

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00330

研究課題名(和文) ナノ加工技術により明らかにするモータタンパク質の協働性

研究課題名(英文) Cooperativity of motor proteins using nano fabrications.

研究代表者

横川 隆司 (Yokokawa, Ryuji)

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：10411216

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、1分子パターンニング技術をモータタンパク質に適用することで、協働的な運動・力発生機能の創発現象を理解することを目指した。電子線リソグラフィにより作製した金ナノピラー構造を用いてキネシン分子などを200~800 nm間隔で固定する技術を開発し、低分子密度の際に生じる微小管の双方向運動をケモメカニカルモデルにより説明した。また、微小管の重合速度を変化させると曲げ剛性を設計できることを示し、それによる集団運動との相関を明らかにした。これは、*in silico*解析によっても実証することができ、機械学習ベースの多層パーセプトロンモデルによって微小管形態から曲げ剛性を予測することも可能にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、微小管に結合するモータタンパク質の数を規定したり、微小管の物性を規定したりすることによる微小管運動への影響を調べ、なぜマルチモータと微小管の相互作用が細胞内で必須となっているのかについて、工学的な視点からアプローチした。1分子計測が主流の従来法に対し、新たにナノ加工技術を導入することで生体内の分子配置を模倣する点に独自性があり、従来の生物物理学のみでは成し得ない計測手法を提案した点に学術的意義を有する。また、微小管の曲げ剛性は各種疾患との関連が知られており、その運動から曲げ剛性を推定する機械学習技術は、生体モニタリングの新たな方法として社会的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to understand the emerging phenomena of cooperative motion and force generation functions by applying single molecule patterning technology to motor proteins. We developed an assay platform to anchor kinesin molecules and other molecules at intervals of 200~800 nm using gold nanopillar structures fabricated by the electron beam lithography and explained the bidirectional motion of microtubules at low molecular density using a chemo-mechanical model. We also showed that the bending stiffness can be designed by changing the polymerization rate of microtubules, and the correlation between the bending stiffness and the collective motion was clarified. This can also be demonstrated by *in silico* analysis, and a machine learning-based multilayer perceptron model can predict the bending stiffness from the microtubule morphology.

研究分野：ナノ・マイクロ加工学

キーワード：ナノマイクロ加工 BioMEMS ナノマイクロバイオシステム 分子モーター 生体分子の物性

1. 研究開始当初の背景

キネシンやダイニンに代表される微小管 (MT: microtubule) 関連モータは、発見以来 1 分子の運動機構の解明を目指す研究が進んできた。例えば、マイクロビーズに付加したキネシンがステップを踏む動きと、ATP 加水分解サイクルとのケモメカニカルなカップリングについては、生化学、構造生物学、1 分子生物物理学などにより多くの知見が蓄積されている。一方で、モータは数 10~数 100 nm の等間隔で整然と並ぶことにより、複数の分子が同時に微小管に対して作用することで紡錘体形成や繊毛・鞭毛の運動を担っている。2~3 分子までであれば、従来のビーズを用いた方法により外部負荷に対する応答がモータごとに異なるといった知見が得られている。しかし、数 10~数 100 分子のマルチモータを対象に微小管との相関を *in vitro* で評価する方法は確立しておらず、少数分子 (3 分子程度まで) と多分子 (数 10~数 100 分子) におけるモータ機能の違いは明らかではない。つまり、速度や力の応答が各モータの単純な足し算で効いてくるのか、モータに掛かる力はモータ間でどのように分配されるのかなど、システムとしての応答や安定性についての理解は進んでいない。

さらに、モータが結合する微小管の物性、特に曲げ剛性は過去 20 年以上にわたり計測結果の報告があるが、微小管結合タンパク質 (MAPs) や翻訳後修飾 (PTM) による修飾の影響は報告間で 2 桁もばらつきがある。分子生物学的な MAPs や PTM の機能が明らかになってきたのに対して、それらの微小管物性への影響は十分解明されていない。このため、微小管の物性を理解した上で、マルチモータの運動特性について評価する必要がある。

