

「特別推進研究」研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する自己評価書

- 研究代表者氏名 木下 一彦 (大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授)
- 研究分担者氏名 伊藤 博康 (浜松ホトニクス株式会社・筑波研究所・専任部員(研究職))
- 研究課題名「一分子生理学の立ち上げ：一個の分子機械の機能と構造変化の直接観察」
- 課題番号 12002012
- 補助金交付額(直接経費のみ)

平成12年度	95,000千円
平成13年度	95,000千円
平成14年度	92,000千円
平成15年度	87,000千円

【研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する内容】

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか。

(1) 概要

本特別推進研究の発展として、平成16年度より新たな特別推進研究「一分子生理学による生体分子機械の動作機構の解明」を開始し、光学顕微鏡下の一分子生理学を駆使して、分子機械の動作原理の解明を目指した。「一目で分かる」研究を理想とし、巨大目印による分子機械の動き・構造変化の直接可視化を試みた。巨大目印は、磁石や光による分子機械の操作や、力の測定にも用いた。研究は、2005年3月まで自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター、同4月以降は早稲田大学・理工学術院において実施。

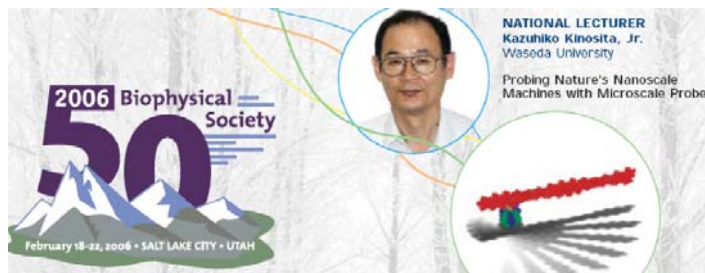
回転分子モーターF₁-ATPaseの研究は、今や共同研究者(東工大・吉田グループ)を含めた我々の独壇場といってよい。化学反応(ATPの分解・合成)↔力学的仕事(回転)の共役スキームをほぼ完成させた。共役を構造変化の言葉で語りたい、すなわち化学↔構造変化↔力学とつなぎたいのだが、このモーターは回転軸がなくても回るといふ、誰も全く予期しなかった成果が得られ、構造と機能をつなぐ研究は振り出しに戻った。化学↔力学共役の仕組みに関しては、分子機械一般に通じると期待される原理を提出している。

二本足で歩く分子モーターミオシンに関しては、脚の動きの直接観察に成功し、ブラウン運動をうまく使うことを証明できた。足首の動きも見えつつある。DNA上で働く分子機械についても、新知見が得られつつある。

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など

主要論文は後述の引用論文に示す。

2004年4月以降の研究代表者の海外学会での講演は31(25は招待講演)、同数以上の招聘を受けたが出席できなかった。2006年米国生物物理学学会(実質上の国際生物物理学学会)のNational Lectureは、アジアで行われた研究としては初めて。これ以外、米国での講演は自粛。Nobel Symposiaは超学際テーマ(下記7)を含め3回。以下発表リストの一部。



- 1 “Single-molecule physiology of chemo-mechanical protein machines.” Kazuhiko Kinoshita, Jr. (*invited symposium lecture*) Nobel Symposium on Single Molecule Spectroscopy in Chemistry, Physics, and Biology, 2008.06.01 - 06, Stockholm, Sweden.
- 2 “Single-molecule physiology of protein machines.” Kazuhiko Kinoshita, Jr. (*invited plenary lecture*) European Biophysics Congress, 2007.07.14 - 18, London, England.

