

一分子過程プロジェクト 事後評価報告書

<評価委員>

吉田 多見男 委員長 (島津製作所 基盤技術研究所 所長)
宝谷 紘一 委員 (名古屋大学 大学院理学研究科 教授)
前田 雄一郎 委員 (理化学研究所 播磨研究所 主任研究員)

平成 15 年 3 月 13 日、事後評価委員会を大阪府箕面市の研究実施場所で開催した。柳田敏雄代表研究者、石井由晴グループリーダーから評価委員に対してプロジェクトの終了報告があった。この終了報告および事前に配布されていた終了報告書の内容について質疑応答を実施した後、各評価委員が評価内容をまとめた。最後に評価委員間の調整を経て、委員長がまとめて本報告書を作成した。

1. 研究の内容

たんぱく質、脂質、DNA など生体分子は自ら集合し、ダイナミックに相互作用して、生体システムを構成し、エネルギー変換、情報変換など生命活動に重要な働きを担っている。この人工機械では実現できないような高機能性をどのように実現しているのかを解明することを目標とし、単一生体分子をイメージングし、ナノメータ精度で操作、計測する技術を開発し、その挙動の観察を行った。同時に複雑な系である生物システムの理解のため、実験的検討に加え理論的なアプローチも試みた。

2. 研究成果の状況

論文数 21 報、総説・解説 23 報、口頭発表 67 件、ポスター発表 59 件、招待講演 (海外) 36 件、書籍 11 報は、5 年間の研究成果としてはきわめて優れたものと評価できる。招待講演の件数の多さからも研究成果の質の高さを物語っている。即ち、中間評価時にすでに明らかになっていたことではあるが、本プロジェクトの研究成果は多くの点で世界のレベルを超えており、その成果は Nature や Science を含む一流学会誌に続々と発表されており、また多くの国際学会への招待講演で示されているように学術的見地から見て素晴らしいものである。このことは Nature 誌が、生体運動メカニズムをめぐるルースカップリング説の旗頭としての柳田氏を大きなインタビュー記事として取り上げたことでも明らかである。ルースカップリング説に強く異論を唱えていた西洋陣営も、最近になって多くの人がバイアスのかかったブラウン運動説に共感を表明するようになってきた。この背景には、本プロジェクトによる高精度のデータの提出とブラウン運動のより詳細な理論的検証がある。

2. 生体分子モーター動作機構としての偏りブラウン運動説の確立

本プロジェクトでは、分子モーターの動作解析において、ガラス微小針先端にモーター分子を捕捉する技術を開発したことによって、空間的・時間的分解能を著しく向上させた。その結果、本プロジェクトによって提唱されていた「1個のATP加水分解によってモーターが数個の基本ステップをランダムにバイアス移動する」ことが確固たるデータとして示された。さらに、より決定論的に機能していると考えられてきたキネシンモーターについても、バイアスブラウン運動であることを強く示唆されるデータを得ることに成功した。つまり、負荷がかかった時のブラウン運動の変化、具体的には各ステップでの滞在時間と前・後方向の移動頻度の詳しい測定が可能になった結果である。この成果は、まさにルースカップリングが起こっていることを明白に示している。

さらに本プロジェクトでは、タイトカップリング派の主張するレバーアームモデルでは説明し得ない決定的な結果を得た。従来、ミオシンVではそのアームは長いので、そのステップサイズが大きいと考えられていた。当プロジェクトでは遺伝子工学的に短いアームを持つミオシンVを作製したが、そのステップサイズは大きいままで変化しなかった。つまりレバーアーム説ではミオシンVの運動を説明することは出来ないことを明らかにした。

今やその具体的メカニズム、つまり如何にしてATP加水エネルギーを使って、ブラウン運動に方向性を持たせ得るのかを説明するモデルを提出する段階に達している。このモデル構築こそがイタリアのグループと共同研究をする主目的でもあり、現在観測データに基づく数値的内容をも含むモデル構築が試みられている。その結果、1方向への偏り運動の実現のためには、レール超分子上での非対称ポテンシャルに加えて、そのポテンシャルの変調が不可欠であることが明らかにされた。つまり、ATP加水分解エネルギーによってポテンシャルの勾配を発生させるとか、あるいは時間的相関を持ちつつポテンシャルを揺らがせることが必要であることが明らかになった。

2. タンパク質1分子の構造変化の動的計測

個々のタンパク質分子には微視的な多くの状態が存在、それらの状態間を熱揺動により高速で転移しているに違いないという考え方は古くから一般的である。その一方で、タンパク質分子には2つの準安定な状態があり、その間にはエネルギー的に高い障壁があり、めったに状態転移しないという考え方は、タンパク質の生理的機能を生み出すうえで、重要で魅力的な考え方であり続けた。即ち、1960年代初頭に細菌べん毛の多型変換を説明するために2状態モデルが提出され、60年代半ばにはアロステリックモデルが一世を風靡した。しかし、その2状態転移のキネティクスを実測することは、長年の挑戦にもかかわらず成功しなかった。

