

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2004 ～ 2008

課題番号：16083207

研究課題名（和文）ダイニン・ナノシステムの運動と制御の分子メカニズム

研究課題名（英文）Molecular mechanisms of dynein' s force generation and regulations

研究代表者

大岩 和弘 (OIWA KAZUHIRO)

独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター・センター長

研究者番号：10211096

研究成果の概要：

本研究課題では、タンパク質モータ、軸糸ダイニンについて単一分子計測やアンサンブル機能計測、電子顕微鏡や X 線溶液散乱による構造解析など、その構造と機能に関する研究を統一的に実施、ダイニンの運動発生機構とその制御機構の解明を目指した。生理的溶液中では伸展した構造をとるダイニンは、軸糸内においてコンパクトな構造となり隣接するダイニン分子の間に構造的連関を生じることを明らかにした。これは、個々の機能がアンサンブルとして高い次元の機能へと組織化して統合された鞭毛波を作り出すための構造的基盤である。機能面では運動特性の大きく異なる 2 種類のダイニンの協調的運動特性を明らかにして、鞭毛軸糸内でのアンサンブル特性創発の機能的基盤の一端を明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
16 年度	8,000,000	0	8,000,000
17 年度	20,600,000	0	20,600,000
18 年度	16,200,000	0	16,200,000
19 年度	10,400,000	0	10,400,000
20 年度	7,300,000	0	7,300,000
総計	62,500,000	0	62,500,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学 生物物理学

キーワード：一分子計測 (SMD)、生物物理、ナノマシン、ナノバイオ、分子モーター

## 1. 研究開始当初の背景

真核生物の持つ運動性の細胞小器官である鞭毛・繊毛は、直径約  $0.2\mu\text{m}$ 、長さ数~数十  $\mu\text{m}$  であり、基本構造として、9本の周辺微小管（ダブルレット微小管）が2本の中心小管（シングルレット微小管）を取り囲む「9+2」構造を持っている。この構造全体を軸糸と呼ぶが、これはいくつかの例外はあるものの、原生動物からヒトに至るまで多くの生物種において広く共通した構造である。鞭毛・繊毛の運動は、周辺微小管上に規則正しく配列したダイニン腕が、隣接する周辺微小管を滑らせることによって生じる。この滑り運動が軸糸全長に渡って空間的・時間的に制御されることによって、鞭毛波が形成され伝播する。これまでに軸糸の電子顕微鏡観察によって、ヌクレオチド状態に依存したダイニン外腕の構造変化が報告されている。しかし、空間分解能が十分ではなかったために、個々のダイニン重鎖の構造変化と対応させて議論することはできず、協同的運動機構の構造的基盤は明確になっていなかった。

一方、ダイニン分子については、クラミドモナス鞭毛から精製した内腕ダイニンの電子顕微鏡観察から、そのATP加水分解に伴う構造変化を我々の研究グループが明らかにした。異なるヌクレオチド状態のダイニン分子の構造の詳細な比較検討の結果、ダイニンの尾部の基部が、頭部に対する相対的位置を変えていることを明らかにした。さらに、尾部と頭部リング本体とを繋ぐ「リンカー」と呼ぶ構造を発見、これがヌクレオチド状態に応じて頭部リングの上に畳み込まれていることを示した。これらの観察結果から、ダイニンのパワーstrokeモデルを提唱した（図1）。

また、軸糸ダイニンや細胞質ダイニンの運動特性についての研究は、光ピンセット技術

や単一蛍光分子観察技術を用いた単一分子レベルの初期段階の測定が行なわれていた。ホモ二量体の細胞質ダイニンや軸糸ダイニンが、微小管上を  $8\text{nm}$  のステップで運動することなどが報告されていたが、運動機構の詳細の解明には至っていなかった。

## 2. 研究の目的

生体ナノシステムとしてのダイニンの運動発生機構とその制御機構を単一分子レベルからアンサンブルに至るまで解析することによって、ダイニンの構造と機能メカニズムの解明を目指した。

自律的な素子であるダイニンが軸糸という高次のナノシステムに統合されることで、個々の運動がアンサンブルとして高い次元の運動へと組織化する。統合された鞭毛波を作り出すためのダイニン間相互作用を規定するルールはまだ明らかにされていない。しかし、軸糸の中にはダイニンを連動させる構造的基盤が、ダイニン分子には機能的基盤がそれぞれ存在すると考えられる。そこで、この研究ではダイニンの分子構造を明らかにすることと、この分子の挙動を詳細に測定する測定手法の開発を通して、力学特性を明らかにするほか、鞭毛軸糸の構造、特にダイニン腕の構造解析によりアンサンブルとしての挙動を作り出す構造的・機能的基礎を明らかにする。

