

ERATO「吉田 ATP システムプロジェクト」追跡評価報告書

総合所見

本 ERATO プロジェクトの研究は、大部分のテーマが、その後吉田総括責任者が率いる ICORP プロジェクト等に引き継がれ、継続的に優れた研究成果を上げている。ICORP プロジェクトでは、ATP 合成酵素の制御機構に視点を移すと同時に、細菌の ATP 合成酵素、ヒトを含む動物の ATP 合成酵素、植物の ATP 合成酵素と、その由来別に研究を行うなど、ERATO プロジェクトの単なる継続研究ではなく、別の方向に発展させた。たとえば、ATP 合成酵素の調節について、細菌 ATP 合成酵素の□サブユニットによる阻害、植物 ATP 合成酵素のジスルフィド結合生成による阻害、動物細胞における阻害タンパク質 IF1 による阻害などが詳しく研究され、成果が上がっている。並行して力を入れてきた V-ATPase 研究についても分野として拡大の傾向にある。一方で、蛍光 ATP プローブ「ATeam」を用いた細胞内の ATP 濃度測定技術の確立や動物細胞のミトコンドリアの ATP 合成活性をハイスループットに測定する MASC 法の開発という、新手法に関わる成果もあった。

本 ERATO プロジェクトの周辺科学技術の進歩への貢献としては、ATP 合成酵素の作動機構の解明を通じて、1 分子可視化、1 分子操作に関わる技術が継続的に発展したことが挙げられる。P. Boyer と J. Walker のノーベル賞受賞の決定打となった吉田総括らの F₁-ATPase の 1 分子観察は、生体エネルギー研究史上のもっとも画期的な成果の 1 つであり、多数の分子の反応を統計的に測定する生化学から、個々の分子の個別の反応を観察する方向への歴史的転換を主導した研究の 1 つである。さらに、これからは、実際の細胞の中で、生体分子 1 分子がどのような挙動をしているかということを観察する時代へと発展してきているが、本プロジェクトで育った研究者達はその方向の新潮流を主導している。1 分子観察技術を使った ATP 合成酵素の研究は、現在では日本が研究者の数やレベルで欧米を圧倒している研究分野の 1 つである。このような現状になり得たのは、ERATO 吉田 ATP システムプロジェクトの存在によるところが大きい。

本研究を出発点とした応用へ向けての展開として、ATP 合成酵素の作動原理を利用した新規人工モーターの開発、1 分子可視化技術の DNA シーケンサーへの応用・製品化、ATP 合成酵素・V-ATPase に起因するヒト疾患の治療薬や ATP 合成酵素を標的とした抗生物質の開発、シアノバクテリアによるバイオマスの効率的産生への応用などが挙げられ、いずれも成功すれば社会的インパクトが大きく、今後の展開が期待される。これらについてはもう少し時間をかけて展開を見守る必要がある。

人材育成の側面については、ERATO プロジェクトに参加した研究者 25 名（総括責任者を除く）のうち、アカデミア（大学・研究所）にテニユアの職を得た人の割合が 50% に及ぶ。このことは、本 ERATO プロジェクトが参加研究者を着実に育て、キャリアア

ップに大きく貢献したことを意味する。

また、見逃せない側面として、ATP合成酵素のcサブユニット数に依存したATP合成量とプロトン輸送量との関係、植物におけるジスルフィド結合生成による日照とATP合成酵素の機能制御の関係など、標準的な教科書に「記述される」べき、あるいは「教科書を書き換える」ような、基礎学術的な知識への貢献もあった。

F₁-ATPaseの回転の1分子観察から、本ERATOプロジェクトを経て、ICORPプロジェクトへと続く一連の吉田グループの研究業績が他を圧倒するものであることは、吉田らの発表論文の被引用回数が、ERATOプロジェクト終了後5年を経過した今もなお上昇を続けているという事実が証明している。最も成功したERATOプロジェクトの1つと言える。

