

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2004～2008
 課題番号：16083101
 研究課題名（和文） 生体ナノシステムの制御：総括班

研究課題名（英文） Regulation of Bio-nanosystems

研究代表者

樋口 秀男 (HIGUCHI HIDEO)
 東京大学・大学院理学系研究科・教授
 研究者番号：90165093

研究成果の概要（和文）：総括班では「生体ナノシステムの制御」領域の全体的な研究の方針の策定と特定班員の研究結果の報告や新しいプロジェクトの提案や研究動向に対応し新しい方向性を議論する。その新しい方向性をいち早く全体に伝えるために、定期的に研究報告会を開催し、意志の疎通を図った。そのために、研究成果の発表会を毎年2回程度開催した。班員間に技術を伝えるために、顕微鏡実習を3回開いた。特定領域の前半及び最終年のとりまとめとして、国際シンポジウムを開催した。

研究の概要（英文）：The aim of a general group is that the group members determine the goal of our project and promote research work to achieve the goal. To reach the aim, we opened the annual meetings for all project members to present their works. After the meetings, we discussed the problems for reaching the goal and the plan to do. We also had international symposiums in the middle of the project and at the final project year to discuss our works internationally.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
16年度	4,400,000	0	4,400,000
17年度	14,300,000	0	14,300,000
18年度	16,000,000	0	16,000,000
19年度	14,300,000	0	14,300,000
20年度	16,300,000	0	16,300,000
総計	65,300,000	0	65,300,000

研究分野： 生物系

科研費の分科・細目： 生物科学系

キーワード： ナノシステム、ダイニン、ミオシン、キネシン、細胞

1. 研究開始当初の背景

タンパク質の構造と機能に関する研究はこの10年間にめざましい発展を遂げている。その発展には、タンパク質の原子構造と1分子解析による分子機能の理解が深まったこ

とが大きく寄与している。しかしながら、ナノメートルサイズのタンパク質が細胞の中で機能する場合は、分子単独ではなく、多種類のタンパク質から構成された機能単位としての“ナノシステム”と、さらにこれらが統合

された“高次ナノシステム”にある。生命の理解にはこのナノシステムの理解が不可欠である。本領域ではナノシステムの機能と細胞の機能とを関連づけて理解すると同時に、細胞機能の制御機構を統合的に理解する。そのために、モータータンパク質を中心として構築されたナノシステムの構造と機能を解明し、より高次のナノシステムの複雑な制御を基本制御過程に分解して理解し、細胞機能の制御の統合的な理解へと繋げる。

ポストゲノム研究で明らかにされるタンパク質の構造と機能の解析のみからでは、ヒトなどの個体を理解することはできない。個体の理解には、細胞機能の理解が不可欠であり、本特定領域のように、タンパク質の構造の理解に始まり→タンパク質機能→タンパク質システム機能→そして細胞機能へ、と1つの体系として細胞の機能制御を多角的かつ統合的に解明することが必要である。

2. 研究の目的

本特定領域「生体ナノシステムの制御」の目的は、生命の分子野持つ機能と細胞のシステム機能とを同じ統合的に理解する新しいパラダイムを創生することである。現在のところ分子と細胞では用いる技術や方法に隔たりがあるので、ナノシステムを3つの階層に分け、まず2年程度を目安に各階層を深く研究する。各階層とは(単一)ナノシステム、システムの複合した高次ナノシステム、そして細胞内ナノシステム、である。それぞれの階層内では以下のような研究を重点的に行う。

この総括班ではこの領域の全体的な研究の方針の策定と特定班員の研究結果の報告や新しいプロジェクトの提案等を行う。この班には各研究項目の代表として、樋口秀男、真行寺千佳子、広瀬謙造、内田隆史が迅速に研究動向に対応し新しい方向性を議論する。その新しい方向性をいち早く全体に伝えるために、特定領域代表の経験者である須藤に速やかなアドバイスをもらい、これを実行に移す。研究評価者を3名配置し、定期的に研究の進捗状況を説明しアドバイスを求める。また、班員間をまたがる研究を行うために、研究支援者を置く。

