

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19345

研究課題名(和文) 高速AFMによる張力依存的な生体分子の動的振舞いの直接観察

研究課題名(英文) Direct observation of strain-dependent dynamic behaviors of biomolecules by high-speed AFM

研究代表者

古寺 哲幸(Kodera, Noriyuki)

金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授

研究者番号：30584635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質や核酸といった生体分子の多くは、それらに内外から働く張力や圧縮力といった力学的な負荷によって、機能発現や反応速度が変調されていることが知られてきている。高速AFMで観察中の生体分子に力学的負荷を加えられれば、その変調のメカニズムを詳細に理解できることが期待される。そこで、従来のイメージング用スキャナーと独立で動作するマニピュレーション(外部操作)用スキャナーを追加し、そのスキャナーに取り付けられたキャピラリープローブを用いて観察対象に外力を与えられる新規のスキャナーシステムを開発した。その結果、生体分子を高速AFM観察しながら、その形状の外力応答を調べることができるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで生体分子の機能の張力応答は光ピンセット法などで調べることができたが、生体分子の形状がどのようになっているかは想像するしかなかった。一方、本研究の実施により、生体分子の形状と動きを高速AFMで同時観察しつつ、それらの張力負荷応答を直接的に見ることができる装置の開発が進められた。未だ誰も見たことがない生命現象の一端を理解するための重要な知見を提供する装置となることが期待される。また、生体分子の張力依存による機能変調を深く理解できれば、医薬品やハイオナノテクノロジーの開発指針となる新しい概念を提供できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：It is recently recognized that the functions of biomolecules (proteins and nucleic acids) are modulated by external forces (tension and compressive forces). Direct observation of proteins at work under an external load by high-speed AFM would greatly gain the mechanistic insight of their functional modulation under the load. To realize this observation, the present study have addressed the development of a high-speed AFM scanner with manipulator, in which a manipulation-scanner was additionally installed just adjacent to the imaging-scanner. The base of a manipulator needle was glued on the manipulation-scanner, while the other sharp end was gently placed on the surface of the imaging-scanner. Using the developed system, we succeeded in applying external force to biomolecules during high-AFM observation.

研究分野：生物物理学

キーワード：一分子イメージング 高速AFM 生体分子 アクチン線維 細胞骨格 原子間力顕微鏡 ナノ計測

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質や核酸といった生体分子の多くは、それらに内外から働く張力や圧縮力といった力学的な負荷によって、機能発現や反応速度が変調されていることが、光ピンセット法やナノニードル法を利用した一分子計測技術によって明らかになってきている。しかしながら、与えられた力学的負荷がどのように生体分子に作用して、その構造を変え、生体分子の機能発現や反応速度の変調に関わっているかといった詳細なメカニズムに関しては理解が深まっていない。それは、生体分子に張力負荷が加わったときの生体分子の“構造”と“動き”を同時に観察できる実験手法が存在していなかったためである。

一方、研究代表者らは、生体分子の“構造”と“動き”を同時に観察できる高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)^[1,2]を用いて、いくつかのタンパク質系でそれらが機能している最中の動的な振舞いを直接観察することに成功してきた。その中でも印象深いのは、生体分子の機能発現や反応速度が、生体分子に内外から働く張力によって調整されていることを示す映像が多く撮影されることである。例えば、歩行運動中のミオシン V^[3]や、抗体-抗原の結合反応^[4]では、ミオシン V や抗体に働く分子内張力がそれらの反応速度を変えていることが示された。また、アクチン結合タンパク質の 1 種であるコフィリンがアクチン繊維に結合する様子^[5]では、アクチン繊維に加わる圧縮力がコフィリンの結合の親和性を変え、一度コフィリンがアクチン繊維に結合するとアクチン繊維自身が圧縮力を受けたような構造変化をアクチン繊維のマイナス端側だけに引き起こし、その構造をコフィリンがさらに認識してアクチン繊維に結合し、アクチン繊維のマイナス端側に向かってコフィリンがクラスターを形成する一連の変化が見られた。このような張力負荷依存的に起こる生体分子の機能変換を人工的に誘起し、その一部始終を高速 AFM 観察できるようになれば、その機能変換メカニズムをより直接的に理解できるようになることが期待されていた。