## 3. 研究の方法

実験材料は、クラミドモナス鞭毛を利用。クラミドモナスは鞭毛軸糸構成要素を欠損する変異体の蓄積があり、鞭毛運動と軸糸構成要素の機能との相関についても多くの知見が蓄積されていて、構造解析のみならず機能解析においても極めて有利な材料である。この変異体の優位点を積極的に利用した。さらに、この鞭毛より単離精製した軸糸ダイニン、特に内腕ダイニンを研究対象とした。このダイニンの力学特性・分子形態およびナノシステムとしての鞭毛軸糸におけるダイニン腕の構造について、以下の手法を用いて研究を行なった。

### (1) 構造解析：

- ・シンクロトロン放射光を用いたX線小角散乱とX線繊維回折（SPring8、理研との共同研究）
- ・クライオ電子線トモグラフィー（ETH Zurichとの共同研究を含む）
- ・クライオ電子顕微鏡観察技術（Univ. Leedsとの共同研究を含む）
- ・高速AFM観察技術

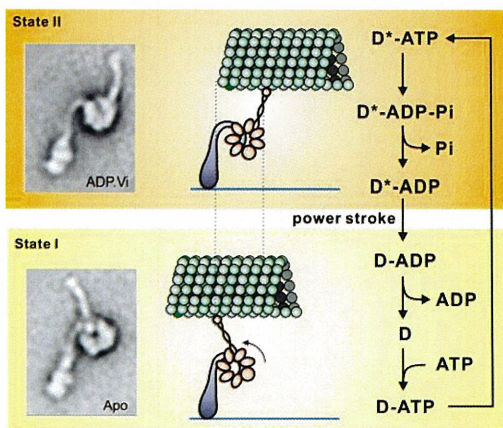


図1. 電子顕微鏡観察に基づくダイニンのパワーstrokeモデル



## (2) 機能解析：

- ・ 蛍光性 ATP アナログ合成技術
- ・ *in vitro* 運動アッセイ
- ・ 単一分子計測法

## 4. 研究成果

### (1) ダイニンの構造解析

我々の研究グループは単頭の軸系ダイニンについて、その分子形状を陰染色による電子顕微鏡観察法で詳細に解析、ヌクレオチド状態によって分子形状を大きく変えることを明らかにした。しかし、陰染色法は支持膜表面との相互作用によってタンパク質分子が変形することや、重金属染色による構造への影響などで生理的条件とは異なる分子像が得られる可能性が残されており、生理学的条件下での分子構造の解析が喫緊の課題であった。そこで本研究においては、生理学的条件下でのダイニン分子の分子形状を明らかにするために、X線溶液散乱や高速 AFM を用いた構造解析を進めた。

① X線溶液散乱による鞭毛軸系ダイニンの構造解析：ダイニンを基板表面へ固定することなく、溶液状態でそのダイナミクスを観測できる X線溶液散乱を用いて、クラミドモナス鞭毛内腕ダイニンの溶液中での構造決定を行った。ダイニン分子はその分子量から見て、溶液散乱による構造解析に適した材料である。しかし、軸系ダイニンは大量に試料調整することが困難であるうえ、長時間の保存が難しい不安定なタンパク質でもある。また、大型の分子であるダイニンの X線溶液散乱には高い小角分解能 ( $S < 0.001 \text{ \AA}^{-1}$ ) が要求される。試料が低濃度でも、良質の回折像を短時間で記録することができる高いフラックスと小さなビームサイズを供給する高輝度単色 X線源として SPring-8 BL45 小角散乱ビームラインを用いて実験を行なった。この結果、鞭毛軸系ダイニンに関しては、*ab initio* 構造予測によって分子が溶液中で伸展した 2ドメイン構造を持つことを明確に示すことができた(図2)。この構造は、陰染色法で電子顕微鏡によって観察したダイニン分子の像と極めて類似しており、単体で溶液中に存在するダイニンは伸展した構造を取っており、電子顕微鏡像からの運動機構の解釈の信頼性が高まった。