3. 研究の方法

(1) 班会議の開催：特定領域研究たちあげのための班会議を開催する。ここで、全体の研究方向の確認、各計画研究班の研究計画の確認、生体ナノシステムの制御領域の現状の分析などをおこなう。

(2) シンポジウムの開催：海外からの生体ナノシステムの制御研究者も交えて、「生体ナノシステムの制御」に関するシンポジウムを開催する。

(3) ニュースレター発行：班員間の情報交換と本特定領域外の研究者への研究内容紹介をかねたニュースレターを年に数回発行するための準備をはじめめる。

(4) ホームページの開設：生物モーターに関する最新情報をホームページで開示する。

(5) 研究支援：柔軟な共同研究展開を目指して、共同研究の進展が著しい研究班(計画研究、公募研究)に、班間の“のり”になるような形で研究支援者を派遣する。そのために、研究員1名、技術員1名分の研究支援者を総括班に置く。

4. 研究成果

研究成果の取りまとめ発表会

研究成果の発表会を毎年2回程度開催し、班員の成果を発表するだけでなく、共同研究体制を構築するための話し合いがもたれたその結果多数の共同研究が行われた。以下に会議の内容を述べる。

2006年：特定領域の前半のとりまとめとして、2006年9月1-3日に宮城県松島町のホテルにて泊り込みで国際シンポジウムを開催し、4名の海外招待講演及び14名の国内招待講演が行われた。領域の代表者のほか若手助教やポスドク及び院生の多数の発表が活発に行われ、研究の概略図入り予稿集を作成した(世話人：樋口、内田、真行寺)。

2005年、2007年そして2008年の3回にわたりダイニン分子研究会を開催した。第3回は領域の最終年度の2008年6月に開いた。ダイニンは本領域の掲げる主要タンパク質であり、ダイニンの構造、機能、制御に関する14題の発表と議論がなされた。これらの発表の多くは世界最先端の研究であった。

2008年10月31-11月2日には第2回特定領域主催の国際会議を東京大学の本郷キャンパスで開催した(世話人：樋口、真行寺、富重)。7名の海外招待講演及び5名の国内招待講演が行われた。領域の代表者や若手助教やポスドク及び院生の発表も活発に行われ、研究の概略図入り予稿集を作成した。

年度ごとの取りまとめ発表会リスト

2004年度

11月3日 第1回全体発表会・総括班会議(東北大)

1月7-9日 第2回全体発表会・総括班会議(大阪, 生体運動合同班会議 公開)

2005年度

9月9-10日 第3回全体発表会・総括班会議 東京大 (世話人：富重, 真行寺)

1月6-8日 第4回全体発表会・総括班会議(東大, 生体運動合同班会議 公開)

2006 年度

9 月 1-3 日 第 5 回全体発表会・総括班会議
国際シンポジウム 宮城県松島町(世話人：
樋口公開)

1 月 6-8 日 第 6 回全体発表会・総括班会議
(金沢, 生体運動合同班会議, 公開)

2007 年度

9 月 13, 14 日 第 7 回全体発表会・総括班会議
大阪千里中央 (世話人: 岩根, 荒田)

1 月 7-9 日 第 8 回全体発表会・総括班会議
仙台 (生体運動合同班会議、世話人: 樋口,
公開)

2008 年度

10 月 31-11 月 1, 2 日 第 2 回特定領域国際会議
第 9 回全体発表会・総括班会議

1 月 9-11 日 第 10 回全体発表会・総括班会議
東大 (生体運動合同班会議、世話人: 須藤,
公開)

各研究項目の連携のための特定領域の活動

領域の全体会議を毎年度 2 回開催し, 班員間の成果の発表と交流を行った. 後述の全体会議以外にもテーマを絞ったセミナーや顕微鏡実習の開催を通して研究の交流を活発に行った, また関連学会の年会等におけるシンポジウムを積極的に企画し, 学会会員とともに成果を議論した, 全体会議を除いた領域の行事を以下に挙げる.