- 3 “Single-molecule physiology under an optical microscope.” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited plenary lecture*) XXIII Biennial of the Society of Microscopy of Spain, 2007.07.03 - 06, Bilbao, Spain.
- 4 “Reversibility and efficiency of molecular motors.”他Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited 3-day lectures*) Physics of Cellular Objects. International Summer School, 2006.08.14 - 25, Cargese, France.
- 5 “Probing nature's nanoscale machines with microscale probes.” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited lecture as the 2006 National Lecturer*) Biophysical Society 50th Annual Meeting, 2006.02.18 - 22, Salt Lake City, Utah, USA
- 6 “Single-Molecule physiology of protein machines” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited workshop lecture*) Frontiers in Biophysics: Modeling and Experiment. 2006.10.13-15, Loon Lake, British Columbia. (*Organized by students*)
- 7 “F₁-ATPase: A molecular transducer of chemical and mechanical energies” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited symposium lecture*) Nobel Symposium 132: Energy in Cosmos, Molecules and Life, 2005. 06.18 - 22, Stockholm, Sweden
- 8 “F₁-ATPase: a rotary motor /generator” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited symposium lecture*) Nobel Symposium 131: Controlled Nanoscale Motion in Biological and Artificial Systems, 2005.06.13 - 17, Bäckaskog, Sweden
- 9 “F₁-ATPase : a rotary motor-generator” Kazuhiro Kinoshita, Jr. (*invited symposium lecture*) ELSO 2004 Meeting, 2004.09.04 - 08, Nice, France

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得しているもののみ）

特別推進研究（木下一彦） 2004-2008 年度 研究課題：「一分子生理学による生体分子機械の動作機構の解明」 研究経費総額 499, 134, 000 円

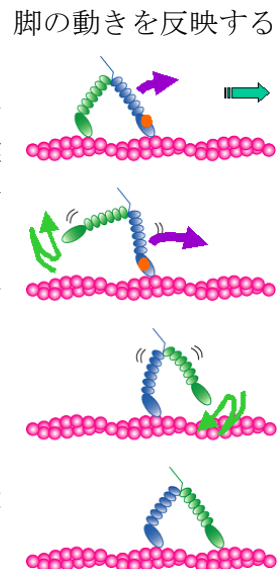
(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

(1) ミオシンの二足歩行運動の仕組み（Shiroguchi *et al.*, *Science* 2007）

2本足のリニアーマーター・ミオシンVの脚部（軽鎖結合部位）に、巨大目印として、微小管を結合させ、その動きを直接観察した。今のところ片足の動きしか見えていないが、水中に保持したアクチン線維上をミオシンが進むにつれ、「歩行」から予想されるような往復のスイングが見られ、片方向のスイングは大きな揺らぎを伴った。この実験は困難を極めたが、逆に微小管をガラス面ないし水中に固定し、アクチン線維のほうをスイングさせる系を構築し、詳細な解析に成功した。5年越しで得た描像を、右図に示す。

ミオシンが両脚で立った姿勢から始めると（図・上）、後脚が持ち上がるとともに前足の足首が前屈して前脚が前傾する。この足首の曲げはATP（オレンジ）加水分解に駆動されるため、一方向に進行し、前脚は大きな揺らぎなしにスッと前にスイングする（紫矢印）。一方持ち上がった後脚は、脚の付け根を中心に、回転ブラウン運動する（緑矢印）。脚の付け根は完全な自在継ぎ手となっており、持ち上がった脚は空間のあらゆる方向をランダムに経巡る。最終的に、着地している前足のさらに前方約35nmに着地する。前方に着地するのは、前脚の前傾により腰が前方に出ているためである。ブラウン運動部分の可視化は初めてで、脚の付け根が完全に自由という結果は予想されていなかった。

