この目的の達成のためには、新しい計測手法の確立、定量性のあるデータ取得、新しい観点からの数理科学的アプローチ、それらを融合した領域による研究の推進が必須となる。現在、これらを領域内の連携により進めている。
2. 数理科学と実験生物学との間には、言語、重要性などまだまだ大きな隔たりが存在する。我々の示している拡散による細胞内情報伝達はその現象のおもしろさ、さらには数理科学的な理論構築の重要性から、共同で共通のテーマに取りかかることによりこの研究領域の大いなる発展が期待できる。現在、計算科学の専門家である、富樫(A03-1)らと実験結果を満足して説明できる数理モデルの構築を検討中である。
3. 一般的に拡散現象は定性的にさらにある意味静的に語られることが多かった。しかし、拡散現象を情報伝達に適用するためには、単純な拡散だけではなく高度な協働性、さらには周辺蛋白による統合的な制御が必要となる。この現象を、高時間分解能な分子レベルでのイメージング、さらには数理科学的な理論体系の構築を行うことにより、細胞内情報伝達機構が明らかになると期待できる。現在、計算科学の専門家である、富樫(A03-1)らと実験結果を満足して説明できる数理モデルの構築を検討中である。
4. 今までは、既存のイメージング技術では計測できないリン酸化、脱リン酸化の状態を複数のモーターの回転の同時計測、という手法で明らかにすることができた。また、ケージド化合物を用いて外部刺激を加えることにより、さらに細胞内情報伝達を明らかにすることが可能となった。これらの現象を定量性を持って理解するためには、ミリ秒オーダーの高時間分解能計測が必要となる。そこで、現在のイメージング手法において軽視されがちな高時間分解能計測の必要性を領域内外に主張することにより、新たな計測手法の確立、計測機器の開発につながるものである。

A02-2 前島班

1. 細胞が用いる情報検索は、工学的なメモリデバイスに比べ、極小でエネルギーを必要とせず、革新的なデバイスを創造する原理である。本研究計画で、ヌクレオソームの「揺らぎ」がタンパク質分子によるゲノム DNA の情報検索を助けていることが明らかになり、情報検索原理の理解が進んだ。この設定目的に対しても順調に進んでいる。
- 2,3. 本研究計画において、ヌクレオソームの揺らぎのおかげで、タンパク質が細胞の核内や染色体の中をより自由に動くことができ、ゲノム DNA とアクセスしやすくなることがわかってきた(研究報告書図2)。本結果は、計算機科学者である連携研究者高橋恒一、蛍光タンパク質の専門家である永井健治、1 分子測定の専門家である谷口雄一との共同研究によりはじめて明らかになったことであり、異なる学問分野の研究者の共同研究等の推進により研究領域が発展した例である。
4. 本研究計画により、ヌクレオソームの「揺らぎ」がタンパク質分子によるゲノム DNA の情報検索を助けていることが明らかになった。DNA 複製、DNA 修復、DNA 組み換えなど、ゲノム DNA の機能はすべて、タンパク質がゲノム DNA 上のターゲットをいかに探し出すかに依存している。このため、私たちの見出した概念は、すでに分子生物学の関連分野の理解に強いインパクトをもたらすものである。

A02-3 上田班

1. 少数の分子が協働的に機能するモデルケースとしても有用な、生化学的な同期振動子の設計理論を構築した。一種類のリン酸化酵素、一種類の脱リン酸化酵素、一種類基質のみからなるシンプルな系について、基質の複数状態がリン酸化される時には自律振動子が形成可能であること、酵素が数分子程度の場合でも基質状態を同期可能であることがシミュレーションより示された。この成果は、実際の細胞内現象でその受容性が示唆されている複数リン酸化の順序をもった進行(細胞生物学・生化学的理解)に対して、生化学的な解釈が可能なモデル構築(化学反応速度論)を行い、その振る舞いを大規模シミュレーションとその統計解析(大規模計算・統計科学)を用いて解析する、細胞から生化学を経て物理的な解釈に至る成果である。
2. 生化学・数理生物学のみではモデルを立てることは出来ても、高度な計算科学や統計処理を適用することが困難なこともある。逆に物理数学のみでは、どのようなモデルの記述が、生化学的な解釈と相性がよいのか、また細胞内現象と対応するのかを知ることが難しい。本研究成果である、リン酸化振動子構築では生化学・数理生物学を専門とする研究者と、物理・生物物理を専門とする研究者が数理を介して共同研究を行うことで、生化学的に新しく有用であるモデルを、物理的に洗練された方法で解析する、数理生物学的に望ましい方法論を示すことができた。
3. ゲノムエンジニアリングの高速化を目指した TALEN 法の構築では、遺伝子組み換えから ES ゲノム改変、組み換え細胞選別と、その培養に至る一連の方法を総合的に開発している。この過程では、分子生物学者の経験と技術を、それらを機械ベースのシステムに置き換えスループットを向上させる工学者が学んだ上で機械化するコラボレーション、および、ES 細胞培養に長けた技術者が経験的に知る、似て非なる有用な試薬類の化学的傾向を有機化学者が見極め、より効率の良い試薬の提案と合成・供給を行うコラボレーションが行われた。これらの連携により、分子生物学者や ES 細胞技術者の経験知が(ある意味では素人の)工学者と有機化学者によって定量的な形で表現されシステム化された。逆に、このようなシステムは再度、("熟練の")分子生物学者と ES 細胞培養技術者によってテストされ、"使える"技術へと統合されている。質量分析計による絶対定量法の開発においては、質量分析の専門家と、無細胞タンパク質合成法の専門家のニーズとシーズが合致した好例である。すなわち、質量分析側としては少量多種類のペプチドを得る要求があり、無細胞タンパク質合成としては多量には作れないが、多種類の比較的短いポリペプチドを安価に提供できる強みがあった。さらに、絶対定量の必要性は、質量分析側での検出の高感度化を目指す技術的目標と、少数性生物学を志す専門家の存在量の少ない分子の量を絶対定量する、科学的必要性が合致したことで、質量分析計による高感度検出と絶対定量の意義を新たに見出すことができた。
4. リン酸化振動子モデルは、ミカエリスメンテン式で記述される可逆的なタンパク質修飾反応であればどのような系にも適用可能である。必要構成要素が修飾酵素・脱修飾酵素・基質の3種類のみであることも合わせて、細胞内の修飾状態が振動を示す多くの現象に関わる可能性がある。また、ここで用いた生化学的モデリング・定式化→大規模パラメータ解析→解の振る舞いに応じた統計分類という手法は、いくつかの特定のパラメータに限って議論するのではなく、モデル式の形式から表現しうる解の振る舞いを総合的に議論する際の手法として、数理生物学的に標準的に用いることができる方向性を示せたと考えている。また、本領域研究内で開発した TALEN の高速並列作成手法は、個体レベルでの合成生物学・システム生物学の実現へとつながるものである。

A03-1 富樫班

1. 開発したデータ解析法の多くが、そのまま、もしくは多少の修正により、分子、細胞といった階層を超えて適用可能である。これを道具とすることで、少数要素・少数自由度の系の振舞いという観点から、複数の階層に共通する原理を見出せる可能性がある。(こうした共通原理・階層性の探究が、具体的な系を特定せず、「少数性」という系の性質に注目した領域を構成した意義の1つである。これまでは分子～微粒子レベルの応用を先行させてきたが、今後は、よりマクロなレベルでの「少数性生物学」展開にも取り組む。)
- 2,3. 領域内の多様な実験系に対して、A03-1 班では、統計物理学・数理科学・計算科学的手法の組合せにより、解析・モデリングを進めている。特に、A02-2 前島班との共同研究「遺伝子探索における転写因子分子数の影響」については、一定の成果を得ており、共同で学会発表予定(2013.9)である。当初の想定以上に、公募班との新たな連携(公募 A02 曾和班、矢島班ほか)が進んだ。A01-01 野地班との共同研究「大腸菌内の ATP 濃度分布の不偏推定」についても、この領域で開発した任意の物理量の関数の不偏推定手法を ATP

濃度評価に対して適用し一定の成果を得ている(投稿準備中)。

4. 本研究で、数理的手法に基づき開発した解析法(A03-1 班)は、系の詳細によらず応用範囲が広いものが多いため、他の領域においても活用が期待できる。特に、S/N 比の低い観測量から背後に存在する物理量の任意の関数値を抽出する解析法は、生物学に限らず幅広い分野における、大きなノイズが不可避な計測に対して有効である。

A03-2 今田班

1. 本研究課題では、既存の分野だけでは解決できない問題が含まれているため、領域内の他分野の意見を取り入れて班内で研究を進めた結果、再構成系の構築とAFM測定系の構築を達成した。
2. 輸送装置の反転小胞膜系を構築し作動が確認できたため、A01-1との連携により分子輸送の計測、および膜融合による平面膜チップへの組込の準備を開始した。
3. A3-02は研究チーム自体が多様な学問分野(生物学、生物物理学、工学)の研究者を含む構成である。これまでに、広域走査AFM・光学顕微鏡複合機が完成し、輸送装置部分複合体・菌体からの輸送の直接観測を始めている。
4. この2年で開発された広域走査AFM・光学顕微鏡複合機の完成は、走査／観察範囲が限られ、見たいところを見に行くことが難しかった高速AFMの応用範囲を飛躍的に広げるものである。また、蛍光ラベルにより観測対象を特定することができる点も大きな進歩であり、他の研究領域に大きな影響を与える技術である。

4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

領域会議への参加

本領域の領域会議では学生や若手研究者の参加を認めており、ポスター発表での研究内容の発表の機会も設けている。これまでの領域会議でのべ15名の学生が参加し発表・領域研究者との交流を図った。今後もこの取り組みを継続していく。また、領域外からの参加も認めている。実際、これまでに3名の研究者が(当領域から旅費のサポートをしていないにもかかわらず)領域会議に参加し、積極的に議論に加わった。