本研究で着目する学術的な問いは、従来の 1 分子計測により理解されているキネシンモータの運動機構が、マルチモータでの運動にどのように反映され協働性を発現するのか、またモータが結合する微小管の物性はどのように影響するのか、という点である。細胞内では複数種のモータが独立して、あるいは協働して動的に物性が変化する微小管と結合・解離を繰り返すことで機能を発現している。このメソスケールにおける細胞内分子機構の理解は、従来の 1 分子計測や多分子を対象とした免疫染色などの手法では評価自体が不可能である。

この問いに答えるためには、数 10~数 100 分子を対象としたマルチモータの評価系を確立すること、および微小管の物性を評価し設計する技術を確認して、*in vitro* で再構築することから始める必要がある。マルチモータの運動特性を評価し、さらにマルチモータによってもたらされる新たな運動様式について数値シミュレーションを用いることでメソスケールにおけるモータの役割を理解することが必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、マルチモータの分子計測技術を様々なモータに適用することで、それらの協働的な運動・力発生機能の創発現象を理解することである。さらに、微小管の物性を規定した評価系を用いることで、なぜマルチモータと微小管の相互作用が生体内で必須となっているのかについて、工学的な視点からアプローチした。具体的には、kinesin-1 の例を参考に、複数種のモータ (CENP-E、ダイニン等) について分子間隔を規定して 1 分子固定する技術を開発すること、MAPs および PTM による微小管の修飾とその曲げ剛性の相関を明らかにすること、マルチモータの運動特性と微小管の物性の相関を明らかにし、それによって得られる新たな運動様式について理解を進めることを目指した。実際には、kinesin-1 と CENP-E の 1 分子パターンング技術を確認後微小管の運動解析を実施できたため、研究期間中盤より微小管の曲げ剛性の制御とそれによる運動様式の理解に目的を変更した。

3. 研究の方法

(1) 金ナノピラーアレイの作製

これまでの知見を活かし、金ナノピラーの直径は 50 nm とし、間隔は 200 nm から 1000 nm とした。ピラーアレイは電子線描画とリフトオフにより作製した。リフトオフ後のナノピラーアレイを走査型電子顕微鏡 (SU8000, Hitachi) で観察した。

(2) キネシンの配置間隔を規定した微小管グライディングアッセイ

本実験ではモータタンパク質として kinesin-1 (Avitag-K465) および ncd (kinesin-14, Avitag-ncd195) を用いた。本実験ではアッセイ系構築のために 0.1 mg/mL キネシンおよび 1 mM ATP 溶液を用いた。金ナノピラーアレイを作製した Si/SiO₂ 基板に SAM 形成処理をおこない SiO₂ 表面に silane-PEG SAM を選択的に形成した。SAM を形成した基板を両面テープをスペー

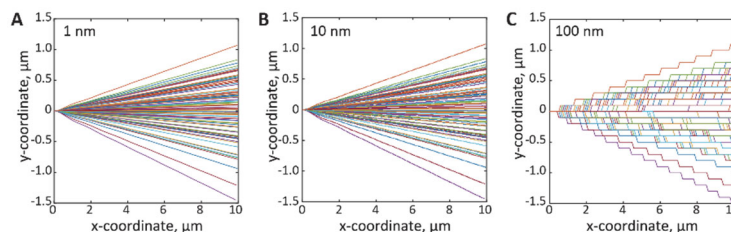


Fig. 1: Sequential images of a fluctuating MT (orange red) immobilized on the Au-stripe (light orange). Scale bar = 5 μm . Theoretical model of MT thermal fluctuation with localization precision of (a) 1 nm, (b) 10 nm, and (c) 100 nm. MT shapes in 500 frames are superimposed with different colors.

サーとして用いてカバーガラスと貼り合わせてフローセルを構築した。まずフローセルに streptavidin を導入して金ピラーに非特異吸着を用いて固定した。次にキネシンを導入してアビジン-ビオチンの特異結合によって金ピラー上にキネシンを選択的に固定した。次に ATP 溶液を導入してパターンニングされたキネシンによる微小管の運動を開始させた。

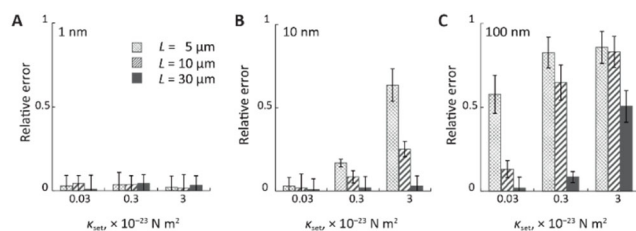


Fig. 2: Error measurement of MT flexural rigidity under each condition of L, k_{set}, and localization precision of (a) 1 nm, (b) 10 nm, and (c) 100 nm. Cross-hatched bars: L = 5 μm. Hatched bars: L = 10 μm. Shaded bars: L = 30 μm.

