

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H01837

研究課題名(和文) 高速原子間力顕微鏡で明らかにする微小管の構造欠陥によるキネシンの機能変調

研究課題名(英文) High-speed AFM study on functional modulation of kinesin caused by structural defects of microtubule

研究代表者

内橋 貴之 (Uchihashi, Takayuki)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：30326300

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高速原子間力顕微鏡(AFM)による分子操作機能を高度化したインラインフォースカーブモードを開発し、微小管に高い制御性で単一チューブリンダイマー欠陥を形成できるとともに、力-距離曲線を取得できるようになった。この手法により、微小管の自己修復過程や欠陥周囲のキネシン分子の運動挙動を観察できるようになり、また、チューブリン間の結合エネルギーの定量化に成功した。さらに、この手法を発展させた高速フォースマッピング法の観察にも成功した。屈曲した微小管のキネシン滑走運動を観察した結果、屈曲した領域ではキネシンの移動速度が低下することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発された手法は、微小管の機械特性によるMAPsの機能変調を解析できる唯一手法であり、今後微小管に限らず様々なタンパク質の一分子構造操作や機能解析が可能になることから、生物学の重要な計測ツールとなり学術的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have developed an in-line force-curve mode, which is an advanced molecular manipulation function of high-speed atomic force microscopy (AFM), allowing us to form single tubulin dimer defects in microtubules with high controllability and to obtain force-distance curves in realtime. This technique enabled us to observe the self-healing process of structural defects created on a microtubule and the translational motility of kinesin molecules around the defects, and to quantify the binding energy between tubulins. Furthermore, we have extended this technique to the fast force mapping mode. Also, by observing the kinesin sliding motion in bent microtubules, we found that the kinesin translational velocity is significantly reduced in the bent region.

研究分野：生物物理学

キーワード：一分子計測 微小管 キネシン タンパク質 原子間力顕微鏡

## 1. 研究開始当初の背景

微小管は、細胞分裂や細胞遊走など真核細胞の様々な細胞内機能に極めて重要な役割を果たしている。微小管が関わる細胞内現象の多くは、微小管の伸長や微小管に沿った物質輸送を行う微小管関連タンパク質 (MAPs) によって精密に制御されている。一方、細胞内の微小管は機械的負荷に常時さらされており、チューブリンの脱離などによる局所欠陥の生成や屈曲などによる力学ストレスが、MAPsの機能制御に深く関与していると考えられている。しかしながら、微小管の局所欠陥や屈曲等による局所構造がMAPsの機能に及ぼす影響を高時空間分解能で解析する手法がなく、MAPsの機能変調がどのように生じるのか、その分子機構は明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者が開発してきた高速原子間力顕微鏡 (AFM) による分子ダイナミクスの可視化と分子操作を用いて、制御された欠陥の生成や微小管の屈曲等による、微小管の局所構造変化とそれによるMAPsの機能変調を解析し、微小管の構造および物性の不均一分布がもたらすMAPs機能制御の分子機構を明らかにすることを目的としている。このために、まず微小管局所に単一欠陥を精度良く生成できる技術を開発する。次に代表的なMAPsである、微小管に沿って直線運動するモータータンパク質として知られるキネシンを測定対象とし、キネシンの運動を高速AFMで撮影し、微小管の局所構造変化に依存したキネシンの運動速度を解析する。

## 3. 研究の方法

高速AFMの新規機能として申請者等が開発してきたインタラクティブモードを高精度化する。インタラクティブモードでは高速AFM撮影中にAFM探針から分子の特定の位置に局所外力を印加して分子操作を行うことができる。従来法では、タッピングモードによる高速AFMイメージング中に振幅フィードバック制御の設定値を変えることで、探針から試料に外力を印加していた。この方法では探針を振動させているために、力の制御が不安定になり、再現性良く単一欠陥を生成することは困難である。そこで、外力印加中に振動を停止しカンチレバーの変位を直接検出することで厳密な力制御を行い、効率的な欠陥生成を目指す。また、これまでは1画像取得中に1ヶ所の限られたエリアにのみしか外力を印加できなかったが、自由な配置で多点に外力印加が可能な高速フォースマッピングシステムを構築する。これらの技術開発により、作成した微小管の局所欠陥周辺のキネシンの運動解析を行う。また、局所欠陥のような大きな構造欠陥だけでなく、微小管の屈曲に伴うチューブリンの微小構造変化に伴うキネシンの運動変調についても検討する。