2. 研究の目的

活きた生体分子の動的な振舞いをナノメートルの空間分解能とサブ秒の時間分解能で観察することができる高速 AFM に、生体分子に張力負荷を与えられる新たな *in vitro* 実験系を搭載することで、その実験手法を提供する。さらに、開発した実験手法を応用し、生体分子の張力負荷依存的な機能変調の現場をリアルタイムに捉えることで、その機能変調のメカニズムを深く理解することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナーの開発... 従来的高速 AFM の通常のイメージングは、XYZ 方向に設置されピエゾ素子に電圧を印加することによる伸び縮みでイメージングを行う(図 1a)。この従来的高速 AFM スキャナーの動作原理や技術基盤のもとに、高速 AFM 観察中に観察対象に外力を加えることが出来るようなスキャナーの開発に取り組んだ。対象物への外力は、先端部をナノメートルレベルに先鋭化したガラスニードルで行うこととした。対象物に力を与えたくないときは、観察対象とガラスニードルの位置関係を保ちながらガラスニードルが動く必要がある。一方、観察対象に外力を作用させるときは、ガラスニードルが観察対象を捉えつつ独立に動かなければならない。この機構を実現するために、イメージング用スキャナーと等価の性能をもったマニピュレーション用スキャナーをイメージング用スキャナーの近傍に配置した(図 1b)。外力を加えないときは、X 方向のピエゾ素子は互いに逆位相で同じ距離だけ伸縮し、Y 方向のピエゾ素子は互いに同位相で同じ距離だけ伸縮することで、対象物とガラスニードルの位置関係を保つようにした。次に観察対象に力を与えたい場合、マニピュレーション用スキャナーの XY ピエゾにさらに電圧を印加することで、ガラスニードルを XY 方向に位置制御した。X 方向に外力を及ぼす場合の模式図を図 1c に示した。

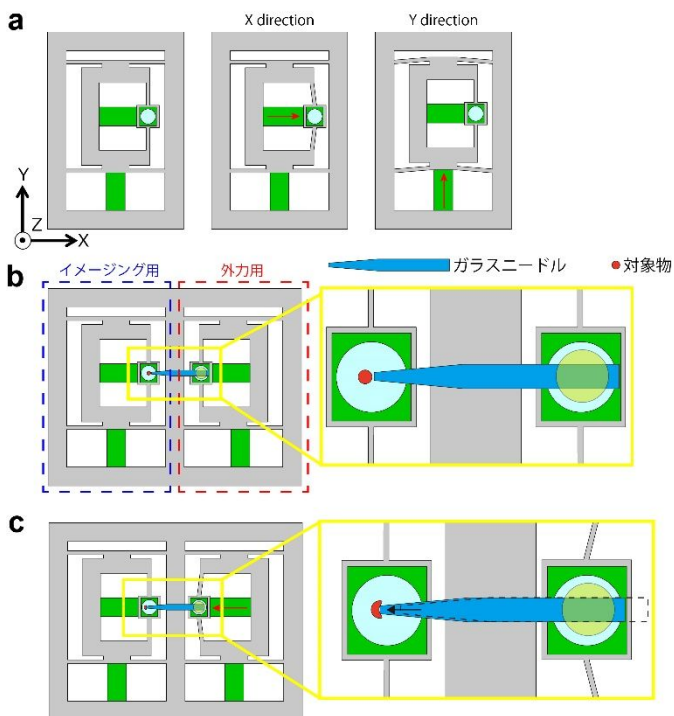


図 1 開発したマニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナーの模式図 (a) 従来型的高速 AFM スキャナー。灰色の部分が金属、緑色の部分がピエゾ素子、水色の部分が試料ステージを表す。XY 方向に伸びているときの金属部の形状変化は模式的に表している。実際は最大でも 5 μ m 程度の変位しかない。(b) 開発したマニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナー。左がイメージング用、右がマニピュレーション用のスキャナー。(c) マニピュレーターで観察対象の X 方向に外力を及ぼす場合。

(2) ガラスナノニードルの作成...レーザーブラーを用いて石英製のガラスロッドを熱的に融解させ、2つに引き離すことでガラスナノニードルを得た。レーザーブラーの熱や引き離す速度や力などを調整することで先端部が 20 nm 程度のガラスナノニードルを得ることができた。

(3) ガラスナノニードルの固定...光学顕微鏡下で微細な作業を行えるアーム付き顕微鏡を用いて、ガラスナノニードルの根元をマニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナーのマニピュレーター用スキャナーの Z ピエゾ上に固定した。一方、ナノメートルレベルに先鋭なガラスナノニードルの先鋭端は、イメージング用スキャナーの Z ピエゾ上に固定してある試料ステージ上にわずかに接触するように固定した。わずかな接触が重要なのは、ガラスナノニードルの先端と試料表面に働く摩擦力を下げるためである。