若手研究者・リサーチアシスタントの雇用

領域研究の推進と研究者育成のため、博士卒業後の若手研究者6名、大学院学生のリサーチアシスタント1名を本領域で雇用し少数性生物学に関わる研究活動に取り組んでいただいている。

学生の学位取得

本領域の発足後に、領域の内容に関連した研究内容での学位取得した学生をこれまでに既に2名輩出しており、今後その人数は増加していくことが見込まれる。

少数性生物学トレーニングコース

若手研究者の育成のために、少数分子によって引き起こされる生体内の諸現象を解明するために必要な実験技術である顕微鏡観察技術(1分子観察、超解像顕微鏡)やデータ解析技術(画像解析、時系列データ解析)を講義・実習・討論を通して習得するトレーニングコースを毎年1回開催している。このトレーニングコースには領域外部からの参加者も募集しており、領域内外の若手研究者の交流の機会としての役割も持つ。

領域若手メンバーの受賞

A01-1 班 Soo Hyeon Kim (野地研研究員)2012年9月7日 RSC Tokyo International Conference で Best Poster Presentation Award

A01-1 班 渡邊力也 (野地研助教)2012年9月23日 生物物理学会、若手奨励賞

A01-2 班 金原 数 2012年9月20日 高分子学会 Wiley 賞

A01-2 班 本多秀隆(金原研学生) 2012年10月17日 高分子学会 Wiley 賞

A02-3 班 上田泰己 2012年3月22日 第26回塚原仲晃記念賞

A03-2 班 内橋貴之(他2名) 2012年4月17日 平成25年度 文部科学大臣表彰(科学技術賞 開発部門)

A03-1 班 李 振風 2013年3月20日 2013年度 HFSP「プログラム・グラント賞」

A03-1 班 永幡裕(小松崎研学生)2012年9月3日 第52回生物物理若手の会夏の学校「ベストクエスト賞」

A03-1 班 河合信之輔(小松崎研特任助教)2013年1月30日 平成24年度「日本化学会北海道支部奨励賞」

A03-1 班 河合信之輔(小松崎研特任助教)2012年6月1日 日本化学会「BCSJ 賞」受賞

A03-1 班 河合信之輔(小松崎研特任助教)2012年4月12日 2012年度日本化学会「優秀講演賞(学術)」受賞

A01 公募班 井上圭一 2013年3月25日 日本化学会第93春季年会・若い世代の特別講演会(受賞講演)

A01 公募班 水上 進 2012年8月1日 平成25年度 平成24年度大阪大学総長奨励賞(研究部門)

A01 公募班 政池知子 2012年6月8日 第5回資生堂 女性研究者サイエンスグラント

A01 公募班 水上 進 2012年4月9日 平成24年度文部科学大臣表彰(若手科学者賞)

領域若手メンバーのステップアップ

本領域の研究代表者や雇用されている研究者の中には40歳以下のメンバーが多く含まれており、これらの若手研究者のステップアップを領域としてサポートしていきたいと望んでいる。これまでに公募班代表者の中から2名が新たに独立して研究室をスタートした。また、A02-2 班 研究代表者の上田は独立行政法人理化学研究所・生命システム研究センターと兼任で東京大学・大学院医学研究科に異動した。今後も本領域の研究の発展に伴いステップアップする研究者を数多く輩出したい。

5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

本領域研究は、生細胞内の分子計数や分子反応を可視化することが基本的な解析となり、顕微鏡技術は不可欠となる。そこで、本領域研究の推進のために、顕微鏡システムとその開発を支援するバイオナノフォトニクスコンソーシアム(BNPC)を平成24年度10月に大阪大学産業科学研究所内に設立した。本コンソーシアムでは、協賛企業から提供を受けた顕微鏡・光源・カメラ・スキャナー・機器制御ソフト等から構成される7つのStation(高速スペクトル共焦点顕微鏡、超解像顕微鏡(SIM)、多色・多点・共焦点顕微鏡・全反射蛍光顕微鏡・白色光源・多点刺激共焦点顕微鏡、発光インビボイメージングシステム、発光イメージングシステム)、2台の解析用パソコンと細胞培養設備(P2仕様の安全キャビネット、細胞培養用インキュベータ)によって構成されている。BNPCは領域内のみならず領域外研究者の利用も受け入れており、設立からこれまでにのべ300人を超える利用があり、領域内研究の支援に加えて異分野交流にも大いに役立っている。BNPCでの研究支援のための顕微鏡設備、光学機器・部品、機器制御やイメージング解析用のソフトウェア、細胞観察用試薬、その他の消耗品は総括班経費を用いて購入した。

若手研究者の育成のために、少数性生物学の基本実験解析技術である顕微鏡観察技術(1分子観察、超解像顕微鏡)やデータ解析技術(画像解析、時系列データ解析)を講義・実習・討論を通して指導するトレーニングコースを平成25年度7-8月に開催した。総括班の研究者を中心とした講師陣がBNPCや各講師、技術開発支援班の企業から提供を受けた機材を用いて2週間に渡り、選抜された16名の参加者に対してトレーニングを行った。実習に必要な光学部品、蛍光試薬、講師への旅費、募集のポスター作成等の費用は総括班経費より支出した。

領域内の研究交流のための年2回の班会議を開催し、さらに領域内の研究を海外で発信し研究交流を深めるために平成24年度10月に台湾でAcademia Sinicaとの共催で国際会議を開催した。班会議、国際会議への領域内研究者の旅費、会場費、国際会議の海外からの招待講演者の旅費、これらの会議の運営、受付業務の委託(株式会社ポラリス・セクレタリーズ・オフィス)に総括班経費を用いた。領域の研究を外部組織へ紹介し、交流を深めるための取り組みとして、各学会の年会シンポジウムや他団体が開催する研究会を共催、協賛した。共催した生物物理学会年会シンポジウムの開催費用、生体エネルギー研究会の共催費用、協賛した国際細胞膜研究フォーラムでの招待講演者の旅費を総括班経費より支出した。また、新学術領域他領域との交流と共同研究の可能性を議論するために行った高速バイオアッセムブラー領域とのジョイント研究会参加のための旅費を支給した。平成25年度7月に研究領域の方向性の策定のために行った少数性生物学研究会には旅費を支援した。これらの会議、トレーニングの準備のための打ち合わせや会場下見のための旅費を総括班経費より支給した。また、日本全土に散らばる総括班員が効率よく綿密な打ち合わせを行うことができるようにビデオ会議システム(Polycom)を初年度に開設し、各種打ち合わせのために継続的に利用している。

一般社会や教育現場に向けて領域の活動を紹介する取り組みとして、市民講座、出前授業を行った。平成24年11月に行った島根県三瓶小学校・中学校で行われた出前授業に対しては講師の出張旅費と教材の費用を支援した。また、領域研究を紹介するニュースレターの発行(平成23年度3月、平成24年度3月)及び領域研究を紹介するためのホームページの作成と維持を総括班経費で委託(株式会社ポラリス・セクレタリーズ・オフィス)した。

以上の総括班活動の事務、連絡業務のための印刷、記録媒体、事務用品に関する費用を総括関係費から支給し、これらの業務に従事する非常勤職員(1名)を雇用した。

6. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

神原秀記(株式会社日立製作所・フェロー)

私が特定領域を主宰した時には、キャッチフレーズとして「ライフサーベイヤ」という名前をつけました。それは、当時出てきた「Google Earth」の生命科学版を作ろうという意識から発したものです。しかし、残念ながら領域に参加されている人たちの意識はそうではなかったため、そういう人がある方向に向ける為には、将来の明確なターゲット、特に「絵」にした様なものが必要である事に気が付き、「ライフサーベイヤとはこういう方法です」とことあるごとに漫画を見せて説明していた覚えがあります。特に共同研究というものは、中々大変で、それぞれが色々な方向を向いている中で「何か一緒にやりましょう。」と言って出来る場合はほとんどありません。では、出来ない場合にはどうすればいいかと言うと、将来の大きなターゲットを共有すると、同じ方向を歩く様になりますから、様々な共同研究が生まれてくることになるでしょう。そういう意味でも「絵」が大切です。では、この領域はどうだろうか？と言うと、キャッチフレーズとして「少数性生物学」を謳っており、その為のツール開発をやり、少数という観点でいくつかの生物学に取り組み、理論もやって再構成までやるという設定がなされていて、結構妥当じゃないかと思えます。領域会議では驚くほど議論が活発で、これも大いに結構なことです。しかし一方で、「少数性生物学」はまだ漠然としていて、将来のターゲットというものが見えにくく、領域全体で問題意識が共有できていないのではないかとどういふ部分もちらほら見られます。例えば、「俺は少数に関連しています！」といいつつ、私の目から見ると全然違う方向を向いた研究なのに、無理やり少数にこじつけている方がいたりします。ですので、領域研究を効果的に推進するために、少数性生物学にアプローチする上で相応しい生命現象はどういうものが挙げられるかを、全員でとことん議論する時間を別途設けてもよいと思います。その議論を通じて、私の「ライフサーベイヤ」の時のように、明確なターゲットが絞こまれ、この個性あふれるメンバーが混然一体となって、同じ方向に歩む様になり、これまでも増して大きな成果が上がるようになるでしょう。

河田聡(大阪大学フォトリクスセンター・センター長)

何かの仕組みがうまく機能する時、「少数」の個性的な要素が重要な役割を担っていることが多い。これは、社会的、政治的活動や経済活動に至るまで、様々なダイナミクスの中に見られ、もし個性的な要素がなければ、活動の方向性が決まらず、迷走してしまう。それは予め仕組みられた個性の場合もあるし、同じ由来の多数の中に現れる少数の個性(マイノリティー)の場合もある。どちらにせよ「少数」がそのキーワードであることは間違いない。物理的な観点からみても、少数な状態、すなわちエントロピーが低い状態が形成されていくと、そこには個性が顕在化し、全体を決定付ける。