(3) 熱ゆらぎを用いた微小管曲げ剛性の測定方法

ビオチンを修飾したカバーガラスを用いてフローセルを作製し、一部をビオチンで修飾した微小管をストレプトアビジンを介してガラス基板上に固定した。ビオチンが修飾されていない部分 (tail とよぶ) は、熱エネルギーの影響を受けて揺動した。Tail 部分は、ビオチンで固定されている部分を固定端とする片持ち梁とみなすことができるため、熱揺らぎによるたわみの時間変化を測定し、曲げエネルギーと熱エネルギーの関係式を解くことで、微小管の曲げ剛性が測定できる。微小管形状から曲げエネルギーを導出し、さらに曲げ剛性を導出した。

(4) 微小管の伸張速度測定

2 枚のカバーガラスを厚さ 50 μm の両面テープで接着し、フローチャンバーを構築した。まず、neutravidin を導入し、25°C で 5 分間インキュベートした。部分的にビオチン化した微小管を導入し、基板に選択的に固定した。過剰の微小管を洗浄した後、非標識および TAMRA 標識チューブリンを導入した。フローセルは密閉し、顕微鏡のステージ上に設置された 37°C のヒーター上に置いた。

微小管伸長過程の蛍光観察には、EMCCD カメラと倒立顕微鏡を使用した全反射蛍光観察システムを構築した。励起光源には、波長 532nm のレーザー光源を使用し、全反射蛍光観察用対物レンズを用いて、露光時間 100 ms で 500 枚の蛍光画像を取得した。

(5) 畳み込みニューラルネットワーク (CNN) モデルの構築とワークフロー

3 種類の曲げ剛性の異なる微小管 (Softer GTP-MTs, Stiffer GTP-MTs, GMPCPP-MTs) の集団運動について、深層学習アルゴリズムにより入力画像の特徴を自動的に抽出した。微小管を分類するために、学習済みの ResNet50 トップ層、全体平均プーリング層、Softmax 関数で活性化された最終密層を含む深層畳み込みニューラルネットワーク (CNN) モデルを構築した。データセットとして、10 回の独立実験から 1400 枚の微小管画像、softer-MT と stiffer-MT についてそれぞれ 700 枚の画像を取得し、学習用に 840 枚、検証用に 360 枚、テスト用に 200 枚を用いた。入力画像は 224 × 224 ピクセルとし、それぞれの画像のグラントールースは手動でラベルした。モデルは検証用データに対する損失を評価することで学習し、パラメータは Adam オプティマイザを使用して更新した。モデルはバッチサイズ 32 で 20 エポック学習され、最終的な検証精度は 98% であった。全プロセスにおいて Tensorflow2.0 と Keras API を使用した。予測されたクラスに関する各活性化マップの重みを求めることで、CNN 分類器の予測戦略を視覚的に解釈するために、スコアクラス活性化マップ (Score-CAM) を利用した。

