

領域略称名：揺らぎと生体機能
領域番号：2006

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)」に係る事後評価報告書

「揺らぎが機能を決める生命分子の科学」

(領域設定期間)

平成20年度～平成24年度

平成25年 6月

領域代表者 京都大学・大学院理学研究科・教授・寺嶋正秀

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. 研究領域の設定目的の達成度	8
4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	11
5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	12
6. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	13
7. 総括班評価者による評価	14
8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	16
9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	21
10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	27

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進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。

背景

遺伝情報の翻訳、シグナル伝達、エネルギー変換など、生命現象は、蛋白質等の生体分子に担われ、その本質は細胞内外での制御された化学反応の連鎖である。したがって生命現象の真の理解は、これらの反応を分子科学の言葉で理解することによってのみ可能である。現在は、原子レベルの蛋白質構造・機能の実験的解析が進展しており、遺伝子塩基配列や蛋白質立体構造等のデータベースが急激な勢いで蓄積されつつある。これらデータベースを基礎として、バイオインフォマティクスに代表されるネットワーク解析やシステム生物学へと進んでいる。ここでは、蛋白質等生体分子は決められた入力に対し決まった出力を与える素子として取り扱われる。しかし、分子科学の言葉で理解するためには、素子内部での化学反応と反応ダイナミクスを解明する必要があるが、現在のシステムバイオロジーや構造生物学にはこのダイナミクスの観点が欠けている。さらに、ナノメートルサイズの生体分子は体温環境下の溶液中で機能しているため、絶えず強い熱揺らぎにさらされている。揺らぎが支配する生体分子への入出力は確率的である。確率入出力でありながら確定的な生命現象を創出する基礎は何か、あるいは生体分子がいかんして揺らぎを逃れ、あるいは逆に有効に利用して機能を発揮しているのか明らかにすることは、生命分子科学の最も本質的な課題でありながら、これまで組織的、系統的に研究されてこなかった。揺らぎが、機能反応の分子論的理解の本質である事は、天然変性蛋白質と呼ばれる、天然状態で固有の構造を持たない蛋白質が数多く見出されてきていることから次第に認識されつつある。天然変性蛋白質の存在自体が、揺らぎの機能への重要な役割を示している。天然変性蛋白質は、その結合すべき相手分子に対応して形を作り、多様な標的の認識を可能にしていると考えられている。これは、蛋白質による分子認識の古典的描像である“鍵と鍵穴”モデルを否定し、誘導適合の概念の大幅な変更を促すものである。このような分子認識形態を構造と揺らぎの相関として普遍的に解明することは、蛋白質の機能制御の本質を解明することにつながるであろう。また、酵素の揺らぎ領域ではその活性が高まるとされており、種々の機能の発現には、揺らぎ構造が関連していることが指摘され始めている。細胞レベルでは、がん細胞膜やエイズ感染細胞膜も正常に比べて揺らぎが大きく、流動性が高くなっている。細胞は増殖する場合に揺らぎが必要になるであろう。このように、生命現象のダイナミクスは揺らぎと切り離すことはできない。

ところが、揺らぎの観点からの生命科学へのアプローチは例がなく、特に揺らぎと言う概念が多く分野で多様に解釈されているため、組織的研究は困難であった。時間・空間揺らぎを観測する分子科学的手法の開発、揺らぎの本質をあぶりだすための揺らぎ制御法の開発、生体分子の揺らぎと機能との関係、そうした揺らぎをモデル化する物理的手法、そして揺らぎの立場から医療の分野へ応用する医科学分野など、物理・化学・医科学分野の融合が現在は真に必要とされている。多くの分野連携によって新しい研究分野を創出し、その叡智を結集することによって、揺らぎを正面にすえた、大きくてまだ隠された部分の多い課題を解決すべき時期であると考えた。

目的

生体分子揺らぎの研究では、我が国でも個別の領域では世界のトップレベルの研究が出ている事は確かである。問題点は、こうしたトップレベルの研究者同志の交流がまだ少なく、「生命分子科学」という大きな分野への広がりや裾野の拡大が欠けているところにある。この領域研究では、こうしたこれまでの個々の研究を核として、揺らぎを中心にして生体分子の機能から生命現象を理解する生命分子科学の分野を創出する。そのために、これまでは化学、物理、応用化学、薬学、生命科学、機能科学などそれぞれの分野で揺らぎに関して卓越した業績を示している研究者を、この統一テーマの下に結集し、これらの研究者の有機的な連携の下で、それぞれの分野からこの融合分野を構築する。このために、「揺らぎを観る」、「揺らぎをつくる」、「揺らぎを使う」ための3つの研究項目を構成し、それぞれの班での成果を基に班間融合を図り、分野融合と新しい分野創生と言う最終的な目標を達成する。「構造から機能」という従来のパラダイムを離れて、「揺らぎから機能」へという新しいパラダイムを構築することが大きな目標となる。具体的には、揺らぎを時間分解観測する手法の開発や構造と揺らぎを明確にするための手法開発、揺らぎを制御するための手法開発、それらを用いてのDNA・RNA・蛋白質や生体膜の機能・構造変化・蛋白質-蛋白質相互作用などの分子論的機構、分子認識、フォールディングなどを含めた生体内の化学過程の理解など、生

命をもたらす機能の理解につなげることを目的とする。

A01 揺らぎ検出項目においては、構造やエネルギーなどのさまざまな揺らぎ検出手法の開発を主として、それを用いた生体分子の機能とのかかわりについて明らかにする。特にエネルギー揺らぎと構造揺らぎに着目し、反応途中で揺らぎがどのように変化しているのかを時間分解検出する手法を確立する。また、NMR や中性子非弾性散乱により、機能に密接に関係した揺らぎや蛋白質のダイナミックな描像を明らかにする。一方で、分子動力学シミュレーションによる揺らぎを明らかにする手法を開発し、実験で得られた情報を元に、分子レベルで見た揺らぎとダイナミクスとの関係を解明する。これらを通して、揺らぎから機能へ至る分子機構を明らかにし、蛋白質と単なるポリペプチドを区別する動力的性質の解明等基礎科学に貢献するとともに、構造生物学情報に基づいた創薬の可能性を革新的に広げる等の応用分野も開拓する。

A02 揺らぎ制御項目においては、アミノ酸置換や欠損、挿入などの変異蛋白質を駆使して、揺らぎを制御する観点からの研究を推進する。アミノ酸配列は、立体構造を決定するのと同様に、揺らぎを制御しているはずであり、A01 項目研究者と共同で、アミノ酸の情報変化が引き起こす構造揺らぎの解明に取り組む。置換や挿入のために、一般的な組換え遺伝子技術に加え、非天然アミノ酸の部位特異的導入技術を開発する。4塩基コドンを用いた非天然アミノ酸導入は、蛍光性アミノ酸導入による揺らぎの直接検出など様々な新しい蛋白質の研究手段を提供する可能性がある。また、天然変性蛋白質の構造と機能に関する研究も本研究班の主要テーマとする。天然変性蛋白質のモデル系を開発し、揺らぎが機能とどう関わっているのかを明らかにする。

A03 揺らぎと機能項目においては、DNA・蛋白質・膜など生体分子全般にわたり、機能に直結する揺らぎを検出し、機能との関連に重点をおいて明らかにする。例えば、がん治療と膜の揺らぎとの関連が計画研究班員の上岡らによって発見されるなど、生命に対して細胞を形作る膜の揺らぎの影響は非常に大きいことが明らかとなった。ここでは特に、医療の分野で重要になるがん細胞膜と正常細胞膜の揺らぎについて明らかにする。分子シャペロンは、分子レベルの生命現象である蛋白質フォールディングと細胞レベルの生命現象とを結びつける重要な概念である。このため、細胞内の蛋白質フォールディングに関わる分子シャペロンの機能発現とその構造ゆらぎの分子論的実体やゆらぎと機能との関係を明らかにする。一方、分子動力学シミュレーションと統計力学を用いた二方向から、揺らぎと機能を結び付ける理論構築を行い、生命現象を「説明」するだけでなく「予測」する理論を発展させる。その他、揺らぎと機能に直結した事項を明らかにする。

以上の研究項目の成果を統合して、生体分子の構造揺らぎ、エネルギー揺らぎから機能発現へいたる過程を理解し、制御できる生命分子科学の新しいパラダイムを構築する。

ここで提案している領域形成は、幾つかの研究グループの有機的な連携の下で既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指すものであり、また異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すものである。また、多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すものでもある。

当該領域の研究の発展は、化学だけにとどまらず物理・生物物理・医科学・物質化学などの他の研究領域の研究の発展に大きく貢献する。こうした、分子科学を主体として生命科学を扱う分野は学術の国際的趨勢等の観点から見て重要である。また、創薬やがん治療などの応用も視野に入れており、その波及効果は大きい。

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、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究組織

研究項目（A01）班長：寺嶋 正秀「揺らぎ検出」

氏名	所属	研究課題
寺嶋 正秀	京都大学	エネルギー・構造揺らぎの時間分解検出法開発と反応機構
加藤 晃一	自然科学研究機構	NMRを利用したタンパク質および複合糖質の揺らぎの検出とその機能関連の探査
岡本 祐幸	名古屋大学	構造ゆらぎを促進する分子シミュレーション手法の開発と自由エネルギー計算

公募班員

石森 浩一郎	北海道大学	高圧下蛍光分光システムによる蛋白質の構造的揺らぎの定量的解析
今元 泰	京都大学	蛋白質の選択的な相互作用に必要な蛋白質構造揺らぎの検出
山村 泰久	筑波大学	熱力学的手法による脂質二分子膜における揺らぎの検出 熱力学的手法による生体膜モデル系における揺らぎの検出
川上 勝	北陸先端科技大	A F Mを用いた機械的伸張法によるタンパク質の揺らぎの検出と生物学的機能との関連, 1 分子リフォールディング実験によるミオグロビンの天然一変性状態の揺らぎの解析
佐藤 啓文	京都大学	積分方程式理論に基づく揺らぎと水和の理解 積分方程式理論に立脚した構造揺らぎの統計力学とダイナミックス
高田 彰二	京都大学	蛋白質のレアな大振幅ゆらぎの理論解析：クラッキングの探索 蛋白質の大振幅ゆらぎの理論解析：構造変化経路から天然変性まで
後藤 祐児	大阪大学	アミロイド線維形成中間体の立体構造と揺らぎ
木寺 詔紀	横浜市立大学	タンパク質側鎖の平衡揺らぎと基質結合に伴う応答的運動
北尾 彰朗	東京大学	タンパク質複合体形成・解離に関わるモードカップリング解析法開発
北原 亮	立命館大学	高圧力NMR法による蛋白質の準安定状態にもとづいた構造・機能相関 高エネルギー構造の解明による蛋白質構造揺らぎの可視化
櫻井 一正	大阪大学	NMRによる折り畳み及びアミロイド形成前駆状態の特性化
関口 博史	高輝度センター	高速1分子動態計測による膜タンパク質機能発現機構の解明
神山 匡	近畿大学	蛋白質の等温圧縮率と断熱圧縮率
菅瀬 謙治	サントリー生物研	NMR緩和分散法によるi P S細胞誘導因子O c t 3 / 4の揺らぎの検出
石井 邦彦	理化学研究所	無標識蛍光相関分光による生体高分子のナノ秒揺らぎの研究 先端的な蛍光相関分光法を応用した生体分子の揺らぎ計測
高橋 聡	東北大学	一分子観察法による生体分子の並進拡散運動と分子内構造変化の相関の解明 タンパク質の高速揺らぎ運動と細胞内における安定性の一分子観測
西村 千秋	帝京平成大学	天然変性アミロイド蛋白質の揺らぎ構造NMR解析
林 久美子	東北大学	統計力学基礎論・非平衡統計力学のブレークスルーによる一分子測定理論の創出
山口 真理子	奈良先端科技大	タンパク質における局所構造の揺らぎ

研究項目（A02）班長：片岡 幹雄「揺らぎ制御」

氏名	所属	研究課題
片岡 幹雄	奈良先端大	天然変性蛋白質のモデル系開発と揺らぎと構造形成相関の解析
芳坂 貴弘	北陸先端大	非天然アミノ酸の部位特異的導入技術を用いたタンパク質の揺らぎ解析

