

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 振動するバイオナノマシンの原理と構築

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

神谷 律 (東京大学大学院理学系研究科 教授)

主たる共同研究者

豊島 陽子 (東京大学大学院総合文化研究科 教授)

本多 元 (長岡技術科学大学工学部 准教授)

上村 慎治 (東京大学大学院総合文化研究科 准教授)

3. 研究内容及び成果

3 - 1. 研究課題全体の研究内容

本研究は、高速波動運動を行う真核生物の鞭毛・繊毛運動に着目し、その運動が発生する機構を解明すると同時に、純化したタンパク質を用いて振動運動が発生する人工運動系を構築することを目的にした。その実施過程において、鞭毛運動装置(軸系)の形成機構、運動発生の基本であるダイニン分子の作動機構、タンパク質の熱揺らぎによる運動発生現象の解析、鞭毛軸系構造の新たな構造解析技術の開発、などの研究に取り組み、それぞれ後に詳述するような成果を挙げた。

3 - 2. 各グループの研究成果

軸系構築グループ

in vitro 運動系による振動運動発生機構の研究、突然変異株軸系によるダイニン機能の研究、軸系構造の構築機構の研究、という3方向の研究を行って、それぞれ重要な成果を得た。純化したダイニンと微小管から振動運動系を再構築する研究には多くの困難があったが、低頻度ながら振動運動の発生を観察した。その他、軸系構築機構に関して、基部体構成タンパク質と、軸系微小管間を架橋するタンパク質を発見したことは重要である。これらは全生物を通じて初めてのことであり、生物科学全体の中でも大きな成果であると思われる。

機能素子グループ

組換えダイニン重鎖の発現とその機能解析において、細胞性粘菌の発現系による活性のあるダイニンをもちいて、ダイニンの構造変化や ATP 加水分解の共役など、多くの知見がこの研究期間中に得られた。今回のこの領域の成果の中でも、研究の進展という点では優れたグループの 1 つである。以下、主な成果を簡単に列挙する。

蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)法によってテールとヘッド相対間の構造変化を明らかにし、ATP 加水分解サイクルと構造変化の対応を明らかにした。

ダイニンを基板に固定するピオチン化タグの部位をストークからヘッドまで変えて、運動活性を見ることによりテールドメインの動きが重要であることが明らかになった。

ダイニンのヘッドを形成する6個の AAA+モジュール中、ATPase 活性のある4つのモジュールのそれぞれの ATPase 活性とダイニンの運動機能との関係について明らかにした。

ダイニン1分子の運動特性を詳細に調べるために、細胞質ダイニンをビーズに付着させ、光ピンセットを用いたナノメートル運動計測系で調べた。その結果、ダイニンは連続運動性を有し、また8nmのステップを刻みながら微小管のマイナス端に向かって動き、最大力7pNを出すことが明らかになった。これは

ATP 濃度や負荷によってステップサイズを変換するギアが存在するという報告 (Mallik *et al.* 2004) とは相容れないものであった。

以上5年の研究期間でのこのようなダイニン研究の進捗があり、それへのこのグループの貢献は目を見張るものがある。

人工運動系グループ

細胞内フィラメント系は、モータータンパク質と対を成し生物の代表的運動である滑り運動を担っている。代表的な生体フィラメントであるアクチン繊維の Cys373 に、1.4 nm の金属微粒子(ナノゴールド)を化学結合させ、赤外レーザー光を間歇照射することにより、アクチン繊維が骨格筋の筋収縮速度に匹敵する速度で異方性のすべり運動をおこす。この人工運動が実現には、適切な時間で照射をとめる必要がある。これは、運動には、エネルギーの注入だけでなく、その放出(緩和)が必要であることを示している。緩和時間を定量的に調べたところ数十ミリ秒以上の緩和期間がないと運動しないことが分かった。