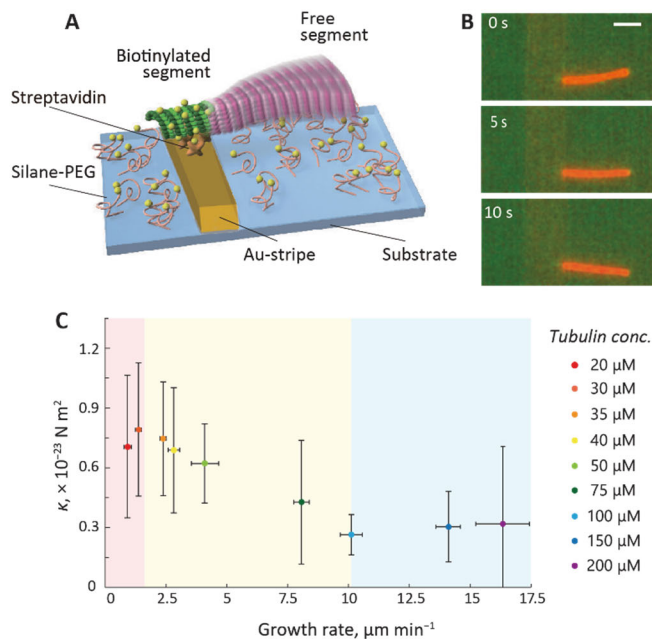


Fig. 3: Flexural rigidity measurement of MTs. A) Illustration of a partially biotinylated MT, that was immobilized onto the Au-stripe-patterned substrate with biotin-streptavidin bindings and the free segment fluctuated as a cantilever beam under Brownian motion. B) Sequential images of a fluctuating MT (orange red) immobilized on the Au-stripe (light orange). Scale bar = 5 μm. C) Relationship between flexural rigidity and growth rate of MTs. MT flexural rigidity decreases with an increase in growth rate, which follows a three-state change and is illustrated with red, yellow, and blue background. The corresponding tubulin concentrations of the three stages are $\leq 30 \mu\text{M}$, $30\text{--}100 \mu\text{M}$, and $\geq 100 \mu\text{M}$, respectively. MTs incubated in tubulin concentrations from 20–200 μM are illustrated by the dots with different colors.

4. 研究成果

(1) 微小管の画像解析における位置決定精度依存性

微小管の曲げ剛性は、異なる位置決定精度で丸められた座標から測定した (図 1)。微小管の長さ $L = 10 \mu\text{m}$ 、曲げ剛性 $\kappa_{\text{set}} = 0.3 \times 10^{-23} \text{Nm}^2$ と定義し、1、10、100 nm の位置決定精度で変換した微小管形状を示す。500

フレーム中の形状を異なる色で重ね合わせた。位置決定精度が低い場合、近似された微小管形状は不連続であり、元の形状から大きくずれていることがわかる。

微小管の形状のデジタル化による相対的な測定誤差 κ は、 $1 - \kappa_{\text{meas}} / \kappa_{\text{set}}$ から求めた。各条件での $\kappa_{\text{meas}} / \kappa_{\text{set}}$ の値を図 2 に示す。L (5, 10, 30 μm)、 κ_{set} (0.03, 0.3, $3 \times 10^{-23} \text{Nm}^2$)、位置決定精度を (a) 1 nm、(b) 10 nm、(c) 100 nm の各条件

における曲げ剛性の相対測定誤差を示した。これより、測定誤差は、位置決め精度、微小管の長さ L、定義された曲げ剛性 κ_{set} に影響されることがわかった。位置決定精度が低く、輪郭の長さが小さく、 κ_{set} が大きい場合に、いずれも測定誤差が大きくなる。低い位置決定精度 (10 nm と 100 nm) では、特に短い微小管や硬い微小管の場合、熱揺らぎを過大評価することにより、曲げ剛性が大きく過小評価されることがわかった。

これらの結果を用いると、過去の文献で報告されている曲げ剛性値の違いを説明することができる。例えば、Venier ら (*J Biol Chem*, 1994, 269, 13353–13360.) は、Valdman ら (*Biophys J*, 2012, 102, 1144–1153.) よりも 3 倍小さい κ を報告している。両研究は、ほぼ同じ条件 (チューブリン濃度、ヌクレオチド、微小管長、パクリタキセル安定化) を採用しているが、微小管形状決定のための位置決定精度が異なったため、曲げ剛性に違いが生じた。また、Hawkins ら (*Biophys J*, 2013, 104, 1517–1528.) と Lopez ら (*Cytoskeleton*, 2014, 71, 530–541.) の κ の差についても同様のことが言える。ほとんどの条件が同じであるにもかかわらず、Hawkins らは 1 画素の精度で微小管画像をデジタル化し、0.1 画素精度の Lopez らに比べて 3.5 倍小さい κ を得ている。

