

飯野 亮太 (教授) (2014年6月1日着任)

大友 章裕 (助教)
原島 崇徳 (助教)
GRAHAM, Rosie (特任研究員)
ZHU, Lucy (インターンシップ)
大国 泰子 (技術支援員)
山本 真由子 (技術支援員)
中根 香織 (事務支援員)
川口 律子 (事務支援員)
野村 潤子 (事務支援員)

A-1) 専門領域：生物物理学, 分子モーター, 分子機械, 1分子計測, タンパク質工学

A-2) 研究課題：

- a) 回転分子モーター V-ATPase のエネルギー変換機構の解明, 機能創成, 特性解析
- b) 人工 DNA ナノ粒子モーターの運動機構解明, 高性能化, 運動制御能の付与
- c) リニア分子モーターキネシンとレールの改変・ハイブリッド化による運動制御と特性解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) V-ATPase (V_0V_1) は, ATP の化学エネルギーを利用して細胞膜を介するイオンの能動輸送を行う回転型イオンポンプであり, ATP 加水分解反応を触媒する V_1 とイオン輸送を担う V_0 の2つの回転分子モーターの複合体である。我々が研究対象としている腸球菌由来 V_0V_1 (EhV_0V_1) はナトリウムイオン (Na^+) を輸送する。我々は, EhV_0V_1 が脂質二重膜を介する Na^+ の電気化学ポテンシャルにより, 高い熱力学的効率で ATP を合成することを明らかにし, エネルギー変換の可逆性を実証した。さらに, EhV_0V_1 のイオン結合部位を改変することで, イオン選択性を Na^+ から水素イオン (H^+) に変えることに成功し, クライオ電顕単粒子解析でその構造的基盤を解明した。
- b) タンパク質分子モーターに触発されて開発された DNA 人工分子モーターの運動速度は数 nm/s 程度であり, 10–1000 nm/s で動くタンパク質分子モーターに比べて大きく劣る。我々は, DNA 修飾金ナノ粒子, RNA 修飾足場, DNA 依存的 RNA 分解酵素で構成される DNA ナノ粒子モーターの運動機構と律速過程を高速高精度 1 粒子追跡と速度論シミュレーションで特定し, タンパク質分子モーターに匹敵する 100 nm/s の運動速度を達成した。しかしながら, 運動速度と運動距離の間にトレードオフが存在し, 運動速度の上昇とともに運動距離が低下することも明らかになった。そこで, シミュレーションによる予測に基づき DNA 塩基配列を改良し, 高速運動と長距離運動を両立することに成功した。
- c) 2 本足で歩く分子モーターキネシン - 1 は, 後足が前足を常に追い越すいわゆるハンドオーバーハンド機構で, レールである微小管上を直進運動する。我々は, 人工分子 PEG でキネシンの二つの足を繋いだ生体-人工ハイブリッドキネシンが天然型と同様のハンドオーバーハンド機構で正確に直進運動することを明らかにした。また, 剛直で長いタンパク質リンカーで2つの足を繋ぐと, 微小管上を短いピッチでらせん運動することを明らかにした。さらに, 3 本もしくは 6 本の足を持つ多脚型キネシンを創成し, 野生型と異なり多脚型は微小管上の欠陥 (穴) を迂回して運動し続けることが可能なことを明らかにした。

B-1) 学術論文

J. NISHIDA, A. OTOMO, T. KOITAYA, A. SHIOTARI, T. MINATO, R. IINO and T. KUMAGAI, “Sub-Tip-Radius Near-Field Interactions in Nano-FTIR Vibrational Spectroscopy on Single Proteins,” *Nano Lett.* **24(3)**, 836–843 (2024). DOI: 10.1021/acs.nanolett.3c03479