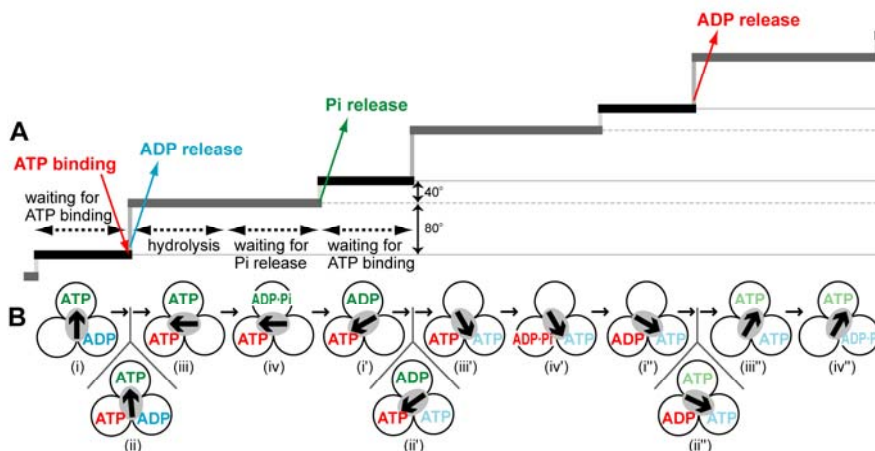
実は、腰が前方にでるだけだと、後ろ向きに負荷がかかって腰が引かれたときになおかつミオシン（一般の二本足モーター）が前進することを説明できない。我々は、持ち上がった足の爪先が下がることにより、前方着地の場合のみ足裏が正しくレール（ミオシンの場合アクチン）に平行になるという、爪先上下仮説を提唱している。片脚のみにしたミオシンVの脚部を固定し、足裏に巨大プローブを付けることにより、アクチン無しで（持ち上がった足に相当）実際に爪先上下が起きることを、最近動画として示せた（未発表）。



(2) F₁ モーターにおける化学反応と力学反応（回転）の共役

(2a) 共役スキームの完成 (Adachi *et al.*, *Cell* 2007)

回転分子モーターF₁-ATPase において、3つのβサブユニットにある3つの活性部位における化学反応（ATP 結合、分解、生成物解離）がどのように中央のγサブユニットの回転を



起こすか、逆にγの回転角がどのように3つの活性部位の化学反応の進行を制御するのか、を示した(左図)。ADP解離のタイミングを蛍光一分子イメージングから、磷酸解離を回転の高速イメージングから求めた。7年を要し4人の査読者に激賞された: “This is an extremely high quality paper

containing a comprehensive account of a large body of experimental work and its significance for understanding the mechanism of F₁-ATPase. It consists of two parts, the first identifying the mechanochemical step in F₁ that corresponds to phosphate release, the second analysing the binding and unbinding of ATP. Each alone would be a suitable body of work for publication in any journal.”

(2b) Boyer の結合変化説の具体的証明 (Adachi *et al.*, *Cell* 2007)

磷酸解離駆動の40度回転に伴い、磷酸に対する親和性が10⁴以上低下することを示せた。逆回転でATPが合成される時、40度の逆回転に伴い、溶液中から磷酸を結合することになる。

(2c) 結合ヌクレオチド数 (Shimo-Kon *et al.*, submitted)

活性部位にトリプトファンを導入し、高ATP濃度では(2a)の描像と異なり3個のヌクレオチドが結合することを示した。しかし3個目は、活性と関係なく、上図で空きになっている活性部位に溶液中のヌクレオチドが出入りするだけであることが分かった。上図を支持するだけでなく、(2a)の結果では120度の曖昧さの残っていた磷酸解離のタイミングも完全に決定された。また、上図のADP解離タイミングは、無理矢理回転を遅くした状態で決めたものだが、通常回転時でも正しいことが分かった。これらにより、F₁の結晶構造(本質的に1種類しか解かれていない)は、多くの研究者が考えるようにATP待ち状態ではなく、80度回転後の状態に近いことが分かった。

(3) 回転軸無しF₁モーターの回転 (Furuike *et al.*, *Science* 2008; Hossain *et al.*, *Biophys. J.* 2008, 2006)