以上より、曲げ剛性の測定過程における位置決定精度の影響をシミュレーション手法により定量的に解析した。その結果、過去の文献で報告されている微小管の曲げ剛性の値の差は、おそらく採用されている位置決定精度の違いに起因していることが示された。精度が低いと、特に短くて硬い微小管の剛性の測定に大きな誤差をもたらす。したがって、今後、微小管の曲げ剛性を正確に測定するためには、ナノメートルレベルの位置決め精度が不可欠である。

(2) 微小管曲げ剛性の伸張速度依存性

熱揺らぎする微小管の剛性を測定した (図 3A,B)。チューブリン濃度 20~200 μM で重合した微小管の曲げ剛性と重合速度を測定した (図 3C)。重合速度は、30-150 μM の範囲でチューブリン濃度が高いほど有意に増加することがわかった。成長速度の変化は、その統計的差異によればチューブリン濃度値が $\leq 30 \mu\text{M}$ 、30-100 μM 、 $> 100 \mu\text{M}$ の 3 段階に分けることができ、それぞれ赤、黄、青の背景で図示した。

一方、曲げ剛性は重合速度に依存することがわかった。微小管が 1.4 $\mu\text{m min}^{-1}$ より速く伸長すると、重合速度の増加とともに曲げ剛性は低下する傾向があった。成長速度が 10.1 $\mu\text{m min}^{-1}$ (チューブリン濃度が 100 μM 以上) になると、曲げ剛性は成長速度に依存しなくなった。

曲げ剛性の成長速度依存性は、重合中に発生し修復される欠陥の数によって説明することができる。Schaedel ら (*Nat Mater*, 2015, 14, 1156–1163.) の報告にあるように、成長が速いと微小管に格子欠陥が発生しやすく、微小管の曲げ剛性が低下する傾向がある。我々は、チューブリン濃度が低い場合 (20-30 μM)、微小管が高い曲げ剛性を示すことを実証したが、これは欠陥の形成が少ないためであると考えられる。一方、重合速度が速いと修復できない欠陥が蓄積する可能性がある。高濃度 (30-100 μM) では、微小管の欠陥の数が多く重合速度の増加とともに単調に曲げ剛性が低下することがわかり、これは Janson らの結果と一致する (*Biophys J*, 2004, 87, 2723–2736.)。チューブリン濃度を 100 μM 以上に上げて成長速度に大きな違いは見られず、曲げ剛性にも変化は見られなかった。したがって、溶液中のチューブリン濃度が高いにもかかわらず、チューブリン欠陥が新たに発生したり修復されたりすることはないと考えられる。

(3) 機械学習による曲げ剛性依存的な微小管集団運動の解析

CNN モデルでは、深層学習アルゴリズムにより、入力画像の特徴を 2 つのステップで自動的に抽出した。1 つはフォワードパスで、入力画像の特徴を重

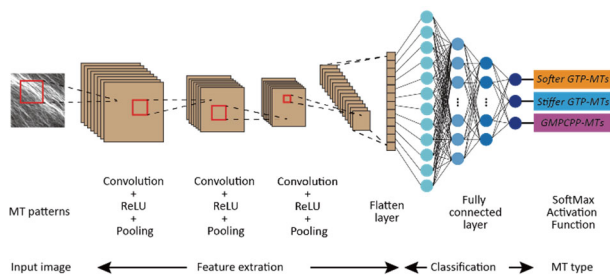


Fig. 4: Architecture and data pipeline of the CNN model.

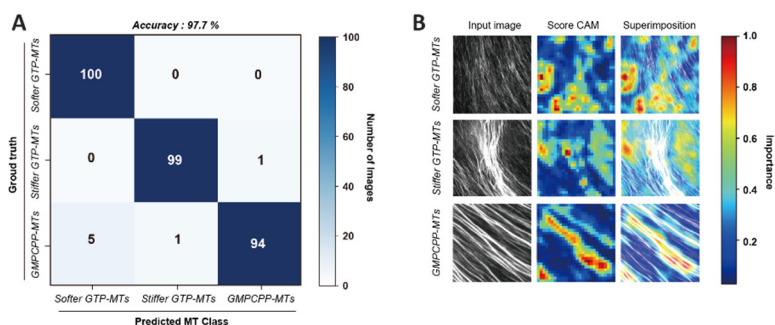


Fig. 5: A) Classification of three types of MTs by CNN classifier. MTs with different persistence lengths were classified into three classes according to their patterns formed in the collective motion using a deep CNN classifier. Confusion matrix based on the trained CNN classifier; 300 MT pattern images are categorized into their corresponding groups with 97.7% accuracy using the classifier. B) The classification strategy of CNN classifier is visually explained using Score-CAM.