結論として、本ERATOプロジェクトの事後追跡の総合評価はexcellentである。

1. 研究成果の発展状況や活用状況

本ERATOプロジェクトは、吉田総括のF₁-ATPase回転運動の観察という生体エネルギー研究史上画期的な成果を基盤として、その回転機構をさらに詳しく解明するとともに、膜貫通部にあつてプロトンとの共役の鍵となるF₀部分の運動を解明すること、さらに、近縁のV-ATPaseの回転機構、ATPaseを核としたエネルギー変換の制御機構に加えて、電子伝達系の分子機構までをカバーする領域として企画された。その結果、F₁-ATPaseが80°+40°のステッピングモーターであるという機構を解明し、F₀の回転も観察した。V-ATPaseも同じく回転モーターであるが、80°+40°のサブステップが無いなどF₁-ATPaseとはやや異なることを明らかにするなど、次々にめざましい成果を上げた。エネルギー変換制御機構では、活性調節サブユニットεの構造変化と調節機構の解明、植物のF₀F₁-ATPaseではγサブユニットの酸化還元による活性調節にチオレドキシンが関与することなどを解明した。これらの成果に比べると、電子伝達系については他のグループの研究とのつながりが薄く、成果もやや物足りない。

ERATO終了直後に開始したICORPプロジェクトでは、ATP合成酵素の制御機構に視点を移すと同時に、細菌のATP合成酵素、ヒトを含む動物のATP合成酵素、植物のATP合成酵素と、その由来別に研究を行うなど、ERATOプロジェクトの単なる継続研究ではなく、別の方向に発展させた。

ERATO終了時の成果の中で最も重要であったのは、「1分子レベルでのATP合成酵素F₁部分の分子内回転触媒機構の解明」であった。この問題についてのその後の発展として、たとえば野地と飯野(ERATO研究員)らによる金沢大学との共同研究が挙げられる。彼らは高速原子間力顕微鏡を用いてF₁部分の1分子観察を行い、回転軸(□)がなくても3つの□触媒サブユニットの構造が順次変わることを見いだしている。すなわち一方向に回る構造的基盤は□₃□₃リング自体にあるのであって、軸(□)という実体にあるのではない、という発見である。

一方、ERATO終了の時点で残された課題としては、「F₀部分のプロトン輸送機構とF₁部分の回転駆動との共役」および、より生理学的役割を視野に入れた「ATP合成酵素の調節と生理機能の関係」が挙げられる。前者については、ICORPのテーマとなっていないこともあり、大きな進展は見られないが、「ATP合成酵素の調節と生理機能の関係」については、ICORPによって引き継がれ、大きく進展している。細菌におけるATP合成酵素の制御は、ADPによる阻害とεサブユニットによる阻害があることが知られていたが、ADP阻害とε阻害の関係については不明であった。ICORPプロジェクトでは、個別的な阻害が独立して起こるのではなく、まず、ADP阻害という現象があり、さらなる阻害が必要な場合に、ε阻害が生じるという関係を明らかにした。また、ε阻害がない大腸菌は高低塩濃度環境では増殖速度が半減すること、ε阻害がない枯草菌では、孢子発芽欠陥により孢子生存率が低下することなど、菌種依存的なストレス環境下でのε阻害の生理的重要性を明らかにした。

植物では、光合成によって日中ATPを合成している酵素が、夜間ATPを無駄に消費してしまわないよう、γサブユニットにある2つのシステインのSH基を酸化し、ATP合成酵素の活性を低下させる機構が予測されていたが、このATP合成活性の明所・暗所における増減をハウレンソウを用いて実証し、さらに、野外栽培ハウレンソウで日照に応答してγサブユニットSH基の酸化還元が実際に生じることを初めて示した。

動物細胞におけるATP合成酵素の研究は、サブユニットの種類が多いことや細胞の取り扱いが難しいことなどから、細菌、植物に比べて解析が進んでいなかったが、ICORPプロジェクトでは新しくヒトのATP合成酵素の解析系を立ち上げ、ヒトF₁の回転とIF1による回転阻害の特性を明らかにすることに成功した。このことにより、F₁変異の詳細解析、また、ATP合成活性に影響を及ぼす低分子化合物（ホルモン類似体等）のスクリーニングや作用機序解明が可能となった。また、動物細胞においてミトコンドリアのATP合成活性をハイスループットに測定する方法として、MASC (mitochondrial activity of SLO-permeabilized cells)法を開発したことで、ATP合成酵素の制御に関連する遺伝子をスクリーニングすることも可能になった。以上のように、現在、ヒトATP合成酵素を研究する環境が整い、研究成果が上がりつつある。科学的側面及び医療・創薬的側面ともに、今後の展開が期待される。