回転子を囲む筒(固定子)の中に突き刺さった回転軸と呼ぶべき部分を遺伝子的に全部削ってしまっても(右図)、多少もたつきながら回り続けることが分かった。回転子頭部が固定子の上にちょこんと乗った形で、遅いながらも百回転以上、正しい方向に回る。全く予想外の結果である。また、回転子の先端をポリペプチドを介して固定子と共有結合させてしまっても、wild type と遜色のない回転が起きる。



(4) F₁モーターの回転の温度依存性 (Furuike *et al.*, *Biophys. J.*, 2008)

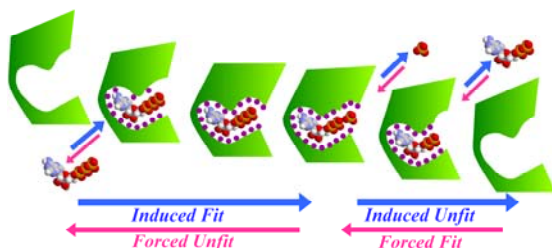
我々の好熱菌由来のF₁は、65°Cにおいて毎分12万回転を超える速度で回ることが分かった。超遠心機を超える。一方、4°Cにおいては従来知られていなかった律速段階が現れる。

(5) DNA上で働く分子機械

働く様子の直接観察に成功(未発表)

(6) ヌクレオチド駆動の分子機械の一般原理 (Kinosita *et al.*, *Proc. Nobel Symp.*, in press)

これまでの成果を大きくまとめると、ヌクレオチド(ATP, GTPなど)駆動の分子機械において、化学エネルギー(加水分解の自由エネルギー)が



どのように力学的仕事（構造変化）に変換されるか、一般原理を提出できたことである（左図）。緑をたんぱく質分子とすると、ヌクレオチドの結合・分解・解離に伴い、ヌクレオチドとの間の弱結合（紫のドット）が変化し、それに従ってたんぱく質が構造を変える。図の上下は系の自由エネルギー変化を表し、加水分解（図の中央）ではエネルギーがあまり変わらない。すなわちヌクレオチドの分解でなく、結合・解離が主な仕事をする。この原理は F_1 以外の分子機械にも当てはまりそうである。

上の説明を、弱結合を通じてヌクレオチドがたんぱく質を引っ張るので構造変化、と解釈すると、逆にたんぱく質はヌクレオチドを引きつける（作用反作用の法則）。すなわち、結合／解離が構造変化を引き起こすなら、同じ構造変化を外力ないし熱揺らぎにより起こしてやると、ヌクレオチドへの親和性は増加／減少する。こう考えると、図を右から左にたどる構造変化を外力により起こしたとき、ADP と Pi が溶液から取り入れられて ATP が合成され、活性部位がこじ開けられて ATP が外に出て行く、という合成反応を理解できる。

上記のうち、右向き反応の説明はいわゆる Power Stroke 描像であり、化学反応（結合／解離を含む）が力学反応を駆動する、というものである。しかし、熱揺らぎにより先に構造変化が起き、その結果親和性変化が起きて化学反応が進む、との解釈も可能である。これは Diffusion and Catch と呼ばれる描像である。どちらの描像が分子機械を正しく表すか、理論家を含めて常に激論が交わされる。我々の主張は、利用できるエネルギーがせいぜい熱エネルギーの 10 倍程度に過ぎない分子機械には、二つの描像のどちらも当てはまる、区別にたいした意味はなく、むしろ、どちらの観点も正しいと認識するのがよい、ということである。最近、この主張をすると議論が治まることを何度か経験している。ちなみに、Induced Fit は Power Stroke のより広い概念であり、Diffusion and Catch に相当するのは Conformational Selection という概念である。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況はどうか。