みやバイアスなどのパラメータを変えて層ごとに抽出し、出力層に送って予測を行った。もう1つはバックワードパス（バックプロパゲーション）で、予測値とグラントゥールスの間の誤差や損失を損失関数によって計算した。そして、

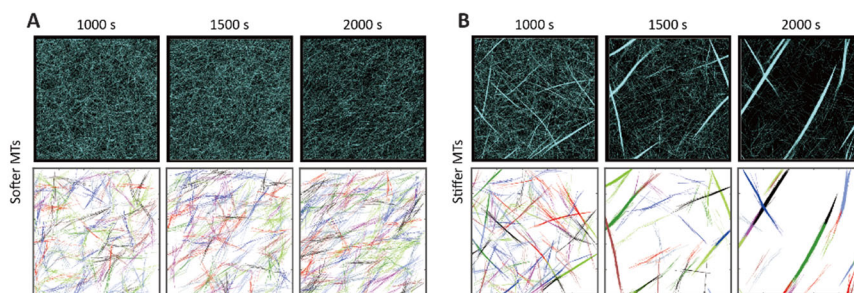


Fig. 6: Computational model validates that the L_p -dependent durability of MT alignment dominates the bundle formation. (a) Collectively gliding softer MTs and (b) stiffer MTs in simulations at 1000, 1500, and 2000 s, respectively. Snapshots on the top row show all MT filaments in simulations. Plots at the bottom row show bundles identified by the number of filaments (bundle size) greater than 20. Stiffer MTs tend to align and aggregate to form dense and long-standing bundles, which are absent in the softer MT group. Scale bar = 20 μm .

誤差を最小化するために、ネットワーク内のすべてのパラメータを最適化・更新した。入力フォワードとバックプロパゲーションの繰り返しにより、CNN ネットワークの性能は徐々に改善された。最終的な CNN モデルは、多層構造の階層型アーキテクチャで構築した（図 4）。CNN モデルの基本構造は、畳み込み層、整流化線形ユニット（ReLU）層、プーリング層、完全連結層で構成されていた。画像分類タスクの場合、CNN は画像のメタデータを入力とし、最終的な出力層まで各層を通して入力データを処理しサブサンプリングして結果を予測した。

曲げ剛性（あるいは持続長 L_p ）の異なる 3 つの微小管（Softer GTP-MT、Stiffer GTP-MT、GMPCPP-MT）を用いて形成されるネマチックパターンを評価した。入力画像を用いて微小管パターンは、訓練された CNN 分類器により対応するクラスへ分類された。CNN 分類器は、バッチサイズ 16 で 20 エポック学習し、学習精度は 85.4% から 99.5% に向上し、学習損失は 0.405 から 0.018 に減少した。検証精度は 20 エポックで 36.7% から 98.5% に最適化され、検証損失は 0.066 に減少した。次に、学習した CNN 分類器を用いて、3 つの微小管グループからのラベルなしパターン画像の混合からなるテストデータセットを分類した。図 5A に示すように、合計 300 枚の微小管画像を 97.7% の精度で予測できた（Soft GTP-MT、Stiffer GTP-MT、GMPCPP-MT はそれぞれ 100%、99%、94% の精度）。

微小管運動分類のメカニズムを理解し、グループ間のパターンの違いを明らかにするために、CNN 分類器の分類戦略をさらに分析した。分類器が各グループに分類する様子を視覚的に説明するために、Score-CAM を導入した。分類器による最終的な分類の判断において、画像内の領域や特徴が重要であればあるほど、得られるスコアは高くなる（図 5B）。Score-CAM によって判別された 3 つの微小管が形成するパターンの特徴は、今回の観察結果と一致した。機械学習による画像認識技術を集団運動の研究に応用した初めての例であり、本手法の実現性と実用性は、CNN モデルが微小管の集団運動パターンの分類に適していることを実証できた。