Y. MATSUMOTO, S. YAMASAKI, K. HAYAMA, R. IINO, H. NOJI, A. YAMAGUCHI and K. NISHINO, “Changes in the Expression of *mexB*, *mexY*, and *oprD* in Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates,” *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **100(1)**, 57–67 (2024). DOI: 10.2183/pjab.100.006

R. N. BURTON-SMITH, C. SONG, H. UENO, T. MURATA, R. IINO and K. MURATA, “Six States of *Enterococcus hirae* V-Type ATPase Reveals Non-Uniform Rotor Rotation during Turnover,” *Commun. Biol.* **6(1)**, 755 (2023). DOI: 10.1038/s42003-023-05110-8

T. KOSUGI, T. IIDA, M. TANABE, R. IINO and N. KOGA, “Design of Allosteric Sites into Rotary Motor V₁-ATPase by Restoring Lost Function of Pseudo-Active Sites,” *Nat. Chem.* **15**, 1591–1598 (2023). DOI: 10.1038/s41557-023-01256-4

B-2) 国際会議のプロシーディングス

J. NISHIDA, A. OTOMO, R. IINO and T. KUMAGAI, “Sub-tip-radius near-field interactions in nano-FTIR vibrational spectroscopy on single protein particles,” *Proc. SPIE 12654, Enhanced Spectroscopies and Nanoimaging 2023*, 1265403 (2023). DOI: 10.1117/12.2676631

B-3) 総説, 著書

David A. Leigh, 飯野亮太, 金原 数, 「インタビュー：分子マシン研究をリードする David A. Leigh 博士」, *現代化学*, 10月号, 28–32 (2023).

B-4) 招待講演

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of biological and synthetic molecular motors,” CU-MU-IMS Faculty Exchange Meeting 2024, Okazaki, 2024年3月.

飯野亮太, 「生体発動分子の展望と課題」, シンポジウム～発動分子科学の展望と課題～, 横浜, 2023年12月.

R. IINO, “Autonomous unidirectional motions of biomolecular motors: The roles of structures and chemical fuels,” Okazaki Workshop on Molecular Machines 2023, Okazaki, 2023年12月.

大友章裕, 「1分子散乱イメージングによる回転分子モーター V-ATPase の回転機構の解明」, 第9回バイオダイナミクス研究会, 2023年12月.

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of molecular motors,” Symposium “Biophysicochemical methods and techniques drive the observation and manipulation of the biological phenomena,” 61th Annual Meeting of the Biophysical Society, Nagoya, 2023年11月.

原島崇徳, 「生体分子モーターに匹敵する人工DNA 分子モーターの設計を目指して」, 第12回分子モーター討論会, 仙台, 2023年9月.

T. HARASHIMA, A. OTOMO and R. IINO, “Acceleration of artificial DNA-nanoparticle motor toward 100 nm/s,” 16th Eurasia Conference on Chemical Sciences, Bangkok (Thailand), December 2023.

R. IINO, “Single-molecule detection, imaging, and analysis of proteins,” 16th Eurasia Conference on Chemical Sciences, Bangkok (Thailand), December 2023.

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of biological and synthetic molecular motors,” Seminar at Fritz Haber Institute of the Max Planck Society, Berlin (Germany), November 2023.

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of biological and synthetic molecular motors,” Seminar at Wuhan University, Wuhan (China), October 2023.

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of biological and synthetic molecular motors,” Seminar at School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan (China), October 2023.

R. IINO, “Single-molecule imaging and engineering of molecular motors,” The symposium “The molecular organization of living systems,” iNANO, Aarhus University, Aarhus (Denmark), September 2023.

R. IINO, “Direct observation of elementary processes enables acceleration of DNA-nanoparticle motor up to 100 nm/s,” Seminar at Department of Physics, Simon Fraser University, Vancouver (Canada), July 2023.

R. IINO, “Single-molecule analysis and engineering of molecular motor proteins,” The TSRC Workshop on Protein Dynamics, Telluride (USA), July 2023.