2004 年度

12 月 14 日 生物物理学会シンポジウム 京都,
「微小管の重合・脱重合: 原子から細胞へ,
そして個体へ」座長 樋口

2005 年度

8 月 30, 31 日 第 1 回ダイニン分子研究会
宮城県蔵王町 (世話人: 樋口)

11 月 1-4 日 国際会議「Dynein 2005」神戸
(実行委員: 大岩, 豊島, 真行寺)

12 月 23 日 生物物理学会シンポジウム 札幌
「分子モーターシステム: その構造情報の流れと分子メカニズム」座長広瀬恵子, 安永

2 月 28 日 第 1 回 顕微鏡実習 (東大真行寺研, 東大富重研)

2006 年度

4 月 14 日 第 2 回 顕微鏡実習 (東北大 樋口研)

2007 年度

5 月 24-26 日 蛋白質科学会 シンポジウム
仙台 (内田, 水野).

6 月 7 日 第 2 回ダイニン分子研究会 東大
駒場 (世話人: 豊島, 樋口)

10 月 1, 2 日 第 3 回顕微鏡実習 (電子顕微鏡) つくば (広瀬, 安永)

11 月 16 日 セミナー「細胞の種々の機能制御における 3 種分子モーターの共同的役割について」東京大学本郷 (世話人: 真行寺)

11 月 10 日 セミナー「アクチン・ミオシン: 分子と細胞を如何にして結びつけるか」早稲田大 (世話人: 鈴木団, 石川)

12 月 23 日 生物物理学会シンポジウム 横浜 (座長: 大岩, 西坂)

2008 年度

6 月 12-13 日 第 3 回ダイニン分子研究会 (世話人: 稲葉)

12 月 3-5 日 生物物理学会シンポジウム 福岡「やっとわかってきたダイニン分子モーターの運動メカニズム」福岡 (座長: 樋口, 豊島)

共同研究

研究支援者はこの特定領域の目玉であるダイニン分子の発現と 1 分子値から測定を行った. その結果, 組み替えダイニン 1 分子の出す力は, 天然ダイニンよりも 30% 程度小さく, 速度は半分程度に減少することが確認された. また, 哺乳類ダイニンの精製に成功した.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件) (すべて査読有)

1. K Gonda, T M. Watanabe N. Ohuchi, and *H. Higuchi. In Vivo Nano-imaging of Membrane Dynamics in Metastatic Tumor Cells Using Quantum Dots. J. Biol. chem. 285, 2750-2757 (2010)
2. Furuta A., T. Yagi, H. Yanagisawa, H. Higuchi, and *R. Kamiya. Systematic comparison of In vitro motile properties between chlamydomonas wild-type and mutant outer arm dyneins each lacking one of the three heavy chain. J. Biol. Chem. 284, 5927-5935 (2009).
3. Yoo J., T. Kambara, K. Gonda, and *H. Higuchi. Intracellular imaging of targeted proteins la-beled with Quantum Dots. Exp Cell Res. 314, 3563-3569 (2008)
4. Sazaki, G., M. Okada, T. Matsui, T. Watanabe, H. Higuchi, K. Tsukamoto and K. Nakajima. Single-Molecule Visualization of Diffusion at the Solution-Crystal Interface. Crystall Growth and Design. 8, 2024-2031 (2008)
5. Watanabe S., T.M. Watanabe, O. Sato,