② 高速 AFM によるダイニン分子構造変化の直接観察：原子・分子レベルの分解能を持ちタンパク質の構造変化やダイナミクス

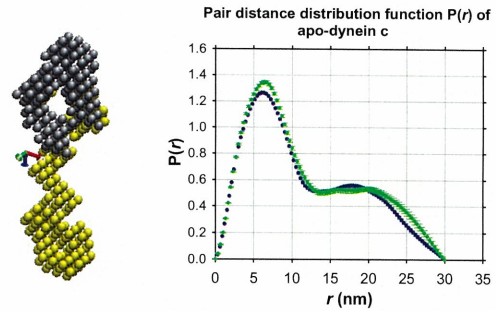


図2. X線溶液散乱データより *ap initio* 構造予測によって得られた溶液中の単頭ダイニン分子

を実体観察する技術として、液浸型の原子間力顕微鏡(AFM)が知られている。液浸高速 AFM を用いてダイニン分子の分子形態及びヌクレオチド状態による構造変化を単一分子のレベルで観測することを試みた。ATP などヌクレオチドを含まない溶液中でのダイニン分子像(apo)と、ダイニン-ADP-Pi 複合体に対応する安定したアナログ複合体を作り、それぞれの状態のダイニン分子の形状を AFM で観察した。これは、陰染色法を用いた電子顕微鏡観察の生理学的条件下での検証に相当する。結果は、電子顕微鏡観察の結果を再現した。

次に、この AFM の最大の特徴である単一ダイニン分子のダイナミックな構造変化を 100msec ほどの時間分解能で捉える試みを実施。この結果、観察されたダイニン分子のうちのいくつかは、我々のグループが提唱したモデルに類似した動きを示すことを見出した。また、電子顕微鏡観察で確認されたリンカー構造に対応する構造を確認、これが頭部リングのどちらの面にあるかを定めることができた。この知見はダイニン分子の構造解析における handedness の決定に大きく貢献する。

③クライオ電子顕微鏡によるダイニンおよびダイニン腕の構造解析：ダイニン重鎖の構造・機能解析が進むにつれ、軸系全体の鞭毛運動の分子レベルでの理解が次なる目標となってきた。重鎖内のリンカーや AAA ドメインの構造とその変化に関する知見を鞭毛運動のメカニズムに結びつけるには、ダイニン内腕・外腕内での重鎖・中間鎖・軽鎖の配置、更には軸系内における内腕・外腕の微小管への結合様式を知る必要がある。

通常の透過型電子顕微鏡で観察できる軸系は、9本のダブル管とそれらに結合するダイニンが上下方向に重なりあい、それぞれの微小管を識別することもダイニン外腕・内腕を認識することも難しい。このよ

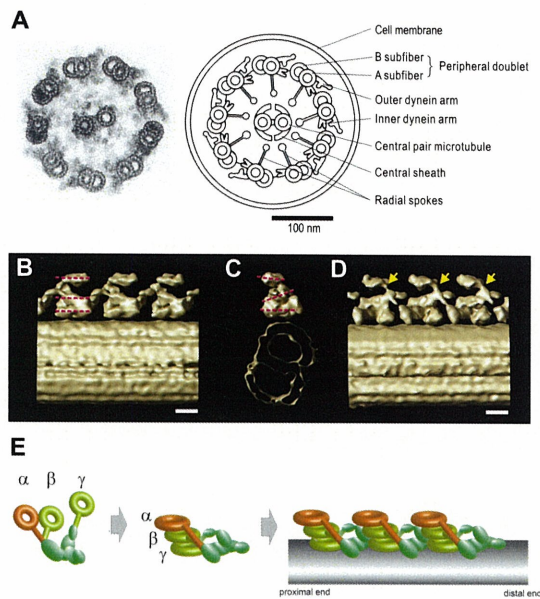


図3. クライオ電子線クライオトモグラフィーによって再構成したクラミドモナス鞭毛軸糸と外腕ダイニン。A. 軸糸の断面と模式図。B.C.D. トモグラフィーにより三次元再構成した軸糸とダイニン外腕。E. 重鎖三量体の外腕ダイニンが腕の構造を取るための折り畳みモデル。