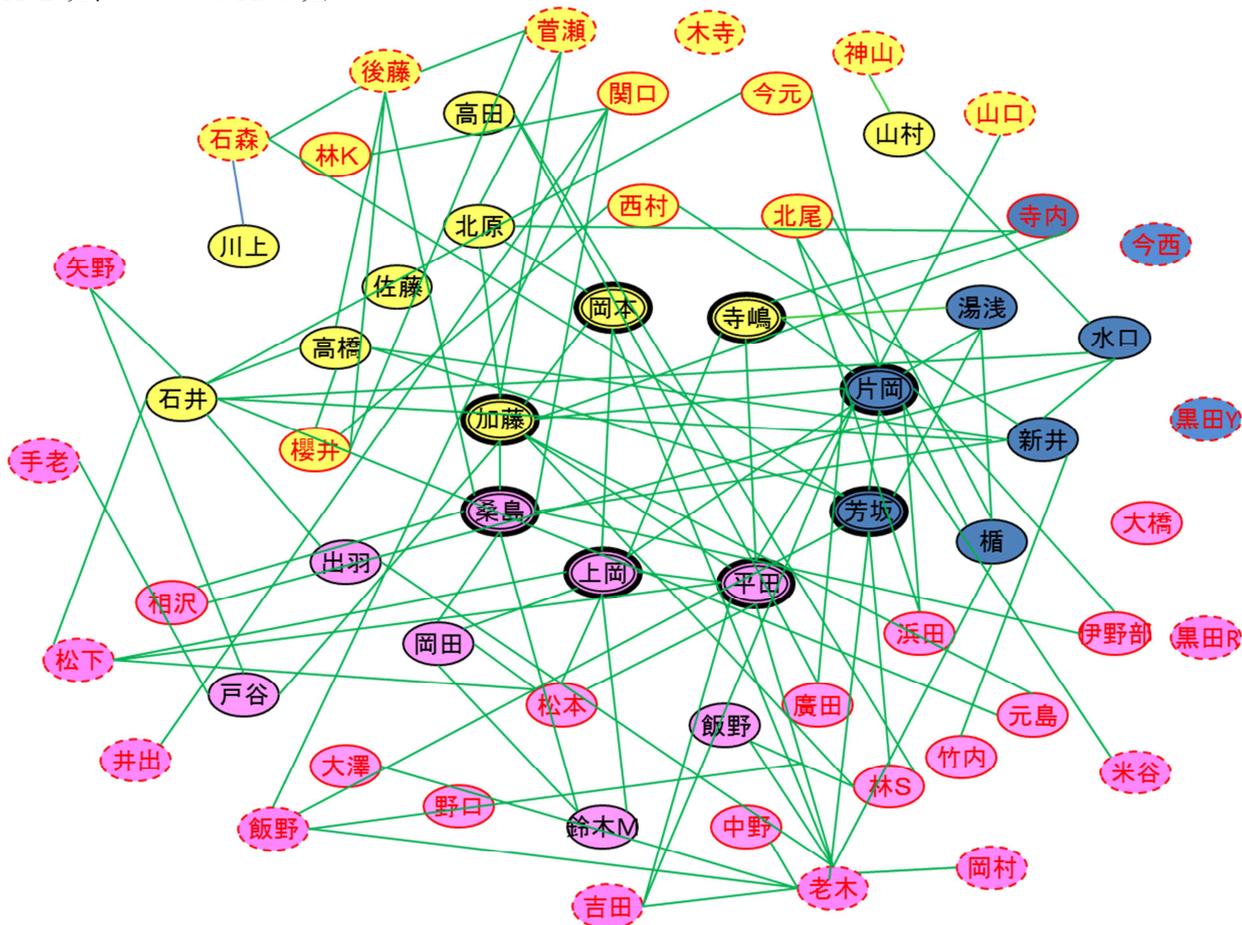
公募班員		
今西 未来	京都大学	DNA結合タンパク質の揺らぎによる配列特異的DNA結合への影響
水口 峰之	富山大学	新しいタイプの天然変性蛋白質の揺らぎと機能の解明 精神遅滞関連蛋白質PQB P-1の揺らぎと機能の解明
黒田 裕	東京農工大学	少数のアミノ酸置換による蛋白質の主鎖構造の揺らぎの設計法の開発及びその効果の解析
湯浅 順平	奈良先端科技大	光受容タンパク質の揺らぎ変化の緩和過程の検出 発光性プローブを用いた光受容タンパクの揺らぎ制御と検出
楯 真一	広島大学	ループ変異による協調的内部運動摂動を利用した蛋白質活性部位の揺らぎの制御 天然変性タンパク質の過渡的構造形成の制御
寺内一姫	立命館大学	24時間周期で揺らぐタンパク質の制御機構
新井 宗仁	産総研	網羅的アミノ酸置換データベースに基づく蛋白質の揺らぎ制御 ミュータノーム解析に基づく天然変性蛋白質の揺らぎ制御
研究項目 (A03) 班長：上岡 龍一「揺らぎと機能」		
氏名	所属	研究課題
上岡 龍一	崇城大学	細胞膜及び人工膜の揺らぎが関与する制がん機能メカニズム
桑島 邦博	自然科学研究機構	シャペロニンの構造揺らぎとフォールディング介助機能
平田 文男	自然科学研究機構	生体分子および溶媒の構造揺らぎと共役した機能発現過程の理論的解明
公募班員		
鈴木 健太郎 (H21年度)	東京大学	ミクロの揺らぎによって引き起こされるオレイン酸螺旋構造体の自発的マクロ運動
相沢 智康	北海道大学	タンデムリピートを持つ新規天然変性DNA結合ドメインの揺らぎと分子認識機構の解明
老木 成稔	福井大学	KcsAチャンネル蛋白質の1分子測定による構造ゆらぎと機能ゆらぎの相関
大澤 匡範	東京大学	NMRによる電位依存性イオンチャンネルの動的構造と機能発現機構の解明
大橋祐美子	理化学研究所	蛋白質の揺らぎとアミロイドの構造の関係
鈴木 元	名古屋大学	遺伝的揺らぎと孤発癌発生機序解明のための双方向性研究 遺伝的揺らぎと孤発癌病態解明に向けた統合的研究
出羽 毅久	名古屋工業大学	脂質・核酸複合体の動的構造と核酸送達機能 脂質・核酸複合体の動的構造と細胞内核酸送達機能相関の解明
矢野 義明	京都大学	一分子蛍光計測による膜タンパク質構造形成過程の揺らぎ解析
飯野 亮太	大阪大学	モータータンパク質の揺らぎと性能の相関を調べる超高速光学顕微鏡の開発 分子モーターの構造揺らぎを調べる超高速配向イメージング法の開発
戸谷 希一郎	成蹊大学	生体環境に基づく人工揺らぎ反応場が酵素に与える影響 人工揺らぎ環境場における糖鎖プロセッシング解析
岡田 誠治	熊本大学	細胞膜の揺らぎと造血システム (正常造血と造血器腫瘍) 細胞膜の揺らぎ修飾による造血器腫瘍の制御
米谷 佳晃	日本原子力研	特異的及び非特異的DNA結合状態における蛋白質の構造揺らぎによる分子認識機構
松下 琢	崇城大学	テロメアDNAの四重らせん構造形成における揺らぎと機能に関する研究
岡村 恵美子	姫路獨協大学	生体膜の揺らぎによる薬物の輸送機構の動的多核NMR解析
井出 徹	大阪大学	1分子計測法によるチャンネルタンパクの構造揺らぎ・機能揺らぎ相関の研究

中野 実	富山大学	中性子散乱法を用いた脂質膜非対称性の解消に関わる脂質-タンパク質相互作用の解明
濱田 大三	神戸大学	蛋白質毒性凝集体の特性を決定する構造揺らぎ
林 重彦	京都大学	タンパク質機能における p K a 制御の分子機構
野口 博司	東京大学	生体膜の膜融合ダイナミクス
吉田 紀生	分子研	DNAの電気伝導性と構造揺らぎに関する理論的研究
手老 龍吾	分子研	脂質膜の過渡的相分離過程における構造・物性とその機構
黒田 玲子	東京大学	アミロイドーシス関連タンパク質の分子ダイナミクス
廣田 俊	奈良先端大	揺らぎによるシトクロムc多量体形成と機能
松本 陽子	崇城大学	アポトーシス誘導による疾患治療と細胞膜の揺らぎ
元島 史尋	京都産業大学	シャペロン補助フォールディングにおけるタンパク質の揺らぎ制御の解析
伊野部智由	富山大学	揺らぎを介したプロテアソームの基質認識機構

(所属は採択時のもの)

共同研究の相互作用マップ

以下に共同研究として行った、あるいは現在も進んでいる経路図を示す。(二重枠線は計画班員、黒枠線は2期連続して採択された公募班員、赤点枠線は前期公募班員、赤枠線は後期公募班員、背景の黄色はA01班、青はA02班、ピンクはA03班)



この図から明らかなように、計画班員を中心に班内、班間に共同研究のネットワークが張り巡らされている。2009年7月(前期公募班員が決定した時期)での共同研究は22件であったことから、本新学術領域研究が発足したことにより、多数の異分野間の共同研究が促進され、新たな研究領域となったことがうかがえる。この共同研究ネットワークは、班員外にも広がっている。

3. 研究領域の設定目的の達成度（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、どの程度達成できたか、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の達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目毎の状況も記述してください。

A01 項目：揺らぎの検出

A01 班では、揺らぎの新しい検出手法を開発し、それを生体分子の化学反応解明へ適用すること、あるいは従来の検出法でもこれまで考えられなかった応用を提出することが主目標となっている。この目標のもとで、以下のような成果が出ている。手法は融合的なものも多いが、ここでは簡便のために、ベースとなる手法によって、1 分子検出、熱力学・分光手法、NMR 法、理論開発に分類している。

(a) 1 分子検出

アンサンブル平均では消えてしまう揺らぎを検出するうえで、ここの分子の動きをとらえられる 1 分子検出法は有用である。1 分子検出法で揺らぎを検出するための種々の手法を開発することに成功した。蛍光相関分光法(FCS)は、蛍光の揺らぎを一分子レベルで観測することで分子の拡散や分子内の自発的な構造揺らぎをとらえる方法である。石井は、蛍光寿命の揺らぎの相関分光法で揺らぎを検出する手法の開発を行った。蛍光寿命を利用した FCS を一般化した解析法を考案し、二次元蛍光相関分光法を提出した。寺嶋は、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)による新しい一分子蛍光検出解析法を開発し、DNA 構造揺らぎを明らかにした。高橋は、蛍光色素をラベルしたタンパク質をフローセルに一分子レベルで流し、フローセルに励起レーザーを導入することで基板に固定しない一分子の連続観察を目指し、極めて実用的な一分子観察装置を開発した。原子間力顕微鏡(AFM)を用いての揺らぎ検出に、川上が成功した。関口はタンパク質の分子内運動を精度良く検出可能な X 線 1 分子追跡法に着目し、情報伝達に関わる分子として重要な膜タンパク質の揺らぎを伴う分子内構造変化を高精度(ピコメートル精度)、且つ高速(数マイクロ秒)に計測する基盤技術開発を行うことに成功した。

(b) 熱力学・分光手法

揺らぎを検出するうえで、熱力学や分光法はそのダイナミクスに関する有用な情報を与えてくれることが期待される。寺嶋は、この熱力学法を短寿命中間体にも適用できるように、新規な時間分解熱力学法を開発することに成功している。神山は、蛋白質の巨視的な構造揺らぎを検出する手段として等温圧縮率を用い、超高感度密度測定システムの開発とともに、蛋白質の構造的な体積揺らぎの定量化、揺らぎを指標とした蛋白質の分類化、“構造 - 揺らぎ - 機能”の相関解明を行った。山村は、精密な熱容量の測定によって膜の揺らぎを明らかにするため、最も精度の高い熱容量測定ができる断熱型熱量計を開発している。石森は、蛋白質機能の分子論的機構を考える上で重要な構造的揺らぎを、蛍光を利用した FRET の圧力依存性から、部位特異的な定量的評価を行った。山口は、溶媒への露出など環境によって大きく変化する燐光寿命を計測することで、構造と揺らぎを検出することを試みた。後藤は、アミロイド線維形成中間体の立体構造と揺らぎの解明に取り組み、超音波処理によって微細で均質な線維を作製することに成功した。今元は、代表的な G 蛋白質共役型受容体であるロドプシンの側鎖の H/D 交換反応を FTIR で検出することから、その構造揺らぎを調べることができた。

(c) NMR 法

NMR は、結晶中でなく、実際に機能している溶液中の構造とその揺らぎを検出できるという意味で、大きな発展が期待されている。加藤は NMR を駆使して、溶液中で決まった構造をとらない生体分子の構造と揺らぎを明らかにする手法を開発した。北原は、開発した高压 NMR を用いて、圧力・温度摂動によりタンパク質の基底構造から変性構造までの広く大きな構造揺らぎを捉えるとともに、準安定状態の構造及び機能解析を行った。菅瀬は、 μs - ms の揺らぎを検出できる NMR の緩和分散法を用いて、iPS 細胞を樹立するために用いられる転写因子 Oct3/4 と Sox2 の揺らぎを示した。櫻井は、アミロイド線維形成のモデルサンプルとして $\beta 2$ ミクログロブリンを、折り畳みのモデルサンプルとして β ラクトグロブリンを用い、中間体構造のキャラクタライズを NMR を用いて行った。西村は NMR の CLEANEX-PM 法を用いて、天然変性蛋白質のアルファヘリックスの揺らぎ構造を評価することに成功した。

(d) 理論解析

実験的に得られたデータを分子レベルで解析するためには、揺らぎに着目した理論の開発が重要である。岡本は、分子シミュレーションに適した、多くの拡張アンサンブル法と総称される強力なシミュレーション手法を開発した。高田は、蛋白質の自発的な状態間遷移のような大振幅揺らぎを、構造的およびエネルギー的観点から理論的に解析するための方法を開発し、大振幅揺らぎに対する新しい概念を確立した。木寺は、揺らぎに関係する一つのねじれ角による運動が、球状構造を維持するために、他の多数のねじれ角の運動によって補償されることを示した。佐藤は、計算機の並列化効率が極めて高い新しい積分方程式理論を開発し、効率良く構造揺らぎの効果を取り入れることに成功している。北尾は、タンパク質の複合体形成や解離のメカニズムを、構成する原子の集団的自由度（モード）間のカップリングというコンセプトを踏まえて、これまでの Induced-fit や pre-existing モデルよりも詳細なレベルで明らかにするシミュレーション手法を開発した。林(久)は非平衡ゆ

らぎの性質を利用し、実験で得られたイメージングから非破壊に生体分子の出す力を測定するユニークな理論を構築することに成功した。

以上のように、A01 班では、新規で独創的な検出方法・解析の開発を行い、揺らぎを検出するための様々な手法を提出してきた。また、シミュレーションをベースにした理論的解析法の提出により、得られた実験データの分子論的解析を可能にした。後述のように、これらの手法で多くの成果を出している。

A02 項目：揺らぎの制御

A02 班では、変異や化学修飾を駆使して、揺らぎを増したり抑制したりすることで、立体構造形成や機能発現を制御する研究を推進している。生理的条件下で変性構造にありながら酵素活性を有する変異体や、立体構造を保持し安定性が向上していながら酵素活性が低下する変異体など、以下のような揺らぎに関わる興味深い研究成果が得られている。

