

ICORP 超分子ナノマシンプロジェクト事後評価報告書

【研究総括】 難波 啓一 (大阪大学大学院生命機能研究科／教授)
May Macnab (エール大学／リサーチファカルティ)
故 Robert Macnab (エール大学分子生物物理・生化学部／教授)

【評価委員】(委員はあいうえお順)

二井 将光 (委員長：岩手医科大学薬学部／学部長)
石島 秋彦 (東北大学多元物質科学研究所／教授)
月原 富武 (大阪大学蛋白質研究所／所長)
原田 慶恵 (京都大学物質－細胞統合システム拠点／教授)

評価の概要

あらゆる生命活動の基本的な機能である運動、すなわち「動き」は超分子ナノマシンとよびうる複雑なタンパク質複合体によって駆動されている。その機構は自然が進化の過程で得た精巧な仕組みであり、高度なナノテクノロジーを難なく獲得している。生物の運動システムは人類が開発した工学技術とは全く別の原理に基づいて構築されており、工学者の考えるナノデバイスの性能を凌駕している。

各種細菌の運動器官であるべん毛は、典型的な超分子ナノマシンである。エネルギー効率の高い高速回転モーター、摩擦のない軸受け、自在継ぎ手、高精度スイッチ機能を持つ螺旋型プロペラなどの機能的な仕組みを持っている。また、細菌は細胞内で合成したタンパク質をべん毛先端までの確に輸送し、複雑なナノスケール構造体を効率良く自己構築している。このようなべん毛の運動機構と自己構築の仕組みを解明することは、ナノテクノロジーの発展の礎となると考える。

ICORP 超分子ナノマシンプロジェクトは細菌べん毛の回転に着目し、研究を推進した。べん毛を機能と構造の両面から研究し、30種以上ある構成タンパク質のほぼ全てを網羅的に解析し、課題とした多くの謎を解明することに成功した。また、予想していなかった新しい仕組みをも解明した。すなわち、べん毛の本体であるらせん状スクリューの構造、らせん状スクリューと回転軸をつなげユニバーサル・ジョイント、ユニバーサル・ジョイントとらせん状スクリューをつなげるカップリング・ジョイント、回転軸、基部体、タンパク質輸送システムと、構造を明らかにすると共に、動作原理を解明してきた。さらに、フックの長さを決定する機構や、べん毛タンパク質を輸送する系で、ATPのエネルギーとプロトン駆動力の役割が解明されるなど、卓越した成果が得られたと評価される。

研究体制、運営状況に関しても申し分なく、研究構想、運営状況、研究進捗状況において秀でたレベルにあると認めた。国際共同研究として日本のグループが、主導的な立場で研究を進めたことについても高く評価したい。

これらの成果に加えて、計測技術や試料調製技術など技術的進展も目覚しく、戦略目標「非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」に資する十分な成果が得られたものと評価するものである。

1. 研究プロジェクトの設定および運営と今後の見込

1-1. プロジェクトの全体構想

生体の運動に於いては、蛋白質が立体的に集合した複雑なナノスケールの超分子が素過程を担っている。細菌のべん毛は数十種類のタンパク質がそれぞれ数個から数万個ずつ集合して形成する超分子ナノマシンである。マシンには高速回転モーター、摩擦のない軸受けなど、自然がナノスケールで実現した様々な機械的動作の仕組みが凝縮されている。

難波啓一教授（大阪大学大学院生命機能研究科）を日本側研究総括とする ICORP 超分子ナノマシンプロジェクトは、現在の工学技術では作ることのできないべん毛の構造と作動機構を解明した。方法としては、X 線、極低温電子顕微鏡、光ナノ計測、計算シミュレーションなどの基盤計測技術の開発を進めながら、生化学、遺伝子工学的手法を相補的に組み合わせ、研究を推進した。工学のレベルでは、ナノ構造構築技術や超高効率微小エネルギー変換機構は 21 世紀のナノテクノロジーが目指すものであり、べん毛の研究はナノテクノロジーの設計原理を学ぶ為にも、今後ますます重要性を増していくであろう。

本プロジェクト発足にあたっては、難波総括自身が研究リーダーを務めてきた ERATO 「難波プロトニックナノマシンプロジェクト」（1997 年 10 月から 2002 年 9 月まで）に於いて確立した構造解析による方法論に加え、光学顕微ナノ計測等を導入し、超分子ナノマシン動作機構の統合的解明を目指した。超分子ナノマシンであるべん毛の構築方法、運動様式の解明に向けた徹底した解析により、生命が数十億年の進化の過程で得た超高性能デバイスの設計指針をナノバイオテクノロジー分野にもたらそうとする挑戦的な研究を推進したものである。本プロジェクトは、戦略目標「非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」に資するプロジェクトとして、2002 年 12 月に発足した。ICORP に相応しい挑戦的かつ斬新な構想であったと言える。

1-2. プロジェクトの枠組みや研究体制、および研究活動の状況

研究実施体制は構造解析グループと動態計測グループからなり、けいはんなプラザと松下先端技研研究棟に研究実施場所を設置した。その後 2002 年 4 月から難波総括の大阪大学大学院生命機能研究科への転任に伴って、研究実施場所は生命機能研究科ナノバイオテクノロジー棟に移転し、万全の研究体制を構築した。