(4) 曲げ剛性依存的な微小管集団運動の *in silico* モデル

研究協力者である米国パーデュー大学 Taeyoon Kim らの *in silico* モデルにより、曲げ剛性依存的な微小管の集団運動を検証した。集団運動中に生じる相転移とパターン形成が、主に曲げ剛性に依存した微小管の配向の耐久性に影響されることを示唆している。具体的には、柔らかい GTP-MT と硬い GTP-MT に対応する 2 種類の持続長 L_p （0.63 μm と 1.93 μm ）を持つ微小管モデルを使って検証したところ、柔らかい微小管は安定した構造を形成しなかったが（図 6A）、硬い微小管は時間とともに大きく安定した束（図 6B）を形成し、これは実験結果と一致した。

ここでは、持続長 L_p に依存する微小管の配向性ノイズが集団運動に与える影響を系統的に調べた。その結果、 L_p を大きくしてノイズの分散を小さくすることで、集団行動を促進し、位相秩序を高めることができるというこれまでの理論的研究を裏づけることができた。硬い微小管は柔らかい微小管よりも相転移速度が速く、配向度が高い。微小管に代表されるフィラメントネットワークのレオロジー特性は、集団行動や相ダイナミクスに加えて、その L_p に影響されている。DNA チューブ、アクチンフィラメントなど、半屈曲性の生体高分子ネットワークの弾性率は、その L_p に依存することが報告されている。本研究は、フィラメントの剛性がポリマーネットワークの粘弾性特性に与える影響を研究するために応用でき、新たな実験プラットフォームを提供するものである。