(1) 学界への貢献の状況

数値として出てくるデータは、次項の論文引用数であろう。回転モーターの研究者が少ないこともあって (F_1 -ATPase に関しては我々にお任せという感じになりつつあり)、引用数はそれほど多くないが、2000 年以降の論文が、14 報の Nature 論文 (News & Views 含む)、Science (9 報)、Cell (5 報)、Nature 姉妹紙 (32 報)などに引用されているのは、基本的なところで生命科学に多少の貢献をしていることを示すものといつてよいのではなからうか。例えば、DNA の phage packaging を駆動する 5 量体 ATPase のサブユニット間の新規な協調機構 (Moffit *et al.*, Nature 457, 446-450, 2009) を紹介した News and Views (同 392-293) では、我々の F_1 -ATPase の結果 (Adachi *et al.*, 2007; Nishizaka *et al.*, 2004) との比較が図入りで論じられている。

その意味では、国際学会・国際ワークショップなどでの無形の寄与が、かなりあるのではないかと思っている。研究者コミュニティにおける、新しい概念ないし大きな流れの形成への寄与である。多くの場合、回転モーターを代表する唯一の参加者として意見を求められ、さらに、一分子代表、分子モーター代表、分子機械代表、などの役目を実質的に期待されることも多い。単に成果の発表でなく、分子機械をどう捉えるか、とか、一分子科学の将来の方向は、などの議論に参加する。もちろん、我々が学ぶことの方が遙かに多いわけであるが。

同様に、若い研究者ないし研究者の卵とともに、生命科学の現状と未来を語るような催しにも、招かれる。学生が主催する広いテーマをカバーしたワークショップの、数人のゲストスピーカーのうちの一人に選ばれたりするのは、うれしい。

なお、蛍光色素一分子の向きのリアルタイムイメージング、金粒子を使った構造変化の超高速イメージング、など我々の開発した技術や解析法は、他の研究者による先端研究にも利用されている。下記の特許の記述に示すように、高安定性顕微鏡ステージなどはすでに市販もされ、一分子研究者などに使われている（海外からの引き合いもあるが販売元で対応できていない）。

(2) 論文引用状況

総論文引用数 > 7,800

2000 年以降の論文の総引用数 > 1,300

引用数 1 位 1,081 (Noji et al., 1997) 4 位 349 (Yasuda et al., 1998)
5 位 286 (Yasuda et al., 2001) 12 位 132 (Itoh et al., 2004)
2008 年 の総引用数 > 550