片岡は、黄色ブドウ球菌核酸分解酵素に対して、生理的条件下では変性構造にあるが、酵素活性をもつという天然変性蛋白質のモデル系となる変異体を数種作製し、リガンド誘導折り畳み機構について、折り畳み→結合機構と結合→折り畳み機構の2種類が実現していることを示した。芳坂は、開発してきた4塩基コドンによる非天然アミノ酸導入技術をマルトース結合蛋白質に適用して、その基質結合に伴う構造変化を FRET を用いて計測する手法を確立した。新井は、ジヒドロ葉酸還元酵素の活性部位内にあり、高い温度因子を持つ R44 の網羅的置換変異による研究を行い、R44 の変異によって揺らぎを制御することに成功し、活性と安定性の間にトレードオフ関係が存在することを明らかにした。今西は、システインをアスパラギン酸に置換した CDH2 型ジンクフィンガーの Zn(II)結合親和性が野生型に比べ、約 500 倍低下することを明らかにし、揺らぎをコントロールすることによって、天然にはない新しいスイッチ機能の獲得に成功した。黒田(裕)は、ウシ臍臓トリプシンインヒビターについて、安定化と主鎖構造の局所的な構造変化や揺らぎの関係を調べるために、示差走査型熱量計 (DSC) を用いて構造安定性の熱力学パラメータを測定し、変異体の結晶構造解析から、この安定化は主鎖構造の局所的な揺らぎの制御によることを明らかにした。植は、ジヒドロ葉酸還元酵素を用いて、揺らぎを選択的に変調させ機能を制御することに成功した。水口は、遺伝性精神遅滞の発症に関与するタンパク質である核内蛋白質 PQBP-1 が、大きな変性領域と小さなフォールドしたコアからなる部局的な天然変性タンパク質であることを明らかにした。湯浅は、蛋白質の構造揺らぎの変化を検出するための発光性希土類プローブの開発を行った。寺内は、体内時計機能を持つ Kai タンパク質の周期的な揺らぎを引き起こすメカニズムについて、タンパク質に変異をかけて揺らぎを制御することによって調べることに成功した。

このように A02 班では主に変異体作成によって揺らぎを制御し、それを用いて構造形成や機能発現に与える揺らぎの重要性を示すことができた。

A03 項目：揺らぎと機能

A03 班では、膜・蛋白質・DNA など生体分子全般にわたり、機能に直結する揺らぎを検出し、機能との関連に重点をおいて研究した。一方、分子動力学シミュレーションと統計力学を用いた二方向から、揺らぎと機能を結び付ける理論構築を行い、生命現象を「説明する」だけでなく、「予測」する理論を発展させた。領域内共同研究を進めることで、がん細胞膜の揺らぎを標的にした新しい制がん剤であるハイブリッドリポソーム: HL の動物実験、臨床応用が行われ、制癌機構に迫る成果が得られた。

(a)膜の揺らぎと機能

上岡は、リン脂質と界面活性剤を緩衝水溶液中で超音波照射するだけで容易に得られる生体適合性の人工細胞膜である HL を開発した。HL の制がん効果において、がん細胞への HL の融合蓄積には膜の揺らぎ (流動性) が影響し、膜流動性の高いがん細胞ほど、HL が多く蓄積し、増殖抑制効果が増大する「膜の揺らぎと制がん効果」の関係を明らかとした。岡田は、細胞膜の揺らぎがヒトの正常造血、ウイルス感染症及び造血器腫瘍へ及ぼす影響を解明し、その成果を造血障害や造血器腫瘍の治療に応用する研究を行った。鈴木(元)は、多くの癌で、ゲノム変異の発生率が極端に高いことから、「遺伝的揺らぎ」と発癌発生機序との関連について、塩基認識を欠損した L864F 変異 DNA ポリメラーゼ α を用いて解析を行った。遺伝的揺らぎの抑制遺伝子の肺癌進展における役割を明らかにした。松本は細胞膜の揺らぎ制御による新しい作用機序を有する疾患治療を目指し、HL の膜流動性とがん細胞増殖抑制効果との相関性やカチオン HL の制がん効果を示した。手老は、微小領域における脂質分子の揺らぎがメソスケールの膜構造や反応活性に及ぼす影響を明らかにするために、一分子追跡計測を行うための蛍光顕微鏡装置を開発し、 μm ・ミリ秒オーダーから、幅広い空間・時間スケールでの分子挙動をその場観察することを可能にした。岡村は、高分解能溶液 NMR とパルス磁場勾配法を組み合わせ、膜中の薬物や脂質分子の運動を *in situ* で観測し、定量化する方法を独自に開発した。矢野は、全反射蛍光顕微鏡を用いた一分子蛍光計測で、膜貫通ヘリックスの会合-解離の揺らぎを直接測定し、脂質組成が膜タンパク質構造形成過程のダイナミクスに大きく影響することを実証した。鈴木は、オレイン酸からなるらせん構造体が、構造体内部の揺らぎの伝搬によって、自発的に動きが生まれる現象の解明をめざし、外的因子によるらせん構

造制御の実験を行った。中野は、膜揺らぎを調べるために、時分割小角中性子散乱法並びに蛍光法を用いて脂質のフリップフロップの計測を行った。野口は、膜動輸送などの生体機能や、ハイブリットリポソームのがん細胞への導入などにおいて、重要な素過程である膜融合経路に見られる準安定な中間体の一つである中間体に注目し、その自由エネルギーを線張力として分子シミュレーションにおいて計算する方法を提案した。

(b) タンパク質の揺らぎと機能

桑島は、シャペロニンの構造揺らぎとフォールディング助動機能についての関係を物理化学的に明らかにするために、ジメチルスルフォキシド停止水素重水素交換法と二次元 NMR を駆使している。元島は、シャペロン援助フォールディングにおけるタンパク質の揺らぎ制御を行った。飯野は、1 分子観測のための新しいレーザー暗視野光学系を開発し、F₁-ATPase の回転モーター蛋白質の高時間・高空間分解能計測に適用した。こうした分子モーターの運動にも、揺らぎが不可欠であることを示すデータを得た。井出は、蛍光分子テトラメチルローダミンで特異的に標識された細菌の K⁺選択性イオンチャネルである KcsA チャネルの構造変化を、蛍光強度の変化により、チャネルゲート活性化と不活性化条件下で測定し揺らぎとの関連を見出した。老木も、KcsA チャネル蛋白質の 1 分子測定による機能ゆらぎと構造ゆらぎを、脂質平面膜法による 1 分子機能測定（イオン透過・ゲーティング）と、回折 X 線追跡法により 1 分子レベルで測定することに成功している。黒田(玲)は、アミロイドシス関連蛋白質の分子ダイナミクスについて、独自に開発した Stokes-Muller matrix 理論に基づくキラリティー計測システムを用いて解析した。戸谷は、生体環境に基づく人工揺らぎ反応場が酵素に与える影響を検討するために、細胞内と同様に、蛋白質で混み合って不均一な揺らいだ環境「分子クラウディング環境」を構築して揺らぎの影響を明らかにした。相沢は、タンデムリピートを持つ新規天然変性 DNA 結合ドメインの揺らぎと分子認識機構の解明を行った。FCS 測定を行うことで、DNA 認識に関する解析を成功させた。プロテアソームによる効果的なタンパク質の分解には、ポリユビキチン鎖に加えて、基質内の構造をとらないフラフラと揺らいだ領域が必要であることを示した。伊野部は効率的な分解に必要な変性領域の物理化学的性質を特徴づけてきた。大橋は、蛋白質の揺らぎとアミロイドの構造の関係を明らかにするために、酵母プリオン Sup35 の NM ドメインをモデルタンパク質として、アミロイド形成前のモノマー及びオリゴマーの構造や揺らぎの解析を行った。原核生物は様々な薬剤に対して耐性を獲得するため、細胞膜上に多剤耐性トランスポーターを発現させていることを示した。竹内は、LmrR の薬剤非結合状態、結合状態における運動性を比較することで、分子の揺らぎと多剤認識機構との関係を NMR を用いて解析した。濱田は、病態のメカニズムには個々の軽鎖の配列多様性に起因する「構造の揺らぎ」の程度や質の違いが関与すると予想し、抗体の軽鎖可変 (VL) ドメインをモデルとし、疾患症状を決定する凝集体形状を決定する蛋白質の「状態間揺らぎ (状態転移)」と「状態内揺らぎ」の役割について明らかにした。廣田は、揺らぎによるシトクロム c 多量体形成と機能を明らかにするために、変異体作成と SAXS などを用いて調べ、cyt c が多量化する際、Met80 の周辺領域の立体構造が崩れるが、二次構造を保持したまま構造変化することを見出した。

(c) DNA の揺らぎと機能

出羽は、核酸医薬として有望視されているカチオン性脂質と核酸からなる複合体(Lipoplex)の揺らぎと機能に関しての研究を行った。松下は、細胞のがん化や老化に関わる重要な構造体であるヒトテロメア DNA の四重らせん構造形成における揺らぎと機能を明らかとするために、種々の金属陽イオンが、この四重らせん構造形成に与える影響について解析した。

(d) 揺らぎと機能を結び付ける理論解析

平田は、分子認識の統計力学理論の構築を行い、統計力学理論の「創薬」への応用を可能とした。吉田は、近年注目されている DNA 電流を利用したスイッチングデバイス開発の基礎研究として、平面芳香族分子 (プロフラビン) の DNA 塩基対間へのインターカレーションの理論的解析を行った。米谷は、DNA の構造揺らぎと水和の塩基配列依存性を明らかとするために、すべての 4 塩基配列 (136 通り) について分子動力学シミュレーションによる解析を行った。林(重)は、タンパク質中の pKa を計算する分子シミュレーションの手法を開発し、機能に関わるタンパク質の揺らぎ・構造変化と荷電状態の相関の分子機構を解明した。

このように A03 班では、生体膜、タンパク質、DNA など機能する生体分子全般にわたり、その揺らぎと機能との関係を明らかにした。特に、癌など疾病の治療に揺らぎを利用した方法が有効であることが臨床的にも示され、医学関係へのインパクトも大きいであろう。また、こうした揺らぎと機能との関係を明らかにするための理論構築も非常に進展している。

以上のように、各項目ごとに世界をリードする独自の成果があがり、共同研究を通じて融合的な研究も進展している。揺らぎをキーワードとした生体分子研究は、世界的に見ても、先見の明のある研究者によって個々のレベルで行われているだけであり、領域として発展させる試みは他に類を見ない。しかし、静的な生体分子構造決定が進んだ段階では、必ずやこうした研究が必要になり、次のターゲットとして推進すべき分野であるため、我が国が現在この分野を推進していることは、将来の学術水準向上・強化につながるものである。

4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ程度）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

本新学術領域研究は、順調に推進され、目立った問題点は発生しなかった。よって当初立てた基本的な研究計画や研究組織は変更する必要はなかった。

もし問題点を挙げるとすると、以下の点がある。

新しい領域を作るためには、種々の分野の多くの研究者の協力が必要である。そのために、計画班員の予算を抑え、かなりの割合の予算を公募班に配分したが、それでも公募研究には予想をはるかに上回る応募があり、この分野への期待が感じられた。それにもかかわらず、予算が固定だったために、採択率はかなり低くなり、DNA や医療分野での多くの優秀な研究者が採択されない状況となった。

また、若い年代の研究者をメンバーに加えたため、班員の昇進も多く、この分野のアクティビティーを示す成果となっているが、一方でアカデミック以外への転職によって、研究テーマが廃止となった公募班員も出た。こうした場合、単に研究テーマの廃止ではなく、追加補充ができるシステムがあることが望まれる。

5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ程度）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

本領域研究が終了後も持続的にこの領域を伸ばすためにも、積極的に公募班員として若手研究者を採択してきた。その年齢分布は以下の図のようになっており、若手に配慮した妥当なものとする。

また領域内の若手研究者育成のために以下のような取り組みを行った。

- ・若手だけのセミナーを推奨し総括班としてサポートした
- ・若手同士の共同研究を総括班としてサポートし、推進した
- ・主催する国際学会などで若手研究者枠を作り招待講演をお願いし、座長を依頼した
- ・各種学会におけるシンポジウムを積極的に若手に主催してもらった

こうした成果によって、若手研究者に以下のような昇進があった。

計画研究・公募研究メンバーの昇進状況

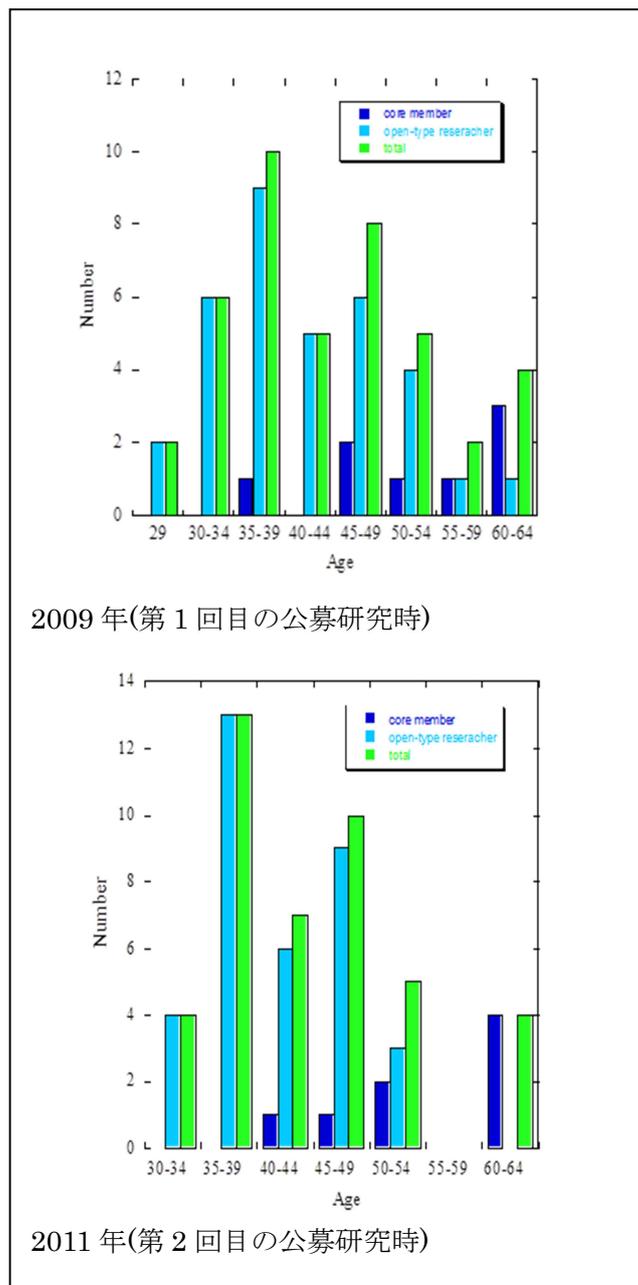
- 川上 勝（講師→准教授）
- 北原 亮（講師→准教授）
- 佐藤 啓文（准教授→教授）
- 高田 彰二（准教授→教授）
- 山村 泰久（講師→准教授）
- 神山 匡（講師→准教授）
- 関口 博史（特任助教→研究員）
- 芳坂 貴弘（准教授→教授）
- 飯野 亮太（助教→講師）
- 井出 徹（特任准教授→教授）
- 吉田 紀生（助教→准教授）
- 米谷 佳晃（任期付研究員→副主任研究員）
- 竹内 恒（研究員→主任研究員）
- 中野 実（准教授→教授）