- J. Awata, K. Homma, N. Umeki, H. Higuchi, R. Ikebe, and *M. Ikebe. Human Myosin Vc Is a Low Duty Ratio Nonprocessive Motor. *J. Biol. Chem.* 283, 10581-10592 (2008)
6. Watanabe, T.M., T. Sato, K. Gonda and *H. Higuchi. Three-dimensional nanometry of vesicle transport in a living cell using dual-focus imaging optics. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* In press. (2007).
 7. Watanabe, T.M. and *H. Higuchi. Stepwise Movements in Vesicle Transport of HER2 by Motor Proteins in Living Cells. *Biophysical J.* 92, 1-12, (2007).
 8. H. Tada, *H. Higuchi, T. M. Watanabe, and N. Ohuchi: In vivo Real-time Tracking of Single Quantum Dots Conjugated with Monoclonal Anti-HER2 Antibody in Tumors of Mice. *Cancer Res.* 2007 67: 1138-44.
 9. S. Li-Shishido, T. M. Watanabe, H. Tada, *H. Higuchi and N. Ohuchi. Reduction in nonfluorescence state of quantum dots on an immunofluorescence staining. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 351, 7-13, (2006).
 10. S. Toba, T.M. Watanabe, L-Y Okimoto, Y.Y. Toyoshima and *H. Higuchi. Overlapping hand-over-hand mechanism of single molecular motility of cytoplasmic dynein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 5741-45 (2006)
 11. A.H. Nguyen, V.T. Nguyen, Y. Kamio and H. Higuchi. Single-Molecule Visualization of Environment-Sensitive Fluorophores Inserted into cell membranes by Staphylococcal γ -hemolysin. *Biochemistry* 45, 2570-6 (2006)
 12. Takashi Kamei, Seiji Kakuta and *Hideo Higuchi. Biased Binding of Single Molecules and Continuous Movement Of Multiple Molecules of Truncated Single-Headed Kinesin. *Biophysical Journal*, 88, 2068-77, (2005)
 13. Nguyen HoaAnh and *Hideo Higuchi. Motility of myosin V regulated by the dissociation of single calmodulin. *Nature Struct Mol Biol*, 12, 127-132, (2005)
 14. Monma N, Nguyen VT, Kaneko J, Higuchi H and *Kamio Y. Essential Residues, W177 and R198, of LukF for Phosphatidylcholine-Binding and Pore-Formation by Staphylococcal γ -Hemolysin on Human Erythrocyte Membranes. *J Biochem (Tokyo)*. 136:427-431(2004).
 15. Uemura S, Higuchi H, Olivares AO, De La Cruz EM and *Ishiwata S. Mechanochemical coupling of two substeps in a single myosin V motor. *Nat Struct Mol Biol.* 11:877-83, (2004).
 16. Higuchi H, Bronner CE, Park HW and *Endow SA. Rapid double 8-nm steps by a kinesin mutant. *EMBO J.* 23:2993-9, (2004).
 17. *Yanai, M. J.P. Butler, T. Suzuki. H. Sasaki and H. Higuchi. Regional rheological differences in locomoting neutrophils. *Am. J. Physiol.* 287, C603-611 (2004)
- [学会発表] (計 15 件)
1. Higuchi, H. : Cargo Transport by Single Molecular Motors. The Biophysical Society's 53rd Annual Meeting. Boston, USA. 2009. 2.
 2. Higuchi, H. : Motility of single molecules of dynein, kinesin, and myosin in vitro and in cells. Symposium on the MESO CONTROL of the cells, by the cells, for the cells. Kyoto, Japan. 2009. 1.
 3. Higuchi, H. : Molecular mechanism of dynein motility in vitro and cells. The 46th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan. Fukuoka, Japan. 2008. 12.
 4. Higuchi, H. : Imaging of stepwise motility of single motor molecules in living cells. 39th NIPS International Symposium & 7th OIB Symposium. Okazaki, Japan. 2008. 11.
 5. Higuchi, H. : Myosin, kinesin and dynein in vitro and cells. 2nd International Symposium on Bio-nanosystems. Tokyo, Japan. 2008. 10.
 6. Higuchi, H. : Step size and force generated by motor protein dynein. 236th National Meeting & Exposition of the American Chemical Society. Philadelphia, USA. 2008. 8.
 7. Higuchi, H. : Step size of dynein is determined by distances of a power stroke and fluctuation. Gordon Reserch Conferences. New Hampshire, USA. 2008. 6.
 8. Higuchi, H. : Single molecule imaging of motor proteins in vitro and in vivo.