4. 研究成果

(1) マニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナーの開発...上記の機構を持ったマニピュレーター機能付きスキャナーを設計し、金属部の機械加工を行い、 piezo素子を組み込むことで、スキャナーの機械部をくみ上げた(図2)。開発したスキャナーの走査範囲は、XY 方向で共に 5 μm 程度、Z 方向に 2 μm 程度であり、生体分子やその高次複合体の観察には十分な範囲を実現した。また、高速 AFM の高速走査性を決める各軸の共振周波数は、従来型的高速 AFM スキャナーと遜色がなく、サブ秒レベルで 1 枚の AFM 画像が取得できる性能を実現した。また、マニピュレーターの位置制御の精度は、XY 方向で共に 1 nm 程度だった。このことは、大きな生体分子などに対して、特定のドメインを狙って外力を印加することができるような性能を実現したことを意味する(古寺、高野ら、特願 2019-149584)。ただし、ここでの位置精度の向上には、ガラスナノニードルの固定に実験者の高い技術と経験値を要した。今後、マニピュレーション用スキャナーの Z 方向に粗動機構を持たせることでより簡便に位置精度を向上させることができるだろう。

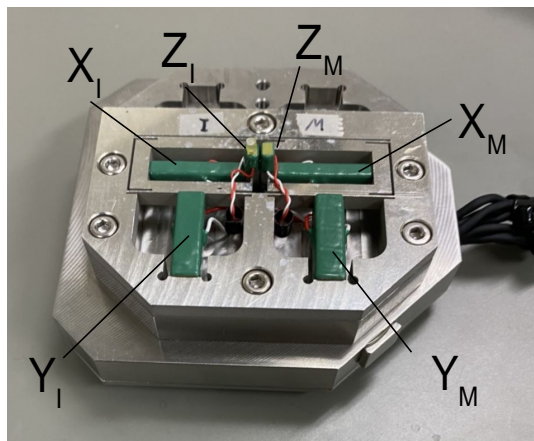


図2 組み立て後のマニピュレーター機能付き高速 AFM スキャナー 左がイメージング用のスキャナー(I)、右がマニピュレーション用のスキャナー(M)である。各軸の piezo素子を軸名と I または M の添え字で示す。XY 方向の piezo素子はともに 20mm であることから、スキャナー全体の大きさが分かる。

(2) ポリスチレンビーズを用いたシステムの性能評価...開発したマニピュレーター機能付き高速スキャナーのシステムの性能を評価するために、直径約 100 nm のポリスチレンビーズを高速 AFM で観察しながら、それらを移動させることができるかに取り組んだ。マニピュレーターニードル付近へのカンチレバーのアプローチは、高速 AFM に内蔵されている光学顕微鏡の光学フィルタを工夫することで実現した。光学顕微鏡下で高速 AFM のカンチレバーとガラスナノニードルを明瞭に可視化できるようになり、カンチレバーをガラスナノニードルの先端付近に容易にアプローチできるようになった。高速 AFM の観察視野内にガラスナノニードルとビーズが入るような観察範囲に粗動動作で移動し(図3の 0 s)、観察されているビーズをガラスナノニードルの先端を使って観察されているビーズを次々と移動させ、3つのビーズを整列することができた(図3の 224 s)。このことより、開発したマニピュレーション機能付き高速スキャナーシステムには、液中ナノメートルの世界を動画で観察しながら、サブマイクロメートルオーダーの対象物に外力を及ぼせる性能があることが実証された。

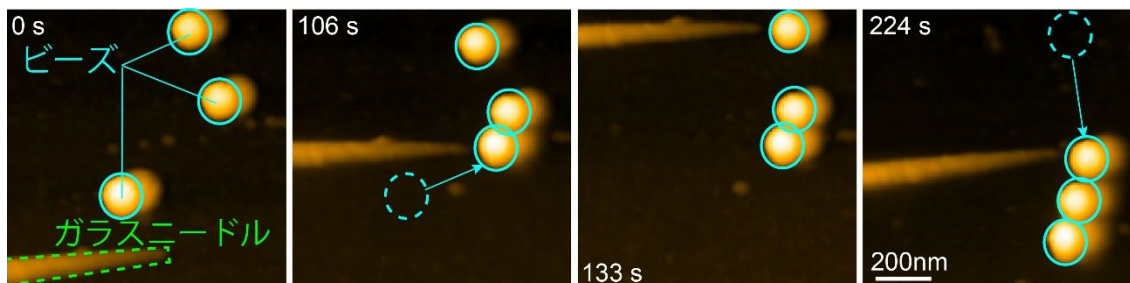


図3 直径 100 nm のポリスチレンビーズを高速 AFM 観察中にマニピュレートする実験 マイカ基板上にランダムにポリスチレンビーズを固定し(0 s)、それらのビーズをガラスニードルの先端を使って移動させ、最終的に3つのビーズを1列に整列させた。走査範囲は 1 μm 四方、走査速度は 0.66 s/frame だった。