更に、研究代表者だけでなく、計画研究・公募研究グループ内の若手研究者や学生に昇進があった。

計画研究・公募研究グループ内の若手の昇進状況：

16名がアカデミックポジションなどに職を得たり、昇進したりした。

また、若手研究者に多くの受賞があった(100件)ことも成長を示していると思われる。



6. 研究経費の使用状況（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。

本領域研究の補助で購入した主な備品を以下に示す。

A01 班：

寺嶋正秀：試料調製のために冷蔵庫を作り、研究のために不可欠な試料調製のために有用に稼働している。また、新しい計測手法開発のために、ナノ秒色素レーザーやオートマイクロ粘度計などを購入し、時間分解揺らぎ計測のために有用に稼働している。これらは寺内、片岡、上岡らとの共同研究に用いられた。

岡本祐幸：ワークステーション・クラスターを導入し、シミュレーション開発のために使われている。また、これらは共同研究のためにも有効活用された。

加藤晃一：高速液体クロマトグラフィや多本架冷却遠心機、微量高速遠心機などを購入し、安定同位体標識タンパク質および糖鎖の大量調製、糖鎖誘導体の合成などのために活用され、領域内での試料調製のために役立っている。また、蛍光装置は、タンパク質の細胞内動態の解析のために有効に使われている。

川上勝：紫外可視分光計を購入し、一分子伸張実験条件の検討に使用している。

高田彰二：PC クラスタを購入し本研究の分子動力学シミュレーションに利用し、大きな成果を上げた。

高橋聡：EMCCD センサーを購入し、一分子観察に使用し成果を上げている。ローターは、共同研究を含めて研究室におけるタンパク質試料の精製などに活用した。また、防振台と EMCCD は、一分子観察の主力の装置の一部として共同研究で使用した。

関口博史：新学術・予算で購入したソフトウェアを参考に開発した自前の解析ソフトを桑島 邦博、飯野 亮太、林 久美子らとの共同研究に用いている。

石井邦彦：加温冷却サーモプレート、単一光子検出器などを購入し、新しい単一分子揺らぎ計測の開発のために有効に用いられた。また、成果のページに記したように多くの共同研究に用いられた。

A02 班：

片岡幹雄：レーザー共焦点顕微鏡や粒子径・ゼータ電位・分子量測定装置を購入し、蛍光性非天然アミノ酸を導入したタンパク質やモデル系の構造揺らぎを検出するために使用し、共同研究に供与している。

芳坂貴弘：蛍光相関分光装置や蛍光寿命測定装置を購入し、タンパク質の溶液中での構造揺らぎを一分子レベルで測定するためや蛍光標識タンパク質の蛍光寿命を測定するために日常的に使用している。

新井宗仁：サーマルサイクラーを購入し、共同研究にも使用している。

A03 班：

上岡龍一：粒度分布測定装置を購入し、リン脂質とミセル界面活性剤から調製したハイブリッドリボソームのサイズと安定性の観測に使用している。サンプル平滑及び無塵化作業装置で *in vitro* および *in vivo* 実験における無菌的な操作やサンプル調製に使用している。これらは多くの共同研究で用いられた。

桑島邦博：微生物培養振盪装置、全自動電気泳動装置、冷却遠心機などは、研究で使用する蛋白質試料の抽出精製に有効活用され、共同研究にも使われた。

平田文男：ワークステーションを購入し、理論開発と生体機能の理論的解析のために有効に用いられている。また松下、片岡、老木らとの共同研究に用いている。

井出徹：デジタルカメラインターフェイスキットを購入し、チャンネルタンパクの 1 分子蛍光イメージングに使用中である。

鈴木元：BioRad MicroPulser エレクトロポレーターを購入し、プラスミドコンストラクト作成のため日常的に使用している。

手老龍吾：高感度冷却 CCD カメラを購入し、脂質膜中の相分離構造を蛍光顕微鏡観察するために使用している。

出羽毅久：全反射型蛍光顕微鏡用レーザーを購入し、細胞内遺伝子導入における蛍光物質の発現、動態などの観察に常時使用している。

浜田大三：自動コック付ストップフロー混合装置一式などを購入して、成果のページに記したように有効に用いられている。また本研究費で作成したアミロイド線維凝集性免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン（タンパク質資材）などは共同研究のために使われた。

戸谷希一郎：中圧分取液体クロマトグラフィや超遠心機用ロータの購入のために使用し、成果のページに記したように有効に用いられているし、共同研究のためにも使用された。

水口峰之：フリーズドライヤーを共同研究のために使用した。

岡村恵美子：リボソーム作製装置や低温恒温水槽などを購入し、揺らぎをとらえるための膜作成と共同研究に活用された。

中野実：計算機ノードや PC クラスタを購入し、揺らぎの計算機シミュレーションのために活用された。

総括班経費は、全体班会議や公開国際シンポジウム開催などのために用いられたほか、各種学会や討論会におけるシンポジウム開催のための費用、成果報告のための書籍出版、ホームページ作成や管理、事務委員の雇用、共同研究を推進するための経費など、この新学術領域研究を進めるうえで非常に有効に使われた。

7. 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。

本新学術領域研究の評価委員は以下の4名の方々である。

氏名	所属	専門
北川 禎三	兵庫県立大学大学院生命理学研究科・特任教授	生物無機化学
中原 勝	京都大学化学研究所・名誉教授	分子科学
榑 茂好	京都大学物質－細胞統合システム拠点・特任教授	理論化学
R. J. D. Miller	カナダ・トロント大学・教授	分子分光

合同班会議、公開シンポジウムなどに評価委員の先生方もお招きして、本領域研究の活動状況、班員のポスター発表などを見ていただいている。公開国際シンポジウムの発表はすべて英語で行い、国際評価委員の Miller 氏にも評価していただけるようにしている。公開ワークショップ終了後、評価委員も含めた本特定領域研究の評価のための総括班会議を英語で開催し、特定領域研究の活動に関する評価と今後方針などについて討議している。また、領域研究のまとめを全班員から集め、その内容を日本語版と英語版を作成して、それらを各評価委員にあらかじめお送りし、評価レポートを書いて頂いた。

中原教授

統計力学では1950年代に基礎理論の発展と分光学等の物理現象への拡張が行われていた「揺らいで止まることなき自然」の本質を、身近な物質現象および生命現象に普遍化する試みの新学術領域であった。斬新で革新的であった。「揺らぎと自然」の関係を生体関連分子の世界で実現することを志すものであって、発想としては奇想天外で、ハイリスクを伴う研究領域の提言であった。気鋭のリーダーとして選ばれた寺嶋教授の「揺らぎの検出法の新概念と方法」を中心として、片岡教授の「揺らぎの物性機能制御」および上岡教授の「揺らぎの治療応用への基礎」という計画班の核形成が見事な成功に到達したと評価される。さらなる発展の方向性が示されていることは今後への期待につながる。新学術領域の名称に相応しい成果は国際的にも高く評価される。計画が用意周到で入念に準備されたこと、厳しい審査委員会の雰囲気が緊張感をもたらしたこと、公募で選ばれた研究者を含む多彩な分野横断交流、共同作業と献身的努力が成功の原因である。

北川教授

「揺らぎ」の概念が「構造」と同じくらい生体機能の発現に重要である事を化学分野の人に認知させた事が第1の功績で、多くの人の基本的考え方を変えさせ、高校の化学の教科書に「揺らぎ」の概念を導入するに到った効果は大きい。第2に、「揺らぎ」と云う切り口で医学、薬学、理学、工学、農学の異分野融合に成功し、多くの共同研究を生み出した事を指摘したい。その事が若い人の関心をこの分野に集め、26回もの研究会をいつも活発にし、全部で411ページのニューズレターを読みごたえのあるものにした。この領域の全メンバー61名のうち、若いメンバーの昇進が14件、メンバー研究室の学生達のアカデミック職獲得が14件、受賞が68件もあって、生体分子科学を活性化した。つまり、新しい学術領域を切り拓く目的を果たした。第3に、「揺らぎの検出」、「揺らぎの制御」、「揺らぎと機能」と云うカテゴリーで理論家と実験家を十分討論させ、新手法の開発や解析法の工夫等、基礎科学をしっかりと確立した。その詳細は「主要研究成果のまとめ」に詳しく説明されていて、学問的レベルの高いものであり、Medical Bio の別冊や Science 誌、化学同人の冊子に出版されている。リーダーの研究成果社会還元意識の高さに敬意を表する。第4に「ハイブリッドリポソームが選択的にがん細胞を殺す」と云う奇妙な現象を揺らぎに結びつけ、基礎研究を展開した事を高く評価する。その興味深い現象の学理を解明できそうな糸口が、この領域の共同研究により見つかったので、この新規な方法の臨床応用に今後大きく貢献するだろう。

榑教授

新学術領域「揺らぎと生体機能」が5年間に渡る研究が終了して報告書が出された。この間、評価委員としてこの新学術領域のほとんど全ての活動を見て来たが、領域代表の寺嶋先生の下で8名の総括班員がチームワーク良く、全メンバーの研究活動を掌握して活動を続けて来たと感じている。共同研究を促進させる試み、全員参加のシンポジウム開催による班員相互の研究レベルの理解、海外からの研究者を評価班に加えた試み、充実した国際シンポジウムの開催など、運営面でも申し分ない活動であった。大切なことは、新しい学術分野を作りだすことに成功したか、新学術領域にふさわしい研究成果を上げることができたか、と言う点であるが、これについても以下のように高い成果を出している。本研究領域では、「揺らぎ」と言う新しい概念を、単なる感覚でなく、物理化学的・分子科学的な測定、理論化学的な評価と概念の

深化、理解を確立し、さらに、「揺らぎ」と言う新しい観点から生体機能発現のメカニズムとその分子科学的理解に向けた研究を行い、成果を上げて居る。これらの活動と研究成果から、本新学術領域は、文字通り、新しい分野を切り拓いて来たと言える。この「揺らぎ」の概念は Science 誌にも発表され、日本発の概念となっている。このような本新学術領域の研究活動とその成果を高く評価したい。本研究領域は、生物物理、物理化学、物理、生化学、更には医学分野の研究者が参加しており、それらの共同研究や研究討論については、領域開始当初は個人的には難しいのではないかと懸念していたが、本研究領域の中で、共同研究も多数行われ、討論も極めて活発に行われ、何よりも研究成果を上げたことは、特筆出来る成果である。

以上、新学術領域にふさわしい研究活動を展開し、大きな研究成果を上げたことから、新学術領域研究として大成功であったと高く評価する。

R. J. D. Miller 教授

I am happy to provide an assessment of research network "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions" (Project leader: Prof. Terazima) supported by the Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas from the Ministry of Education, Science, Culture, Sports and Technology (MEXT) of Japan. The research program being pursued by Professor Terazima and his colleagues is of exceptional importance in a variety of scientific fields including molecular science in terms of focusing on the fluctuations of biomolecules. Our current view of biological systems is heavily biased by static pictures of structures at different organization levels, proteins to intracellular structure. It is well recognized that if the system was static it simply would not work. We need dynamical information, from the very simplest questions from how proteins move within the crowded conditions of the cell, to ligand binding, and processes related to molecular recognition, as well as membrane fluidity and transport across membranes. Understanding these issues will herald the next major breakthroughs in medicine. To date, there has been no systematic approach to studying dynamics and stochastic fluctuations that bridge molecular descriptions to the mesoscale of intracellular processes. This network has accomplished this goal for the international community. Professor Terazima and his colleagues have put together a strategy that involves collaborative interactions between top scientists ranging across many scientific fields such as chemistry, physics, biophysics, and even medical fields to bridge this gap. This highly interdisciplinary environment is essential and was the key to the major successes of this world leading research program. Succinctly, this project has enhanced our knowledge of biological systems at a level never attained before. The network has left an indelible mark on the field and provides the leadership for those to follow.