## 4. 研究の成果

### I. インラインフォースカーブモードの開発と微小管の欠陥生成とキネシンの滑走運動

高速AFMでタンパク質の動態を可視化しながら、任意の位置で試料の力学操作と機械特性計測が可能なインラインフォースカーブモードを開発した。具体的には、イメージング中にPCに表示された画像で決めた位置で画像取得を停止し、プローブ-試料間距離を変化させてフォースカーブを取得し、引き続きイメージングを行い局所外力印加後の分子の動態を観察できるシステムを構築した。これにより微小管への局所外力の印加が可能になり、微小管上の任意の位置でインデンテーションとフォースカーブが計測出来るようになった。図1aの中央画像の0.5sで★印

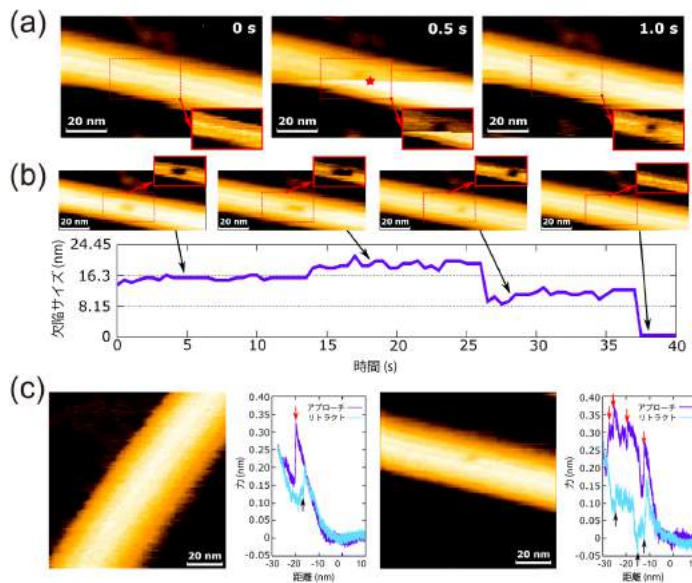


図1 インラインフォースカーブによる微小管の欠陥生成.  
 (a) 微小管に欠陥を生成する様子. (b) 生成された欠陥が拡大した後、修復される様子. (c) 微小管の弾性変形と欠陥形成時のフォースカーブ.

の位置で探針を微小管に押し付けており、その位置にチューブリンダイマーの欠陥を形成することが出来た。さらに、時間が経つと徐々に欠陥のサイズが拡大した後、その欠陥が再びチューブリンの再結合により修復される、自己修復と呼ばれる現象を捉えることに成功もした(図1b)。この測定により、微小管の自己修復過程は微小管の中空内で拡散しているチューブリンの結合で生じることがわかった。

図1cには微小管へのインデンテーションと同時に記録したフォースカーブを示してある。左の画像では欠陥の形成は起こっておらず微小管は弾性変形しているのみである。この場合には、アプローチカーブに力の急激な変化(赤矢印の位置)が見られた。これは、チューブリンが微小管の内腔側にバックリンクしたことを示しており、リトラクトカーブでバックリングの回復による力の変化が見られる(黒矢印の位置)。一方、図1b右に示したアプローチカーブには多数のピークが現れ、また、往復カーブでヒステリシスが見られる。このような場合には、微小管に欠陥が形成される事がわかり、印加する力を制御することで単一欠陥を効率よく生成することが出来るようになった。フォースカーブのヒステリシス面積は探針から微小管に与えた力学エネルギーに相当し、これと欠陥サイズからチューブリン間の結合エネルギーを定量評価することにも成功した。

こうして作った微小管のチューブリンダイマー欠陥の周囲でキネシンの滑走運動がどのように変化するか調べたところ、多くの場合、欠陥直前で運動を停止した後に微小管から解離する様子が見られた。また、欠陥を飛び越える、もしくは欠陥直前でプロトフィラメントを乗り変えることで欠陥を回避して移動する様子も観察された。欠陥周辺の滑走速度の変化については現在解析を行っている。