研究期間中に発表された論文 2000-2004

引用数順。代表者の研究室の寄与が 50%以上のものに○

1. “Resolution of distinct rotational substeps by submillisecond kinetic analysis of F₁-ATPase” R. Yasuda, H. Noji, M. Yoshida, *K. Kinoshita, Jr. & H. Itoh. *Nature*, 410 (2001) 898-904. [F₁-ATPaseの回転が80度と40度のサブステップからなることを発見。前者はATP結合が駆動、後者は加水分解産物の解離が駆動することを示した。ATP駆動のたんぱく質分子機械は、ATP加水分解反応そのものでなく、結合と解離のところで大部分の仕事をする、という基本原理を実験から見いだした。] ○ 引用数 286
2. “Mechanically driven ATP synthesis by F₁-ATPase” *H. Itoh, A. Takahashi, K. Adachi, H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, & K. Kinoshita, Jr. *Nature*, 427 (2004) 465-468. [F₁-ATPaseを磁石により強制逆回転させ、ATPが合成されることを証明。ヒトの力による化学合成は初。単にF₁-ATPaseの可逆性を示すだけでなく、回転子の回転角というただ一つのパラメーターの操作で逆行させられることが重要。すなわち、回転子が制御塔。] ○ 引用数 132
3. “Stepping rotation of F₁-ATPase visualized through angle-resolved single-fluorophore imaging” K. Adachi, R. Yasuda, H. Noji, H. Itoh, Y. Harada, M. Yoshida & *K. Kinoshita, Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 (2000) 7243-7247. [蛍光色素一分子の向きを決める手法を二つ開発し、F₁-ATPaseに応用。] ○ 引用数 97
4. “Direct observation of DNA rotation during transcription by *Escherichia coli* RNA polymerase” *Y. Harada, O. Ohara, A. Takatsuki, H. Itoh, N. Shimamoto & K. Kinoshita, Jr. *Nature*, 409 (2001) 113-115. [RNA合成酵素が遺伝情報を読み出すときに、DNAの二重らせんを雄ねじとして雌ねじのように回転することを証明。] ○ 引用数 78
5. “Chemo-mechanical coupling in F₁-ATPase revealed by simultaneous observation of nucleotide kinetics and rotation” *T. Nishizaka, K. Oiwa, H. Noji, S. Kimura, E. Muneyuki, M. Yoshida, & K. Kinoshita, Jr. *Nature Struct. Mol. Biol.*, 11 (2004) 142-148. [F₁-ATPaseにおける化学反応の進行を制御するのは回転子の角度であることを示す。ATP加水分解が起きる角度を決定。] ○ 引用数 71
6. “A rotary molecular motor that can work at near 100% efficiency” *K. Kinoshita, Jr., R. Yasuda, H. Noji & K. Adachi. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*. 355 (2000) 473-490. [F₁-ATPaseに関する一分子実験の結果をまとめた総説。] ○ 引用数 69
7. “Catalysis and rotation of F₁ motor: Cleavage of ATP at the catalytic site occurs in 1 ms before 40° substep rotation” K. Shimabukuro, R. Yasuda, E. Muneyuki, K. Y. Hara, K. Kinoshita, Jr., and *M. Yoshida. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (2003) 14731-14736. [F₁-ATPaseの回転においてATP加水分解が起きる角度を決定。] 引用数 69
8. “Pause and rotation of F₁-ATPase during catalysis” Y. Hirono-Hara, H. Noji, M. Nishiura, E. Muneyuki, K. Y. Hara, R. Yasuda, K. Kinoshita, Jr., and *M. Yoshida. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 13649-13654. [F₁-ATPaseの休止状態における回転子の向きの決定。結晶構造との対応に重要。] 引用数 53
9. “Myosin V is a left-handed spiral motor on the right-handed actin helix” M. Y. Ali, S. Uemura, K. Adachi, H. Itoh, *K. Kinoshita Jr. & S. Ishiwata. *Nature Struct. Biol.*, 9 (2002) 464-467. [ミオシンVがアクチン線維の周りを螺旋状に回転することを示し、滑走でなく歩行であることを証明するとともに歩幅を決定。] ○ 引用数 42
10. “The ATP-waiting conformation of rotating F₁-ATPase revealed by single-pair fluorescence resonance energy transfer” R. Yasuda, T. Masaike, K. Adachi, H. Noji, H. Itoh. & *K. Kinoshita, Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (2003) 9314-9318. [F₁-ATPaseの結晶構造は、ATP待ち状態ではなくそこから80度回転した状態に近いことを示す。] ○ 引用数 39