The A01 group was charged with the development of new methods for detection of fluctuations, based on single molecule detection, thermodynamics, spectroscopy, NMR, and theoretical methods. In this regard, Professor Terazima's achievement of time resolved thermodynamics under high pressures is a powerful and useful technique for studying the fluctuations during biochemical reactions. We can now directly observe structural fluctuations and obtain the driving forces for such fluctuations. The other researchers have broken speed records for tracking single molecule motions, and the theoretical complement has made major advances in extending the time scales of atomistic treatments. The A02 group successfully controlled fluctuations to obtain new insight into biomolecule reactions, with a major advance in understanding the reaction mechanism of the intrinsically disordered proteins by Prof. Kataoka. The ability to control fluctuations by single amino acid substitutions is well amazing. The A03 group focused on medically relevant biological targets, including fluctuations of membranes, of proteins, and of DNA including theoretical development for extracting the fluctuations. The combination of MD simulation and RISM theories to capture biologically relevant fluctuations should be considered a major step forward in theory. From an application standpoint, one of the most impressive achievements was the hybrid liposome treatment of cancers led by Prof. Ueoka and colleagues. The direct engagement of this group with researchers expert in molecular dynamics undoubtedly helped to put this breakthrough on solid scientific footing to help guide future development in this very promising area. It is fair to say that the entire scientific community is collectively cheering these researchers on. In summary, I believe that the "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions" project led by Prof. Terazima and supported by this Grant-in-Aid has made a major impact in this emerging field and has attained the position of world leading. As such, I believe that this particular activity deserves to be given the highest rating for both innovation and achievement in this rapidly evolving area of interdisciplinary science. I congratulate this group of dedicated researchers on overcoming great challenges in developing new methods, engineering biological systems/material, to breaking new ground in theory, to make major achievements in this field -- and to show us the way to understanding biological functions at the molecular level of detail.

8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）〔研究項目毎または計画研究毎に整理する〕

（3 ページ程度）

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。

本領域研究での研究成果は総計 959 報の論文としてまとめられている。また 2434 件の学会発表として報告されている。現在進行中の共同研究も多いが、その一部を以下にまとめる。

A01 項目：揺らぎの検出

寺嶋：蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)による新しい一分子蛍光検出解析法を提案し、DNA のテロメア構造とその揺らぎに適用した。その結果、テロメア構造が、Triple-strand-core を中心に構造変換をしているとして解釈でき、これまで幾つかの研究で報告されている構造のばらつきを統一的に理解できる新規なモデルを提出した。また、熱力学法を短寿命中間体にも適用できるよう、新規な時間分解熱力学法を開発し、反応を時間分解で検出することで、**片岡**と共同で PYP の反応スキームを決定した。また、体積揺らぎと関係する圧縮率の時間分解測定のために、時間分解体積変化の圧力依存性を用い、世界で初めて時間分解で圧縮率の時間分解測定に成功した。これにより **PixD** と呼ばれるタンパク質の反応中間体で実際に揺らぎが大きくなっており、それが後続反応を引き起こしている証拠を得ることができた。また**上岡**とハイブリッドリポソームのダイナミクスに関して、**平田**とミオグロビンのリガンド放出ダイナミクスに関して、**寺内**と Kai タンパク質の時間による構造変化に関しての共同研究を行っている。

加藤：NMR を駆使して、溶液中で決まった構造をとらない生体分子の構造と揺らぎを明らかにする手法を開発した。さらに、NOE データに基づく距離情報を制限項として分子動力学計算を行うことにより、lyso-GM1 ミセルの揺らぎの大きい糖鎖部分のコンフォメーションを決定した。**桑島**と共同で超高分解能（920 MHz）NMR を用いた球状蛋白質の構造揺らぎの解析を行った。**北原**と共同で高圧力 NMR 法によるジユビキチンのコンフォメーション平衡に関しての知見を得た。**萱瀬**と一緒に NMR 緩和解析を用いたタンパク質およびその複合体の揺らぎの検出を行うことに成功した。

岡本：分子シミュレーションに適した、多くの拡張アンサンブル法と総称される強力なシミュレーション手法を開発してきた。これによって、エネルギーや温度ばかりでなく、様々な変数のランダムウォークを引き起こすことができるようになった。また特に、定圧・定温アンサンブルにおける拡張アンサンブル法を開発した。これによって、エネルギーばかりでなく体積のランダムウォークを実現するシミュレーションを可能にし、ubiquitin が圧力とともにどのように揺らぎ構造が変わるかを明らかにした。この結果を**北原**らの実験と対比して検討した。**上岡**と脂質二重膜のゾル・ゲル転移に関する知見を得ることもできた。

高田：蛋白質の自発的状態間遷移のような大振幅揺らぎを、構造的およびエネルギー的観点から理論的に解析するための手法を開発し、大振幅揺らぎに対する新しい概念を確立した。この方法を、アデニル酸キナーゼの大振幅ゆらぎの解析に適用した。**林**とミオシンの ATP 加水分解反応に関する研究を行い、その機構について新しい知見を得た。癌抑制性の多機能転写因子 p53 が、いかにして速やかにターゲットを探索できるのか、という問題に対して、コアダメインは探索中に DNA との結合、解離を繰り返すことを明らかにした。揺らぎながら機能を発揮するさまが可視化できたことは大きな意味を持つ。

石井：蛍光寿命の揺らぎの相関分光法で揺らぎを検出する手法の開発を行った。これを DNA ヘアピン構造の観測に適用し、“open”構造と“close”構造の間の構造揺らぎを反映した、約 100 マイクロ秒での蛍光寿命の揺らぎの存在を明らかにした。この成果は、蛍光寿命の揺らぎをみる蛍光相関分光法により生体分子の揺らぎを検出した初めての例である。こうしたユニークな手法によって、**元島**、**矢野**、**松下**らとの共同研究を実施している。

高橋：シトクロム c の分子運動を観察する研究を行い、特に異なる変性剤濃度において一分子データを取得して解析した結果、シトクロム c が 4 つの構造状態をジャンプする過程を見いだした。**櫻井**と共に一分子観察法による β ラクトグロブリンのフォールディング過程を明らかにした。また、**芳坂**と共に一分子観察法によるマルトース結合タンパク質の基質結合過程に関する研究に関する研究を行った他、**新井**とも共同研究を行っている。

川上：protein L の B1 ドメインとその 残基変異体の 1 分子 AFM 伸長実験を行うことに成功した。ミオグロビンのアンフォールディングピークを統計的に解析した結果、全体構造が一度に壊れる経路と、いくつかの力学的に安定な中間体を経て壊れる経路が存在することが分かった。ミオグロビンが天然状態周りの準安定状態構造間を揺らいでいることを示唆している。

関口：膜タンパク質の揺らぎを伴う分子内構造変化を高精度(ピコメートル精度)、且つ高速(数マイクロ秒)に計測するため、X 線 1 分子追跡法により、膜タンパク質受容体のリガンド受容に伴う内部運動変化を検出することが可能となった。この手法を用いて、**桑島**、**井出**、**飯野**らと共同研究を実施している。

神山：蛋白質の構造揺らぎを検出する手段として等温圧縮率を用い、超高感度密度測定システムの開発とともに、蛋白質の構造的な体積揺らぎの定量化を行った。ヘモグロビンについて検討した結果、体積揺らぎの大きさは

cavity 体積のおよそ 1/10 程度であることが分かった。これらの情報は機能発現時の至適温度や基質結合の効果を明らかにする上で、重要な指針となる。山村と脂質二分子膜の揺らぎと構造の相関の解明を行った。

山村：精密な熱容量の測定によって膜の揺らぎを明らかにするため、最も精確度の高い熱容量測定ができる断熱型熱量計を開発した。一本鎖脂質、モノアシルグリセロール、と水との二成分系についての熱容量測定により、ラメラ相から等方相への転移エントロピーを決定し、分子構造とその構造ダイナミクスとの相関について明らかにすることに初めて成功した。

石森：構造的揺らぎを、蛍光を利用した FRET の圧力依存性から求めた。蛍光標識ミオグロビンに適用し、圧力依存性から特定の部位間での加圧による距離変化を見積り、構造的揺らぎの定量的検討が可能であることを示した。芳坂と FRET の加圧効果による蛋白質における構造揺らぎの定量化に関する研究を行った。

山口：環境によって大きく変化する燐光寿命を計測することで、構造と揺らぎを検出することを試みている。変性剤変性した SNase の主鎖は、制限された構造空間内で自由に運動を行っていることを示した。

後藤：アミロイド線維形成中間体の立体構造と揺らぎの解明に取り組んだ。超音波処理によって、微細で均質な線維を作製することに成功したが、この成果はアミロイド病などの疾患の理解のために重要な知見である。「蛋白質異常凝集の統一原理」を提唱した。櫻井と蛋白質のアミロイド線維の形成機構やフォールディング機構に関しての研究を行っている。

今元：代表的な G 蛋白質共役型受容体であるロドプシンの側鎖の H/D 交換反応を FTIR で検出することから、その構造揺らぎを調べた。H/D 交換は単に露出面積だけではなく、構造揺らぎを反映していることが示唆された。

北原：開発した高圧 NMR を用いて、圧力・温度摂動によりタンパク質の基底構造から変性構造までの広く大きな構造揺らぎを捉えるとともに、準安定状態の構造及び機能解析を行った。例えば、重合体ジユビキチンに本手法を適用し、サブユニットの 3 次構造揺らぎとサブユニット間の 4 次構造揺らぎの関係性について明らかとすることに成功した。また μs -ms 域の構造揺らぎが観測された。

菅瀬： μs -ms の揺らぎを検出できる NMR の緩和分散法を用いて、iPS 細胞を樹立するために用いられる転写因子 Oct3/4 と Sox2 の揺らぎを研究した。遊離状態および DNA 結合状態に対して、揺らぎの大きさと速度の解析を進め、Sox2 は遊離状態でも DNA 結合状態とよく似た α ヘリックス構造を取っているが、そのうちの一つのヘリックスが瞬間的にほどけていることを示した。後藤、櫻井とアミロイド線維形成時に現れる過渡的中間体のキャラクタリゼーションに関する研究で成果を上げている。

櫻井：アミロイド線維形成のモデルサンプルを用い、中間体構造のキャラクタライズを NMR を用いて行った。線維形成始状態の運動性を R2 緩和分散法で調べ、疎水性残基の多い領域で動的な疎水性クラスターが形成し、それが分子間の非特異的な会合を促進していることが示唆された。西村と NMR パスラベル重水素交換を用いてウシ β ラクトグロブリンの非天然折り畳み中間体を明らかにしている。

西村：NMR の CLEANEX-PM 法を用いて、天然変性蛋白質のアルファヘリックスの揺らぎ構造を評価した。実際にそのような揺らいだ構造部位が存在することを、NMR による緩和実験解析を用いて明らかにした。

木寺：揺らぎに関係する一つのねじれ角による運動が、球状構造を維持するために、他の多数のねじれ角の運動によって補償されることを示した。この“latent dynamics”が生ずる機構を、分子動力学計算の結果を解析することで明らかにした。二面角系の線形応答理論を定式化し、基質結合に伴う回転運動を表現することに成功した。

佐藤：計算機の並列化効率が極めて高い新しい積分方程式理論を開発した (MC-MOZ 法)。比較的簡単な系に対して効率良く構造揺らぎの効果を取り入れることに成功している (flexible-RISM 法)。

北尾：タンパク質の複合体形成や解離のメカニズムを、構成する原子の集団的自由度 (モード) 間のカップリングというコンセプトを踏まえて、これまでの Induced-fit や pre-existing モデルよりも詳細なレベルで明らかにするシミュレーション手法を開発した。このシミュレーション法はタンパク質のフォールディング・アンフォールディングやドメイン運動、更に複合体形成時の構造変化を研究するために有効であることが明らかになった。

林(久)：非平衡ゆらぎの性質を利用し、実験で得られたイメージングから非破壊に生体分子の出す力を測定する理論を構築した。本研究の理論は、回転タンパク質モーター F1-ATPase や V1-ATPase の *in vitro* 1 分子実験でモーターの回転トルク測定に応用された。

A02 項目：揺らぎの制御

片岡：黄色ブドウ球菌核酸分解酵素 (SNase) に対して、生理的条件下では変性構造にあるが、酵素活性をもつという天然変性蛋白質のモデル系となる変異体を数種作製し、リガンド誘導折り畳み機構について、折り畳み→結合機構と結合→折り畳み機構の 2 種類が実現していることを示した。さらに、変異体と野生型について、中性子非弾性散乱から、折り畳まれることによって獲得される動力的性質を明らかにし、水和によって、野生型のエネルギーランドスケープのみに階層構造が現れることを示した。また、寺嶋・今元らと共に PYP の反応ダイナミクス研究を来ない、更に 100 ピコ秒時間分解結晶構造解析にも成功した。機能発現に揺らぎが重要であることを示す結果である。岡本・北尾や平田と共に実験データの理論的共同研究を行い、また廣田と共にヘムタンパク質の多量体形成に関する知見を得た。

芳坂：自身の開発してきた 4 塩基コドンによる非天然アミノ酸導入技術をマルトース結合蛋白質 (MBP) に適用

して、その基質結合に伴う構造変化を蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を用いて計測する手法を確立した。2種類の蛍光性非天然アミノ酸を2か所に導入し、蛍光色素間の FRET の変化から、リガンド結合に伴う MBP の構造変化の検出に成功した。片岡と SNase の系についてや石井、高橋との共同研究など、多くの班員との共同研究が試みられた。また、リンカーを含まない蛍光性非天然アミノ酸を新たに設計し MBP に導入し、標識したアミノ酸部位の揺らぎの評価ができることを確認している。

新井：ジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR) の活性部位内にあり、高い温度因子を持つ R44 の網羅的置換変異による研究を行い、R44 の機能的な役割を明らかにするとともに、この部位の置換に関して、活性と安定性の間にトレードオフ関係が存在することを明らかにした。高橋と一分子観察法による Protein A の分子内構造変化の解析を行い、西村と NMR 法による蛋白質の構造揺らぎ、水口と天然変性蛋白質の常磁性緩和促進解析に関する研究などを行ない、新しい知見を得た。

今西：システインをアスパラギン酸に置換したジンクフィンガーの Zn(II)結合親和性が野生型 (C2H2 型) に比べ、約 500 倍低下することを明らかにした。揺らぎをコントロールすることによって、天然にはない新しいスイッチ機能の獲得に成功した興味深い例である。