構造解析グループは、べん毛軸の各部の構造を原子レベルで明らかにし、べん毛の自己構築機構やべん毛輸送装置による選択的輸送機構を構造に基づいて明らかにしていこうとするグループである。一方、動態計測グループはべん毛の動作機構、べん毛輸送装置の動作機構などの各種構造体の機能的側面からアプローチするグループとして研究を支えた。二つのグループは構造と機能の両面から、べん毛の形成や運動機構にアプローチする強力な方法論を持っており、バランスのとれた研究を推進するのに役立った。この体制はプロジェクトを達成する為に効果的なものであった。

研究活動は極めて能率的に行われており、得られた成果は申し分ない。相手国の研究グループを含めて連携を取り、各グループが持つ技術や成果を共有したことも成果に大きな影響を与えたものと考えられる。

1-3. 相手国機関との研究交流実施状況

本プロジェクトは米国側チームを率いる **Robert Macnab** 教授との国際共同研究プロジェクトとして発足した。構造解析的手法を得意とする日本側チームに対して、**Macnab** 教授のチームは、遺伝学的、生化学的手法によりべん毛モーターやべん毛蛋白質輸送装置に関する研究を世界に先駆けて進めており、難波教授のチームに対して補完的な協力関係を築いてきた。

プロジェクトの過程で **Robert Macnab** 教授が急逝されたが、**May Macnab** 博士が **Macnab** 教授の研究室を引き継ぎ、共同研究は維持された。共同研究の結果、根幹となる成果として **Macnab** 教授のチームは、10 編以上の原著論文を発表するなど、優れた成果につながっている。また、研究交流において日本側が主導してきた点は高く評価される。

ICORP 超分子ナノマシンプロジェクトは、難波総括の指揮の下、優秀な研究員、技術員、研究補助員の努力の結果、30 種類以上の蛋白質が複雑に集合した超分子複合体であるべん毛モーターの全貌をほぼ明らかにした。動作メカニズムに関しても特筆すべき成果を生み出しており、べん毛研究において独自の地平を切り開いている。成果は世界的に見て卓越した水準にあり、日本が世界に誇るサイエンスを展開したものと高く評価したい。

〔研究プロジェクトの設定および運営〕 a+ （特に優れて的確かつ効果的であった）

〔研究活動の状況〕 a+ （特筆して望ましい研究活動・展開を示した）

2. 研究成果の現状と今後の見込

2-1. 動態計測研究グループ

難波総括は主として、構造解析を方法として研究を推進してきた。本プロジェクトでは、これまでの成果を活かし発展させると共に、新たな研究手法として新しい機能解析技術を導入した。動態計測研究グループでは南野リーダーを中心に精力的な研究が推進され、べん毛蛋白質の輸送装置について、構造・機能の両面から様々な知見を得ることに成功した。これにより、今まで殆ど研究が進まなかったべん毛の構築機構に関する分野を大きく切り開くことにつながった。

数多い成果の中でもプロトン駆動力と ATP エネルギーの使い分けに関する研究は目を見張るものがある。ATP のエネルギーはべん毛のタンパク質輸送に直接使われるのではなく、継続的に輸送が行われるように、輸送ゲートから輸送タンパク質を解離させる為に使われている。さらに、べん毛を構成するタンパク質のポリペプチド鎖の解きほぐしやチャンネル内への輸送にはプロトン駆動力が使われている。これらの新事実の発見は特筆すべきものである。Nature 誌に発表されたことから分かるように、他の生命システムの研究にも重要な示唆を与えるものである。

また、フックの完成に伴って、輸送装置が基質認識を切り替える機構に関する一連の実験は Yale 大学との共同研究として行われた。すなわち、フックの長さがおおよそ 55nm に制御されているメカニズムとして、FliK が分子物差しとしてフックの長さを直接測っていることを明らかにしている。高分子の重合反応において重合体の長さを決定するメカニズムは長年の謎であっただけに、非常に興味深い成果である。

べん毛形成に関わる輸送装置についても新しい知見が得られた。べん毛タンパク質の輸送装置の特色は、異なるべん毛構成蛋白質を一定の順序で、一定の量だけ輸送していることである。本研究では輸送装置が輸送する蛋白質を変える、いわゆる輸送基質切り替え機構を明らかにし、輸送に関与している分子タイマーの概念を提出している。

さらに、べん毛モーターの回転の素過程を観察する為のナノ光学計測装置、および、回転のエネルギー源であるプロトンの流れを可視化する装置を開発し、困難かと思われる課題にも挑戦しほぼ完成させた。二つの装置の開発により、長年の夢であった、プロトン駆動型回転モーターの動態計測が可能になった。様々な変異株の遺伝的欠陥とそれに伴う入出力特性を直接結びつけることによって、熱ゆらぎまでも取り入れて動作するべん毛の巧妙な仕組みの解明に向けての今後の研究が楽しみである。