アクチンの Lys335 や、Gln41 残基にナノゴールドを導入したが、いずれの場合も有意な一方向の運動はおきなかった。Cys373 が、ミオシン結合部位に極めて近いことを考えると、今回実現された人工すべり運動が生体内でミオシン分子モータにより行われている運動と同種のものである可能性がさらに強くなった。レーザー照射により実現された人工運動は、タンパク質からできた生体ナノマシンに共通する動作機構により実現している可能性がある。

分子ナノ振動解析グループ

高精度位置計測法の開発

1分子計測分野の発展にこの代表者の過去に開発した視野分割の位置計測法の果たした役割は大きい。複雑な鞭毛システムの研究で現在この代表者が開発中の高精度三次元計測技術に近い将来大きな進展を促すとの領域としての判断で、チームの研究期間が残すところ2年半ではあったが参加を要請した。その結果、光学顕微鏡下での位置計測技術として、0.1nm/10kHz という非常に高い精度が達成された。

X線回折による精子ペン毛軸系の構造解析

これまでペン毛軸系は安定した配向性を保持が困難なためX線回折による構造決定は難しかった。本研究では、通常のトリス緩衝液にメチルセルロースを添加した生理的な溶媒を用い数十万本もの軸系を5度以内の誤差範囲内で数秒間の短い時間に一斉に配向させる画期的な技術の開発に成功した。これにより、詳細な構造解析がはじめて可能となり、ペン毛の構造についての多くの知見が得られた。

4. 事後評価結果

4 - 1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

外部発表件数

論文発表		著作物		招待講演		口頭発表		ポスター発表		特許	
国内	国際	国内	国際	国内	海外	国内	海外	国内	国際	国内	国際
0	47	6	1	2	14	5	9	49	77	0	0

ペン毛軸系は、200種類ものタンパク質から構成される非常に複雑な構造で、その振動現象に焦点を絞って蛋白質レベルで解明しようという構想である。振動現象の再構成という目標を掲げたが、目標は達成されていない。しかしながら、ダイニン内腕を構成するダイニンの網羅的な遺伝子解析を進め、新しいダイニン(単頭型)を発見したこと、クラミドモナスの突然変異体を活用して遺伝子とその発現タンパク質(とくにダイニン)との対応関係を明らかにしたことなどするなど幾つもの成果を挙げた。発表された論文のレベルは高く、この分野で世界をり

ードした存在である。研究テーマを進める上で互いに相補的な関係にある4つのグループを組織した。必ずしも緊密な共同研究ではないが、それぞれユニークな成果を挙げ、特に豊島グループのダイニンについての成果は質、量ともこの領域の中でも非常に優れたものである。本多グループの発見したレーザー間歇照射によるアクチンフィラメントの異方性の運動はこのプロジェクトの支援によって現象として確立された。運動蛋白質の生理的運動の基礎にこの現象があることについての証明までは至らなかったが、今後の進展に期待したい。18年度から総括の判断で参加した上村グループは高精度三次元位置測定の目標をほぼ達成し、軸系のX線回折による構造解析でも成果をあげた。この成果と計測技術がベン毛研究に今後大いに貢献すると思われる。それぞれの成果は論文、口頭発表で充分に行われており、この分野にとって画期的な論文がいくつか発表されている。

4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

この課題の対象であるベン毛・繊毛の 9+2 構造はあらゆる生物に存在する共通のものであり、最近、繊毛の異常による遺伝病が多数同定されている。ヒトにおいても男性不妊症などのこれまで知られている疾病のほかに、腎嚢胞症、水頭症などの予想外の疾病が繊毛異常によることが明らかにされている。本研究によって鞭毛繊毛の運動と構築機構の理解が進んだことは、医学的にも大きな意味がある。ここで得られた成果を直接、技術として応用する段階に今はないが、将来医療分野で重要な知見として貢献すると思われる。なかで、上村グループの成果に関してはかなり画期的な技術開発の種が見られるので、特許申請を考えてもよいと思われる。

4 - 3 . その他の特記事項

豊島グループのダイニンに関する研究はこのCREST期間中大きく進展している。継続の制度が廃止されたため一応JSTとしての研究が終了するが、今後もなんらかの支援が可能であれば時期的にみて相当大きな成果が期待できると考える。