- Bio-Soft Matter Workshop. Tokyo, Japan. 2008. 6.
9. Higuchi, H.: Step size and force generated by axonemal and cytoplasmic dynein. Biophysical society Discussion meeting. Alisoma, USA . 2006. 10.
 10. Higuchi, H. and T.M. Watanabe: Single molecule imaging of motor proteins in living cells. The 7th international conference on systems Biology. Yokohama, Japan. 2006. 10.
 11. Higuchi, H.: Introduction to the motor proteins. International symposium on Bio-nanosystems. Mastushima, Japan. 2006. 9.
 12. Higuchi, H.: Coordination of two single-headed cytoplasmic dyneins creates processive movement. Gordon Research Conference. New Hampshire, USA. 2006. 6.
 13. Higuchi, H., T.M. Watanabe, H. Tada and N. Ohuchi: Nano-biology and nano-medicine on cancer cells. Nano-Science and Technology for Medical Applications. Sendai, Japan. 2005. 2.
 14. Higuchi, H., T.M. Watanabe, H. Tada and N. Ohuchi: Nano-biology and nano-medicine on cancer cells. Nano-Science and Technology for Medical Applications. Sendai, Japan. 2005. 2.
 15. Higuchi, H.: Biased Binding, Processive Steps and Oscillatory Movement of Single-headed Kinesin. Structural Insights into Kinesin Function. Washington, USA. 2004. 12.

[図書] (計 5 件)

1. 樋口秀男 「生命現象の動的理解を目指すライブイメージング」 羊土社 実験医学増刊 Vol.26 125-131, (2008.)
2. 樋口秀男 「単一量子ドットのバイオ・医療ナノイメージング」 Ohmsha ナノメディシン 52-63, (2008. 2)
3. 樋口秀男 「量子ドットを用いたがん細胞の単一分子イメージング」 シーエムシー出版 量子ドットの生命科学領域への応用 176-185, (2007. 8)
4. 樋口秀男 「生体分子モーター」 NTS 出版 非侵襲・可視化技術ハンドブック 732-737, (2007. 6)
5. 樋口秀男 「分子モーター概論」 朝倉書店 生物物理学ハンドブック 340-342, (2007. 4)

[産業財産権]

○取得状況 (計 6 件)

1. 名称: 光学装置及び結像方法
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2006-112946
取得年月日: 2006年4月17日
国内外の別: 国内
2. 名称: 光学装置
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男, 佐藤崇
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2005-336613
取得年月日: 2005年11月22日
国内外の別: 国内
3. 名称: 位置解析方法及び位置解析装置
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2005-307917
取得年月日: 2005年10月24日
国内外の別: 国内
4. 名称: がん細胞への選択的作用組成物および治療用レーザー照射装置
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2005-163399
取得年月日: 2005年6月03日
国内外の別: 国内
5. 名称: 顕微鏡ステージ、および、焦点位置計測装置と共焦点顕微鏡システム
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2005-128871
取得年月日: 2005年4月27日
国内外の別: 国内
6. 名称: 単粒子三次元位置追跡方法
発明者: 渡邊朋信, 樋口秀男
権利者: 同上
種類: 特許権
番号: 2004-303004
取得年月日: 2004年10月18日
国内外の別: 国内

[その他]

(ホームページ)

<http://nanobio.phys.s.u-tokyo.ac.jp/NanoSystem/>

(公開発表)

1. 2004年 1月 7-9日 第2回全体・総括
班会議 (大阪府, 生体運動合同班会議)
2. 2005年 1月 6-8日 第3回全体・総括
班会議 (東大, 生体運動合同班会議)
3. 2006年 1月 6-8日 第4回全体・総括
班会議 (東大, 生体運動合同班会議)
4. 2006年 9月 1-3日 第5回全体・総括
班会議 国際シンポジウム(宮城県松島
町)
5. 2007年 1月 6-8日 第6回全体・総括
班会議 (金沢市, 生体運動合同班会議)
6. 2008年 10月 31日-11月 2日 第7回全
体・総括班会議 国際シンポジウム(東
大)
7. 2009年 1月 9-11日 第8回全体・総括
班会議 (東大, 生体運動合同班会議)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 秀男 (HIGUCHI HIDEO)
東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号: 90165093

(2) 研究分担者

真行寺 千佳子 (SHINGYOJI CHIKAKO)
東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号: 80125997

内田 隆史 (UCHIDA TAKAFUMI)
東北大学・大学院農学研究科・教授
研究者番号: 80312239

廣瀬 謙造 (HIROSE KENZO)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 00292730

須藤 和夫 (SUTOH KAZUO)
東京大学・大学院総合文化研究科・教授
研究者番号: 20111453