黒田(裕)：ウシ膵臓トリプシンインヒビター (BPTI) について、安定化と主鎖構造の局所的な構造変化や揺らぎの関係を調べるために、示差走査型熱量計 (DSC) を用いて構造安定性の熱力学パラメータを測定した。分子表面に露出していて二次構造やターン構造を形成しない A14 と A38 の変異が熱安定化をもたらすことを見出し、この安定化は主鎖構造の局所的な揺らぎの制御によることを明らかにした。

植：ジヒドロ葉酸還元酵素を用いて、活性部位から離れた位置にあるループに変異を導入することで活性部位の構造変化速度に3倍の変化を誘導することを確認した。活性部位から離れた位置にあるループ部における変異が、活性部位の揺らぎに変調を与えることで活性調節を行っているという興味深い結果を見出した。

水口：遺伝性精神遅滞の発症に関与するタンパク質である核内蛋白質 PQBP-1 が、大きな変性領域と小さなフォールドしたコアからなる部分的な天然変性タンパク質であることを明らかにした。PQBP-1 はターゲット分子に結合しても揺らぎの大きな状態を維持することを示した。

湯浅：蛋白質の構造揺らぎの変化を検出するための発光性希土類プローブの開発を行った。実際に、片岡との共同研究により、Biot 標識 SNase の熱変性を調べた結果、ED/MD の温度依存性は CD スペクトルから得られる SNase の熱変性曲線と良く一致することがわかった。蛋白質の揺らぎを検出するための新規の有力なプローブが開発されたものであり、任意の部位に導入できるよう芳坂との共同研究も行われている。

寺内：体内時計機能を持つ Kai タンパク質の周期的な揺らぎを引き起こすメカニズムについて、変異型タンパク質を用いた動態解析、リン酸化変動について解析した。タンパク質に変異をかけて揺らぎを制御することによって、KaiA は KaiC の C 末端領域に結合し、KaiC のリン酸化を促進し、その後 KaiC が高リン酸化状態になることで KaiA が離脱することが示唆された。寺嶋・加藤・北原との共同研究を進めている。

A03 項目：揺らぎと機能

上岡：リン脂質と界面活性剤を緩衝水溶液中で超音波照射するだけで容易に得られる生体適合性の人工細胞膜であるハイブリッドリポソーム(HL)を開発した。HL は、正常細胞には作用せず、膜の揺らぎ(流動性)の大きながん細胞膜へ特異的に融合・蓄積し、アポトーシスを誘導する。in vivo 実験で、ヒト乳がん細胞を皮下移植した担がんモデルマウスに対して HL を尾静脈投与したところ、顕著な腫瘍抑制効果が観測され、腫瘍組織へのアポトーシス誘導が動物レベルで明らかとなった。がんの転移抑制効果も確認された。「膜の揺らぎと制がん効果」の関係が明らかとなった。HL の臨床試験は、患者様とのインフォームド・コンセント後、生命倫理委員会の承認を経て、治療を開始した。HL の静脈投与と局所投与により、超音波エコーでのリンパ節のモニターから、局所投与したリンパ節腫瘍が約 1/8 に縮小する顕著な効果が認められた。これらは松本との共同研究の成果であり、また医学部の鈴木・岡田との共同研究によって人体への適用やその機構についての研究が大きく進展した。

桑島：シャペロニンの構造揺らぎとフォールディング介助機能についての関係を残基ごとに水素交換保護因子を決定した。GroES 7 量体のモバイル・ループと呼ばれる GroEL 結合部位と GroES の頂上にあるループ領域は大きく揺らいでいるが、GroES のコアにある β 構造領域は安定であることを明らかにした。加藤と NMR を用いた蛋白質の水素交換反応について、岡田と生理学的効果についての共同研究を行っている。

平田：分子認識の統計力学理論の構築を行った。イオンチャネルにおけるリガンドの認識について検討し、インフルエンザ A M2 チャネルにおけるプロトンの分布を、水分子の分布も含めて、3D-RISM 理論によって、解析を行った。これらの結果から、3D-RISM 理論によって、実験結果の解釈だけでなく、現象の予測を行うことが可能になりつつあることが示された。分子認識の「創薬」への応用に関する課題では、化合物スクリーニングに応用し、“in-silico 分子設計”における新しい方法論を発信した。3D-RISM/RISM 理論を一般化ランジェヴァン理論と結合することにより、蛋白質の構造揺らぎに対する新しい理論を提案した。松本・寺嶋・片岡・上岡らの実験的研究の理論的解析を行っている。

岡田：細胞膜の揺らぎがヒトの正常造血、ウイルス感染症及び造血器腫瘍へ及ぼす影響を解明し、その成果を造血障害や造血器腫瘍の治療に応用する研究を行った。HL の有効性と作用機序を検討した。HIV に関して、細

胞膜の流動性を高めると HIV-1 の感染性が上昇し、流動性が低くなると感染性が減少することから、HIV-1 の細胞への侵入には細胞膜の流動性が重要であることが判明した。これらは上岡との共同研究成果である。

鈴木 (元)：多くの癌で、ゲノム変異の発生率が極端に高いことから、「遺伝的揺らぎ」と孤発癌発生機序との関連について、塩基認識を欠損した L864F 変異 DNA ポリメラーゼ α を用いて解析を行った。これらのことから、DNA ポリメラーゼによる塩基挿入ステップでの揺らぎ抑制機序が細胞の遺伝的特性の維持に重要であることが示された。更に、HL を用いて、がんをアポトーシスに導く過程を調べることで、これまで知られていなかった新規がん特性を明らかにした。

松本：細胞膜の揺らぎ制御による新しい作用機序を有する疾患治療を目指し、HL の膜流動性とがん細胞増殖抑制効果との相関性やカチオン HL の制がん効果を示した。HL のリウマチ治療効果、HL の大腸がん肝転移抑制効果、カチオン HL の大腸がん(HCT-116)細胞に対するアポトーシス誘導など多彩な応用が観られた。ミトコンドリア膜電位測定からは膜電位の低下が観測され、蛍光修飾基質を用いたカスパー 3 活性の測定などから、カチオン HL による HCT-116 細胞に対するアポトーシス誘導は、ミトコンドリアおよびカスパー 3 を経由することを見出した。

手老：微小領域における脂質分子の揺らぎがメソスケールの膜構造や反応活性に及ぼす影響を明らかにするために、一分子追跡計測を行うための蛍光顕微鏡装置を開発し、 μm ・ミリ秒オーダーから、幅広い空間・時間スケールでの分子挙動をその場観察することを可能にした。

岡村：高分解能溶液 NMR とパルス磁場勾配(PFG)法を組み合わせ、膜中の薬物や脂質分子の運動を *in situ* で観測し、定量化する方法を独自に開発した。生体膜主成分であるリン脂質の 1 枚膜リポソームに対し、動的多核 NMR で、膜の中の抗がん剤・5-フルオロウラシル (5FU) の運動を直接観測し、5FU の結合が膜の揺らぎに支配されることを示した。

矢野：全反射蛍光顕微鏡を用いた一分子蛍光計測で、膜貫通ヘリックスの会合—解離の揺らぎを直接測定している。FRET ドナー Cy3B とアクセプター Cy5 で蛍光標識した膜貫通ヘリックスを大きな一枚膜ベシクルに組み込み、ビオチン—アビジン間結合を利用してガラス表面に固定することで、ヘリックス会合—解離に伴う FRET シグナル変化の揺らぎを 10-20msec の時間分解能で検出する実験系を確立できた。脂質組成が膜タンパク質構造形成過程のダイナミクスに大きく影響することを実証した。

鈴木：オレイン酸からなるらせん構造体が、構造体内部の揺らぎの伝搬によって、自発的に動きが生まれる現象の解明をめざし、外的因子によるらせん構造制御の実験を行った。イオンを Na から K へと置き換えることで、構造の安定性が劇的に変わることを見いだした。

中野：膜揺らぎを調べるために、時分割小角中性子散乱法並びに蛍光法を用いて脂質のフリップフロップの計測を行った。また、脂質の膜間輸送を担うと考えられる脂質輸送タンパク質について、その機能の評価を行った。膜貫通ペプチド中央の親水性アミノ酸の種類によって脂質選択性が見られることが判明した。

野口：膜動輸送などの生体機能や、ハイブリットリポソームのがん細胞への導入などにおいて、重要な素過程である膜融合経路に見られる準安定な中間体の一つである hemifusion diaphragm (HD) 中間体に注目し、その自由エネルギーを線張力として分子シミュレーションにおいて計算する方法を提案した。膜融合、分裂経路について新しい知見が得られた。

元島：シャペロン補助フォールディングにおけるタンパク質の揺らぎ制御を行った。これまでに提唱されたモデルによると、シャペロン空洞内における空間的制限によってタンパク質フォールディングが促進される。しかし、この説と矛盾する現象、変性タンパク質が空洞と疎水性相互作用していること、変性タンパク質が空洞外に出るほどアンフォールドされていることを発見した。

飯野：1 分子観測のための新しいレーザー暗視野光学系を開発し、F₁-ATPase の回転モーター蛋白質の高時間・高空間分解能計測に適用した。全反射型レーザー暗視野顕微鏡を用い、微小管上を歩くリニアモーターであるキネシンの片足に金コロイドを結合させてその動きを高時間・空間分解能で測定することに成功した。こうした分子モーターの運動にも、揺らぎが不可欠であることを示すデータを得た。

井出：蛍光分子テトラメチルローダミン(TMR)で特異的に標識された細菌の K⁺選択性イオンチャネルである KcsA チャネルの構造変化を、蛍光強度の変化により、チャネルゲート活性化 (pH4) と不活性化条件下 (pH7) で測定し、膜貫通領域の C 末端とそれに続く細胞内領域の一部は、活性化 (開) 状態では疎水性の環境下に存在し、不活性化 (閉) 状態では親水性環境下に存在することを見出した。

老木：KcsA チャネル蛋白質の 1 分子測定による機能ゆらぎと構造ゆらぎを、脂質平面膜法による 1 分子機能測定 (イオン透過・ゲーティング) と、回折 X 線追跡 (DXT) 法により 1 分子レベルで測定している。DXT 法では、SPRING-8 (播磨) での実験に加え、フランスにある ESRF とスイスの SLS での実験を進めた結果、毎秒 5000 フレームという高速記録を達成することに成功し、高速揺らぎを検出することができた。

大澤：電位依存性カリウムチャネルのプロトタイプとされる pH 依存性カリウムチャネル KcsA を解析対象とし、溶液 NMR 法を用い、電位依存性イオンチャネルの機能に直結した構造揺らぎの解明を目的とした。KcsA の開状態におけるイオン選択性フィルター周辺領域の構造平衡は、立体構造上離れた位置にある細胞内領域や、4 量

体の安定性といった環境要因に支配されていることが明らかとなった。活性を有する状態でのイオンチャネルの構造ゆらぎを原子レベルで捉えることに成功した。

黒田(玲)：アミロイドシス関連蛋白質の分子ダイナミクスについて、独自に開発した Stokes- Muller matrix 理論に基づくキラリティー計測システムを用いて解析した。

戸谷：生体環境に基づく人工揺らぎ反応場が酵素に与える影響を「分子クラウディング環境」で検討した。

相沢：タンデムリピートを持つ新規天然変性 DNA 結合ドメインの揺らぎと分子認識機構の解明を行った。

伊野部：プロテアソームによる効果的なタンパク質の分解に必要な変性領域の物理化学的性質を特徴づけた。変性領域の長さ、位置、アミノ酸組成が効率的な分解において重要であることを発見し、効率的分解を引き起こす変性領域とポリユビキチン鎖では、変性領域を持つユニットだけが特異的に分解されることを明らかにした。

大橋：蛋白質の揺らぎとアミロイドの構造の関係を明らかにするために、酵母プリオン Sup35 の NM ドメインをモデルタンパク質として、アミロイド形成前のモノマー及びオリゴマーの構造や揺らぎの解析を行った。アミロイド多形が関与するメカニズムが示唆された。

竹内：LmrR の薬剤非結合状態、結合状態における運動性を比較することで、分子の揺らぎと多剤認識機構との関係を NMR を用いて解析した。薬剤認識部位が複数の構造の間で揺らいでいることを示した。また N, C 末端薬剤結合ヘリックスは全領域にわたり、ms-us の遅い運動性を有することが明らかとなった。

濱田：病態のメカニズムには個々の軽鎖の配列多様性に起因する「構造の揺らぎ」の程度や質の違いが、関与すると予想し、本質的にアミノ酸配列の多様性を有する抗体の軽鎖可変 (VL) ドメインをモデルとし、疾患症状を決定する凝集体形状蛋白質の「状態間揺らぎ (状態転移)」と「状態内揺らぎ」の役割について明らかにした。天然状態の不安定化は、エンタルピー差の減少とエントロピーの増加の両方で達成されていることが明らかになった。状態間揺らぎの頻度の上昇が、アミロイド線維形成に寄与することが示された。

廣田：揺らぎによるシトクロム c 多量体形成と機能を明らかにするために、変異体作成と SAXS などを用いて調べ、cyt c が多量化する際、Met80 の周辺領域の立体構造が崩れるが、二次構造を保持したまま構造変化することを見出した。ドメインスワッピングの交換領域および熱力学的性質に対して新しい知見が得られた。

出羽：核酸医薬として有望視されているカチオン性脂質と核酸からなる複合体(Lipoplex)の揺らぎと機能に関しての研究を行った。リポソームの量によって、さまざまな形態を取ることを明らかにした。

松下：細胞のがん化や老化に関わる重要な構造体であるヒトテロメア DNA の四重らせん構造形成における揺らぎと機能を明らかにするために、種々の金属陽イオンが、この四重らせん構造形成に与える影響について解析した。平田との共同研究によって、この「四重らせん構造」に与える金属陽イオンの影響について解析を行った結果、Na⁺については、basket 型がエネルギー的に安定であることが示された。また、石井との共同研究によって、蛍光寿命相関分光法による解析が可能なこと、テロメア「四重らせん構造」形成過程のナノ秒レベルでの揺らぎが解析可能なことを示した。