うな不均一な環境でも生体高分子の構造解析ができる手法として近年注目されているのがクライオ電子線トモグラフィーである。

電子線トモグラフィーでは、電子顕微鏡内で試料を1つの軸を中心に連続的に傾斜させながら試料像を撮影する。この連続した像を逆投影することで3次元情報を得る手法で、分子内部の密度分布を試料全体にわたって可視化できるようになる。ただし、連続撮像のために、電子線損傷が大きな問題となってくる。この損傷を最小限にするためには電子線量を減らす必要があるが、これは像の信号対雑音比を低下させる。また、試料を90度傾けることが技術的に不可能であるために試料の3次元情報の一部が欠損する missing wedge 問題も生じる。これらの問題のために、一般的にクライオ電子線トモグラフィーの分解能は70Å程度に留まると言われてきた。我々はクライオ電子線トモグラフィーを用いてクラミドモナスの鞭毛軸糸の3次元再構成を行った。従来の電子顕微鏡像では重なり合って識別不可能だったダブルレット微小管とダイニン外腕も、トモグラムでは容易に抽出することができた。さらに、抽出した1000個以上のダイニン外腕-微小管複合体の3次元像の位置をあわせて平均像を計算した。この平均化処理によって、像のS/N比が向上したばかりでなく、スポーク状にさまざまな角度で並ぶ周辺微小管のデータを融合することによって、上記の missing wedge 問題も

回避、最終的には45Åの分解能(世界最高クラス)でダイニン外腕と微小管の複合体の三次元構造を再構成した(図3)。

外腕ダイニンは複数の重鎖からなるヘテロマーとして存在している。単離した外腕ダイニンはブーケ構造と呼ばれ、尾部が束ねられて、反対側で複数の頭部が広がって観察される。しかし、電子線トモグラムによるダイニン外腕の3次元再構成からは、ダイニンの頭部リングに相互作用があるがごとく、互いに重なるように微小管上に配置していることが分かった(図3)。これまで、1つの塊としてしか見えていなかったダイニン外腕が積みあがった3つの板状構造のように見えている。また、この3つの板状構造は細い棒状構造でつながっているように観察された。それぞれの外腕は独立した構造ではなく、隣り合う外腕の間にも電子密度の高い領域が観察され、外腕同士を連結する構造があることも分かってきた。この連結は、外腕の協同性を議論する上で重要な構造である。

単離精製した内腕ダイニンでは、ストロークと尾部は頭部リングと同一平面内にあると仮定して、パワーstrookも頭部リングを含む平面内で生じるとした。しかし、トモグラフィーで観察された外腕ダイニン重鎖では、尾部は頭部リングと同じ平面には突出していない。分子全体が折れ曲がっているように観察されている。すなわち、ネガティブ染色法によって観察されたダイニンのパワーstrookは、実際の軸糸の中では3次元的に生じているのかもしれない。また、電子線トモグラフィーによる観察からは、巨大な頭部リング同士の相互作用があることが示唆される。これは、単一分子計測で示されたダイニンの8nmステップでの運動に大きく関連していると思われる。例外はあるものの、単一分子計測されたダイニンのステップサイズは8nmを示している。これは、複数の頭部の間に相互作用があり、運動時においてもリングを重ね合わせた状態にあることを示唆している。

また、ダイニン内腕とスポークの構造に関してもトモグラフィーによる解析を進めた。内腕ダイニン欠損株の軸糸の解析を行なうことによって、クラミドモナスの持つ8つの内腕重鎖について、それぞれの配置と軸糸内での折り畳まれ方を明らかにすることに成功した(図4)。特徴的なことは、ヘテロ二量体のダイニンfから始まり、8つの重鎖は4つのdyad構造を取ることであった。鞭毛から抽出したダイニンは、単量体としても運動機能を維持している。しかし、軸糸内では二量



体のように存在しているかのように観察された。機能的二量体として軸系内で機能している可能性が示唆される。クラミドモナスの内腕ダイニン欠損株の解析から、1種類の内腕ダイニンの欠損では運動機能が消失しないことが知られている。しかし、いくつかの組み合わせで欠損が起こると運動機能に著しい障害が見られる。これは、内腕ダイニンが機能的に多量体を形成して機能している可能性を示すものである。

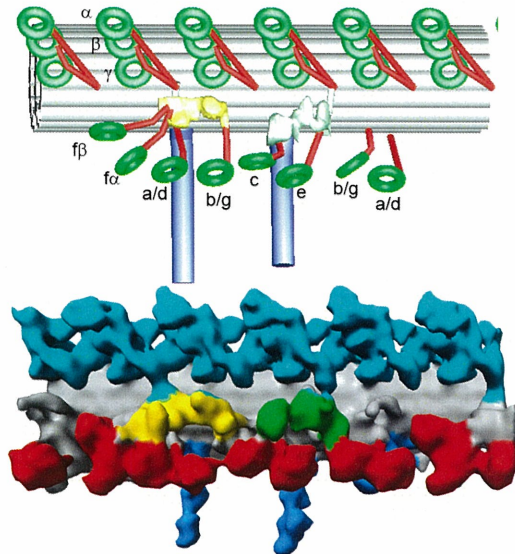


図4. クライオ電子線トモグラフィーにより再構築した鞭毛軸系の構造。水色はダイニン外腕、赤がダイニン内腕、青はスポークである。内腕ダイニンは4つの dyads の構造を取っていることがわかる。