(3) 生体分子への応用研究...開発したマニピュレーター機能付き高速スキャナーのシステムを用いて、生体分子に外力を及ぼし、その外力によって構造的、機能的変化が観察されるかの試験を行った。生体分子として、アクチン線維を用いた。アクチン線維は、細胞内でそれに働く外力に応じて結合する分子の結合力が変わることが知られていることから、最初の応用研究の対象として相応しいと考えた。水溶液中でマイカ基板上に緩やかに固定されたアクチン線維をマニピュレーターで移動させたり(図4)アクチン線維に急激な外力を加えることにより、らせん構造をもつアクチン線維のヘリカルハーフピッチが最大で10%程度伸長することを見出すことに成功した(未発表データのためここでは公開しない)。このことは、開発したマニピュレーション機能付き高速スキャナーシステムには、生体分子に外力を及ぼしながらその構造的特徴を抽出できる性能があることを実証している。技術的に改良すべき点は多々あるものの、研究開始時に目標としていた革新的な観察技術に開発に成功したといえる。今後、操作性や性能がより向上すれば、当該分野の発展や液中ナノメートルレベルで起こる現象の解明に大きな貢献ができることが期待される。

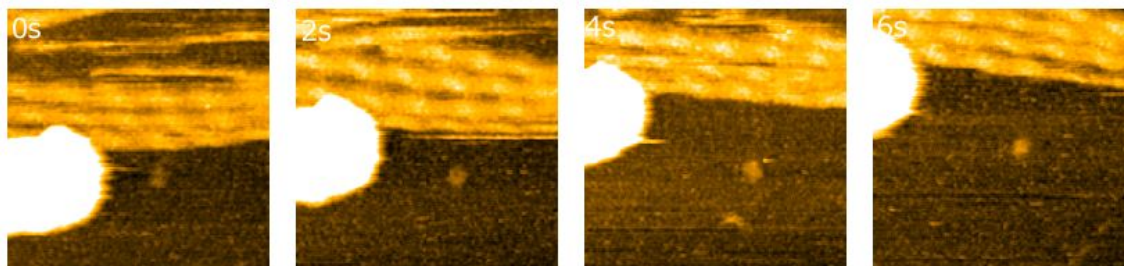


図4 アクチン線維を高速 AFM 観察中にマニピュレートする実験 マイカ基板上にアクチン線維を緩やかに固定し、それらのビーズをガラスニードルの先端(各画像の左側の白色に色抜けて見えるもの)を使って移動させることに成功した。走査範囲は200nm 四方、走査速度は1 s/frame だった。

<引用文献>

1. Ando T, et al: PNAS 98: 12468-12472, 2001
2. Ando T, et al: Annu. Rev. Biophys. 42: 393-414, 2013
3. Kodera N, et al: Nature 468: 72-76, 2010
4. Preiner J, et al: Nature Communications 5: 4394, 2014
5. Ngo K, et al: eLife 4: 04806, 2015