本研究領域では、この「少数」が果たす重要な役割に注目し、新しい学問領域「少数性生物学」を創出しようとしている。生物学的な「個性」を、遺伝子やタンパク質、またそれらを制御する生体分子に求め、それらがどのように形成されているか、またどのようにして生体ダイナミクスを支配するのかの理解のため、新しい分子計測技術、分子動態の数理的モデル、さらにはそれらの結果を基にした生体デザインの研究を進めている。領域全体の目標達成のため、これらの研究は大きなフィードバックループを形成するよう設定されており、これは領域内での多くの共同研究という形でうまく実現されている。私の専門である計測について特筆すると、生体内の分子を高感度、広ダイナミックレンジで計測、カウントする技術、また高い空間分解能で生体分子の分布と動態を観察する技術の開発において、目を見張る成果が得られており、その成果は数理モデル構築、生体デザインの研究へ反映されつつある。

領域の運営自体も「少数性」の観点から行われているのも非常に面白い。「少数性」という曖昧なキーワードの下に集まった研究者達は、一見するとランダムな集団ようであるが、班会議、研究会等での議論を通して、この集団の中から、少数の生物学的な「個性」がなんであるかを見出そうとしている。「少数性」は生物学のみならず、自然界、および人間社会のダイナミクスを決定していることからすると、このアプローチは上手く機能するのではないだろうか。

柳田敏雄(理化学研究所・生命システム研究センター・センター長)

少数性生物学に対するナイーブな質問として、少数というのは戦略なのか仕方ないのか？つまり、少数も条件があって少数にせざるを得ないから頑張っただけでそれを使っただけでやっているのか、むしろ少数であるランダムな数を実はうまく使った方がうまくいくからやっているのか、という疑問がある。大腸菌では数百万個に1~2個はかならず薬剤耐性を持つ細胞が存在し、また、がん細胞の99%を死滅させても1%状態の違うがん細胞が生き残ったりする。これらの例に共通することは、遺伝情報は何ら変わらないはずなのに、細胞の状態が少しだけ異なっている為に、耐性を持つものが存在してしまう。このことは、細胞内においてキーとなるタンパク質が少数である、あるいは反応の自由度が少数になるために起こりうる。このような構図は人間社会においてさえ、少数のキーパーソンが周囲に大きな影響を与えるといった事から伺い知ることができる。少数性生物学は階層を超えて成り立ち、分子-細胞-人間-社会-宇宙においてさえも成り立つのではないか。本新学術領域はそういった学問領域となることを期待している。

一方、日本人は、様々な研究においてみんないい仕事をしているのだけど、ディベートが下手で表現しきれない。少数性生物学についても、非常に面白い内容ではあるが、論文はもちろん総説や講演を積極的に行うことで、特に若者に対してアピールすることが大事だと思う。その際、計測技術開発をしっかり行っていくことが、現実的な学問であることを示すために重要である。

今後、少数性とは何か、少数性が持つ戦略は生物の戦略なのか？というのを課題にさせていただき、なるほど、少数にしている理由は単に分子数がもともと少なかったとかエネルギーを減らした、ということではなく、意図的に、戦略的に行なっているということを示すことができれば面白いのではないか。最近の生命科学研究はどれもローカルミニマムに陥るような研究ばかりで面白くない。ニュースレターに寄稿した際にも述べたが、本領域が生命科学において少数となり、従来とはかけ離れた「ぶっ飛んだ」研究を展開してもらうことを願う。

金子邦彦(東京大学・複雑系生命システム研究センター・センター長)

少数性生物学、という新しい方向をつくる研究が進みつつあることは嬉しい限りである。細胞の中の分子の種類は多いけれども、それぞれの分子数はさほど多くない。これは、これまで統計力学があまり考えていなかった状況である。数が少なければ、当然、各分子の数は大きく揺らぐことが予想される。とはいえ、揺らぎの研究というだけでは、少数性というにはものたりない。これまでに、揺らぎを超えた、少数性ならではの理論的な概念はいくつか提唱されてきた。Blumenfeldらに始まる少数性による統計性への効果、Solomon や富樫らによる分子数離散性による状態転移、栗津らによる緩和のボトルネックなどである。これらの研究を担ってきた若手理論家もメンバーに参集しているので、これらの概念の深化、そしてあらたな理論的概念の創出が楽しみである。一方で、こうした概念は、まだ実験と結びついていない。1分子測定で培った技術をいかして、この点でのブレイクスルー、そして理論では予期されていない、少数性による新現象が発見されないだろうか。

少数であるとゆらぎは普通大きくなる。その結果、細胞状態があまり制御されなくなり、生物学的には望ましくない状態に陥ることも考えられる。にもかかわらず、少数性の物理や化学ではなく、「生物学」が成立する所以はどこにあるのだろうか。ここには解決すべき大きな謎があるのだろうと思う。少数性は数の0、1ということで、デジタル情報の生成に関係するのであろうか。私自身は、かつて四方哲也氏(阪大)と、「少数性制御」を提唱して遺伝情報の起源を論じたことがある。四方氏らは人工複製系実験で、少数性による進化可能性を議論した。ただし、細胞生物学、発生生物学で、こうした概念が成り立っていることを示した実験は未だないように見える。これだけのレベルの生物実験家が参集している本計画から、こうした概念をのりこえる、少数性の生物学的意義が見出されることを期待している。

7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する]

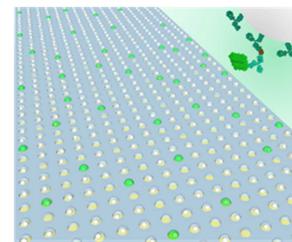
(3 ページ程度)

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

A01 班 少数性の生物学研究に必要な技術開発と整備

A01-1 (野地班)

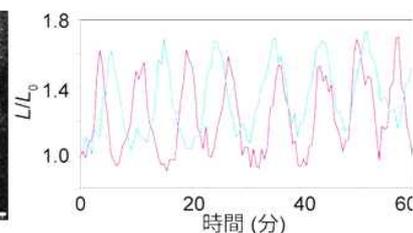
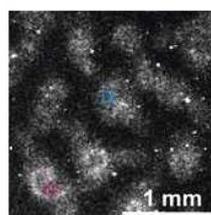
「極めて低濃度の溶液中に分子の数を計数可能にする」ことを目的とし、基板上に体積数フェムトリットルのドロプレットを 100 万個並べたアレイを用いることで、抗原分子を蛍光性ドロプレットの数としてカウントすることができる 1 分子デジタル ELISA 法を開発した。前立腺腫瘍マーカーである PSA タンパク質の digital ELISA では数 zM(zeptomolar)という前例の無い超高感度検出を達成した(Lab on chip, 2012a)。また、フェムトリットルチャンバー中に細胞を 1 個ずつ封入する事で、1細胞計測毎に多剤排出活性を計測する手法の確立に成功した Lab on a chip 2012b)。



1 細胞 ELISA の模式図

A01-2 (永井班)

高輝度化学発光タンパク質から cAMP 指示薬を作製し、細胞性粘菌の走化性によって生じる集合流過程での cAMP 動態の可視化に成功した(領域内共同研究成果, Nature Commun. 2012)。CCD カメラの読み出し時間中に光刺激を行う顕微鏡観察刺激システムを開発し、化学発光によるイメージングとオプトジェネティクスをリアルタイムで両立させる技術を開発した(Neurosci. Res. 2012)。ヌクレオソーム 1 分子観察により細胞の中でヌクレオソームがダイナミックに揺らいていることを見出した(領域内共同研究成果, Cell Reports, 2012; Nucleus, 投稿中)。改変蛍光タンパク質を飽和励起することで生細胞内の 3 次元構造をサブ回折限界の空間分解能で可視化することに成功した(領域内共同研究成果 Interface Focus 2013)



細胞性粘菌の走化性応答における cAMP シグナリング

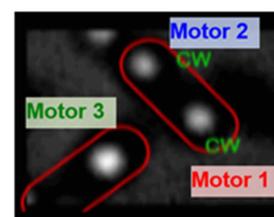
A01 公募(井上班)

センサリーロドプシン I と同様の微生物型ロドプシンの中から、これまで知られていなかった光駆動型ナトリウムポンプであるロドプシンを新たに発見した(Nature Commun. 2013)。現在これをツールとして提供することで、領域内の班間研究をスタートしている。

A02 班 少数性の生物学研究

A02-1 (石島班)

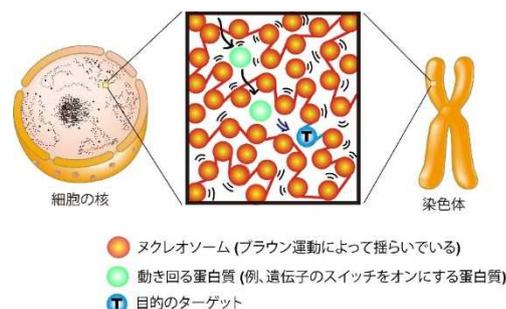
細胞内情報伝達に着目し、リン酸化・脱リン酸化という一般的なイメージングでは識別できない現象を 2 つのモーターの回転を同時に計測することにより明らかにすることに成功した(Biophys J, 2011)。また、単分子レベルでの結合・解離を簡便な手法で明らかにした(Biophys J, 2012)。分担者である柘尾は、ダイヤモンドナノ粒子の蛍光を利用し、背景光存在下でも選択的に可視化する手法を開発し、培養細胞や線虫のような生体環境にも適用できることを示した(Nano Letters, 2012)。また、「方向ゆらぎ」を計測できる手法を開発し、PEG 鎖等による修飾を行うことにより水中での凝集や非特異的吸着の抑制に成功した。また、ダイヤモンド標識が可能な受容体コンストラクトを作成し、HeLa 細胞膜上への発現を確認した。



同一バクテリア上の複数のモーターの回転の同時計測の様子

A02-2 (前島班)