## II. 多点インラインフォースカーブによるフォースマッピング法の開発

インラインフォースカーブ法を拡張し、高速AFMイメージング中で多数のポイントでフォースカーブの取得が可能なフォースマッピング法を開発した。当初は任意の位置でフォースカーブを取得できる手法を開発する予定であったが、 $N \times N$ の2次元グリッドでフォースカーブを取得し、試料の弾性率や凝着力のマッピングが出来る方が応用用途も広いと考えて、高速フォースマッピング法を開発した。また、併せて取得された多数のフォースカーブから弾性率や凝着力の定量マッピングが可能な解析ソフトウェアも開発した。この手法を微小管に適用し、微小管の構造

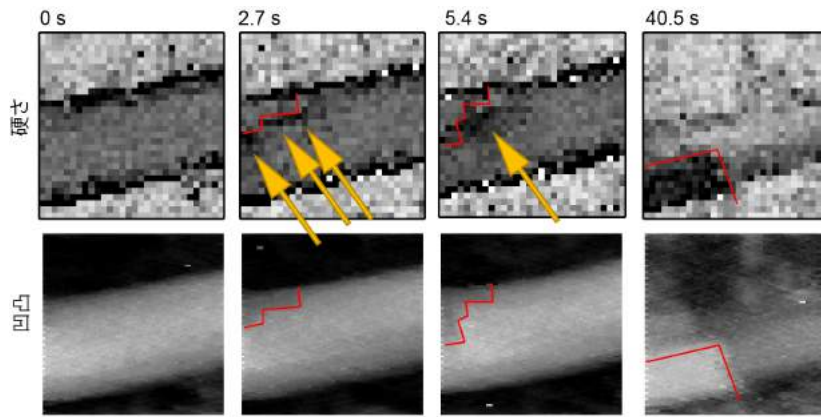


図2 高速フォースマッピング法により可視化した微小管の構造破壊と硬さ分布.

変化と硬さ分布の同時計測を行った(図2)。硬さ分布像では、白黒コントラストの明るい領域が暗い領域に比べて硬いことを示している。高速AFMイメージング中に探針からの力によって微小管の構造が徐々に破壊されており、構造破壊に伴い硬さ分布も変化している様子がわかる。興味深いことに、2.7 s や5.4 s の画像を見ると、チューブリンが脱離し構造破壊された領域の外側で、コントラストが暗い領域があり、微小管の軟化が起こっていることがわかる。この手法で、微小管の機械特性分布とキネシンの滑走運動を同時に観察することで、キネシンの運動性に微小管の機械特性が与える影響をより直接的に調べることができると期待され、現在計測を進めている。

### III. 屈曲微小管上でのキネシンの運動変調

微小管に沿ったキネシンの運動観察のために、微小管を固定する基板の最適化を行っている過程で、マイカ表面での島状に展開した脂質二重膜膜を利用することで、微小管と基板の吸着が不均一になり、微小管が屈曲することがわかった。この屈曲した微小管と直線の微小管でのキネシンの運動を調べるこ