吉田：近年注目されている DNA 電流を利用したスイッチングデバイス開発の基礎研究として、平面芳香族分子 (プロフラビン：PR) の DNA 塩基対間へのインターカレーションの理論的解析を行った。自由エネルギー変化の解析から、GCの方がATよりも強いPR親和性を示すことが判明した。

米谷：DNA の構造揺らぎと水和の塩基配列依存性を明らかにするために、すべての4塩基配列(136通り)について分子動力学シミュレーションによる解析を行った。DNA の揺らぎと水和の様子が連動していることが示された。これにより、DNA塩基配列認識という生体機能において「揺らぎ」が重要であることを示すことができた。

林(重)：タンパク質中の pKa を計算する分子シミュレーションの手法を開発し、機能に関わるタンパク質の揺らぎ・構造変化と荷電状態の相関の分子機構を解明した。量子化学 (QM) 計算と分子力学 (MM) 法を組み合わせたハイブリッド QM/MM 法に基づき、タンパク質の熱揺らぎを考慮した酵素化学反応の自由エネルギー反応経路を計算する新規手法を開発した。これを用いて反応遷移状態生成に伴う複合体の大きな揺らぎと構造変化を観測した。

以上のように揺らぎを主題に据えた活発な研究と共同研究によって大きな成果が生まれ、生体機能に関与する揺らぎの役割がかなり明らかになったと言える。

9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

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。

(a) ホームページ

<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/hikari/yuragi/>

ホームページにおいて研究の概要、研究組織、イベント、公募要項、ニュースレター、研究業績などを公開している。

(b) 主催シンポジウム

本学術領域研究主催・共催で開催した、シンポジウム・会議のタイトルと日時などを以下にあげる。プログラムなどは、ホームページを通じていつでも見ることができる状態である。

1. 第1回公開シンポ、平成21年1月6日、京都テルサ
2. The 2nd International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions
Date: March 16th-17th, 2009、Place: Okazaki Conference Center
3. 合同班会議、2009年9月10日-13日、ホテルグリーンピア南阿蘇
4. 日本蛋白質科学会シンポジウム「生体分子の揺らぎと機能」、5月22日、熊本全日空ホテルニュースカイ
5. 第47回生物物理学会年会シンポジウム"How are biological molecules fluctuating?"、平成21年10月31日、アスティ徳島
6. The 3rd International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions
December 20-21, 2009、Toyoda Auditorium, Nagoya University
7. 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences: Experiments and Simulations、December 22th-23th, 2009、Nagoya University
8. 公開シンポジウム「蛋白質の基質結合や構造変化における分子揺らぎの意義を討論する会」、2010年3月4、5日、東北大学多元物質科学研究所事務棟2F大会議室
9. 平成22年度合同班会議、6月27日～6月30日、片山津温泉 加賀観光ホテル
10. 第48回日本生物物理学会年会シンポジウム「Fluctuation and Function of Biomolecules」、2010年9月20日、東北大学川内キャンパス
11. 物理学会：2010年秋季大会「揺らぎシンポジウム」、2010年9月23日-26日、大阪府立大学中百舌鳥キャンパス
12. 「膜シンポジウム2010」日本膜学会主催「膜の揺らぎと機能への展開：研究の最前線」、2010年11月19日～20日、京大薬学部記念講堂
13. Pacificchem meeting: Dynamics and Mechanisms of Photochemical Reactions of Biological Proteins
December 15 - 20, 2010、Hawaii
14. 平成23年度合同班会議、2011年6月26日～6月29日、夕張
15. Symposium "New Approaches for Probing Biomolecular Fluctuations" in the 49th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan、Sep.17th, 2011、Himeji
16. Open Symposium "A variety of approaches for revealing protein functions"、Oct.17-18th, 2011、Yokohama

17. A03 班グループセミナー、2011 年 11 月 3、4 日、滋賀
18. The 4th International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions
Nov.30-Dec.1, 2011、Piazza-Oumi, Ohtsu
19. The 5th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"
2012 年 1 月 7 日、8 日、東大寺総合文化センター
20. 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences, Experiments and Simulations、2012 年 1 月 9 日～
11 日、東大寺総合文化センター
21. Members' meeting of "Molecular science of fluctuations toward biological functions" project、July
29-Aug.1、Sendai
22. Workshop "To What Extent Has the Problem of Protein Folding Been Solved?" in Protein Science
Society of Japan、June 20, 2012、Yokohama
23. 「揺らぎと生体機能」「水と ATP」合同シンポジウム「ゆらぎと水-生命のエネルギーと機能の分子機構
を探る」、2012 年 9 月 14、15 日、大阪
24. The 6th International Symposium "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions"
2012 年 12 月 5、6 日、京都テルサ
25. International Symposium on Protein Folding and its Biological Significance、2013 年 3 月 4 日～6 日、
岡崎コンファレンスセンター

これらの他に、各班員が主催して開催した学会が多数ある。その数を以下の(f)に挙げる。

(c) ニュースレター

本新学術領域研究の情報発信媒体として、領域発足の 2008 年 12 月以降、月に一回ニュースレターを電子ジャーナルとしてメール配信し、ホームページに掲載している。このニュースレターでは、本新学術領域研究に関わる研究者による最新の研究内容・業績の紹介・本新学術領域研究関係のシンポジウム・会議の報告など多岐にわたる情報を掲載している。これらのニュースレターはホームページからダウンロードすることができる。2013 年 3 月までに 20 号を刊行しており、総ページ数は 411 ページである。

(d) 書籍

本新学術領域研究の大きな目的の一つである、物理・化学・生物物理・医科学の分野融合に対して、大きな問題点は、多くの医学関係者は分子科学の話題に疎く、揺らぎと機能についての認識が少ないことである。この点を克服するために、本新学術領域研究に参画する研究者を執筆者として、「メディカルバイオ」という医薬・生命科学誌の別冊として平成 22 年 9 月に刊行した。その目次を右に示す。

また、サイエンス誌へこの研究領域の目的・概要などを載せ広く周知した。

ドウジンバイオサイエンス (化学同人) から、「生体分子の動きを探る：揺らぎと生体機能」を刊行する予定で、現在校正を進めてい

Medical Bio 9月別冊	
揺らぎと生体機能	
CONTENTS	
総論：揺らぎと生体機能	
10	寺嶋正秀 東大大学院理学研究科
第1章 揺らぎの計測・シミュレーション	
10	1-1 生体分子の反応中の揺らぎをとらえる分子科学手法 寺嶋正秀 東大大学院理学研究科
16	1-2 計算機シミュレーションによるアミロイド病発現原理の追求 岡本祐幸 東北大学大学院理学研究科 物理系専攻(理研系)
22	1-3 分子認識とイオンチャネルの統計力学理論 平田文男 吉田紀生 Saree Phangphaphanee 鳥取大学大学院工学研究科 分子科学専攻
28	1-4 鍵と鍵穴か、誘導適合か 片岡智彦 東北大学大学院理学研究科 物理系専攻(理研系)
第2章 分子構造と揺らぎの生体機能	
34	2-1 神経変性疾患にかかわる天然変性タンパク質の分子構造ダイナミクス 加藤晃一 矢木昌徳 鳥取大学理学部 物理系専攻(理研系)
40	2-2 タンパク質のアミロイド形成 —過飽和条件で揺らぎが引き起こす凝析現象— 後藤祐児 李 映英 大阪大学 理数研究科
46	2-3 天然変性タンパク質PQBP-1の揺らぎと生体機能 衣子結之 東北大学大学院理学研究科 理学(理研系)理学専攻
52	2-4 何がタンパク質のフォールディング経路を決めるのか? 森島邦博 鳥取大学理学部 物理系専攻(理研系)物理系専攻
58	2-5 KcsA チャネル蛋白質の1分子測定による構造ゆらぎと機能ゆらぎ 若木成哉 東北大学大学院理学研究科
64	2-6 テロメアDNAの四重らせん構造形成における揺らぎと機能 松下 潔 東北大学大学院理学研究科
70	2-7 DNAの水和とダイナミクスの塩基配列依存性 —DNA-タンパク質、DNA-低分子認識の理解に向けて— 末谷佳子 河野秀俊 日本大学大学院理学部 理学部 分子生物学専攻
第3章 揺らぎの制御と応用	
76	3-1 非天然アミノ酸のタンパク質への導入技術 —バイオメディカル応用へ向けて— 芳坂直樹 鳥取大学理学部 物理系専攻(理研系)
82	3-2 ハイブリッドリゾームの揺らぎと制御メカニズム 上岡龍一 東北大学大学院理学研究科 理学専攻(理研系)
88	3-3 遠伝的揺らぎと発癌機構の解明にむけて 鈴木 元 東北大学大学院理学研究科 物理系専攻(理研系) 理数系大学院理学専攻
94	3-4 血液悪性腫瘍における細胞膜の揺らぎと膜性の療法 岡田誠治 東北大学大学院理学研究科
100	3-5 アミロイドーシス関連タンパク質の分子ダイナミクス 黒田洋子 東北大学大学院理学研究科

る。その内容と執筆者を以下に示す。

Part I はじめに

第1章 揺らぎと生体反応概論 (京大・寺嶋)

Part II タンパク質反応研究の基礎

第2章 分光法 (京大・寺嶋)

第3章 熱力学 (筑波大・山村)

第4章 一分子計測 4.1 蛍光 (東北大・高橋) 4.2 AFM (北陸先端・川上)

第5章 NMR 5.1 原理 (統合バイオ・加藤) 5.2 R2 dispersion (サントリー・菅瀬)

第6章 変異導入法 (北陸先端・芳坂)

第7章 理論 7.1 分子動力学シミュレーション基礎 (東大・北尾) 7.2 統計(RISM 理論)基礎 (京大・佐藤) 7.3 量子化学計算 (京大・林)

第8章 X線・中性子散乱 (奈良先端・片岡)

Part III 生体分子反応

第9章 高圧 NMR (立命・北原)

第10章 時間分解熱力学 (京大・寺嶋)

第11章 アミロイド形成 (阪大・後藤)

第12章 フォールディングダイナミクス 12.1 理論 (名大・岡本) 12.2 実験 (統合バイオ・桑島)

第13章 天然変性タンパク質 (富山大・水口、奈良先端・片岡)

第14章 生体膜 (獨協大・岡村、富山大・中野)

Part IV 機能とダイナミクス

第15章 モータータンパク質 15.1 理論 (京大・高田) 15.2 実験 (東大・飯野)

第16章 イオンチャンネル (福井大・老木)

第17章 揺らぎと触媒機能(ジヒドロ葉酸還元酵素) (東大・新井)

第18章 薬剤認識 18.1 理論(立命・平田) 18.2 実験(産総研・竹内)

第19章 癌治療 19.1 ハイブリッドリポソームの基礎 (崇城大・上岡) 19.2 治療の最先端 (熊本大・岡田) 19.3 がん治療のメカニズム (名大・鈴木)

(d) Springer 社からの英文レビュー誌を編集中

(e) 一般向けのアウトリーチ活動

・公開市民講演会：2012年1月8日

場所：東大寺総合文化センター

Prof. Thomas R. Cech (Colorado University, USA、1989年ノーベル化学賞受賞)

"The Biology, Chemistry and Physics of RNA Nano-machines"

・公開市民講演会：2013年7月9日

場所：京都テルサ

京都大学大学院理学研究科 寺嶋正秀「ゆらぎが溶液の化学反応を決める」

崇城大学大学院生命科学研究所 上岡龍一「水溶人工細胞膜を用いた副作用の無いがん治療へ」

(f) 主な論文・書籍・学会の主催

項目 (計画 研究)	名前	原著論文数	レビュー誌	書籍	国際学会発表数(内招待講演数)	国内学会発表数(内招待講演数)	主催した国内学会数	組織した国際学会数
A01	寺嶋 正秀	52	7	6	96 (37)	170 (15)	7	8
A01	岡本 祐幸	28	5	5	39 (30)	28 (17)	1	4
A01	加藤 晃一	75	7	12	101 (46)	118 (46)	7	5
A02	片岡 幹雄	19	6	7	66 (20)	77 (6)	0	2
A02	芳坂 貴弘	16	1	1	22 (3)	72 (7)	3	0
A03	上岡 龍一	54	4	1	57 (16)	61 (10)	2	2
A03	桑島 邦博	16	2	1	24 (20)	8 (8)	2	5