④クラミドモナス鞭毛軸系の X 線回折による構造解析： 鞭毛や繊毛における屈曲波形成の機構解明には、鞭毛内部の各構成要素の空間的配置を正確に決めることが不可欠である。また同時に、生理的条件下で運動サイクルに対応した構成要素の構造変化などを直接解析することが望まれる。この解析には、生理的条件下において微細な構造解析が可能である X 線回折が有効な研究手法である。軸系からの反射を得るには、十分なフラックスを持つ放射光の高輝度・高平行な X 線ビームが必須である。しかし、このビームをもってしても鞭毛・繊毛のような微小な試料単体から回折像を記録するのは極めて困難である。そこで、微小領域のずりを用いた配向法を利用して、高密度に軸系を配向する手法を導入した。配向した鞭毛軸系からは分離した明確な繊維回折像が得られ、軸系が流れの中で良く配向していることが確認できた。また、配向した軸系間の干渉が生じないことを確認、得られた回折像は個々の軸系の構造を反映するものと確認された。

流動配向により子午線反射と赤道反射が分離されて、それぞれに明瞭な反射が確認された。子午線反射として微小管内のチューブリン分子の構造周期である 4nm の反射が明確に得られている。また、48nm、32nm、24nm、10nm、12nm、8nm の周期構造に対応する子午線反射も得られている。

外腕ダイニン欠損株の子午線反射は  $1/24 \text{ nm}^{-1}$  の反射と  $1/12 \text{ nm}^{-1}$  の反射の強度が野生株に比して著しく減少しており、これらの反射が外腕の周期構造に由来することが推定された。また、鞭毛構造の各種変異株を用いることで、スポーク、中心鞘などの周期構造に由来する反射を特定することができた(図5)。また、得られた反射からは、構造周期を正確に決定することができる。それぞれの反射が軸系内の構造とその周期に帰属できたことによって、軸系構造の正確な設計図を手に入れる第一歩を記したといえる。さらに、X 線回折のもう一つの利点である、外液の状態を変えることによって生じる構造変化検出を、ダイニン腕について実施した。バナジン酸と ATP 存在下とヌクレオチド非存在下での鞭毛軸系のそれぞれの X 線回折像から、 $1/24 \text{ nm}^{-1}$  の子午線反射に強度変化が見出され、ダイニン外腕の動きがあることが明らかになった。トモグラフィーによる電子密度データによって構築したモデルとの比較と当てはめによって、外腕ダイニンの構造変化を明らかにしている。

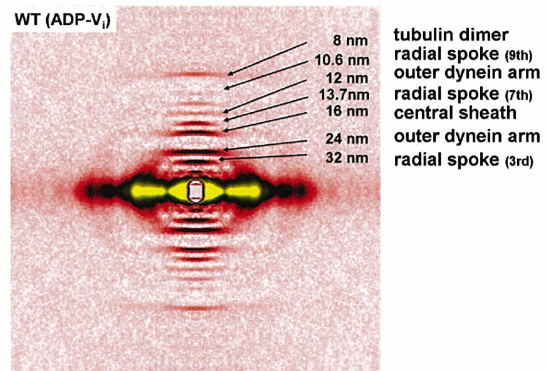


図5. ずりによる配向を行なったクラミドモナス鞭毛軸系(野生株)から得られた X 線繊維回折像。

## (2) ダイニンの機能解析

①蛍光性 ATP アナログの開発とその応用展開：タンパク質モーターにとって良好な基質となり、単一分子計測に使用可能な蛍光性 ATP アナログの新規合成を進めた。特に、ダイニンは基質特異性が高いため有効な修飾法を詳細に検討する必要があった。リボースの水酸基に修飾を入れた ATP アナログに蛍光団