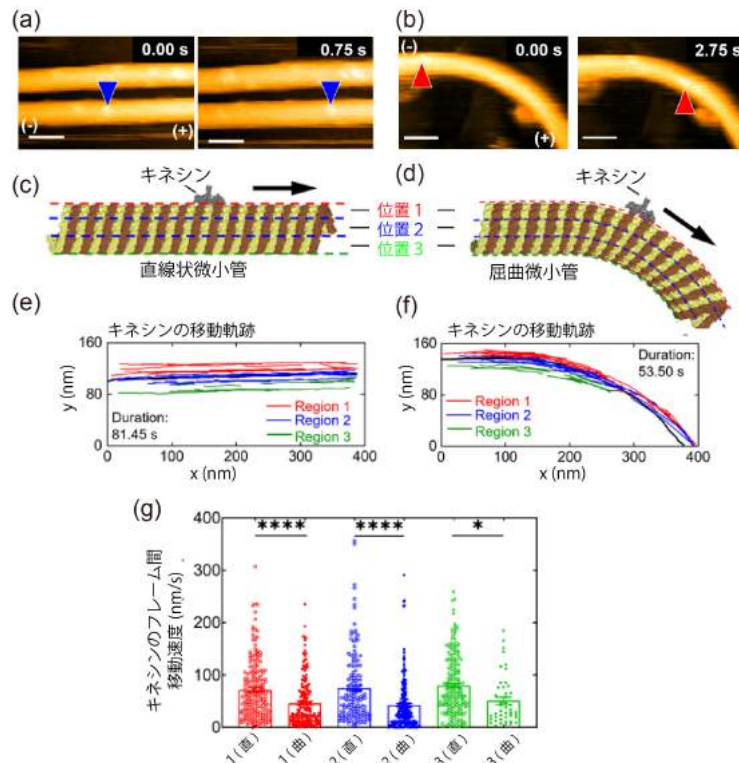


図3 微小管の屈曲によるキネシンの滑走速度の変調。(a)直線状、(b)屈曲微小管に沿ったキネシンの移動。ATP 濃度は  $5 \mu\text{M}$ 。スケールバーは  $50 \text{ nm}$ 。(c-f) 微小管の長軸に沿った位置とキネシンの移動軌跡。(g) キネシンのフレーム速度の位置依存性。