本プロジェクトは、世界の生体エネルギー研究を終始先導してきた我が国の生体エネルギー研究の歴史においても重要な一時期を画するものとなった。ERATOプロジェクトは、細菌のATPaseを中心とした研究であったが、ERATO以後、ヒトを含む動物のATPaseの研究へと発展し、εに相当するIF1など、調節機構の研究が発展しており、医療応用も注目される段階になっている。ERATOから派生した以後の主な研究プロジェクトとしては、ICORP「ATP合成制御プロジェクト」(吉田代表)、特定領域研究「膜超分子モーターの革新的ナノサイエンス」(野地博行領域代表)、学術創成研究「光合成電子伝達系のダイナミクス：未知のネットワークの解明」(鹿内利治代表)などの大型プロジ

エクトがあり、生体エネルギー研究の大きな潮流を形成してきた。このことを見ても本 ERATO プロジェクトは大きな成功を収めたことがわかる。

2. 研究成果から生み出された効果・効用及び波及効果

2.1 科学技術の進歩への貢献

F_1 の回転の可視化は、本ERATOプロジェクトがスタートする数年前の1997年、本プロジェクトの総括責任者である吉田の研究グループと慶應大学（当時）の木下グループの共同研究によって成し遂げられたものであるが、1分子可視化技術が生体分子の分子機能の解明に最も貢献した研究の1つである。1分子可視化技術は、多数の分子の統計的挙動を取り扱う生化学の枠を超えて、少数分子の目に見える反応を直接観察し、分子の挙動についての決定的証拠を捉える学問へと大きく転換させつつある。

本ERATOプロジェクトの中心的テーマは、1分子可視化技術によるATP合成酵素の作動機構の解明であった。したがって、周辺科学技術分野への基礎的貢献としては、まず1分子操作技術・1分子可視化技術について、本ERATO関係者らによる、様々な発展があった。なかでも吉田グループで F_1 の可視化に成功した野地らによる、マグネットビーズを付けた F_1 -ATPase 1分子を磁場により強制的に回転させてATPを合成するなどという技術開発の成果が大きい。ERATOプロジェクトの研究者であった飯野は、野地グループの准教授として活躍し、金沢大学の安藤グループと共同で、これまで F_1 の回転に必須であると考えられていた中心軸がなくても、3つの触媒サブユニットが順番に構造変化をしていることを高速AFMという新たな1分子可視化技術により明らかにした。この研究成果は昨年Science誌に報告され話題となった。また、同じくERATOプロジェクトの研究者であった今村はその後「さきがけ」研究員に採用され、野地らと協力して、蛍光ATPプローブ「ATeam」を作製し、生細胞内のATP濃度を測定する技術を確立した。この方法は今後、多くの研究者に利用されるであろう。今村はこの成果によって、京都大学の「白眉プロジェクト」の准教授に採用され、活躍している。

吉田 ERATO グループの ATP 合成酵素の作動機構を中心とする研究は、1分子レベルでの解析に突破口を開いて以降、これまで当該分野を常にリードし、現在では、日本が研究者の数やレベルで欧米を圧倒している研究分野の1つである。このような現状になり得たのは、ERATO 吉田 ATP システムプロジェクトの存在が大きい。また、並行して研究を進めてきた V-ATPase については、現在も論文発表件数が増加の傾向にあり、吉田 ERATO プロジェクトの研究成果が新しい分野の流れを作り出している。これからの発展の1つの方向としては、試験管の中ではなく、生体あるいは細胞の中で、1分子あるいは数個の分子が実際にどのように挙動しているか、その動態をリアルタイムに観察するという方向へと進んでいくものと思われる。そのような歴史的転換点にあって、本プロジェクトでの回転分子モーターの研究は、少数分子生化学という画期的な新潮流を切り開いた研究として、長く記憶されることは間違いない。