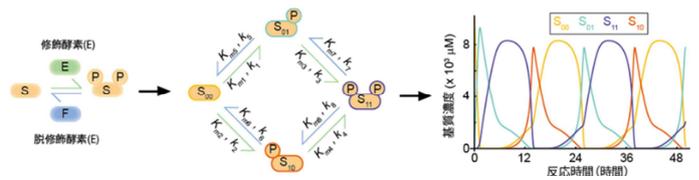
「少数分子がゲノム DNA 上で少数しかないターゲットをどのように見つけるのか？」を解明するのを目的としている。まず、定説のような規則正しいクロマチン線維は存在せず、ヌクレオソームが不規則(かなりいい加減)に細胞内に収められていることを突き止めた(EMBO J. 2012; Nucleus, 2012)。次に、ヌクレオソーム 1 分子観察により細胞の中でヌクレオソームがダイナミックに揺らいていることを見出した(領域内共同研究成果, Cell Reports, 2012; Nucleus, 投稿中)。そして、計算機シミュレーションを組み合わせ、このヌクレオソームの揺らぎのおかげで、タンパク質が細胞の核内や染色体の中をより自由に動くことができ、ゲノム DNA とアクセスしやすくなる、換言すると「揺らぎ」が蛋白質分子によるゲノム DNA の情報検索を助けている



ことが明らかになった。

A02-3 (上田班)

我々は一般的なミカエリスメンテン型で記述されるリン酸化反応と脱リン酸化反応のみで構成される系で、基質のリン酸化状態が自律的に振動する条件を理論的に明らかにした(Cell Reports 2012)。これにより、基質-酵素の強固な複合体形成が複数の基質分子の修飾状態を同期させるうえで重要であることが確認された。この機構はノイズ耐性が高く、分子の確率的振る舞いを考慮したシミュレーションでは酵素が 10 分子以下の場合でも、基質修飾状態の同調はよく保たれていた。



リン酸化に基づく基質修飾状態の同調と振動子形成の理論

A02 公募(小嶋勝班)

人工膜小胞中での生物時計再構成実験から、通常の細胞よりも大きな膜小胞中において時計活性が長周期化することを明らかにした。細胞内ではより少数の分子により制御されているにもかかわらず正確に時を刻むため、少数分子の厳密な制御が存在する可能性が示唆された。これらの結果を国際学会において報告した(2012 IEEE International Conference on Robotics and Automatio)。また、MEMS技術を利用した微量を扱うマイクロツールの開発及び評価を行い、分子数を制御した実験を実現可能なシステム構築を行った(Journal of Micro-Bio Robotics 2013)。

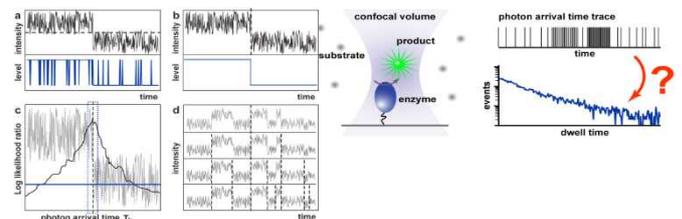
A02 公募(桑田班)

核膜孔複合体は、30 個程度のサブユニットが協調して物質輸送を制御する典型的な生体内少数分子機構である。我々はこれらのサブユニットと通過分子の相互のふるまいに着目して研究を進め、分子選別には少数性に起因する不安定なゆらぎがあること、そのことがシグナル伝達分子などを核内に到達させるのに適していること、サブユニット間 SS 結合がこのゆらぎを負に制御すること、などを明らかにしてきた(Journal of Cell Science, 2013)。これらの知見は、核-細胞質間の分子輸送メカニズムの根本的原理を解き明かすものである。

A03 班 少数性の生物学の理論構築と in vitro 再構成による検証

A03-1 (富樫班)

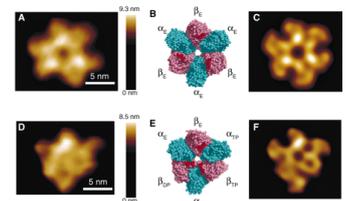
少数個のドメイン(サブユニット)からなる分子機械において、ドメイン間の協調動作に重要な、構造変化を介した情報伝達を、粗視化分子動力学を用いて解析し、情報の伝わる向きと強さを評価した(Biophys J. 2012, PloS one 2012)。また、細胞などでの1粒子の拡散時系列から、化学反応と関係した非熱的ゆらぎを評価する手法を構成し、計測・解析に課される条件を明らかにした(投稿中)。



少数性生物学に関する計測の多くは、データを解釈する以前に S/N 比が低いため、ノイズの存在下、観測量から背後に存在する物理量の任意の関数値を抽出する解析方法などを開発した(J. Phys. Chem. B, in press)。また、複数の少数個の輝点から構成される動態の集団挙動から各少数要素間のコヒーレンスがどのように生起するかを定量化する情報理論的枠組みを新規に考案した(Complex Systems 2011)。

A03-2 (今田班)

輸送シャペロン FlgN、FliT と輸送装置蛋白質の相互作用部位を同定し、相互作用を制御するしくみを解明した(Microbiology 2011, J bacterial 2013, Mol Microbiol 2011)。また、シャペロンの結合位置の輸送基質による変化を発見した(Mol Microbiol 2011)。一方、高速 AFM 技術を用いることにより、F1ATPase が回転する際の分子運動の実時間可視化に成功した(領域内共同研究成果、Science 2011)。



A03 公募(石原班)

時空間データから、背景にある方程式系や分岐構造を同定する手法を開発した(Phys Rev E 2013)この手法は広く適応可能であるとともに、分子数効果が重要になる現象の前段階の解析となっている。また、細胞が示す多様な運動形態を、化学コンパスを変数として導入した数理モデルを提案した(submitted)。特長として、無限自由度から自動的に支配的な少数モードが現れ、渡り歩くダイナミクスを記述するための数理的表現法を得ている。これらの結果をうけ、レセプター分子のばらつき(個性)が果たす役割を明らかにする数理モデルを発展、解析中である。

A03 公募(濱田班)

細胞内の代表的な少数分子である DNA のマイクロ空間内分子挙動の理解は、少数分子から成る細胞システム特性を解明するために重要な課題である。本研究では、細胞サイズの単分子膜油中液滴を用いて、脂質膜界面で囲まれた細胞模擬空間を作り出し、小胞内での DNA 分子挙動を解析した。T4 ファージ DNA に蛍光色素 YOYO-1 を加え、ポリアミン

spermidine (SPD)によりDNAの高次構造(coilおよびglobule状態)を調整した。細胞サイズ液滴内部のDNAを顕微鏡観察した結果、小胞の空間サイズに依存して、DNAが膜に特異的に吸着することを見出した(論文投稿準備中)。これは、微小空間に閉じ込められた有限個数の分子システムが、小胞空間サイズに依存してその挙動を変化させることを示している(微小空間特性)。

A03 公募(鈴木班)

真核細胞は有糸分裂において高度な蛋白質の制御を駆使して細胞質成分を分配し、少数性を維持する。本研究では、モデル実験系を用い、少数性を維持するためのより原始的な物理機構があり得るかを問うた。24年度は、細胞の内封物質モデルとして直径 $1\sim 10\mu\text{m}$ の蛍光ポリスチレンビーズを用い、モデル細胞膜が分裂様変形する際の娘ベシクルへの分配様式を統計的に評価した。娘ベシクルと内封物質のサイズの関係に依存し、ポアソン統計からはずれてより均等に分配され得ることが明らかとなった (Analytical Methods 2012)。

A03 公募(栗津班)

GPCRシグナル伝達系のような膜上で進行する反応過程について、分子の排除体積を考慮したシグナル伝達系モデルを用い、理論的に解析した。その結果、膜上における分子混合いによる、反応可能な分子数の実効的少数化によって、シグナル伝達効率が分子密度に対し複雑な依存性を示す事、この依存性が、反応過程と排除体積効果によって自発的に生じる、分子分布の特徴的なパターン形成に起因している事等を見出した(PlosOne 2013)。

8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

主な論文(○は領域内共同研究による成果)

A01-1 野地班(合計:26 報)

1. Yamanaka, M., Saito, K., Smith, N.I., Kawata, S., Nagai, T., and *Fujita, K. (2013). Saturated excitation (SAX) of fluorescent proteins for sub-diffraction-limited imaging of living cells in three dimensions. **Interface FOCUS**. *accepted*
2. Shimozawa, T., Yamagata, K., Kondo, T., Hayashi, S., Shitamukai, A., Konno, D., Matsuzaki, F., Takayama, J., Onami, S., Nakayama, H., Kosugi, Y., Watanabe, T.M., Fujita, K., and *Mimori-Kiyose, Y. (2013). Improving spinning disk confocal microscopy by preventing pinhole cross-talk for intravital imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. *In press*
3. Watanabe, R., Okuno, D., Sakakihara, S., Shimabukuro, K., Iino, R., Yoshida, M., and *Noji, H. (2012). Mechanical modulation of catalytic power on F1-ATPase. **Nature Chemical Biology** 8, 86–92.
4. Hatsugai, N., Perez Koldenkova, V., Imamura, H., Noji, H., and *Nagai, T. (2012). Changes in cytosolic ATP levels and intracellular morphology during bacteria-induced hypersensitive cell death as revealed by real-time fluorescence microscopy imaging. **Plant & Cell Physiology** 53, 1768–1775.
5. Watanabe, T.M., Tsukasaki, Y., Fujita, H., Ichimura, T., Saitoh, T., Akira, S., and *Yanagida, T. (2012). Distinct modulated pupil function system for real-time imaging of living cells. **PLoS One** 7, e44028.
6. Kim, S.H., Iwai, S., Araki, S., Sakakihara, S., Iino, R., and *Noji, H. (2012). Large-scale femtoliter droplet array for digital counting of single biomolecules. **Lab on a Chip** 12, 4986–4991.
7. *Iino, R., Hayama, K., Amezawa, H., Sakakihara, S., Kim, S.H., Matsumono, Y., Nishino, K., Yamaguchi, A., and Noji, H. (2012). A single-cell drug efflux assay in bacteria by using a directly accessible femtoliter droplet array. **Lab on a Chip** 12, 3923–3929.
8. Ichimura, T., Fujita, H., Yoshizawa, K., and *Watanabe, T.M. (2012). Engineering strain-sensitive yellow fluorescent protein. **Chemical Communications** 48, 7871–7873.
9. Uchihashi, T., Iino, R., *Ando, T., and *Noji, H. (2011). High-speed atomic force microscopy reveals rotary catalysis of rotorless F₁-ATPase. **Science** 333, 755–758.
10. Furuie, S., Nakano, M., Adachi, K., Noji, H., Kinoshita, K., and *Yokoyama, K. (2011). Resolving stepping rotation in *Thermophilus* H(+)-ATPase/synthase with an essentially drag-free probe. **Nature Communications** 2, 233.
11. Nakano, M., *Imamura, H., Nagai, T., and Noji, H. (2011). Ca²⁺ regulation of mitochondrial ATP synthesis visualized at the single cell level. **ACS Chemical Biology** 6, 709–715.