とで、チューブリン欠陥のような大規模な構造変化とは異なる、微小管内の局所張力変化がキネシンの運動滑走に与える影響を調べてみた(論文投稿中)。ATP濃度が5  $\mu\text{M}$ の条件で、直線状微小管と屈曲微小管でのキネシンの滑走運動を高速AFMで観察し(図3a, b)、それぞれの微小管の長軸中心からの距離に依存したキネシンのフレーム速度(高速AFM動画のフレーム毎の移動量)を解析した(図3c-f)。その結果、直線状微小管ではフレーム速度の平均値が $83 \pm 3 \text{ nm/s}$ であるのに対して、屈曲微小管では $42 \pm 3 \text{ nm/s}$ となり、屈曲した領域ではキネシンの滑走速度が低著しく下していた。一方、微小管の長軸に対してキネシンの滑走速度の変化は見られなかった。微小管の屈曲はチューブリン間の距離を変化させると変えられ、微小管の長軸中心より円周内側では距離が短くなり、外側では曲が長くなるはずである。MDシミュレーションでチューブリン間の距離変化に対するキネシンの結合親和性を調べたところ、距離が短くなる、あるいは長くなる場合の両方で微小管とキネシンの結合親和性が増加した。すなわち、屈曲により微小管-キネシンの結合が増強し、その結果移動速度が低下したものと考えられる。これらの結果は、細胞内で様々な機械ストレス下にある微小管の屈曲がMAPsの機能を変調し、メカノセンサーとして働いていることが示唆している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 15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 Takayuki Uchihashi, Christian Ganser	4. 巻 12
2. 論文標題 Recent advances in bioimaging with high-speed atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 363-369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-020-00670-z	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 Yuichiro Nishizawa, Shusuke Matsui, Kenji Urayama, Takuma Kureha, Mitsuhiro Shibayama, Takayuki Uchihashi, Daisuke Suzuki	4. 巻 131
2. 論文標題 Non-Thermoresponsive Decanano sized Domains in Thermoresponsive Hydrogel Microspheres Revealed by Temperature Controlled High Speed Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International ed.	6. 最初と最後の頁 8901-8905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ange.201903483	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 Hiroki Konno, Takahiro Watanabe-Nakayama, Takayuki Uchihashi, Momoko Okuda, Liwen Zhu, Noriyuki Kodera, Yousuke Kikuchi, Toshio Ando, Hideki Taguchi	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 of the United States of America	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) 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 Koji Oohora, Shota Hirayama, Takayuki Uchihashi, Takashi Hayashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Construction of a Hexameric Hemoprotein Sheet and Direct Observation of Dynamic Process of its Formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 186-190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190855	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 Kenshiro Honda, Yuka Sazuka, Kojiro Iizuka, Shusuke Matsui, Takayuki Uchihashi, Takuma Kureha, Mitsuhiro Shibayama, Takumi Watanabe, Daisuke Suzuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Hydrogel Microellipsoids that Form Robust String-Like Assemblies at the Air/Water Interface.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International ed.	6. 最初と最後の頁 7294?-?7298
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201901611	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 Taichiro Sekiguchi, Tadashi Satoh, Eiji Kurimoto, Chihong Song, Toshiya Kozai, Hiroki Watanabe, Kentaro Ishii, Hirokazu Yagi, Saeko Yanaka, Susumu Uchiyama, Takayuki Uchihashi, Kazuyoshi Murata, Koichi Kato	4. 巻 20
2. 論文標題 Mutational and Combinatorial Control of Self-Assembling and Disassembling of Human Proteasome ?? Subunits.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20092308	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 Takaaki Miyamoto, Yugo Hayashi, Keito Yoshida, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Kento Yonezawa, Nobutaka Shimizu, Hironari Kamikubo, Shun Hirota	4. 巻 8
2. 論文標題 Construction of a Quadrangular Tetramer and a Cage-Like Hexamer from Three-Helix Bundle-Linked Fusion Proteins.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 1112?-?1120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.9b00019	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 Rina Yogo, Yuki Yamaguchi, Hiroki Watanabe, Hirokazu Yagi, Tadashi Satoh, Mahito Nakanishi, Masayoshi Onitsuka, Takeshi Omasa, Mari Shimada, Takahiro Maruno, Tetsuo Torisu, Shio Watanabe, Daisuke Higo, Takayuki Uchihashi, Saeko Yanaka, Susumu Uchiyama, Koichi Kato	4. 巻 9
2. 論文標題 The Fab portion of immunoglobulin G contributes to its binding to Fc?? receptor III.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48323-w	査読の有無 無
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 Shusuke Matsui, Kensuke Hosho, Haruka Minato, Takayuki Uchihashi, Daisuke Suzuki	4. 巻 55
2. 論文標題 Protein uptake into individual hydrogel microspheres visualized by high-speed atomic force microscopy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical communications (Cambridge, England)	6. 最初と最後の頁 10064?-?10067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9cc05116c	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 Wataru Shihoya, Takayuki Uchihashi, Hideki Kandori, Osamu Nureki	4. 巻 574
2. 論文標題 Crystal structure of heliorhodopsin.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 132?-?136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-019-1604-6	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 Saeko Yanaka, Rina Yogo, Hiroki Watanabe, Yuki Taniguchi, Tadashi Satoh, Naoko Komura, Hironune Ando, Hirokazu Yagi, Nobuhiro Yuki, Takayuki Uchihashi, Koichi Kato	4. 巻 21
2. 論文標題 On-Membrane Dynamic Interplay between Anti-GM1 IgG Antibodies and Complement Component C1q.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 147
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21010147	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 Carol Cho, Juwon Jang, Yujin Kang, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Seung Joong Kim, Koichi Kato, Ja Yil Lee, Ji-Joon Song	4. 巻 10
2. 論文標題 Structural basis of nucleosome assembly by the Abo1 AAA+ATPase histone chaperone.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13743-9	査読の有無 無
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 Hisashi Tatebe, Chew Theng Lim, Hiroki Konno, Kazuhiro Shiozaki, Akira Shinohara, Takayuki Uchihashi, Asako Furukohri	4. 巻 11
2. 論文標題 Rad50 zinc hook functions as a constitutive dimerization module interchangeable with SMC hinge.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14025-0	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 Shota Hirayama, Koji Oohora, Takayuki Uchihashi, Takashi Hayashi	4. 巻 142
2. 論文標題 Thermoresponsive Micellar Assembly Constructed from a Hexameric Hemoprotein Modified with Poly(N-isopropylacrylamide) toward an Artificial Light-Harvesting System.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 1822?-?1831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.9b10080	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 Maho Yagi-Utsumi, Arunima Sikdar, Chihong Song, Jimin Park, Rintaro Inoue, Hiroki Watanabe, Raymond N Burton-Smith, Toshiya Kozai, Tatsuya Suzuki, Atsuji Kodama, Kentaro Ishii, Hirokazu Yagi, Tadashi Satoh, Susumu Uchiyama, Takayuki Uchihashi, Keehyoung Joo, Jooyoung Lee, Masaaki Sugiyama, Kazuyoshi Murata, Koichi Kato	4. 巻 10
2. 論文標題 Supramolecular tholos-like architecture constituted by archaeal proteins without functional annotation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-58371-2	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 Lei Feng, Hiroki Watanabe, Paul Molino, Gordon G Wallace, Son L Phung, Takayuki Uchihashi, Michael J Higgins	4. 巻 431
2. 論文標題 Dynamics of Inter-Molecular Interactions Between Single A??42 Oligomeric and Aggregate Species by High-Speed Atomic Force Microscopy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 2687 - 2699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2019.04.044	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 該当する