以上、動態計測研究グループの概略を述べたが、いずれも価値の高い成果であり、開発された技術および方法も応用範囲の広いものである。

2-2. 構造解析研究グループ

構造解析研究グループは主に X 線結晶解析と低温電子顕微鏡を用いてべん毛の構造を解析し、べん毛軸構造各部の力学的機能の発現、べん毛の自己構築機能（自己組織化機能）、べん毛輸送装置による選択的輸送機構等を蛋白構造のレベルで理解することを目指した。研究の要となる低温電子顕微鏡の分解能を向上させるための技術開発にも積極的に取り組んだ。

べん毛は 30 種類以上のタンパク質が順序よく集合した、超分子複合体であり、構造を明らかにするには地道な努力と根気を必要とする。構造解析グループは、X 線構造解析と低温電子顕微鏡という生体分子の構造解析の二つの手法を組み合わせ、それぞれの長所を巧みに生かし、研究を推進した。べん毛の本体であるらせん状スクリュウの構造、らせん状スクリュウと回転軸をつなげユニバーサル・ジョイント、ユニバーサル・ジョイントとらせん状スクリュウをつなげるカップリング・ジョイント、回転軸、基部体、タンパク質輸送システムの構造を次々と明らかにした。結果を発表した多くの論文が、著名な学術誌に掲載された。本プロジェクトによって、べん毛の構造研究は飛躍的に進展した。

さらに、複雑な超分子複合体の構造解析のための低温電子顕微鏡の開発にも力を注いだ。タンパク質分子の高分解の像を得ることが重要であることから、電子線回折像、電子線単粒子解析へのエネルギーフィルターの効果、超低温電子顕微鏡における電子線損傷の定量評価といった基礎的な装置の評価を行った。その結果、単粒子像解析でこれまで以上の電子線の照射が可能であることが明らかとなり、関連分野にも貢献し、方法として今後の単粒子像解析の分解能の向上が期待される。

本グループではべん毛モーターに関する重要な成果と、同時に他の生物超分子へ応用しうる技術と方法論を開発したのものとしても評価される。ナノテクノロジーの世界における軸受けというものがどのような形体なのか、特に工学系の研究者にとって非常に興味深いと考える。軸受けの摩擦、シーリングなどがいかにしてナノの世界で成り立つかのヒントを与えるものとして、工学へのインパクトにつながるであろう。

上記のように本プロジェクトは世界に誇る突出した成果を創出している。原著論文は Nature を初めとする専門誌に掲載され、学術的な発表の量と質は共に申し分ない。

評価委員会としては超分子ナノマシンとしてのべん毛研究分野を築き上げ、飛躍的に発展させ、生物に於ける運動の研究に欠かせない分野として確固たる地位を築くに至った本プロジェクトを高く評価すべきと判断した。

本研究の成果が産業・社会に直接に還元できるのはもう少し先のことになると思われる。しかし、爆発的な発展を起こす可能性のある当該分野の基礎を築いたものであり、十分な意義を持つと考えられる。熱揺らぎレベルの入力エネルギーを使って作動する超分子複合体の動作原理と設計原理の解明は、工学研究者がナノスケールの機械を構築する為の設計指針を与えている。

〔研究成果（科学的側面）〕 a+（成果として秀逸である）

〔研究成果（産業・社会的側面）〕 a（成果として良好である）

3. 総合所見

本プロジェクトは、生物ナノマシンの代表と言える細菌のべん毛モーターの巧妙な動作原理を、X線構造解析法、極低温電子顕微鏡法、光学顕微鏡を使ったナノ計測法を組み合わせ、解明することを目標として始められた。動態計測グループと構造解析グループという動と静を組み合わせ、研究体制を構築した。二つのグループは有機的に連携し、プロジェクトを支える二本の柱としてべん毛モーターの解明に貢献した。

この研究体制の下、30種類以上のタンパク質が複雑に集合した、超分子複合体である細菌のべん毛モーターの構造の全貌をほぼ明らかにし、世界をリードする高い成果を上げることに成功した。べん毛の本体であるらせん状スクリューの構造、らせん状スクリューと回転軸をつなぐユニバーサル・ジョイント、ユニバーサル・ジョイントとらせん状スクリューをつなげるカップリング・ジョイント、回転軸、基部体、タンパク質輸送システムと、構造を明らかにすると共に、各々の素子の動作原理も解明してきた。べん毛が構築される過程でフックの長さが決定される機構やべん毛タンパク質輸送に於けるATPのエネルギーとプロトン駆動力の役割の解明など、得られた成果は卓越したものと評価できる。

本プロジェクトは、べん毛という超分子ナノマシンを徹底的に追求し、自然が長年の進化により獲得してきた超高性能ナノデバイスから作動原理と構築技術を学ぶものであった。研究成果は日本が世界に誇ることでできるレベルに到達した。プロジェクトとしての成果に加え、研究の過程で開発された技術は目覚ましいものであり、成果は、戦略目標「非侵襲性医療システムの実現のためのナノバイオテクノロジーを活用した機能性材料・システムの創製」に資するに十分なものと評価できる。

〔総合評価〕 A+（戦略目標に資する十分な成果が得られた）

以上