研究期間終了後に発表された論文

1. “Rotation of F₁-ATPase: How an ATP-driven molecular machine may work” *K. Kinosita, Jr., K. Adachi & H. Itoh. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 33 (2004) 245-268. [F₁-ATPase の回転機構に関する理論的考察を含む総説。] ○ 引用数 56
2. “ATP-driven step-wise rotation of F₀F₁-ATP synthase” H. Ueno, T. Suzuki, K. Kinosita, Jr., & *M. Yoshida. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102 (2005) 1333-1338. [F₁-ATPase を含む ATP 合成酵素全体が高速ステップ回転をすることを示す。] 引用数 30
3. “Coupling of rotation and catalysis in F₁-ATPase revealed by single-molecule imaging and manipulation” K. Adachi, K. Oiwa, T. Nishizaka, S. Furuike, H. Noji, H. Itoh, M. Yoshida, & *K. Kinosita, Jr. *Cell*, 130 (2007) 309-321. [F₁-ATPase の三箇所の活性部位における化学反応が回転とどのように共役するかスキームを完成。] ○ 引用数 28
4. “Activation of pausing F₁-motor by external force” Y. Hirono-Hara, K. Ishizuka, K. Kinosita Jr., M. Yoshida, & *H. Noji. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102 (2005) 4288-4293. [休止状態の F₁-ATPase を磁気ピンセットにより少し回転させてやると自発的回転をはじめる。] 引用数 21
5. “Unconstrained steps of myosin VI appear longest among known molecular motors” M. Y. Ali, K. Homma, A. H. Iwane, K. Adachi, H. Itoh, **K. Kinosita Jr., *T. Yanagida & *M. Ikebe. *Biophys. J.*, 86 (2004) 3804-3810. [ミオシン VI がアクチン線維の回りを右回転しながら進むことから、その歩幅が 36 nm を超え、分子モーター中最大であることを示す。] ○ 引用数 20
6. “One rotary mechanism for F₁-ATPase over ATP concentrations from millimolar down to nanomolar” N. Sakaki, R. Shimo-Kon, K. Adachi, H. Itoh, S. Furuike, E. Muneyuki, M. Yoshida, & *K. Kinosita, Jr. *Biophys. J.*, 88 (2005) 2047-2056. [F₁-ATPase が pM 濃度の ATP によっても回転し、回転機構が高濃度の時と変わらないことを示す。] ○ 引用数 19
7. “Myosin V walks by lever action and Brownian motion” K. Shiroguchi, & *K. Kinosita, Jr. *Science*, 316 (2007) 1208-1212. [ミオシン V が歩く時、着地した足首の ATP 駆動の前傾と、持ち上がった脚のあらゆる方向を経巡るブラウン運動により前進することを示す。] ○ 引用数 18
8. “The rotor tip inside a bearing of a thermophilic F₁-ATPase is dispensable for torque generation” M. D. Hossain, S. Furuike, Y. Maki, K. Adachi, M. Y. Ali, M. Huq, H. Itoh, M. Yoshida, and *K. Kinosita, Jr. *Biophys. J.* 90 (2006) 4195-4203. [F₁-ATPase の回転子の先端部分を削ってもトルクがあまり落ちずに回転する。] ○ 引用数 11
9. “Axle-less F₁-ATPase rotates in the correct direction” S. Furuike, M. D. Hossain, Y. Maki, K. Adachi, T. Suzuki, A. Kohori, H. Itoh, M. Yoshida, & *K. Kinosita Jr. *Science*, 319 (2008) 955-958. [F₁-ATPase の回転子の、固定子に突き刺さった回転軸部分を全部削ってしまっても、正常方向に回転する。] ○ 引用数 5
10. “Temperature dependence of the rotation and hydrolysis activities of F₁-ATPase” S. Furuike, K. Adachi, N. Sakaki, R. Shimo-Kon, H. Itoh, E. Muneyuki, M. Yoshida & *K. Kinosita, Jr. *Biophys. J.*, 95 (2008) 761-770. [好熱菌の F₁-ATPase は生育温度では毎秒 1,000 回転以上で回る。一方低温では、これまでに知られていない律速過程が現れる。] ○ 引用数 1

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報。

(1) 研究成果の社会への還元状況

研究成果の一部は教科書にも取り上げられている（例えば *Molecular Cell Biology Fifth Edition*, p.328 に実験の図入りで紹介、*Yasuda et al.* 2001 の引用）。大学のオープンキャンパス、高校への出張授業（先方から名指しでの依頼もあり）、などでも興味を持ってもらえるよう紹介をしている。

新聞は、*Harada et al.*, 2001（日刊工業）、*Yasuda et al.*, 2001（日刊工業、日経産業、赤旗など）、*Itoh et al.*, 2004（日経、読売など）、*Shiroguchi et al.*, 2007（読売、産経など）、*Furuike et al.*, 2008（科学）。

早稲田大学木下研究室のホームページ（<http://www.k2.phys.waseda.ac.jp>）には、研究室内からの接続を除いて一日平均100人程度の訪問者があり、我々の提供している一分子関連の動画を授業や講演などに使いたいという申し出も多い。