1. 著者名 Takayuki Umakoshi, Shingo Fukuda, Ryota Iino, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando	4. 巻 1864
2. 論文標題 High-speed near-field fluorescence microscopy combined with high-speed atomic force microscopy for biological studies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica acta. General subjects	6. 最初と最後の頁 129325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.03.011	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 Elena Krayukhina, Masami Yokoyama, Kayoko Kakuhou Hayashihara, Takahiro Maruno, Masanori Noda, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Susumu Uchiyama	4. 巻 108
2. 論文標題 An Assessment of the Ability of Submicron- and Micron-Size Silicone Oil Droplets in Dropped Prefillable Syringes to Invoke Early- and Late-Stage Immune Responses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of pharmaceutical sciences	6. 最初と最後の頁 2278?-?2287?
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.02.002	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 Akasit Visootsat, Akihiko Nakamura, Paul Vignon, Hiroki Watanabe, Takayuki Uchihashi, Ryota Iino	4. 巻 295
2. 論文標題 Single-molecule imaging analysis reveals the mechanism of a high-catalytic-activity mutant of chitinase A from <i>Serratia marcescens</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1915-1925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.012078	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 Ganser Christian, Uchihashi Takayuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Microtubule self-healing and defect creation investigated by in-line force measurements during high-speed atomic force microscopy imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 125 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8NR07392A	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 Owa Mikito, Uchihashi Takayuki, Yanagisawa Haru-aki, Yamano Takashi, Iguchi Hiro, Fukuzawa Hideya, Wakabayashi Ken-ichi, Ando Toshio, Kikkawa Masahide	4. 巻 10
2. 論文標題 Inner lumen proteins stabilize doublet microtubules in cilia and flagella	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 an:1143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09051-x	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35件(うち招待講演 26件/うち国際学会 22件)