項目 (公募 研究)	名前	原著論文数	レビュー	書籍	国際学会発表数(内招待講演数)	国内学会発表数(内招待講演数)		
A03	平田 文男	29	1	0	47 (47)	21 (21)	0	0
A01	石井 邦彦	3	1	0	9 (5)	13 (1)	0	0
A01	川上 勝	8	3	0	16 (1)	18 (11)	0	0
A01	北原 亮	5	4	1	19 (2)	31 (6)	0	3
A01	佐藤 啓文	5	0	0	10 (3)	77 (8)	0	0
A01	高田 彰二	14	0	0	21 (12)	99 (17)	0	0
A01	高橋 聡	7	1	4	9 (4)	25 (3)	5	0
A01	山村 泰久	4	0	0	9 (1)	6 (1)	0	0
A01	石森 浩一郎	2	0	0	1 (1)	4 (1)	0	0
A01	神山 匡	2	2	0	8 (0)	9 (1)	0	0
A01	木寺 詔紀	8	1	0	0 (0)	8 (0)	0	0
A01	後藤 祐児	28	0	0	17 (17)	0 (0)	4	0
A01	菅瀬 謙治	7	0	1	15 (4)	29 (11)	2	0
A01	山口 真理子	3	0	0	10 (0)	5 (0)	0	0
A01	今元 泰	4	0	0	2 (2)	3 (1)	0	1
A01	北尾 彰朗	10	0	0	2 (2)	44 (6)	0	0
A01	櫻井 一正	12	0	0	11 (4)	16 (1)	0	0
A01	関口 博史	4	0	0	19 (0)	27 (3)	0	0
A01	西村 千秋	1	0	1	4 (2)	3 (2)	0	0
A01	林 久美子	1	2	2	4 (2)	1 (1)	0	0
A02	新井 宗仁	6	0	0	8 (2)	31 (7)	1	2
A02	楯 真一	12	1	2	4 (3)	10 (10)	2	2
A02	水口 峰之	17	2	0	5(4)	9 (5)	0	0
A02	湯浅 順平	12	0	0	3 (3)	4 (0)	0	0
A02	今西 未来	9	3	1	2 (0)	7 (5)	0	0
A02	黒田 裕	8	1	0	4 (1)	15 (3)	0	0
A02	寺内 一姫	1	0	1	7 (2)	9 (1)	0	0
A03	飯野 亮太	19	7	2	11 (8)	8 (8)	0	0
A03	岡田 誠治	24	0	0	15 (3)	38 (0)	0	0
A03	鈴木 元	21	4	2	11 (3)	9 (1)	0	2
A03	出羽 毅久	8	0	1	23 (5)	16 (3)	0	0
A03	戸谷 希一郎	12	1	1	25 (1)	73 (5)	1	0
A03	井出 徹	10	2	19	10 (2)	19 (3)	0	0
A03	老木 成稔	15	4	7	10 (0)	38 (7)	3	0
A03	岡村 恵美子	5	4	0	10 (0)	30 (9)	2	0
A03	黒田 玲子	59	0	0	-	-	0	0
A03	鈴木 健太郎	2	2	0	-	-	0	0
A03	手老 龍吾	3	6	0	28 (4)	27 (3)	0	0
A03	松下 琢	8	1	0	7 (1)	13 (2)	1	0
A03	矢野 義明	8	3	1	2 (0)	3 (0)	0	0
A03	吉田 紀生	16	7	4	16 (3)	32 (16)	6	4
A03	米谷 佳晃	3	2	0	2 (0)	2 (2)	0	0
A03	相沢 智康	4	0	0	1 (0)	7 (0)	0	0
A03	伊野部 智由	3	2	0	2 (1)	3 (1)	0	1
A03	大澤 匡範	9	0	1	3 (0)	5 (0)	0	0
A03	大橋 祐美子	1	0	0	3 (0)	1 (0)	2	0
A03	竹内 恒	8	1	1	2 (0)	6 (4)	0	0

A03	中野 実	6	0	0	2 (1)	21 (3)	0	0
A03	野口 博司	3	2	0	10 (4)	10 (4)	0	0
A03	濱田 大三	4	0	0	6 (2)	11 (2)	0	1
A03	林 重彦	7	0	2	11 (8)	21 (5)	0	0
A03	廣田 俊	14	2	1	16 (8)	53 (8)	0	0
A03	松本 陽子	11	0	0	15 (4)	8 (2)	2	5
A03	元島 史尋	2	0	0	1 (0)	9 (1)	0	0
計		767	104	88	913 (354)	1521(324)	52	46

ページ数の関係で、以下に計画研究班員の代表的論文を数編挙げる。論文数などは上の表に記載のとおりである。

A01 班

寺嶋 正秀 (計画研究代表者)

1. K. Tanaka, Y. Nakasone, K. Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, *M. Terazima, Oligomeric state-dependent conformational change of a BLUF protein TePixD (Tll0078). *J. Mol. Biol.* **386**, 1290-1300 (2009).
2. Y. Kawaguchi, Y. Nakasone, K. Zikihara, S. Tokutomi, *M. Terazima, When is the helix conformation restored after the reverse reaction of Phototropin? *J. Am. Chem. Soc. (Communication)*, **132**, 8838-8839 (2010).
3. Time-Resolved Tracking of Interprotein Signal Transduction: Syn-euchocystis PixD?PixE complex as a Sensor of Light Intensity, K. Tanaka, Y. Nakasone, K. Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, *M. Terazima, *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 8336-8339 (2012).

岡本 祐幸 (計画研究代表者)

1. A.Mitsutake, *Y. Okamoto, Multidimensional generalized-ensemble algorithms for complex systems. *J. Chem. Phys.* **130**, 214105 (14 pages) (2009).
2. Y. Mori, *Y. Okamoto, Generalized-ensemble algorithms for the isobaric-isothermal ensemble. *J. Phys. Soc. Jpn* **79**, 074003 (5pages) (2010).
3. Generalized-ensemble algorithms for studying temperature and pressure dependence of complex systems, Y. Mori, *Y. Okamoto, *Molecular Simulation*, 38, 452-457 (2012).

加藤 晃一 (計画研究代表者)

1. O. Serve, Y. Kamiya, A. Maeno, M. Nakano, C. Murakami, H. Sasakawa, Y. Yamaguchi, T. Harada, E. Kurimoto, M. Utsumi-Yagi, T. Iguchi, K. Inaba, J. Kikuchi, O. Asami, T. Kajino, T. Oka, M. Nakasako, *K. Kato, Redox-dependent domain rearrangement of protein disulfide isomerase coupled with exposure of its substrate-binding hydrophobic surface. *J. Mol. Biol.* **396**, 361-374 (2010).
2. M. Yagi-Utsumi, T. Kameda, Y. Yamaguchi, *K. Kato, NMR characterization of the interactions between lyso-GM1 aqueous micelles and amyloid. *FEBS Lett.* **584**, 831-836 (2010).
3. Application of Paramagnetic NMR-Validated Molecular Dynamics Simulation to the Analysis of a Conformational Ensemble of a Branched Oligosaccharide, Y. Zhang, S. Yamamoto, T. Yamaguchi, *K. Kato, *Molecules*, 17, 6658-6671 (2012).

A02 班

片岡 幹雄 (計画研究代表者)

1. S. Yamaguchi, H. Kamikubo, K. Kurihara, R. Kuroki, N. Niimura, N. Shimizu, Y. Yamazaki, *M. Kataoka, Low barrier hydrogen bond in photoactive yellow protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**, 440-444 (2009).
2. H. Nakagawa, H. Kamikubo, *M. Kataoka, Effect of conformational states on protein dynamical transition. *Biochim. Biophys. Acta* **1804**, 27-33 (2010).
3. Watching a signaling protein function in real time via 100-ps time-resolved Laue crystallography, F. Schotte, H. S. Cho, V/ R. I. Kaila, H. Kamikubo, N. Dashdorj, E. R. Henry, T. J. Graber, M. Kataoka, *P.A. Anfinrud, Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 19256-19261 (2012).

芳坂 貴弘 (計画研究代表者)

1. T. Watanabe, Y. Miyata, R. Abe, N. Muranaka, *T. Hohsaka, N-Terminal specific fluorescence labeling of proteins through incorporation of fluorescent hydroxy acid and subsequent ester cleavage. *ChemBioChem* **9**,

1235-1242 (2008).

2. I. Iijima, *T. Hohsaka, Position-specific incorporation of fluorescent non-natural amino acids into maltose-binding protein for detection of ligand binding by FRET and fluorescence quenching. *ChemBioChem* **10**, 999-1006 (2009).
3. Biosynthesis of proteins containing modified lysines and fluorescent labels using non-natural amino acid mutagenesis, Y. Tokuda, T. Watanabe, K. Horiike, K. Shiraga, R. Abe, N. Muranaka, *T.Hohsaka, *J. Biosci. Bioeng.*, 111, 402-407 (2011).

A03 班

上岡 龍一 (計画研究代表者)

1. S. Shimoda, H. Ichihara, Y. Matsumoto and *R. Ueoka, Chemotherapy with hybrid liposomes for human breast tumors along with apoptosis in vivo. *Int. J. Pharm.* **372**, 162-168 (2009).
2. H. Ichihara, K. Funamoto, T. Matsushita, Y. Matsumoto and *R. Ueoka, Histological bioanalysis for therapeutic effects of hybrid liposomes on the hepatic metastasis of colon carcinoma in vivo. *Int. J. Pharm.* **394**, 174-178 (2010).
3. Hybrid liposomes inhibit growth and invasion of human osteosarcoma cells leading to apoptosis, H. Kitajima, Y. Komizu, *R. Ueoka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22, 1784-1787 (2012).

桑島 邦博 (計画研究代表者)

1. T. Kanzaki, R. Iizuka, K. Takahashi, K. Maki, R. Masuda, M. Sahlan, H. Yébenes, J.M. Valpuesta, T. Oka, M. Furutani, N. Ishii, K. Kuwajima, *M. Yohda, Sequential action of ATP-dependent subunit conformational change and interaction between helical protrusions in the closure of the built-in lid of group II chaperonins. *J. Biol. Chem.* **283**, 34773-34784 (2008).
2. T. Nakamura, K. Makabe, K. Tomoyori, K. Maki, A. Mukaiyama, *K. Kuwajima, Different folding pathways taken by highly homologous proteins, goat α -lactalbumin and canine milk lysozyme. *J. Mol. Biol.* **396**, 1361-1378 (2010).
3. The molten globule of $\beta(2)$ -microglobulin accumulated at pH 4 and its role in protein folding., A. Mukaiyama, T. Nakamura, K. Makabe, K. Maki, Y. Goto, *K. Kuwajima, *J. Mol. Biol.*, 425, 273-291 (2013)

平田 文男 (計画研究代表者)

1. Y. Kiyota, R. Hiraoka, N. Yoshida, Y. Maruyama, T. Imai, *F. Hirata, Theoretical study of CO escaping pathway in myoglobin with the 3D-RISM theory, *J. Am. Chem. Soc. (Communication)* **131**, 3852-3853 (2009).
2. Proton Transport through the Influenza A M2 Channel: 3D-RISM Study, S. Phongphonphanee, T. Rungromongkol, N. Yoshida^o, S. Hannongbua, *F. Hirata, *J. Am. Chem. Soc.*, 132, 9782-9788 (2010).
3. Free energy calculation using molecular dynamics simulation combined with three dimensional reference interaction site model (3D-RISM) theory. II. Thermodynamic integration along reaction coordinates, T.Miyata, Y. Ikuta, *F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, 134, 44127-44144 (2011).

10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ程度）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

本領域研究を計画した段階から、大きな目標として、生体分子の機能を理解するうえで揺らぎが重要であることを広く多くの分野で認知させ、融合分野として確立するというものがあった。そのうちのひとつとして、当時は高校の化学教科書で酵素反応を説明するために記載されていた「鍵と鍵穴」モデルを、揺らぎを取り入れた説明にするという、まさに「教科書を書き換える」ことを目指した。本新学術領域研究の活動とアクティビティー・インパクトのおかげで、この目標は達成されて、来年度からの高校化学教科書に揺らぎが大切という記述が載ることになった。理科系のほぼすべてと言える多くの高校生が化学を勉強することを考えれば、これは非常に大きなステップである。

また、生物物理、蛋白質科学、化学会、分子科学など種々の学会で揺らぎに関するシンポジウムを開催し、多くの関連分野に、この揺らぎという運動の重要性を訴えてきており、現在では広く認知されていると思われる。特に、病気治療への応用という人類全体に対するインパクトが、物理化学や生物物理の研究者と医学部の研究者との交流であげられたことが大きい。

具体的には、上岡らによる脂質分子と PEG 系界面活性剤の二種から成る「ハイブリッドリポソーム」は、抗がん剤を含有することなく、ハイブリッドリポソームのみでがん増殖を抑制することを細胞レベル、動物レベルで世界に先駆けて発見し、東京や熊本の病院などで新薬開発に向けた臨床試験が進められた。（現在までに 10 床例）新学術領域「揺らぎと生体機能」に、医学部の臨床研究者（熊本大学医学部 岡田誠治教授および名古屋大学医学部 鈴木元講師）が参加することにより、「ハイブリッドリポソーム」の臨床研究は加速度的に発展している。こうした活動を機に、九州大学医学部の谷憲三朗教授や表参道吉田病院の吉田憲史理事長などの著名な医学者との共同研究が進んでおり、患者に役に立つ夢が現実のものとなっている。このように医学界に分子の世界の有用性を広めることができたのは、大きな波及効果だと考えている。

更に、本領域研究の成果の一端を、「メディカルバイオ」という医学関係者をターゲットとした書籍で紹介できたのも、分野融合がかなり進んできた証拠と言える。

平成 24 年度の科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業（新技術シーズ創出）の戦略目標の一つに“多様な疾病の新治療・予防法開発、食品安全性向上、環境改善等の産業利用に資する次世代構造生命科学による生命反応・相互作用分子機構の解明と予測をする技術の創出”が取り上げられた。この戦略目標立案時に、領域事務担当の片岡が科学技術振興機構から本新学術領域研究の成果を踏まえた意見聴取をされている。この時に、機能の理解には揺らぎの理解が必要であることを強調した。文部科学省の報道発表 (http://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/24/02/attach/1316228.htm) によれば、その達成目標の 3 番目に“複数の相補的な先端的解析要素技術をシームレスに融合することで階層構造ダイナミクスの機能解明と制御を可能にする新たな多次元研究手法（相関構造解析法）の創出”とあり、具体的内容の 2 番目に、“蛋白質、核酸、脂質等の生体高分子の細胞内外でのダイナミックな相互作用や高次構造の変化によって引き起こされる生命現象の解明に向け、分子複合体及び生体高分子の修飾ならびに動態解析を様々な位置分解能、時間分解能（ダイナミクス）、天然度（in situ から in vivo）で明らかにするための新規要素技術を開発する。具体的には、X 線・中性子を用いた結晶解析と小角散乱、核磁気共鳴（NMR）、電子顕微鏡、質量分析、計算科学などの手法の高度化や新規手法の開発を行う”と述べられているが、これはまさに本新学術領域研究の目指したところであり、また成果の一部でもある。すなわち、本新学術領域研究は、我が国の科学技術政策にも貢献したと考えている。