を縮合させて様々な蛍光 ATP アナログを準備したところ、ダイニンにとって基質となりうる ATP アナログをいくつか見つけることができた。しかし、分解速度は ATP と比較して低く、仮にこれを用いて実験結果を得たとしても、その解釈は困難と考えられたためにダイニン研究に直接使用することはできなかった。しかし、このリボース修飾した蛍光 ATP アナログは一部のタンパク質モーターにとって良好な基質となることがわかり、本特定領域研究内の研究グループへ試料分与することで共同研究を進展させ、蛍光 ATP アナログの有効利用ができた。合成した蛍光 ATP アナログは骨格筋ミオシンに対する基質特性を十分に評価したこと、合成の際に生成される異性を分離精製することで実験結果の解釈の不確実性を低減することに成功するなど、安定供給の確保とともに基盤技術としての要件を充足する研究開発とした。

②ダイニンの単一分子運動計測技術の開発：ダイニン上での構造変化を決定するための装置開発の一環として、エバネッセント光を用いた全反射型蛍光顕微鏡システムを設計し、その構築と改良を進めた。このシステムでは、励起光の偏光面と入射方向とを同期させて回転させることにより、エバネッセント光の偏光面を試料面で 360 度回転させることができる。この偏光面の回転によって蛍光分子の配向を決定する。この装置を用いた研究は領域内の共同研究を中心に実施した。

このシステムのほかに、一蛍光分子の位置を高精度に計測する単一分子計測システム (FIONA) の構築に取り組み、微小管上で運動する単一ダイニン分子の計測を実施した。ここで対象とした分子は生体内でヘテロ 2 量体として存在するダイニン f である。通常、蛍光分子による修飾では、得られる光子数が 1 秒間に数千程度である。この光子数ではダイニンのステップを計測するための位置分解能として十分な値を期待できない。そこで、強い蛍光を安定して発する Q-dot を蛍光団として用いることとした。Q-dot のダイニン f への吸着は、Q-dot 表面の電荷による吸着と、抗体を介した吸着の両者を検討した。ダイニンの活性維持に難航を極めたが、いずれの方法でもダイニンの蛍光修飾が可能であることがわかり、計測上の双方の利点を有効に用いることとした。低 ATP 濃度 (1 $\mu$ M 以下) で Q-dot-ダイニン f 複合体の運動を FIONA で計測したところ、数十 nm 程度の run length で、数ステップからなる連続運動性が観察され、運動方向に 8nm のステップ状運動

を行なうことが観察された。運動活性の異なるヘテロ二量体を形成しているダイニン f が 8nm のステップを繰り返すことは、この運動機構を考える上で重要な知見である。

③ヘテロ二量体軸系ダイニン f の運動特性：ヘテロ二量体である内腕ダイニン f の分子形態を電子顕微鏡を用いて観察すると、2つのリング状頭部と束ねられた尾部からなる花束のような構造をしている。クライオ電子線トモグラフィーによる軸系の構造解析からは、ダイニン f の 2つの頭部それぞれが A 小管から異なる距離に位置しており、異なる機能を発揮していることが予想された。また、軸系から単離したダイニン f は、他の内腕ダイニンに比べて微小管滑り運動活性が著しく低いことが知られている。以上の知見から、このダイニン f は他種のダイニンとの間の相互作用や、異なる重鎖間の分子内相互作用を介して、生体ナノシステムとしての鞭毛の運動機能制御にかかわる重要なダイニンである可能性がある。そこで、ダイニン f の異なる頭部 (モーター領域) の軸系内での機能と、他種のダイニンの運動活性への影響を明らかにするために、*in vitro* 運動アッセイを中心にしたアンサンブル計測を実施した。

まず、単離されたダイニン f の運動特性として連続運動性を検証した。ダイニンの基板表面密度による微小管の吸着量の変化を測定するアンサンブル計測において、連続運動性を支持する結果が得られた。

次に、それぞれの頭部の運動活性や ATPase 活性を調べた。ダイニン f の 2つの重鎖、 $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖をそれぞれ欠損した株、 $\alpha$  鎖欠損株と  $\beta$  鎖欠損株それぞれから、ダイニン f を精製した。得られたダイニン f (野生型、 $\alpha$  鎖欠損、 $\beta$  鎖欠損) を用いて ATPase 活性や運動活性を測定したところ、 $\beta$  鎖は  $\alpha$  鎖の 5 倍ほどの ATPase 活性を持ち、微小管添加による活性の上昇も確認されたが、 $\alpha$  鎖は微小管による活性は確認できなかった。運動活性も、 $\beta$  鎖は  $\alpha$  鎖の 3 倍ほどの速度で微小管を滑走させた。ATPase、滑り運動の両活性とも  $\beta$  鎖が優位であった。しかし、野生型の運動活性は  $\alpha$  鎖のそれとほぼ同じであり、野生型の運動においては、 $\alpha$  鎖の役割が大きいと考えることができる。