一分子生理学関係の特許を6件申請、うち1件は取り下げた。これらの大元の着想は2000年以前に得たので出願はJSTより行った。しかし着想の具体化は本特推およびその後の期間である。高安定性顕微鏡ステージと光攪拌機はすでに市販され、研究者の役に立っている。他にも現在出願中のものあり。

- 顕微鏡のフォーカス安定機構 日本・米国取得済、EU審査中
- 顕微鏡の上下微動機構 日本・米国・EU取得済
- 光ピンセット捕捉力強化光学系 米国取得済
- 高安定性光学顕微鏡 日本・米国取得済、EU・中国審査中
- 光攪拌機 日本審査中

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況

H N

-2000.09 木下研博士研究員（JST雇傭）
 2000.10-2001.09 JSTさきがけ研究員
 2001.10-2005.03 東京大学・生産技術研究所・助教授
 2005.04- 大阪大学・産業科学研究所・教授

R Y

-2000.06 木下研博士研究員（JST雇傭）
 2000.08-2000.10 木下研博士研究員（本特推雇傭）
 2000.10-2005.06 Postdoctoral Fellow, Cold Spring Harbor Lab
 2005.06- Assistant Professor, Duke University Medical Center

T N

-2001.03 木下研博士研究員（JST雇傭）
 2001.04-2003.03 情報通信研究機構研究員
 2003.04-2007.03 学習院大学理学部助教授
 2007.04-2008.03 学習院大学理学部准教授
 2008.04- 学習院大学理学部教授

K A

-2001.11 木下研博士研究員（JST雇傭）
 2001.12-2002.12 岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員
 （本特推雇傭）
 2003.01-2005.03 岡崎国立共同研究機構・分子科学研究所・助手
 2005.04- 早稲田大学客員講師（専任扱い）

S F	2002. 12–2005. 03	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2005. 04–	早稲田大学客員講師 (専任扱い)
M Y A	2000. 04–2002. 03	学振外国人特別研究員
	2002. 04–2003. 02	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2003. 03–2005. 04	Lecturer, Shah Jalal Univ. Sci. Tech.
	2005. 05–	Postdoctoral Fellow, University of Vermont
Y M	2001. 03–2001. 03	慶應義塾大学・理工学部物理学科・研究員 (本特推雇)
	2001. 04–2003. 09	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2003. 10–2006. 05	新潟大学・理学部生物学科・産学官連携研究員
	2006. 06–	大阪医科大学・医学部物理学教室・助教
G C	1999. 11–2001. 09	学振外国人特別研究員
	2001. 10–2002. 09	Laboratoire de Physico-Chimie Institut Curie, France
	2002. 10–	Laboratoire de Photonique et de Nanostructures CNRS, France
R S	2001. 02–2001. 03	慶應義塾大学・理工学部物理学科・研究員 (本特推雇)
	2001. 04–2005. 03	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2005. 04–	早稲田大学客員助手 (専任扱い)
K S	2003. 04–2004. 03	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2004. 04–2007. 03	学振特別研究員
	2007. 04–2009. 01	早稲田大学客員講師 (専任扱い)
	2009. 02–	Postdoctoral Fellow, Harvard Univ.
M D H	2003. 07–2005. 03	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇)
	2005. 04–2008. 08	早稲田大学客員助教授 (専任扱い)
	2008. 09–	学振外国人特別研究員
C Y	2001. 03–2001. 03	慶應義塾大学・理工学部物理学科・研究員 (本特推雇)
	2001. 04–2002. 03	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇：技術員待遇)
		家庭に
R K	2003. 04–2005. 02	岡崎国立共同研究機構・統合バイオサイエンスセンター・研究員 (本特推雇：技術員待遇)

2005.06-2008.01
2008.02-

名古屋大学大学院医学系研究科・研究員
日本生物物理学会・会長室秘書