A01-2 永井班(合計:24 報)

1. Yamanaka, M., Saito, K., Smith, N.I., Kawata, S., Nagai, T., and *Fujita, K. (2013). Saturated excitation (SAX) of fluorescent proteins for sub-diffraction-limited imaging of living cells in three dimensions. **Interface FOCUS**. *accepted*
2. Wu, J., Liu, L., Matsuda, T., Zhao, Y., Rebane, A., Drobizhev, M., Chang, Y.-F., Araki, S., Arai, Y., March, K., Thomas, H.E., Sagou, K., Miyata, T., *Nagai, T., *Li, W.-H., *Campbell, R.E. (2013). Improved orange and red Ca²⁺ indicators and photophysical considerations for optogenetic applications. **ACS Chemical Neuroscience**. *in press*.
3. Biswas, S., Kinbara, K., Niwa, T., Taguchi, H., Ishii, N., Watanabe, S., Miyata, K., Kataoka, K., and *Aida, T. (2013). Biomolecular robotics for chemomechanically driven guest delivery fuelled by intracellular ATP. **Nature Chemistry**. *In press*
4. Muraoka, T., Adachi, K., Ui, M., Kawasaki, S., Sadhukhan, N., Obara, H., Tochio, H., Shirakawa, M., and *Kinbara, K. (2013). A structured monodisperse PEG for the effective suppression of protein aggregation. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)** 52, 2430–2434
5. Hatsugai, N., Perez Koldenkova, V., Imamura, H., Noji, H., and *Nagai, T. (2012). Changes in cytosolic ATP levels and intracellular morphology during bacteria-induced hypersensitive cell death as revealed by real-time fluorescence microscopy imaging. **Plant & Cell Physiology** 53, 1768–1775.
6. Saito, K., Chang, Y.-F., Horikawa, K., Hatsugai, N., Higuchi, Y., Hashida, M., Yoshida, Y., Matsuda, T., Arai, Y., and *Nagai, T. (2012). Luminescent proteins for high-speed single-cell and whole-body imaging. **Nature Communications** 3, 1262.
7. Hihara, S., Pack, C.-G., Kaizu, K., Tani, T., Hanafusa, T., Nozaki, T., Takemoto, S., Yoshimi, T., Yokota, H., Imamoto, N., Sako, Y., Kinjo, M., Takahashi, K., Nagai, T., and *Maeshima, K. (2012). Local nucleosome dynamics facilitate chromatin accessibility in living mammalian cells. **Cell Reports** 2, 1645–1656.
8. 齋藤健太, 永井健治 "生物発光を利用した細胞内カルシウムイメージング" **生物物理**, 49:30-31, 2012
9. 堀川一樹, 永井健治 "細胞性粘菌の集合流形成における細胞間シグナル伝達" **生物の科学 遺伝**, 65:87-91, 2011
10. Zhao, Y., Araki, S., Wu, J., Teramoto, T., Chang, Y.-F., Nakano, M., Abdelfattah, A.S., Fujiwara, M., Ishihara, T., Nagai, T., *Campbell, R.E., (2011). An Expanded Palette of Genetically Encoded Ca²⁺ Indicators. **Science** 333, 1888–1891
11. Nakano, M., *Imamura, H., Nagai, T., and Noji, H. (2011). Ca²⁺ regulation of mitochondrial ATP synthesis visualized at the single cell level. **ACS Chemical Biology** 6, 709–715.

A02-1 石島班(合計:14 報)

1. *Nishiyama, M., Sowa, Y., Kimura, Y., Homma, M., Ishijima, A., and Terazima, M. (2013). High hydrostatic pressure induces counterclockwise to clockwise reversals of the *Escherichia coli* flagellar motor. **Journal of Bacteriology** 195, 1809–1814.
2. Muraoka, T., Adachi, K., Ui, M., Kawasaki, S., Sadhukhan, N., Obara, H., Tochio, H., Shirakawa, M., and *Kinbara, K. (2013). A structured monodisperse PEG for the effective suppression of protein aggregation. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)** 52, 2430–2434.
3. Yamada, H., Mizusawa, K., Igarashi, R., Tochio, H., Shirakawa, M., Tabata, Y., Kimura, Y., Kondo, T., *Aoyama, Y., and *Sando, S. (2012). Substrate/Product-targeted NMR monitoring of pyrimidine catabolism and its inhibition by a clinical drug. **ACS Chemical Biology** 7, 535–542.
4. 栢尾豪人, 白川昌宏 "磁気共鳴を使った真核細胞内タンパク質の構造・機能解析" **薬学雑誌**, 132:185-193, 2012
5. *Tochio, H. (2012). Watching protein structure at work in living cells using NMR spectroscopy. **Current Opinion in Chemical Biology** 16,

609–613.

- Arita, K., Isogai, S., Oda, T., Unoki, M., Sugita, K., Sekiyama, N., Kuwata, K., Hamamoto, R., Tochio, H., Sato, M., *Ariyoshi, M., and *Shirakawa M. (2012). Recognition of modification status on a histone H3 tail by linked histone reader modules of the epigenetic regulator UHRF1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** *109*, 12950–12955.
- Igarashi, R., Yoshinari, Y., Yokota, H., Sugi, T., Sugihara, F., Ikeda, K., Sumiya, H., Tsuji, S., Mori, I., Tochio, H., *Harada, Y., and *Shirakawa M. (2012). Real-time background-free selective imaging of fluorescent nanodiamonds in vivo. **Nano Letters** *12*, 5726–5732.
- *Ohnishi, H., *Tochio, H., Kato, Z., Kawamoto, N., Kimura, T., Kubota, K., Yamamoto, T., Funasaka, T., Nakano, H., Wong, R.W., Shirakawa M., Kondo N. (2012). TRAM is involved in IL-18 signaling and functions as a sorting adaptor for MyD88. **PLoS One** *7*, e38423.
- *Fukuoka, H., Inoue, Y., and Ishijima, A. (2012). Coordinated regulation of multiple flagellar motors by the Escherichia coli chemotaxis system. **Biophysics** *8*, 59–66.
- Terasawa, S., Fukuoka, H., Inoue, Y., Sagawa, T., Takahashi, H., and *Ishijima, A. (2011). Coordinated reversal of flagellar motors on a single Escherichia coli cell. **Biophysical Journal** *100*, 2193–2200.

A02-2 前島班(合計:15報)

- *Yoshimura, S.H., Otsuka, S., Kumeta, M., Taga, M., and Takeyasu, K. (2013). Intermolecular Disulfide Bonds among Nucleoporins Regulate Karyopherin-dependent Nuclear Transport. **Journal of Cell Science**. *In press*
- Shang, W.-H., Hori, T., Martins, N.M.C., Toyoda, A., Misu, S., Monma, N., Hiratani, I., Maeshima, K., Ikeo, K., Fujiyama, A., Kimura, H., Earnshaw, W.C., and *Fukagawa T. (2013). Chromosome engineering allows the efficient isolation of vertebrate neocentromeres. **Developmental Cell** *24*, 635–648.
- 野崎慎, 前島一博 "30nm クロマチン線維は存在しない!" **化学と生物**, 51:177-182, 2013
- Joti, Y., Hikima, T., Nishino, Y., Kamada, F., Hihara, S., Takata, H., Ishikawa, T., and *Maeshima, K. (2012). Chromosomes without a 30-nm chromatin fiber. **Nucleus** *3*, 404–410.
- 前島一博 "不規則な収納が生む自由" **JT 生命誌研究館「生命誌」**, 73, 2012
- Nishino, Y., Eltsov, M., Joti, Y., Ito, K., Takata, H., Takahashi, Y., Hihara, S., Frangakis, A.S., Imamoto, N., Ishikawa, T., *Maeshima, K. (2012). Human mitotic chromosomes consist predominantly of irregularly folded nucleosome fibres without a 30-nm chromatin structure. **The EMBO Journal** *31*, 1644–1653.
- 前島一博, 城地保昌, 西野吉則, 高田英昭, 鎌田福美, 日原さえら "ヒトゲノム DNA の不規則で柔軟な収納原理" **生物物理**, 53:41374, 2013
- Hihara, S., Pack, C.-G., Kaizu, K., Tani, T., Hanafusa, T., Nozaki, T., Takemoto, S., Yoshimi, T., Yokota, H., Imamoto, N., Sako, Y., Kinjo, M., Takahashi, K., Nagai, T., and *Maeshima, K. (2012). Local nucleosome dynamics facilitate chromatin accessibility in living mammalian cells. **Cell Reports** *2*, 1645–1656.
- *Maeshima, K., Iino, H., Hihara, S., and Imamoto, N. (2011). Nuclear size, nuclear pore number and cell cycle. **Nucleus** *2*, 113–118.
- Takata, H., and *Maeshima, K. (2011). Irregular folding of nucleosomes in the cell: comment on "Cracking the chromatin code: precise rule of nucleosome positioning" by Edward N. Trifonov. **Physics of Life Reviews** *8*, 51–2; discussion 69–72.
- 谷口雄一 "細胞内遺伝子発現の1分子計測" **現代化学**, 488:44-45, 2011

A02-3 上田班(合計:6報)