滑り速度の異なるダイニンがこのダイニン f と共存したときに微小管滑り運動にどのような変化が生じるかを調べる実験を行なった。これは、鞭毛軸系内の状況を *in vitro* で再構築するものであり、分子間の直接の相互作用ではなく、微小管の滑り運動を介した



協同性に関する情報を得る実験である。

ターゲットとしたのは、速い微小管滑り運動を引き起こす内腕ダイニン c とダイニン f である。基板表面の総ダイニン数を一定にして、この総数内のダイニン c と f との比率を変えていったときの微小管滑り速度を測定した。さらに単一分子計測によってダイニン c の力-速度関係を明らかにすることによって、ある滑り速度で運動している微小管に係っているダイニン f が生じる粘性力を評価した。ダイニン f の内在的滑り速度より速く微小管が運動した場合、ダイニン f の抵抗係数は上昇する。しかし、中間的滑り速度では、抵抗係数はほぼ一定になる。さらに微小管の滑り速度が増すと粘性抵抗係数は減少に転ずる。これは、微小管が高速で滑り運動する場合には、ダイニン f は運動の負荷にならないように機能することを示している。鞭毛屈曲波において、隣接する周辺微小管の間の滑り速度は 0 から最大速度まで大きな範囲で変化する。この際、異なる運動特性を持つダイニンがそのすべての運動速度において同程度に貢献するかは明らかになっていない。しかし、この研究成果は、運動特性の異なるダイニンは、滑り速度に応じて自らが関与する時期を知り、運動に貢献し、関与できなくなると運動の負荷にならないように相互作用を弱めるといった巧妙な仕組みが存在することを示すものである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 20 件)

- ① Masaike, T., Koyama-Horibe, F., Oiwa, K., Yoshida, M. & Nishizaka, T. (2008) Cooperative three-step motions in catalytic subunits of F-1-ATPase correlate with 80 degrees and 40 degrees substep rotations. *Nature Struct. Mol. Biol.* 15, 1326-1333. (査読あり)
- ② Bui, K. H., Sakakibara, H., Movassagh, T., Oiwa, K. & Ishikawa, T. (2008) Molecular architecture of inner dynein arms in situ in *Chlamydomonas reinhardtii* flagella. *J. Cell Biol.* 183, 923-932. (査読あり)
- ③ Oiwa, K. and Kojima, H. (2008) Molecular motors: Keep on moving. *Nature Nanotech.* 3, 531-532. (invited, 査読なし)
- ④ Kotani, N., Sakakibara, H., Burgess, S.A., Kojima, H., and Oiwa, K. Mechanical properties of inner-arm dynein-f (dynein II) studied with *in vitro* motility assays. *Biophys. J.* 93, 886-894(2007) (査読あり)
- ⑤ Adachi, K., Oiwa, K., Nishizaka, T., Furuie, K., Noji, K., Itoh, H., Yoshida, M., and Kinoshita, K. Jr. (2007) Coupling of rotation and catalysis in F1-ATPase revealed by single-molecule imaging and manipulation, *Cell*, 130, 309-321(査読あり)
- ⑥ Ishikawa, T. Sakakibara, H., and Oiwa, K. (2007). The architecture of outer dynein arms in situ. *J. Mol. Biol.* 368, 1249-1258 (査読あり)
- ⑦ Oiwa, K., and Sakakibara, H. (2004) Recent progress in dynein structure and mechanism. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17 : 95-103. (査読あり)
- ⑧ Burgess, S.A., Sakakibara, H., Oiwa, K., Knigh, P.J. (2004) The structure of dynein-c by negative stain electron microscopy. *J. Struct. Biol.* 146, 205-216 (査読あり)
- ⑨ Nishizaka, T., Oiwa, K., Noji, H., Kimura, S., Muneyuki, E., Yoshida, M., and Kinoshita, K. Jr. (2004) Chemomechanical coupling in F1-ATPase revealed by simultaneous observation of nucleotide kinetics and rotation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 142-148. (査読あり)

〔学会発表〕(計 123 件)