プロジェクトの評価は、その後の論文の被引用回数の変遷によって推定することができる。吉田総括らの ATPase 関連論文の被引用回数は、1990 年代末の回転運動の観察という画期的な成果を上げた直後の 2000 年に年間 600 回近くになるというピークに達した後、いったん 400 回強に下がったが、ERATO プロジェクトを推進した 2002 年から 2007 年にかけて上昇を続け、2005 年には 2000 年のピークを上回る 600 回以上になっている。さらに、ERATO 終了後も上昇を続け、昨年度はついに年間 700 回にも及んでいる。吉田総括らの ATPase 研究が今も当該分野の研究のもっともホットな話題を提供し続けていることの見事な証明と言える。

2.2 応用に向けての発展

本 ERATO プロジェクトは ATP 合成酵素のエネルギー変換の分子機構と制御機構を明らかにすることを目的とした基礎研究であるため、直接的な技術の実証や応用に向けての技術開発、社会経済的にインパクトをもたらす技術への取り組みはまだ少ない。しかしながら、いくつかの有望な萌芽が窺える。たとえば、ATP 合成酵素の作動原理を利用した新規人工モーターの開発が、野地・飯野らにより進められている。F₁部分の回転に伴う構造変化には中心軸は必須ではないという最新の知見に基づき、中心軸に DNA やカーボンナノチューブを用いたハイブリッドモーターを検討していることは、ナノテクノロジーの新たな展開として興味深い。また、1 分子可視化技術の DNA シーケンサーへの応用・製品化も特筆される。本研究の成果が新資源につながるものとして、シアノバクテリアによるバイオマス産生への期待も大きい。

忘れてならないもう 1 つの側面は、ATP は生命活動に必須のエネルギー通貨であり、その変調は様々な疾患を引き起こすことである。ATP 合成酵素は生命活動にとってあまりにも重要であるために、ATP 合成酵素そのものの異常が病気と直接関係する例は極めて稀であるが、F₀ サブユニット a の変異によって発症する NARP (Neuropathy, Ataxia, and Retinitis Pigmentosa) 症候群や Leigh 脳症などいくつかの疾患が報告されているし、ICORP プロジェクトで ATP 合成酵素の活性に関する因子と糖尿病の関連が示唆される結果が得られているように、ATP の代謝異常が生活習慣病の発症に深く関わっている可能性がある。本プロジェクト開始前の ATP 合成酵素の研究は F₁ を中心に行われてきたが、ERATO プロジェクトでは、F₀ やその他の制御因子を含めた ATP 合成酵素全体の研究、ヒト ATP 合成酵素の研究へと発展し、F₀ の機能や IF1 などの調節因子の研究はヒト疾患の治療薬の開発にも貢献する可能性が高い。また、V-ATPase の変異は腎尿細管性アシドーシスや骨粗しょう症の原因因子として報告されているし、その機能は乳がんなどの腫瘍細胞浸潤とも関連する。また、病原性細菌の ATP 合成酵素を標的とした抗生物質の開発なども進んでおり、将来的に広く健康や医療面での応用は、今後の発展が切に望まれる分野である。

2. 参加研究者の活動状況

本 ERATO プロジェクトに参加した総括責任者以外の研究者 25 名のうち、残念ながら研究から離れた方が若干名いるものの、教授 2 名、准教授 5 名、講師 1 名、助教 4 名、高専講師 2 名、ポスドク 4 名、特許庁 1 名、医薬品バイオ関連研究関連企業 1 名と多くの研究者が研究に関係する職を得ている。本プロジェクトからアカデミアにテニユアの職を得た人の数が 50% に及ぶことは、特筆に値する。また、現職は本プロジェクト終了直後と比較して、ステップアップしている研究者が多くいる。本プロジェクトで輩出した人材が、特定領域や新学術領域などの大型プロジェクトを主宰するケースも少なくなく、今後の我が国の生体エネルギー研究の中核を担っていくことになるのは間違いない。これらの事実は、本 ERATO が参加研究者を啓発し、業績成果を生み出し、キャリアアップに大きく貢献したことを意味するものであり、人材育成という意味で、特に評価されるべき結果だといえる。