- Sasagawa, Y., Nikaido, I., Hayashi, T., Danno, H., Uno, K.D., Imai, T., and *Ueda, H.R. (2013). Quartz-Seq: a highly reproducible and sensitive single-cell RNA-Seq reveals non-genetic gene expression heterogeneity. **Genome Biology** *14*, R31.
- *Okamura-Oho, Y., Shimokawa, K., Takemoto, S., Hirakiyama, A., Nakamura, S., Tsujimura, Y., Nishimura, M., Kasukawa, T., Masumoto, K., Nikaido, I., Shigeyoshi, Y., Ueda, H.R., Song, G., Gee, J., Himeno, R., and Yokota H. (2012). Transcriptome tomography for brain analysis in the web-accessible anatomical space. **PLoS One** *7*, e45373.
- Jolley, C.C., Ode, K.L., and *Ueda, H.R. (2012). A design principle for a posttranslational biochemical oscillator. **Cell Reports** *2*, 938–950.
- 中嶋正人, 鶴飼 蓼沼磨貴, 上田泰己 "哺乳類概日時計の設計原理: 発現時刻制御, 遅れ, 温度補償性の分子機構" **細胞工学**, 30 No.12:1282-1287, 2011
- Kasukawa, T., Sugimoto, M., Hida, A., Minami, Y., Mori, M., Honma, S., Honma, K., Mishima, K., *Soga, T., and *Ueda, H.R. (2012). Human blood metabolite timetable indicates internal body time. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** *109*, 15036–15041.
- Khan, S.K., Xu, H., Ukai-Tadenuma, M., Burton, B., Wang, Y., Ueda, H.R., and *Liu, A.C. (2012). Identification of a novel cryptochrome differentiating domain required for feedback repression in circadian clock function. **The Journal of Biological Chemistry** *287*, 25917–25926.

A03-1 富樫班(合計:7報)

- Terentyeva, T.G., Hofkens, J., Komatsuzaki, T., *Blank, K., and *Li, C.-B. (2013). Time-resolved single molecule fluorescence spectroscopy of an α -chymotrypsin catalyzed reaction. **The Journal of Physical Chemistry. B** *117*, 1252–1260.
- *Kawai, S., and Komatsuzaki, T. (2013). Effect of timescale on energy landscape: Distinction between free-energy landscape and potential of mean force. **Physical Review E** *87*, 030803.
- Morimatsu, M., Togashi, Y., Nishikawa, S., Sugawa, M., Iwane, A.H., and *Yanagida, T. (2012). Spontaneous structural changes in actin regulate G-F transformation. **PLoS One** *7*, e45864.
- *Düttmann, M., Togashi, Y., Yanagida, T., and Mikhailov, A.S. (2012). Myosin-V as a mechanical sensor: an elastic network study. **Biophysical Journal** *102*, 542–551.
- Terentyeva, T.G., Engelkamp, H., Rowan, A.E., *Komatsuzaki, T., *Hofkens, J., *Li, C.-B., and *Blank, K. (2012). Dynamic disorder in single-enzyme experiments: facts and artifacts. **ACS Nano** *6*, 346–354.
- *Düttmann, M., Mittenzweig, M., Togashi, Y., Yanagida, T., and Mikhailov, A.S. (2012). Complex intramolecular mechanics of G-actin--an elastic network study. **PLoS One** *7*, e45859.
- Kamagata, K., Kawaguchi, T., Iwahashi, Y., Baba, A., Fujimoto, K., Komatsuzaki, T., Sambongi, Y., Goto, Y., and *Takahashi, S. (2012). Long-term observation of fluorescence of free single molecules to explore protein-folding energy landscapes. **Journal of the American Chemical Society** *134*, 11525–11532.

A03-2 今田班(合計:20報)

- Yamashita, H., Inoue, K., Shibata, M., Uchihashi, T., Sasaki, J., Kandori, H., and *Ando, T. (2013). Role of trimer-trimer interaction of bacteriorhodopsin studied by optical spectroscopy and high-speed atomic force microscopy. **Journal of Structural Biology**. *In press*

2. Terashima, H., Li, N., Sakuma, M., Koike, M., Kojima, S., *Homma, M., and *Imada, K. (2013). Insight into the assembly mechanism in the supramolecular rings of the sodium-driven Vibrio flagellar motor from the structure of FlgT. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** *110*, 6133–6138.
3. Martinez-Argudo, I., Veenendaal, A.K.J., Liu, X., Roehrich, a D., Ronessen, M.C., Franzoni, G., Van Rietschoten, K.N., Morimoto, Y. V, Saijo-Hamano, Y., Avison, M.B., Studholme, D.J., Namba, K., Minamino, T., *Blocker, A.J. (2013). Isolation of Salmonella mutants resistant to the inhibitory effect of Salicylidene acylhydrazides on flagella-mediated motility. **PLoS One** *8*, e52179.
4. Morimoto, Y. V, Nakamura, S., Hiraoka, K.D., Namba, K., and *Minamino, T. (2013). Distinct roles of highly conserved charged residues at the MotA-Flig interface in bacterial flagellar motor rotation. **Journal of Bacteriology** *195*, 474–481.
5. *Ando, T., Uchihashi, T., and Kodera, N. (2013). High-Speed AFM and Applications to Biomolecular Systems. **Annual Review of Biophysics** *42*, 393–414.
6. Kishikawa, J.-I., Ibuki, T., Nakamura, S., Nakanishi, A., Minamino, T., Miyata, T., Namba, K., Konno, H., Ueno, H., *Imada, K., *Yokoyama K. (2013). Common evolutionary origin for the rotor domain of rotary ATPases and flagellar protein export apparatus. **PLoS One** *8*, e64695.
7. Takekawa, N., Terauchi, T., Morimoto, Y. V, Minamino, T., Lo, C.-J., Kojima, S., and *Homma, M. (2013). Na⁺ conductivity of the Na⁺-driven flagellar motor complex composed of unplugged wild-type or mutant PomB with PomA. **Journal of Biochemistry** *153*, 441–451.
8. Uchihashi, T., Kodera, N., and *Ando, T. (2012). Guide to video recording of structure dynamics and dynamic processes of proteins by high-speed atomic force microscopy. **Nature Protocols** *7*, 1193–1206.
9. 小嶋誠司, 今田勝巳 "ペリプラズム膜構造から見たべん毛モーター構築とモーターの活性化機構" **生物物理**, 52:18-21, 2012
10. 今田勝巳, 南野徹 "べん毛モーター逆回転のしくみに挑む" **化学**, 67:37-41, 2012
11. Yamashita, H., Taoka, A., Uchihashi, T., Asano, T., Ando, T., and *Fukumori, Y. (2012). Single-molecule imaging on living bacterial cell surface by high-speed AFM. **Journal of Molecular Biology** *422*, 300–309.
12. Uchihashi, T., Iino, R., *Ando, T., and *Noji, H. (2011). High-speed atomic force microscopy reveals rotary catalysis of rotorless F₁-ATPase. **Science** *333*, 755–758.

A01 公募班(合計:21 報)

1. Yamashita, H., Inoue, K., Shibata, M., Uchihashi, T., Sasaki, J., Kandori, H., and *Ando, T. (2013). Role of trimer-trimer interaction of bacteriorhodopsin studied by optical spectroscopy and high-speed atomic force microscopy. **Journal of Structural Biology**. *In press*
2. Yamashita, T., Nakamura, S., Tsutsui, K., Morizumi, T., and *Shichida, Y. (2013). Chloride-dependent spectral tuning mechanism of L-group cone visual pigments. **Biochemistry** *52*, 1192–1197.
3. 水上進, 菊地和也 "細胞蛋白質への機能性分子ラベリング技術" **未来材料**, 2:2-5, 2013
4. Inoue, K., Ono, H., Abe-Yoshizumi, R., Yoshizawa, S., Ito, H., Kogure, K., and *Kandori, H. (2013). A light-driven sodium ion pump in marine bacteria. **Nature Communications** *4*, 1678.
5. *Yakabe, T., Shimohata, T., and Takahashi, A. (2013). Lactobacillus brevis KB290 enhances IL-8 secretion by Vibrio parahaemolyticus-infected Caco-2 cells. **Journal of Microbiology and Biotechnology** *23*, 118–124.
6. Uezu, A., Okada, H., Murakoshi, H., Del Vescovo, C.D., Yasuda, R., Diviani, D., and *Soderling, S.H. (2012). Modified SH2 domain to phototrap and identify phosphotyrosine proteins from subcellular sites within cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** *109*, E2929–38.
7. Hori, Y., Nakaki, K., Sato, M., Mizukami, S., and *Kikuchi, K. (2012). Development of protein-labeling probes with a redesigned fluorogenic switch based on intramolecular association for no-wash live-cell imaging. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)** *51*, 5611–5614.
8. *Kusumi, A., Fujiwara, T.K., Chadda, R., Xie, M., Tsunoyama, T. a, Kalay, Z., Kasai, R.S., and Suzuki, K.G.N. (2012). Dynamic organizing principles of the plasma membrane that regulate signal transduction: commemorating the fortieth anniversary of Singer and Nicolson's fluid-mosaic model. **Annual Review of Cell and Developmental Biology** *28*, 215–250.