- ① S.Toba: Mechanical and enzymatic properties of the heterodimeric axonemal dynein-f, *2nd International Symposium on Bio-nanosystems* (東京, 2008.11.1)
- ② K. Oiwa : Conformational changes of dynein arms in situ studied using X-ray diffractions of *Chlamydomonas* flagellar axonemes, *Gordon Research Conference Muscle & Molecular Motors* (Boston, 2008.6.29)
- ③ K. Oiwa : Fluorescence Based Single Molecule Imaging and Nanometry on Axonemal Dyneins , *7th International Weber Symposium 2008*(Hawai, 2008.6.10) (Invited)
- ④ K. Oiwa : Force-generating mechanism of axonemal dyneins inspired by cryoelectron tomography and x-ray fiber diffraction analysis. *The Abtbury Series, University of Leeds* (Leeds, 2007.11.28)
- ⑤ K. Oiwa: The structure and mechanism of protein motors and their potential applications in the development of bio-nano-devices, *D. B. Robinson Distinguished Speaker Lecture Series, University of Alberta* (Edmonton, Canada, 2007.3.1) (Invited)
- ⑥ K. Oiwa : Force generation mechanism of axonemal dynein inspired by the structure of isolated and in situ dyneins of *Chlamydomonas* axonemes. 2006

*Biophysical Society Discussions, Molecular Motors: Point Counterpoint* (Asilomar, 2006.10.20)

- ⑦ K. Oiwa : Force-generation mechanism of dynein of inspired by structures of isolated and in situ dyneins of *Chlamydomonas*. *International Symposium on Bio-nanosystems* (仙台, 2006.9.3)
- ⑧ T. Ishikawa : Structural studies on axonemal dynein-arms in *chlamydomonas* flagella by electron tomography . *International Workshop Dynein 2005, Molecular Mechanisms of Axonemal and Cytoplasmic Dyneins* (Kobe, Japan, 2005.10.31)
- ⑨ K. Oiwa : Raveling axonemal dyneins with single molecule and x-ray diffraction techniques . *Motors & Cytoskeleton Conference* (Hamburg-Blankenese, 2005.9.25) (Invited)
- ⑩ K. Oiwa : Force generation mechanism of axonemal dyneins . *Joint 61st Harden Conference/EMBO Workshop-Molecularmotors: structure and function* (Cambridge, 2005.9.18) (Invited)
- ⑪ K. Oiwa : Molecular mechanisms of AAA-proteins, FtsH and dynein studied with total internal reflection fluorescence (TIRF) microscopy. *6th International Weber Symposium on Innovative Fluorescence Methodologies in Biochemistry and Medicine* (Hawai, 2005.7.23) (Invited)

〔図書〕 (計 2 件)

- ① Oiwa, K. & Kojima, H., Force-generating mechanisms of dynein revealed through single molecule studies. In *Single Molecule Biology*, Elsevier Academic Press, London. pp61-104.(2009)
- ② Oiwa, K. & Manstein, D.J. How linear motor proteins work. In *Lecture Notes in Physics, Controlled Nanoscale Motion*. H. Linke and A. Månsson, editors. Springer/Berlin, Heidelberg, New York. pp.41-63. (2007)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称 : 「繊維状タンパク質の誘導素子及びその製造方法」  
発明者 : 大岩 和弘, 鈴木 仁, 米谷 玲皇, 松井 真二  
権利者 : (独)情報通信研究機構  
種類 : 特開  
番号 : 2006-169120

出願年月日 : 平成 18 年 6 月 29 日  
国内外の別 : 国内

○取得状況 (計 8 件)

名称 : 「タンパク質モータの機能に基づく信号変換素子」  
発明者 : 大岩 和弘  
権利者 : (独)情報通信研究機構  
種類 : 特許  
番号 : 3878992 号  
取得年月日 : 平成 18 年 11 月 17 日  
国内外の別 : 国内

名称 : 「生理活性を持つ環状ヌクレオチド誘導体及びその製造方法」  
発明者 : 大岩 和弘  
権利者 : (独)情報通信研究機構  
種類 : 特許  
番号 : 3598366 号  
取得年月日 : 平成 16 年 9 月 24 日  
国内外の別 : 国内

〔その他〕

ホームページ等  
<http://www2.nict.go.jp/w/w103/w131102/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大岩 和弘 (OIWA KAZUHIRO)  
独立行政法人情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター・センター長  
研究者番号 : 10211096

(2) 連携研究者

岩本 裕之 (IWAMOTO HIROYUKI) 財団法人高輝度光科学研究センター・利用研究促進部門・主幹研究員  
研究者番号 : 60176568

(3) 研究協力者

Stan A. Burgess, Inst. Mol. Cellular Biol., University of Leeds, Lecturer

Takashi Ishikawa, Inst. Mol. Biol. Biophys., ETH Zurich, Group Leader