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 20件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Inoue Yumi, Ogawa Yuya, Kinoshita Miki, Terahara Naoya, Shimada Masafumi, Kodera Noriyuki, Ando Toshio, Namba Keiichi, Kitao Akio, Imada Katsumi, Minamino Tohru	4. 巻 27
2. 論文標題 Structural Insights into the Substrate Specificity Switch Mechanism of the Type III Protein Export Apparatus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 965 ~ 976.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.str.2019.03.017	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 Watanabe Shinji, Kitazawa Satoko, Sun Linhao, Kodera Noriyuki, Ando Toshio	4. 巻 90
2. 論文標題 Development of high-speed ion conductance microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Review of Scientific Instruments	6. 最初と最後の頁 123704 ~ 123704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1063/1.5118360	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 Nonaka Saori, Salim Emil, Kamiya Koki, Hori Aki, Nainu Firzan, Asri Rangga Meidianto, Masyita Ayu, Nishiuchi Takumi, Takeuchi Shoji, Kodera Noriyuki, Kuraishi Takayuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Molecular and Functional Analysis of Pore-Forming Toxin Monalysin From Entomopathogenic Bacterium <i>Pseudomonas entomophila</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00520	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 該当する
1. 著者名 Lim Kee Siang, Mohamed Mahmoud Shaaban, Wang Hanbo, Hartono, Hazawa Masaharu, Kobayashi Akiko, Voon Dominic Chih-Cheng, Kodera Noriyuki, Ando Toshio, Wong Richard W.	4. 巻 1864
2. 論文標題 Direct visualization of avian influenza H5N1 hemagglutinin precursor and its conformational change by high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 129313 ~ 129313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.02.015	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 Matsuda Kyohei, Sugawa Mitsuhiro, Yamagishi Masahiko, Kodera Noriyuki, Yajima Junichiro	4. 巻 594
2. 論文標題 Visualizing dynamic actin cross linking processes driven by the actin binding protein anillin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 1237 ~ 1247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1002/1873-3468.13720	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 Konno Hiroki, Watanabe-Nakayama Takahiro, Uchihashi Takayuki, Okuda Momoko, Zhu Liwen, Kodera Noriyuki, Kikuchi Yousuke, Ando Toshio, Taguchi Hideki	4. 巻 117
2. 論文標題 Dynamics of oligomer and amyloid fibril formation by yeast prion Sup35 observed by high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 7831 ~ 7836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1073/pnas.1916452117	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 Kikuchi Yousuke, Obana Nozomu, Toyofuku Masanori, Kodera Noriyuki, Soma Takamitsu, Ando Toshio, Fukumori Yoshihiro, Nomura Nobuhiko, Taoka Azuma	4. 巻 12
2. 論文標題 Diversity of physical properties of bacterial extracellular membrane vesicles revealed through atomic force microscopy phase imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 7950 ~ 7959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1039/c9nr10850e	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 小林昂平、古寺哲幸、田原悠平、豊永拓真、笠井大司、安藤敏夫、宮田真人	4. 巻 54
2. 論文標題 高速AFMが捕らえた! Mycoplasma mobileの滑走装置	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 顕微鏡	6. 最初と最後の頁 67-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kori, S. Ferry, L. Matano, S. Jimenji, T. Kodera, N. Tsusaka, T. Matsumura, R. Oda, T. Sato, M. Dohmae, N. Ando, T. Shinkai, Y. Defossez, P. A. Arita, K.	4. 巻 27
2. 論文標題 Structure of the UHRF1 Tandem Tudor Domain Bound to a Methylated Non-histone Protein, LIG1, Reveals Rules for Binding and Regulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.11.012	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 Haruyama, T. Sugano, Y. Kodera, N. Uchihashi, T. Ando, T. Tanaka, Y. Konno, H. Tsukazaki, T.	4. 巻 27
2. 論文標題 Single-Unit Imaging of Membrane Protein-Embedded Nanodiscs from Two Oriented Sides by High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 152-160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.09.005	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 Uchihashi, T. Watanabe, H. Kodera, N.	4. 巻 1814
2. 論文標題 Optimum Substrates for Imaging Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology	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) 10.1007/978-1-4939-8591-3_10	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 Terahara, N. Inoue, Y. Kodera, N. Morimoto, Y. V. Uchihashi, T. Imada, K. Ando, T. Namba, K. Minamino, T.	4. 巻 4
2. 論文標題 Insight into structural remodeling of the FlhA ring responsible for bacterial flagellar type III protein export	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science advances	6. 最初と最後の頁 eaao7054