このような状況にあって、個々のタンパク質分子内の構造変化を計測する技術の開発は、多くの研究者の夢であり、試みているグループも少なからずある。本プロジェクトで、蛍光エネルギー移動法(FRET)を使って計測が試みられた。物理的・化学的に十分に理解され

ているとは言えない蛍光標識を使うので、実験的な困難があるが、本研究では良く工夫された実験がされており、蛋白質分子にはこれまで知られてきたよりもゆっくりした構造変化があることを示唆するという重要な知見も得られた。即ち、タンパク質が複数の準安定な構造を取り、それらの構造間を秒からサブ秒の速度で相互変換していることを明確に示すデータを得たことは大きな成果である。この分野は世界的にも注目されている分野であり、現状では本研究が他に抜きんでて見事な成果をあげたとは言えないまでも、重要な寄与をしてきたことは高く評価できる。

2. 1分子計測技術

本プロジェクトのすべてのテーマにおいて、現象解明の為に使われた計測装置や計測システムは、市販装置に改良、工夫を凝らしたものや独自に開発、作製したものである。実験目標を達成できるように装置性能向上した事により、他所では得られないすばらしいデータが得られたことは言うまでも無い。これらの計測装置化技術や1分子計測技術の開発は、計測分野においても先端的・画期的なものであり、1分子計測と言う新分野を創出したと言える。

3. 研究成果の科学技術への貢献

本プロジェクトで開発された生体分子1個を「生きたまま」直接捕捉して計測する新しい1分子技術は、分子機構解明に直接的な証拠を与える強力な手段である。今後は多くの分子に適用され、分子メカニズムの解明に大きく貢献すると期待できる。特に、1分子技術によるたんぱく質の構造研究は、たんぱく質の機能の研究にとってブレークスルーになるであろう。さらに、高い機能性を有する生体分子システムの解明ができれば、その仕組みは、将来、ナノテクノロジーで分子サイズの人工機械を創出する場合に不可欠な知識となる。

4. 相手機関との研究交流状況

共同研究先はナポリ大学(イタリア) Luigi M. Ricciardi 教授で、10名の研究員が参画し、数学的手法によりモデルを構築して理論的アプローチを行った。

評価者の一人が、2001年1月にイタリア、サレルノで行われた当国際共同シンポジウムに参加した印象であるが、シンポジウム初期の発表討論においては、理論家(ナポリ大学)側のテーマの把握度合いに不足が感じられた。しかしながら、2-3日の熱心な議論の経過後はどんどん討論の内容は深まったと思う。特に印象的だったのはイタリア側の責任者である L. Ricciardi が、実に適格に問題を把握していることであった。やはり、このような、生データのぶつかりあいによる討論でこそ、新しい発想と進歩が生まれることを実感した。その翌年(2002年)6月に L. Ricciardi の主催する Biocomputation の国際会議が同じサレルノで開催され、当プロジェクトの日本、イタリア両側から多くのメンバーが参加した。この会でも、特にバイアスブラウン運動について、実験データに基づいて具体的なかつ詳細な討

論が精力的に行われた。実験に基づく理論の構築には息の長い交流が必要であり、その結果として成果が結実しつつあることを痛感した。

5. 本プロジェクトの成果の今後の展開

・生体分子モーター動作機構としての偏りブラウン運動説の確立

アクチン・ミオシンの相互作用について、十分な実験事実の基礎に立って、理論的に理解していく作業を始める機は熟していると思われる。左右対称なポテンシャルを仮定して、その全体を傾けるか、あるいは特定の振動数（の幅）を持つ揺動を加えるか、のどちらかを考えて、一方向への滑り運動を説明しようとしている。このような場でのブラウン運動の取り扱いが難しくイタリアの理論グループとの議論が必要になったわけである。

生体システムの研究とはまったく異なる分野である数学者がプロジェクトで得られたデータを眺め、理論的検討を試みたことは、まだまだ不明確な生体システムの解明に新たな可能性を開いたといえ、今後ますます精力的に共同していく必要があると思える。

・タンパク質 1 分子の構造変化の動的計測

今までに得られたデータの再現性、定量性を上げ、多くの研究者にデータの信頼性を認めさせることがカギになると思われる。成果が画期的であるだけに、研究者を説得するためにはさらなる努力が必要であろう。また、現在は多くの種類のタンパク質について計測を試みている段階ではあるが、取り敢えずこの計測に最適のタンパク質を見出し、それに集中して、信頼獲得の後に、テーマを広げるのも一つの戦略かとも思える。そしてデータの解釈の理論的強化もこれからの課題であろう。