A02 公募班(合計:14 報)

1. Lo, C.-J., Sowa, Y., Pilizota, T., and *Berry, R.M. (2013). Mechanism and kinetics of a sodium-driven bacterial flagellar motor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. *in press*
2. *Kojima, M., Zhang, Z., Nakajima, M., Ooe, K., and Fukuda, T. (2013). Construction and evaluation of bacteria-driven liposome. **Sensors and Actuators B: Chemical** *183*, 395–400.
3. Nagata, K.O., Nakada, C., Kasai, R.S., *Kusumi, A., and *Ueda, K. (2013). ABCA1 dimer-monomer interconversion during HDL generation revealed by single-molecule imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** *110*, 5034–5039.
4. 西山宗一郎, 田島寛隆, 川岸郁朗 (2013) "講座「細菌の環境認識と適応」6. 細菌走化性受容体の多刺激認識能" **防菌防黴誌**, 41 35-43
5. *Kojima, M., Nakajima, M., Takiguchi, K., Homma, M., Kondo, T., and Fukuda, T. (2012). Control of biological clock activity encapsulated by lipid-mono-layer. **2012 IEEE International Conference on Robotics and Automation** 2196–2201.
6. Nishiyama, S., Suzuki, D., Itoh, Y., Suzuki, K., Tajima, H., Hyakutake, A., Homma, M., Butler-Wu, S.M., Camilli, A., and *Kawagishi, I. (2012). Mlp24 (McpX) of Vibrio cholerae implicated in pathogenicity functions as a chemoreceptor for multiple amino acids. **Infection and Immunity** *80*, 3170–3178.
7. Cho, K., Kasai, R.S., Park, J.-H., Chigurupati, S., Heidorn, S.J., Van der Hoeven, D., Plowman, S.J., Kusumi, A., *Marais, R., and *Hancock, J.F. (2012). Raf inhibitors target ras spatiotemporal dynamics. **Current Biology** *22*, 945–955.
8. #Tokunaga, T., #Namiki, S.(# equal contribution), Yamada, K., Imaishi, T., Nonaka, H., Hirose, K., and *Sando, S. (2012). Cell surface-anchored fluorescent aptamer sensor enables imaging of chemical transmitter dynamics. **Journal of the American Chemical Society** *134*, 9561–9564.
9. Suzuki, K.G.N., Kasai, R.S., Hirose, K.M., Nemoto, Y.L., Ishibashi, M., Miwa, Y., Fujiwara, T.K., and *Kusumi, A. (2012). Transient GPI-anchored protein homodimers are units for raft organization and function. **Nature Chemical Biology** *8*, 774–783.

A03 公募班(合計:11 報)

1. #Taniguchi, D., #Ishihara, S. (#equal contribution), Oonuki, T., Honda-Kitahara, M., Kaneko, K., and *Sawai, S. (2013). Phase geometries of two-dimensional excitable waves govern self-organized morphodynamics of amoeboid cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences** *110*, 5016–5021.

2. *Fujii, M., Nishimori, H., and Awazu, A. (2013). Influences of excluded volume of molecules on signaling processes on the biomembrane. *PLoS One* 8, e62218.
3. 澤井哲, 石原秀至, 中島昭彦 (2013) “1 細胞イメージングから見る細胞内シグナルの自己組織化現象” *実験医学* 31, 1217-1223
4. *Hamada, T., and *Yoshikawa, K. (2012). Cell-Sized Liposomes and Droplets: Real-World Modeling of Living Cells. *Materials* 5, 2292–2305.
5. Muraoka, T., Shima, T., Hamada, T., Morita, M., Takagi, M., Tabata, K. V., Noji, H., and *Kinbara, K. (2012). Ion permeation by a folded multiblock amphiphilic oligomer achieved by hierarchical construction of self-assembled nanopores. *Journal of the American Chemical Society* 134, 19788–19794.
6. Sakakura, T., Nishimura, K., Suzuki, H., and *Yomo, T. (2012). Statistical analysis of discrete encapsulation of nanomaterials in colloidal capsules. *Analytical Methods* 4, 1648.
7. 濱田勉 “ジヤイアントリポソームを用いた細胞機能解析” *薬剤学*, 72:211-214, 2012
8. *Kondo, Y., Kaneko, K., and Ishihara, S. (2012). Identifying dynamical systems with bifurcations from noisy partial observation. *Physical Review E* 87, 042716.

書籍

1. Takata, H., Matsunaga, S., and Maeshima, K. (2013). The Organization of Genomic DNA in Mitotic Chromosomes: A Novel View. In *Plant Genome Diversity Volume 2 SE - 3*, J. Greilhuber, J. Dolezel, and J.F. Wendel, eds. (Springer Vienna), pp. 33–44.
2. Uchihashi, T., and Ando, T. (2011). High-Speed Atomic Force Microscopy and Biomolecular Processes. In *Atomic Force Microscopy in Biomedical Research SE - 18*, P.C. Braga, and D. Ricci, eds. (Humana Press), pp. 285–300.
3. Igarashi, K., Uchihashi, T., Koivula, A., Wada, M., Kimura, S., Penttilä, M., Ando, T., and Samejima, M. (2012). Visualization of cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei* moving on crystalline cellulose using high-speed atomic force microscopy. *Methods in Enzymology* 510, 169–182.
4. 柄尾豪人, 白川昌宏, NMR で細胞内のタンパク質を見る「ここまで進んだバイオセンシング・イメージング」(CSJ カレントレビュー), pp.144-149, *化学同人*. (分担執筆)
5. 小松崎民樹 “1 分子実験を読み解くための新しい実践型分子理論を目指して” 第二次先端ウオッチング調査：融合領域の創生「高次分子システムのための分子 科学：実験と理論の挑戦」, *公益社団法人日本化学会学術研究活性化委員会編*, 31-34, 2012
6. 村越秀治 第三篇第 1 章 6 節 オプトジェネティクスによる神経細胞シナプス内シグナル伝達分子活性化イメージング オプトジェネティクス (光遺伝学), pp.235-243, (株)エヌ・ティー・エス. (分担執筆)
7. 矢島潤一郎 理系総合のための生命科学 羊土社. (分担執筆)

主催シンポジウム

1. 第 50 回日本生物物理学会年会シンポジウム「1 分子生物学と生化学の狭間に潜むナノシステム動作力学の理解を目指して」2012 年 9 月 22 日、於：名古屋大学東山キャンパス
2. 第 1 回少数性生物学国際会議「Paradigm Innovation in Biology: Novel Strategy and Thinking」2012 年 10 月 16–18 日、於：Academia Sinica Activity Center (台湾、台北)
3. 第 35 階日本分子生物学会年会シンポジウム「1 分子生物学と生化学の狭間に潜むナノシステム動作力学の理解を目指して」2012 年 12 月 11 日、於：マリンメッセ福岡
4. 第 85 回日本生化学会大会シンポジウム「少数性：生化学の新たな視点」2012 年 12 月 16 日、於：マリンメッセ福岡
5. The 14th International Membrane Research Forum (協賛：新学術領域少数性生物学)、2013 年 3 月 15–17 日、於：京大 iCeMS
6. 第 69 回日本顕微鏡学会学術講演会シンポジウム「最先端バイオイメージングによる生命システムの動作原理解明に向けて」2013 年 5 月 22 日、於：阪急エキスポパークホテル
7. 第 65 回日本細胞生物学会大会シンポジウム「少数要素の分子反動的視点から細胞生物学的現象を理解する試み」、2013 年 6 月 20 日、於：ウインクあいち

ホームページ

1. 新学術領域ホームページ「少数性生物学一個と多数の狭間が織りなす生命現象の探求一」
<http://www.paradigm-innovation.jp/index.html>
2. 共通利用設備バイオナノフォトニクスコンソーシアム
<http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/bse/src/index.html>

アウトリーチ活動

1. 岡田康志 「小さな分子モーターの大きな働き —記憶やアルツハイマー病から内臓の配置まで—」と題して、一般向けに講演を行った。理化学研究所神戸研究所, 2012 年 10 月
2. 永井健治 「オワンクラゲの研究から」として小学生・中学生向けに授業を行った。北三瓶小学校、中学校 2012 年 11 月 16 日
3. 永井健治 「少数分子の反応が生物を支配する!？」と題して、*Nature ダイジェスト*に本領域の特集記事が掲載された 2013 年 3 月号
4. 堀川一樹 ガリレオX「生き物の模様のナゾに迫る」において、研究室及び資料提供を行った。2012 年 10 月 7 日(日)9:30~10:00 BS フジ放送
5. 堀川一樹 NHK サイエンスZERO シリーズ細胞の世界(1) 体をつくる不思議 外務省の機関からの要請で発展途上国に対し、番組などの教育コンテンツを提供した 2013 年 3 月 18 日
6. 金原 数 「楽しい理科のはなし～不思議の箱を開けよう～」として、小学生向けに授業を行った 宮城県大和町立落合小学校 2013 年 6 月 12 日
7. 金原 数 「楽しい理科のはなし～不思議の箱を開けよう～」として、小学生向けに授業を行った 宮城県松島町立松島第二小学校 2012 年 7 月 12 日
8. 山東信介 九州大学百周年記念事業「九大百年祭り」研究公開にて小・中・高・一般を対象とした科学実験を行った。九州大学 2012 年 5 月 13 日
9. 山東信介 見学会において中学・高校生向けの講演・科学実験を行った。岡山県金光学園中学高等学校, 2012 年 8 月 3 日
10. 山東信介 見学会にて幼稚園生を対象とした科学実験を行った。福岡県可也幼稚園 2012 年 11 月 14 日

11. 吉村成弘・糸田昌宏 ナノの目で見えるバイオの世界と題してスーパーサイエンスハイスクール向け講義・実習を行った。滋賀県立膳所高等学校 2011年4月15日～2011年9月30日
12. 前島一博 「細胞の中の核と染色体 ～生命の設計図 DNA のふしぎ～」と題して一般市民に講演を行った。国立遺伝学研究所講堂 2012年4月7日
13. 前島一博 「細胞のなかのDNA」と題して、高校1年生に授業を行った。静岡県立富士高等学校 2012年8月27日
14. 原田慶恵 「DNAを顕微鏡で観察してみよう」として、高校生向けに実験を行った。第7回女子中高生のための関西科学塾 2012年10月21日
15. 前島一博 「DNAのふしぎ」と題して、中学3年生と高校3年生に講演した。静岡学園 中学・高校 2011年12月11日
16. 上田泰己 概日時計一般について、読売新聞東京本社編集局科学部の担当の方にショートレクチャー、および資料提供をした。読売新聞東京本社 2012年11月21日
17. 今田勝巳 市民講座 細菌の中ではたらく超精密機械として、中学生以上を対象としたサイエンス・カフェをおこなった。大阪大学博物館 2013年2月2日
18. 小嶋勝 中学生にマイクロロボティクスと分子機械に関して、中学生に講義及び研究室の紹介を行った。松原第三中学 2013年2月15日
19. 曾和義幸 高校教員への顕微鏡技術等の研究紹介を行った。法政大学 2012年5月26日

9. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

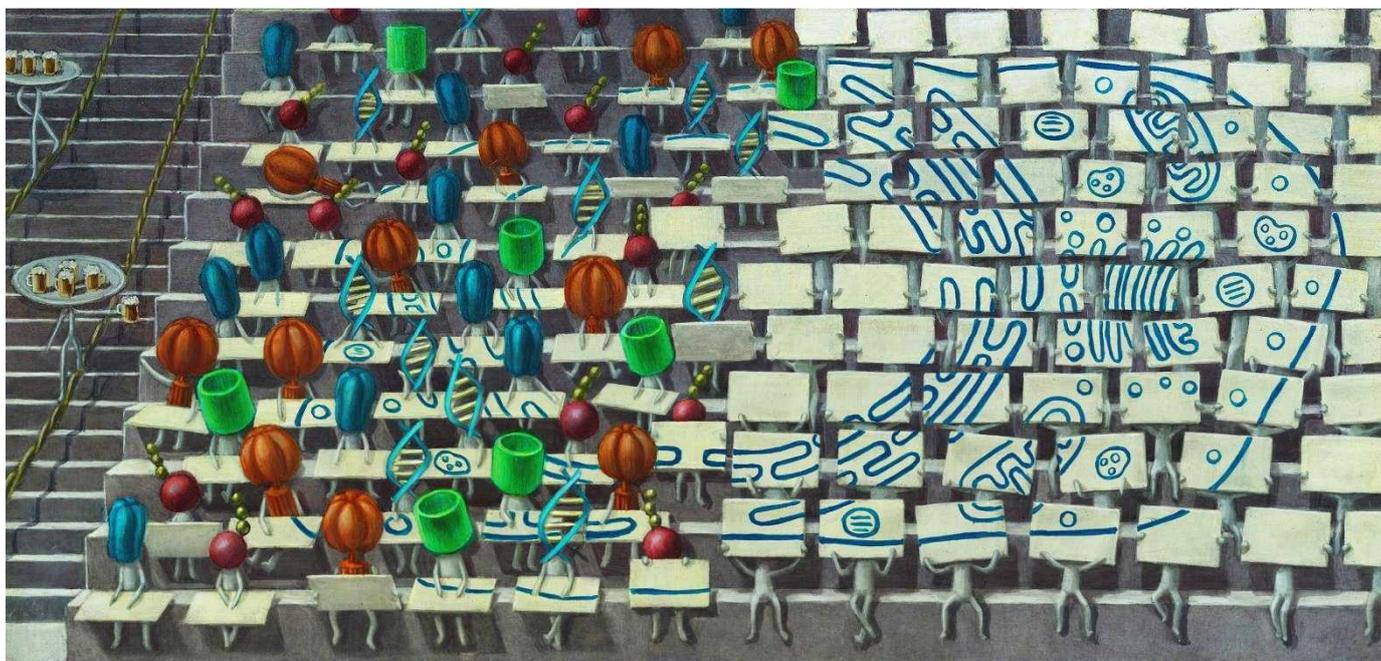
今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

研究領域の推進方策

本領域は①計測技術の開発、②モデル生命現象における適用、③得られたデータからの理論構築と再構成系による検証、の3つの大きな枠組みから構成されている。これらが個々の研究を進めつつも、相互に連携することで、少数分子の協働性や少数分子による空間階層を超えたシステムダイナミクスの決定など、既存の学問には取まらない新しい概念に基づいた新たな学問領域を創出する、というのが本研究領域の目的である。

参画する研究者は個性あふれる有力若手研究者ばかりであり、彼ら自身の個々の研究を推し進めるだけでも十分な研究成果が期待できる。しかしながら、それは本領域の目指すところではない。この個性豊かであっておくとランダムに行動する研究者集団に協働性を持たせ、新学問の創出に向かって一致団結した研究を行わせるには、どのような仕組みを作れば良いのかを問うことこそそのものが、まさに少数性生物学が解くべき命題であり、本領域の目指すところでもある。つまり、領域推進自体が領域の研究テーマになっている。

以下は、その様子を端的に表した本領域「少数性生物学」のロゴマークである。



この絵の左半分は細胞の中に様々な種類の生体分子があり、それらが好き勝手に行動している様子が示されている。あるものは考え込み、またあるものは寝ているという具合である。一方、右半分は生体分子が一致団結してプラカードを掲げ、ある模様（細胞内の構造・機能）を作り出している様子が見て取れる。このような一致団結または協働性を生み出すために、本研究領域では年2回の領域会議を実施してきた。そこではメンバー一人に対し、「3つ以上の質問」と「3つ以上の交流」により「3つ以上の論文を書く」ということを義務付けてきた。これを実質化するために、研究発表よりもディスカッションの時間を長く取るというスタイルに徹してきた。その甲斐あって、前回領域会議では135の質疑応答で会議はまさに“沸騰”した。その他にも様々な仕掛けを施しているが、このような取り組みが功を奏して、70以上の実質的（名目ではない）領域内共同研究が始動し、既に20報の領域内共同研究論文が発表されるに至っている。

この活発な領域活動はかなりの伝染性があり、「お金は自前で払うから領域会議に参加させてもらえないか？」との打診が領域外の研究者から多数あった。外部侵入者はシステムの適応性と頑健性を試す絶好の機会である。

当然、参加して頂き、大いに掻き回して頂いた。非常に好ましいことに、そのディスカッションの過程で少数性生物学を遂行する上でのいくつかの問題点・疑問点が垣間見えてきた。以下にそれぞれの問題点と今後の対応策を記す。

少数性生物学とは？

「少数性生物学」は日本発の学問である。というよりもまだ学問として認知されるまで成熟していない。この耳慣れない得体の知れない言葉を聞いて、領域外の研究者がどういう学問なのかを想像すらできないということが分かってきた。これならまだしも、少数性生物学を遂行するために集まっている領域内にさえ「具体的なゴールがイメージできない」と言う研究者がいる状況である。これでは効率よく領域研究を推進することは出来ない。この打開策として少数性の生物学的具体例を炙り出す必要があると考えられる。既に、領域メンバー全員にそれぞれが思う少数性生物学の具体例をピックアップしてもらった。今後はこの具体例を基に少数性生物学の統一イメージを構築し、合わせて少数性生物学のゴール・出口はどこにあるのかを明確化する。

国内外研究者との連携の機会を増やし組織強化する方策

領域内の研究者に対しては上記の方策で良いが、それでは少数性生物学の概念が外部に拡散しない。そこで、既にピックアップした少数性生物学の具体例を領域HPに掲載して問題提起することで、問題意識をひろく植え付けていく。また、これまで行ってきた様々な学会でのシンポジウムを今後も継続すると共に、他の新学術領域との合同シンポジウムの開催や、少数性生物学の研究項目ごとに特化した方向性のある研究会を年に3-4回開催し、領域内外から各分野の研究者が集まって徹底的に議論する場を設ける。また、学術雑誌に特集記事を組む。さらに国際的なプレゼンスを高めるために、第一回に続き、二回目以降も海外で国際会議を開催する。また、現在海外アドバイザーとして参画して頂いている4名の外国人研究者と共に、国際学会等で共同シンポジウムなどを開催する。

不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充

本研究領域の特徴は、関連メーカーエンジニアによる技術開発支援班を設置している点にあり、これにより広域的な産学連携体制の確立と当領域の研究推進を図ってきた。しかしながら、少数性生物学が扱う広範囲な生命現象に対応するためには、さらなる技術開発支援班の増強が必要である。幸い、産業界側からの参加打診が続いているため、当領域の研究に沿うメーカーかどうかを注意深く見極めたうえで、参画して頂く。また、公募班は現状A01(少数性生物学研究に必要な技術開発と整備)班7名、A02(少数性の生物学)班10名、A03(少数性の生物学の理論構築とin vitro再構成系による検証)班4名であり、当初の想定よりもA01班が多く、A02班とA03班が少ない。A01の中では計測技術の開発に偏りが見られ、操作技術の開発が不足している。A02班では分子レベルの少数性研究に集中しすぎているきらいがある。そこで、今後はA01班についてはオプトジェネティクス等により「数」を操作する技術の開発を、A02班については細胞や個体レベルでの少数性問題を扱う研究を、A03班はより広域的視点、或いは別の視点で少数性にアプローチが可能な理論を扱う研究やマイクロロボティクスまでも含めた再構成系の研究を、重点的に補充する。

10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画（研究代表者の変更は真にやむを得ない場合に限る）（2～5ページ程度）【非公開】※本欄に記載の計画研究については、全て3年度目の審査の対象となります。

領域内の計画研究の研究代表者の交替や組織体制に大幅な変更がある場合（新しく計画研究を追加する場合や既存の計画研究を廃止する場合、領域全体の交付予定額の範囲内で各計画研究の研究経費を変更する場合（計画研究に係る経費を減額し、公募研究に係る経費を増額する場合等））には必ず記入してください。その際、以下の点を含めてください。

- ・ 計画研究を追加する場合は、追加の必要性、その計画研究が領域内で果たす役割、他の計画研究への影響等
- ・ 計画研究を廃止する場合は、廃止の理由、当該計画研究を廃止しても領域として支障がないことの説明等
- ・ 研究代表者の交替の場合は、交替の必要性、新旧の研究組織の異なる点（組織構成、領域内で果たす役割等）、新たに研究代表者になろうとする者が、旧研究代表者に替わって研究を実施できることの根拠、妥当性及びその者の研究業績等
- ・ 計画研究に係る経費と公募研究に係る経費の額の変更については、その必要性、1回目の公募研究の応募・採択状況等（公募研究に係る経費を減額して計画研究に係る経費を増額する変更は真にやむを得ない場合に限る。また、公募研究の規模に係る最低基準を下回らないこと。）
- ・ 以上の各変更に伴う他の計画研究の研究経費の変更及びその妥当性等

該当なし