本研究では、生体内に存在するモータータンパク質の周期構造を生体外で再構築し、細胞内環境を再現することでモーターの協働的な運動・力発生機能の創発現象を理解することを目指してきた。Kinesin-1 および kinesin-14 を用いた 1 分子パターンニングを実現し、モーターの協働的な微小管輸送について解析した。さらに、微小管の曲げ剛性を設計する技術を開発し、それが微小管集団運動にもたらす影響を実験的に示すと共に、数値シミュレーションにより実証した。得られた集団運動の形態から、逆に微小管の曲げ剛性を推定する機械学習アルゴリズムも提案した。このような計測系を用いることで、微小管に関わる MAPs や PTM による影響、さらに高次の細胞レベルでの機能評価が可能になることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 H. Zhou, N. Isozaki, K. Fujimoto and *R. Yokokawa	4. 巻 19
2. 論文標題 Growth rate-dependent flexural rigidity of microtubules influences pattern formation in collective motion,	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Nanobiotechnology	6. 最初と最後の頁 218
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12951-021-00960-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 YOKOKAWA Ryuji	4. 巻 140
2. 論文標題 Nano-systems Driven by Motor Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of The Institute of Electrical Engineers of Japan	6. 最初と最後の頁 585 ~ 587
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1541/ieejjournal.140.585	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 ENDO Tatsuro, YOKOKAWA Ryuji	4. 巻 140
2. 論文標題 Preface	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of The Institute of Electrical Engineers of Japan	6. 最初と最後の頁 577 ~ 578
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1541/ieejjournal.140.577	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zhou Hang, Jung Wonyeong, Farhana Tamanna Ishrat, Fujimoto Kazuya, Kim Taeyoon, Yokokawa Ryuji	4. 巻 16
2. 論文標題 Durability of Aligned Microtubules Dependent on Persistence Length Determines Phase Transition and Pattern Formation in Collective Motion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 14765 ~ 14778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsnano.2c05593	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimoto Kazuya, Iino Ryota, Yokokawa Ryuji	4. 巻 2430
2. 論文標題 Linear-Zero Mode Waveguides for Single-Molecule Fluorescence Observation of Nucleotides in Kinesin-Microtubule Motility Assay	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods Mol. Biol.	6. 最初と最後の頁 121 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1983-4_8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhou Hang, Kaneko Taikopaul, Isozaki Naoto, Yokokawa Ryuji	4. 巻 2430
2. 論文標題 Design of Mechanical and Electrical Properties for Multidirectional Control of Microtubules	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods Mol. Biol.	6. 最初と最後の頁 105 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1983-4_7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kaneko Taikopaul, Furuta Ken'ya, Oiwa Kazuhiro, Shintaku Hirofumi, Kotera Hidetoshi, Yokokawa Ryuji	4. 巻 6
2. 論文標題 Different motilities of microtubules driven by kinesin-1 and kinesin-14 motors patterned on nanopillars	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aax7413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件(うち招待講演 3件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 H. Hotta, H. Zhou, K. Fujimoto, T. I. Farhana, R. Yokokawa
2. 発表標題 Evaluation of the Flexural Rigidity of Microtubules with a Multilayer Perceptron Model.
3. 学会等名 Biophysical Society 66th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Zhou, W. Jung, T. I. Farhana, K. Fujimoto, T. Kim, R. Yokokawa
2. 発表標題 Pattern of Collective Motion Is Regulated by the Persistence Length of Microtubules.
3. 学会等名 Biophysical Society 66th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀田 英幹, Hang Zhou, 藤本 和也, Tamanna Ishrat Farhana, 横川 隆司
2. 発表標題 畳み込みニューラルネットワークを用いた微小管の曲げ剛性評価手法の提案.
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第43回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀田 英幹, Hang Zhou, 藤本 和也, Tamanna Ishrat Farhana, 横川 隆司
2. 発表標題 畳み込みニューラルネットワークを用いた微小管の曲げ剛性評価手法の提案.
3. 学会等名 第38回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Zhou, W. Jung, T. I. Farhana, T. Kim, R. Yokokawa
2. 発表標題 The Influence of Microtubule Persistence Length on Their Collective Motion
3. 学会等名 65th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. I. Farhana, T. Kaneko, Y. Tojo, R. Yokokawa
2. 発表標題 Evaluation of Microtubules Binary Collisions Using Nano-Patterned Kinesins
3. 学会等名 65th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Zhou, N. Isozaki, K. Ukita, T. L. Hawkins, J. L. Ross, R. Yokokawa
2. 発表標題 Flexural Rigidity of Microtubules Measured by Gold Stripe-Patterned Substrate
3. 学会等名 The 15th IEEE Int'l Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (IEEE-NEMS 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東條 裕也, 金子 泰洸, Tamanna Ishrat Farhana, Hang Zhou, 横川 隆司
2. 発表標題 分子バターニング技術を用いた束状微小管の個別速度計測
3. 学会等名 第37回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Zhou, Y. Tojo, T. I. Farhana, R. Yokokawa
2. 発表標題 Different Patterns of Collective Motion Formed by Microtubules with Various Persistence Lengths
3. 学会等名 第37回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀田 英幹, Hang Zhou, Tamanna Ishrat Farhana, 横川 隆司
2. 発表標題 階層型クラスタリングを用いた微小管集団運動の持続長による識別
3. 学会等名 第42回化学とマイクロナノシステム研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Zhou, W. Jung, T. I. Farhana, K. Fujimoto, T. Kim, R. Yokokawa
2. 発表標題 Tuning the Collective Motion of Microtubules by Their Persistence Length.
3. 学会等名 Biophysical Society 67th Annual Meeting (BPS 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 横川 隆司
2. 発表標題 マイクロ・ナノデバイスの生命・医科学研究への応用
3. 学会等名 理化学研究所バイオリソース研究センター (RIKEN BRC) 20周年記念式典・シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 横川 隆司
2. 発表標題 モータタンパク質を利用したシステム創製と生物物理学への応用
3. 学会等名 新化学技術推進協会 (JACI) 電子情報技術部会 マイクロナノシステムと材料・加工分科会 講演会「分子が発動する科学とデバイス」 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横川 隆司
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスの中でヒト臓器機能を測る ~ マイクロ加工と生命科学の融合 ~
3. 学会等名 第22回 TOLICカンファレンス in 一関 (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP https://www.ksys.me.kyoto-u.ac.jp/ 研究室HP http://www.ksys.me.kyoto-u.ac.jp/
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	University of Massachusetts	University of Wisconsin	Purdue University