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aao7054	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 Ravula, Thirupathi Ishikuro, Daiki Kodera, Noriyuki Ando, Toshio Anantharamaiah, G. M. Ramamoorthy, Ayyalusamy	4. 巻 30
2. 論文標題 Real-Time Monitoring of Lipid Exchange via Fusion of Peptide Based Lipid-Nanodiscs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry of Materials	6. 最初と最後の頁 3204-3207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemmater.8b00946	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 Kodera, N. Ando, T.	4. 巻 1805
2. 論文標題 Direct Imaging of Walking Myosin V by High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology	6. 最初と最後の頁 103-122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8556-2_6	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 Katayama, E. Kodera, N.	4. 巻 19
2. 論文標題 Unconventional Imaging Methods to Capture Transient Structures during Actomyosin Interaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International journal of molecular sciences	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) 10.3390/ijms19051402	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 Brouns, T. De Keersmaecker, H. Konrad, S. F. Kodera, N. Ando, T. Lipfert, J. De Feyter, S. Vanderlinden, W.	4. 巻 12
2. 論文標題 Free Energy Landscape and Dynamics of Supercoiled DNA by High-Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 11907-11916
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.8b06994	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 Keya Jakia Jannat, Inoue Daisuke, Suzuki Yuki, Kozai Toshiya, Ishikuro Daiki, Kodera Noriyuki, Uchihashi Takayuki, Kabir Arif Md. Rashedul, Endo Masayuki, Sada Kazuki, Kakugo Akira	4. 巻 7
2. 論文標題 High-Resolution Imaging of a Single Gliding Protofilament of Tubulins by HS-AFM	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-06249-1	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 Mohamed Mahmoud Shaaban, Kobayashi Akiko, Taoka Azuma, Watanabe-Nakayama Takahiro, Kikuchi Yosuke, Hazawa Masaharu, Minamoto Toshinari, Fukumori Yoshihiro, Kodera Noriyuki, Uchihashi Takayuki, Ando Toshio, Wong Richard W.	4. 巻 11
2. 論文標題 High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Loss of Nuclear Pore Resilience as a Dying Code in Colorectal Cancer Cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 5567 ~ 5578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.7b00906	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 Shibata Mikihiro, Nishimasu Hiroshi, Kodera Noriyuki, Hirano Seiichi, Ando Toshio, Uchihashi Takayuki, Nureki Osamu	4. 巻 8
2. 論文標題 Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-01466-8	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 Terahara Naoya, Kodera Noriyuki, Uchihashi Takayuki, Ando Toshio, Namba Keiichi, Minamino Tohru	4. 巻 3
2. 論文標題 Na ⁺ -induced structural transition of MotPS for stator assembly of the Bacillus flagellar motor	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaao4119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aao4119	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 Haruyama Takamitsu、Uchihashi Takayuki、Yamada Yutaro、Kodera Noriyuki、Ando Toshio、Konno Hiroki	4. 巻 430
2. 論文標題 Negatively Charged Lipids Are Essential for Functional and Structural Switch of Human 2-Cys Peroxiredoxin II	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 602 ~ 610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2017.12.020	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49件 (うち招待講演 21件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Recent developments in high-speed AFM
3. 学会等名 Joint UBI-NanoLSI workshop-Trends in molecular biophysics of living cells- (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水将裕, 岡本千優, 今井大達, 渡辺信嗣, 安藤敏夫, 古寺哲幸
2. 発表標題 細胞表面動態の高精度計測を目指した高速原子間力顕微鏡装置の開発
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Video imaging of bio-molecule in action by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 3rd NanoLSI Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMによる生体分子のビデオイメージング
3. 学会等名 第15回小動物インピボイメージング研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池田真教、成田知恕、清水将裕、古寺哲幸、田中耕三
2. 発表標題 ゲノム安定性維持における天然変性タンパク質 CAMP の動的制御
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFM（原子間力顕微鏡）による生体分子のナノ動態のビデオ観察
3. 学会等名 2019年度科学基礎論学会講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMによる活きた生体分子のビデオ観察
3. 学会等名 第43回日本頭頸部癌学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noriyuki Kodera
2. 発表標題 High-speed AFM imaging of bio-molecules in dynamic action
3. 学会等名 International IPR Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Interpretation of HS-AFM images using coarse-grained molecular dynamics simulation
3. 学会等名 Workshop "Trends in Computational Molecular Biophysics" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMを用いた生体分子の動態観察