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Imaging of Single-Molecule Dynamics using High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium on Imaging and Quantitative Biology (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Real-Time Visualization of Biological Molecules at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 IEEE International Conference on Manipulation, Manufacturing and Measurement on the Nanoscale 2019 (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Nanoscale Dynamic Imaging of Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 Frontier Bioorganization Forum 2019 (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 High-Speed Atomic Force Microscopy for Direct Visualization from Single Protein to Cell Dynamics
3. 学会等名 EsCELLS visit talks (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Christian Ganser, Kimitoshi Takeda, Ryota Iino, Koichi Kato and Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Defect creation in microtubules and kinesin motility studied by HS-AFM
3. 学会等名 27th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM27) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi, Mitsuhiro Okada, Miyuki Tanaka, Toshitaka Kubo, Tetsuo Shimizu
2. 発表標題 Real-Time Monitoring of Morphological Change of Metal Surface During Corrosion Process with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 27th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM27) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Christian Ganser and Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Kinesin transport on microtubules studied by HS-AFM
3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium on Imaging and Quantitative Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takaya Tokano, Yuki Kato, Shogo Sugiyama, Takumi Noguchi, Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Dynamics of photosystem II protein complexes as observed by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium on Imaging and Quantitative Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡と生体・人工分子のダイナミクス計測
3. 学会等名 第23回コロイド・界面技術者フォーラム～コロイド領域のイメージング・評価技術～(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹居孝二, 内橋貴之
2. 発表標題 ダイナミンの動的分子イメージング: in vitro 再構成系×高速 AFM
3. 学会等名 ワークショップ「新しいコラボの在り方を探る～細胞生物学×蛋白質科学」 第19回 日本蛋白質科学会年会, 第71回 日本細胞生物学会大会 合同年次大会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 溶液中高速原子間力顕微鏡による生体・人工分子のダイナミクス解析
3. 学会等名 シンポジウム「原子間力顕微鏡技術のパラダイムシフト～原子から細胞まで階層をまたぐ構造・機能解析～」 日本顕微鏡学会 第75回学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡による生細胞イメージング
3. 学会等名 日本学術振興会 ナノプローブテクノロジー第167委員会 第91回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Christian Ganser and Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Kinesin movement around defects in the microtubule lattice monitored by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 In-situ observation of self-assembling fiber formation of biological and artificial molecules
3. 学会等名 ACSIN-14 & ICSPM26, Symposium: Nanobiology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Christian Ganser and Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Defects in Microtubules Studied by High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 ACSIN-14 & ICSPM26 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Direct observation of self-assembly process of biological and artificial fibrils using high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 Interhierarchical understanding of materials and life through molecular observation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 High-Speed Atomic Force Microscopy for Visualization of Dynamic Processes in Biological and Artificial Supramolecules
3. 学会等名 International Scanning Probe Microscopy 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Dynamic Structural States of Molecular Disaggregation Machine ClpB Revealed by High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 Frontier Bioorganization Forum 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Christian Ganser
2. 発表標題 Extending the functionality of high-speed Atomic Force Microscopy: In-line force measurements to study microtubules
3. 学会等名 Minisymposium on "Advanced Atomic Force Microscopy" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 High-speed Atomic Force Microscopy: A tool for direct visualization of single-molecule dynamics",
3. 学会等名 Minisymposium on "Advanced Atomic Force Microscopy" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Imaging and Manipulation of Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 ICN-T 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 High-Speed Atomic Force Microscopy for Visualization and Manipulation of Biological and Artificial Molecules
3. 学会等名 SPMonSPM 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 High-speed atomic force microscopy for direct visualization of biological macromolecules at work
3. 学会等名 The 79th Okazaki Conference "Synthetic, Biological, and Hybrid Molecular Engines", (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Connection between AFM data and computational simulation - image processing for quantitative analysis and demands from the experimental side -
3. 学会等名 Trends in Computational Molecular Biophysics Workshop, (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Conformational dynamics relevant to disaggregation activity of ClpB visualized by high-speed atomic force microscopy
3. 学会等名 RIKEN Symposium Recent Progress in Protein Conformation and Aggregation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡で可視化する生体分子のナノ動態
3. 学会等名 NSIセミナー・アドバンス生命理学特論 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡を用いた溶液環境下での分子のダイナミクス計測
3. 学会等名 平成30年度実践セミナー 『光・ナノ計測実践セミナー』 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速AFMの開発とタンパク質の動態計測
3. 学会等名 第58回生物物理若手の会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 原子間力顕微鏡でリアルタイム可視化する生体/人工超分子の重合ダイナミクス
3. 学会等名 日本物理学会 2018年秋季大会 領域9, 5合同シンポジウム「時間分解プローブを駆使した表面・界面科学及び結晶成長の進展と展望」 （招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Image Processing and Quantitative Analysis of High-Speed-AFM Data for Studying Single-Molecule Dynamics
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会, Symposium on "Multiple Approaches for Analyses of Protein Complexes -Methods and Applications" （国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速AFMで読み解く生体試料のマルチスケール動態
3. 学会等名 第1回 ExCELLSシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 Dynamic Structural Analysis of Proteins at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 【応用物理学界 関西支部】支部セミナー「バイオフィotonics研究の最前線」(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 Visualization of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 1st ITbM Frontier Seminar (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Uchihashi
2. 発表標題 Nanoscale Dynamic Imaging of Biological Molecules with High-Speed Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 第5回Neuroscience Network in Kobe -微細構造イメージングと神経科学との接点を探る- (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 内橋貴之
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡で可視化する分子ダイナミクス
3. 学会等名 日本学術振興会 情報科学用有機材料第142委員会 合同研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

## 〔図書〕 計3件

1. 著者名 内橋貴之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 446
3. 書名 自己修復材料、自己組織化、形状記憶材料の開発と応用事例	

1. 著者名 Takayuki Uchihashi	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 853
3. 書名 "High-Speed Atomic Force Microcopy" in Compendium of Surface and Interface Analysis	

1. 著者名 内橋貴之	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社,	5. 総ページ数 225
3. 書名 実験医学増刊 Vol.36 No.20, 「生きてるものは全部観る! イメージングの選び方・使い方100」(原田慶恵, 永井健治 編): 第5章 走査型プローブ顕微鏡「原子間力顕微鏡 . 高速原子間力顕微鏡」	

## 〔産業財産権〕

## 〔その他〕

<p>名古屋大学D研ホームページ  <a href="http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/index.html">http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/index.html</a>  名古屋大学D研ホームページ  <a href="http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/index.html">http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/index.html</a></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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	Columbia University			