R. IINO, “Single-molecule analysis and engineering of molecular motor proteins,” Seminar at Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington (USA), July 2023.

B-5) 特許出願

特願 2021-168388, 「タンパク質, ポリヌクレオチド, 組換えベクター, 形質転換体, ポリエチレンテレフタレート分解用組成物, 及びリサイクル品の製造方法」, 中村彰彦, 飯野亮太 (静岡大学, 自然科学研究機構), 2021 年.

B-6) 受賞, 表彰

原島崇徳, 第 7 回分子ロボティクス年次大会若手研究奨励賞 (2024).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本生物物理学会理事, 代議員 (2019.6–2023.6).

学会の組織委員等

日本生物物理学会第 61 回年会実行委員 (2022–2023).

日本生物物理学会第 61 回年会実行委員 (2022–2023). (大友章裕)

日本生物物理学会第 61 回年会実行委員 (2022–2023). (原島崇徳)

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会国際事業委員会書面評価員 (2023).

学会誌編集委員

米国生物物理学会誌 *Biophysical Journal*, Editorial Board Member (2020–2025).

日本生物物理学会誌 *Biophysics and Physicobiology*, Editorial Board Member (2024–2025).

理科教育活動

職場体験学習, 豊田市立豊南中学校 (2023).

岡崎市小中学校理科作品展「未来の科学者賞」選考委員 (2023). (大友章裕)

B-8) 大学等での講義, 客員

総合研究大学院大学先端学術院, 「機能生体分子科学」, 2022年4月-.

B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(B), 「バクテリアべん毛モーター固定子複合体の「回転モデル」を1分子計測で実証する」, 飯野亮太 (2021年度-2023年度).

科研費学術変革領域研究(A), 「生体分子モーターに匹敵する速さで動き制御可能な人工分子モーターをつくる」, 飯野亮太 (2023年度-2024年度).

科研費若手研究, 「一分子計測法で明らかにする V-ATPase の機能と構造の相関」, 大友章裕 (2021年度-2023年度).

自然科学研究機構 OPEN MIX LAB (OML) 公募研究プログラム (若手支援型), 「新しい分子モータータンパク質の創生を目指したボトムアップアプローチ」, 大友章裕 (2023年度-2025年度).

科研費若手研究, 「生体分子モーターに匹敵する速度で駆動する二輪駆動型 DNA モーターカーの開発」, 原島崇徳 (2023年度-2025年度).

B-11) 産学連携

共同研究, キリンホールディングス (株), 「PET 分解酵素の開発」, 飯野亮太 (2021年度-2024年度).

共同研究, ポリプラスチック (株), 静岡大学, 「ポリブチレンテレフタレート (PBT) 分解酵素の創出」, 飯野亮太 (2023年度-2024年度).

C) 研究活動の課題と展望

生体分子モーター等のナノサイズの生体分子機械は, 人間が作ったマクロなサイズの機械と比べてはるかに小さく, ブラウン運動の活用等, 全く異なる作動原理で働く。今後も引き続き, 天然の分子モーターを1分子計測して機構を調べるだけでなく, 天然に存在しない分子モーターを積極的につくることで, その作動原理と設計原理をさらに深く理解し, 機能向上や制御に繋げる。例えば, 1回転で2倍のイオンを輸送する V_0V_1 をつくることで, ATP 加水分解モーター V_1 とイオン輸送モーター V_0 のエネルギー変換の共役機構の理解を深めるだけでなく, イオン輸送速度や電気化学ポテンシャル形成能を制御する。また, ヘテロな塩基配列を有する DNA ナノ粒子モーターを二量体化して外部からの DNA 添加で運動方向の制御を可能にし, センサー機能とアクチュエーター機能を兼ね備えた高速高制御人工分子モーターを創成する。さらに, 非天然型キネシンだけでなく非天然型のレール (微小管) を創成して組み合わせ, 選別輸送, 速度変調輸送, 大規模一方向輸送等を実現する。