3. 学会等名 第 169 委員会 第 56 回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMの開発とそのバイオ応用に魅せられて
3. 学会等名 生化学若い研究者の会 北陸支部 夏の研究セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古寺 哲幸, Kalashnikova Anna, Porter-Goff Mary E, 安藤 敏夫, Hansen Jeffrey C.
2. 発表標題 Single-molecule visualization of intrinsically disordered Rett syndrome protein, MeCP2 by high-speed AFM
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMと計算科学の融合の試み
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Noriyuki Kodera, Toshio Ando
2. 発表標題 Video imaging of proteins at work by high-speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kohei Kobayashi, Noriyuki Kodera, Yuhei O Tahara, Takuma Toyonaga, Taishi Kasai, Toshio Ando, Makoto Miyata
2. 発表標題 Movement of Gliding Motors in Mycoplasma mobile Visualized by High-speed AFM
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第61回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菊池 洋輔, 尾花 望, 豊福 雅典, 野村 暢彦, 古寺 哲幸, 安藤 敏夫, 福森 義宏, 田岡 東
2. 発表標題 高速AFMによるバクテリアの膜小胞の一粒子物性解析
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第61回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kohei Kobayashi, Noriyuki Kodera, Yuhei O Tahara, Takuma Toyonaga, Taishi Kasai, Toshio Ando, Makoto Miyata
2. 発表標題 Gliding Machinery of Mycoplasma mobile Visualized by High-speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 Joint Congress of 7th AOM, 45th JSM (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菊池 洋輔, 尾花 望, 豊福 雅典, 野村 暢彦, 古寺 哲幸, 安藤 敏夫, 福森 義宏, 田岡 東
2. 発表標題 High-speed AFM imaging revealed the physical diversity of membrane vesicles produced from Gram-negative and Gram-positive bacteria
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今村 元紀, 梅田 健一, 山中 信之介, 古寺 哲幸, 安藤 敏夫
2. 発表標題 Live Imaging of Single-Molecules under External Force using Tip-Scan High-Speed AFM Combined with Optical Tweezers
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石黒 大輝, 後藤 朱音, 豊田 貴大, 角野 歩, 柴田 幹大, 古寺 哲幸
2. 発表標題 High-speed AFM imaging of protein assembly-disassembly on curved membranes
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 成田 知恕, 池田 真教, 清水 将裕, 田中 耕三, 古寺 哲幸
2. 発表標題 Structural dynamics of the intrinsically disordered protein CAMP revealed by high-speed AFM
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林 昂平, 古寺 哲幸, 田原 悠平, 豊永 拓真, 笠井 大司, 安藤 敏夫, 宮田 真人
2. 発表標題 Gliding machinery of Mycoplasma mobile visualized by high-speed AFM
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清水 将裕, 成田 知恕, 古寺 哲幸
2. 発表標題 Development of a method for analyzing high-speed AFM observations by coarse-grained molecular dynamics simulation
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高野 純, 渡辺 信嗣, 安藤 敏夫, 古寺 哲幸
2. 発表標題 Development of high-speed AFM scanner with manipulator
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田 健太, 石黒 大輝, 角野 歩, 柴田 幹大, 古寺 哲幸
2. 発表標題 高速AFM用凹凸基板の改良とその応用実験
3. 学会等名 平成30年度日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohei Kobayashi, Noriyuki Kodera, Yuhei O Tahara, Takuma Toyonaga, Taishi Kasai, Toshio Ando, Makoto Miyata
2. 発表標題 Gliding Machinery of Mycoplasma mobile Visualized by High-speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 22nd Congress of the International Organization for Mycoplasmaology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 室 郁弥, 小林 史典, 中山 隆宏, 古寺 哲幸, 安藤 敏夫, 紺野 宏記
2. 発表標題 Observation of the dynamics associated with ubiquitination of HECT E3 ubiquitin ligase using High speed AFM
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早川 悠貴, ンゴー キエン, 古寺 哲幸, 上田 太郎
2. 発表標題 Potent and highly cooperative inhibition of actin movement on HMM by actin binding domain of Rng2
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ンゴー キエン, 古寺 哲幸, 上田 太郎
2. 発表標題 Molecular Structures of Actin Filaments Bound with γ -Actinin, Tropomyosin-Troponin and Myosin II Analyzed by High Speed AFM
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 春山 隆充, 菅野 泰功, 古寺 哲幸, 内橋 貴之, 安藤 敏夫, 田中 良樹, 紺野 宏記, 塚崎 智也
2. 発表標題 High-speed AFM imaging of membrane protein embedded in Nanodisc
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊永 拓真, 加藤 貴之, 川本 晃大, 古寺 哲幸, 安藤 敏夫, 難波 啓一, 宮田 真人
2. 発表標題 Assignment of subunit components in motor evolved from F-ATPase for Mycoplasma mobile gliding
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高野 純、執行 航希、開発 秀星、田嶋 将、渡辺 信嗣、安藤 敏夫、古寺 哲幸
2. 発表標題 マニピュレーター機能付き高速AFMスキャナーの開発
3. 学会等名 平成30年度日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomohide Saio, Noriyuki Kodera, Charalampos G Kalodimos, Koichiro Ishimori
2. 発表標題 Structural study on Trigger Factor chaperone: Substrate recognition and foldase activity
3. 学会等名 International Symposium on Protein Quality Control (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akane Goto, Mikihiro Shibata, Ayumi Sumino, Noriyuki Kodera
2. 発表標題 HS-AFM Observations of Protein Dynamics on 3D-patterned Substrate