このような人材育成が本プロジェクトで実現したのは、吉田総括が自らのアイデアで厳しく統制するのではなく、たとえ自らの考えと違っても許容する包容力を持ち合わせていたことによると考えられる。本研究プロジェクトは、さながら梁山泊のごとく、個性的で才能豊かな人材を多数輩出することに成功した。

3. その他

本プロジェクトからは高インパクトファクターの学術誌に数多くの成果が発表され、多くの論文が実際に頻繁に引用され、当該学術分野の進展に寄与するとともに応用技術分野への波及効果も出ている。一方で、極めて基礎学術的な部分でのインパクトも見落とすべきではないと考える。すなわち、「教科書に記述される」べき、あるいは「教科書を書き換える」ような成果が出ていることにも注目すべきだと思う。たとえば、「ATP 合成酵素においては、 F_1 サブユニット 1 回転につき、 c サブユニットの数（生物種によって 8~15 個）だけプロトンが輸送され、ATP が 3 分子合成される」という事実は、ATP 合成とプロトン輸送量との関係として、早晩教科書に記載されるべき重要な発見である。また、野外栽培したハウレンソウで直接証明した「植物において、ATP 合成が行われない夜間に、ATP 合成酵素のシステインを酸化（ジスルフィド結合を生成）して、ATP 合成酵素の活性を阻害している」ことも、教科書に記載されてよい重要な発見と考えられる。こうした基礎学術的な部分への貢献も十分に評価されるべきである。

若手研究者の「さきがけ」、公募チーム研究の「CREST」と並んで、JST による「ERATO」は、我が国の基礎研究の発展に多大な貢献をしてきている。推薦制度を採っている「ERATO」は、どのように総括責任者が選ばれているか、それが最適の人材であるのかななどの点が、「さきがけ」や「CREST」に比べて見えにくくなっている。今後の要望としては、推薦制度の枠組みを残しつつも、巨大な研究費であるだけに、選考過程をもう少し透明化するなど、意欲のある研究者が「ERATO」獲得を目指せる道をわかりやすくして欲しい。

吉田総括が研究者として優れている点を挙げれば沢山あるが、2点だけ敢えて述べておきたい。まず、「科学において大切なのは、決定的な証拠を得ることである」という信条をもっていることである。ある仮説を証明するためには、それを支持する証拠をいくら集めてもダメで、決定的な証拠を得る実験を立案し、実施することが重要であると説く。1分子観察という手法がそれを実現する実験方法であるからこそ、それに挑戦し続けてきたのであろう。もう1つは、「目の前にある実験結果に真摯に向き合い、自説を捨てることも厭わない」という姿勢である。ATP合成酵素が回転モーターであることの決定的証拠を示した吉田総括自身が、証明しようとした仮説は「ATP合成酵素は回らない」ことだったことは、自身がいろいろなところで語っている。どちらも研究者の態度としては、ごく当たり前のように聞こえるかもしれないが、多くの研究者にとって、これを徹底して実践することは容易ではない。権威を振りかざすことなく、謙虚で自分に厳しい態度は、本プロジェクトに関わった多くの研究者にも、受け継がれているはずである。

本研究プロジェクトの経過を見ていると、ERATO研究の意義は、それによって最先端の研究を格段に推進するということもさることながら、優れた総括責任者の下、有為な人材を集め、独創的な研究を遂行する十分な条件を与えるという、人材育成面の効果が最も大きいように思われる。その意味で、ERATO総括責任者には、研究者としての能力以上に、教育者としての能力が要求される。吉田総括は、明確な目標を示し、かなり独創的な自らのアイデアを提示するとともに、それとは異なった考え方も許容し、構成員にそれぞれ独創的な研究展開を許す包容力を発揮したという点において理想的なERATO総括責任者であったと言えるのではないか。

回転運動は人間の作った道具では普遍的な機構であるが、生命体で回転運動が使われている例はこれまで、細菌鞭毛モーター以外は知られていなかった。F₀F₁ およびV-ATPaseという、生命現象におけるもっとも基本的なエネルギー変換機構になぜ回転機構が用いられているのかという理由は未だ十分には解明されていない。何か根本的な必要性があるのかもしれない。この解明も今後に期待したいところである。