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yousuke Kikuchi, Tatunori Kiyokawa, Kana Morinaga, Yuuma Susa, Yasuda Marina, Hibiki Okuwaki, Ryukou Souma, Nozomu Obana, Masanori Toyohuku, Nobuhiko Nomura, Noriyuki Kodera, Toshio Ando, Yoshihiro Fukumori, Azuma Taoka
2. 発表標題 Physical heterogeneity of bacterial membrane vesicles revealed by high-speed AFM
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daisuke Noshiro, Noriyuki Kodera, Toshio Ando
2. 発表標題 Two-dimensional crystals of tamavidin 2 for a quick and easy method of immobilization of biotinylated biomolecules
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takahiro Toyoda, Akane Goto, Ayumi Sumino, Mikihiro Shibata, Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Direct observation of proteins-lipid membrane interactions depending on the physical shape of lipid membrane by high-speed AFM
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mahmoud Shaaban Mohamed, Akiko Kobayashi, Azuma Taoka, Takahiro Watanabe-Nakayama, Yosuke Kikuchi, Masaharu Hazawa, Toshinari Minamoto, Yoshihiro Fukumori, Noriyuki Kodera, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando, Richard Wong
2. 発表標題 Loss of Nuclear Pore Selective Barrier Revealed by High-Speed Atomic Force Microscopy in Colorectal Cancer Cells
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoyuki Narita, Masanori Ikeda, Kozo Tanaka, Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Structural dynamics of the intrinsically disordered protein CAMP revealed by high-speed AFM
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kien Xuan Ngo, Taro QP Uyeda, Noriyuki Kodera
2. 発表標題 High speed AFM imaging of structural changes in actin filaments bound tropomyosin-troponin in presence of myosin S1 and ATP
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Taiji Namba, Tomohide Saio, Koichiro Ishimori, Noriyuki Kodera
2. 発表標題 Real time observation of Trigger Factor assisted protein folding using high-speed atomic force microscope
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoya Terahara, Noriyuki Kodera, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando, Keiichi Namba, Tohru Minamino
2. 発表標題 Real-time imaging of Na ⁺ -induced structural transitions of MotPS stator complex of flagellar motor by HS-AFM
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Noriyuki Kodera, Daisuke Noshiro, Sujit Dora, Toshio Ando
2. 発表標題 Structural dynamics analysis of intrinsically disordered proteins by high-speed AFM
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi, Mikihiro Shibata, Hiroshi Nishimasu, Noriyuki Kodera, Seiichi Hirano, Toshio Ando, Osamu Nureki
2. 発表標題 High-Speed AFM Observation of Domain Flexibility Related to Enzymatic Function of CRISPR-Cas9
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古寺哲幸、安藤敏夫
2. 発表標題 高速AFMによる生体分子の動態観察
3. 学会等名 平成29年金沢大学十全医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中耕三、池田真教、藤田拓樹、古寺哲幸、安藤敏夫、家村顕自、永井正義
2. 発表標題 天然変性タンパク質CAMPを含む複合体の機能解析
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速AFMによる生体分子のビデオ観察
3. 学会等名 第 31 回分子シミュレーション討論会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 古寺哲幸
2. 発表標題 高速 AFM による生体分子の形状と動きの同時観察
3. 学会等名 第1271回ウイルス・再生医科学研究所セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroki Konno, Takamitsu Haruyama, Takayuki Uchihashi, Yutaro Yamada, Noriyuki Kodera, Toshio Ando
2. 発表標題 New insight into the functional switching of 2-Cys Preoxidoredoxin revealed by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 Annual Biotechnology Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 田中 啓二、若槻 壮市	4. 発行年 2020年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 248
3. 書名 イメージング時代の構造生命科学	

1. 著者名 Uyeda, Taro Q. P. Ngo, Kien Xuan Kodera, Noriyuki Tokuraku, Kiyotaka	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer Singapore	5. 総ページ数 157-177
3. 書名 The Role of Water in ATP Hydrolysis Energy Transduction by Protein Machinery	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 走査型プローブ顕微鏡およびZ駆動装置	発明者 古寺哲幸, 清水将裕, 安藤敏夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-120245	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 マニピュレータ機能付き原子間力顕微鏡	発明者 古寺哲幸, 高野純, 他4名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-149584	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 電気生理学的解析を可能にした原子間力顕微鏡	発明者 古寺哲幸, 米川拓臣, 執行航希, 渡邊信嗣, 安藤敏夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-153689	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>金沢大学 生物物理学研究室 http://biophys.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.htm 金沢大学 研究者情報 http://ridb.kanazawa-u.ac.jp/public/detail.php?id=3403 金沢大学 WPIナノ生命科学研究所 https://nanolab.kanazawa-u.ac.jp/ はかる 第3回 https://www.jst.go.jp/pr/jst-news/pdf/2017_08/2017_08_p12-13.pdf</p>

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
---------------------------	-----------------------	----