

ICORP 膜機構プロジェクト事後評価報告書

【研究総括】 楠見 明弘 (京都大学物質-細胞統合システム研究拠点／教授)
Satyajit Mayor (国立生命科学研究センター／教授)

【評価委員】 (あいうえお順)

阿久津 秀雄 (大阪大学蛋白質研究所／招聘教授)
小林 俊秀 (理化学研究所 中央研究所／主任研究員)
斎藤 尚亮 (神戸大学バイオシグナル研究センター／教授)
樋口 秀男 (委員長：東京大学大学院理学系研究科／教授)

評価の概要

本プロジェクトは細胞膜上のナノドメインの動的構造を明らかにすることによって、ナノドメインの細胞膜から細胞内へのシグナル変換に対する寄与やその機構を解明することである。細胞機能を新たな視点、すなわち、ナノドメインと1分子の観点から捉えなおし、新しい原理を見出すというチャレンジングな研究をおこなった。特に生細胞におけるナノドメインとそのシグナル伝達に果たす役割の解明のために、生細胞の膜上の1分子を直接観測する研究に重点が置かれ、具体的な研究課題(目的)を次のように大きく4つの研究を推進している。

- Aim 1 : 生細胞中での1分子ナノバイオロジー、1分子細胞生物学の方法開発の推進
- Aim 2 : 細胞膜における情報変換システムの作動原理
- Aim 3 : シグナル複合体ナノドメインの形成と機能の空間制御の検討
- Aim 4 : シナプス構成分子のダイナミクスの解明

Aim 1 と 3 では、単一分子や単一粒子を高時間分解能で測定しうる装置を開発し、細胞膜上を運動する分子の詳細な解析を行った。電子顕微鏡トモグラフィの方法論を開発し、アクチン繊維によってコンパートメント化した膜裏打ち構造を詳細に明らかにし、一分子研究の後押しをした。Aim 2 では、GPI アンカー型受容体 CD59 およびこれと相互作用するタンパク質群 (PLC γ , Lyn, Gai) の運動を1分子解析によって決定し、集合体のラフトへの結合のライフタイムが 0.2 秒程度と思いのほか短いことを明らかにした。Aim 4 では、神経細胞のシナプスタンパク質の輸送経路の解析に取り組んでいる、一分子観察がこのような系にも有用であることを示した。研究相手である Satyajit Mayor 教授(国立生命科学研究センター)とは、共同のセミナー、研究交流を行うとともに、研究面でも効果的な協力関係が築かれた。

以上を総合して、ICORP 膜機構プロジェクトは、良好な研究水準にあったと認められ、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」に資する成果が得られたと判断する。

1. 研究プロジェクト（領域）の設定および運営に対して

1-1. プロジェクトの全体構想

細胞は細胞膜に囲まれており、外界からのあらゆる情報伝達、物質輸送等を担っている。細胞膜はただの膜ではなく、情報伝達、物質輸送時に積極的に機能を発現している。細胞膜上にはナノドメインという直径 1-100nm ほどの大きさのシグナル伝達のプラットフォームが形成される。ICORP 膜機構プロジェクトは細胞膜上のナノドメインの動的構造およびナノドメインとシグナル変換機能の作動機序の解明を目指すものである。生細胞における 1 分子ナノバイオロジー技術の基盤創成に貢献し、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」に合致する研究である。細胞膜機能に焦点を当て、生細胞における 1 分子ナノバイオロジー技術を駆使しながら、その動的機能をも解明しようとする本構想は挑戦的かつ独創的なもので、本研究はこれをインド共和国国立生命科学研究センターの Satyajit Mayor 教授の協力を得て取り組もうとするものであり、ICORP に相応しい独創的な研究であると高く評価される。

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

細胞膜は外界からの情報の入り口であり、情報を選択し細胞内に伝える重要な機能を担っている点で、膜機能解明は生命科学全体に共通した重要な課題である。特に、本研究プロジェクトでは生細胞におけるナノドメインとそれのシグナル伝達に果たす役割を直接 1 分子観測することを目指す独創的でしかもチャレンジングな目的を設定している。今までの常識と思われた研究結果に対しても、疑問を投げかけ、新手法を用いてその誤りを明らかにし、同じ研究領域の研究者を正しく誘導している。

研究体制は一分子膜動態グループ、シグナル変換場グループ、一分子ニューロモジュレーショングループの 3 つのグループにより構成した。これらのグループは密接に連携しながら同じテーマを共有している。本報告書第 2 章を見ても分かるように、グループ毎の記載は相応しくないと判断し、テーマ毎の評価を行ったのはこうした理由による。各チームは十分に連携を取っており、分野融合的な研究推進に役立てられている。

1-3 相手国との研究交流実施状況

研究相手である Satyajit Mayor 教授とも密に連絡を取り合い、また、研究会を開催して意見交換や議論を深めており、ICORP の特色が大いに活かされている。また、構築した共同研究体制はさらに発展しており、楠見総括所属の京都大学物質-細胞統合システム研究拠点と Satyajit Mayor 教授の所属する国立生命科学研究センターの間に交流協定が締結され、互いにサテライトラボを設置し合うことになった。さらに広汎な形で、互いに得意とする研究が融合され新知見が得られることを期待する。

〔研究プロジェクト（領域）の設定および運営〕 a （的確かつ効果的であった）

〔研究活動の状況〕 a （良好な研究展開を示した）

2. 研究成果

2-1. 1分子膜動態グループ (aim1+3:生細胞中での1分子ナノバイオロジー、1分子細胞生物学の方法開発の推進、及びシグナル複合体ナノドメインの形成と機能の空間制御の検討)

蛍光プローブを用いた位置精度の向上を目指すとともに、それに伴う感度低下を克服して時間分解能の向上を目指した装置開発を行い、100 マイクロ秒の時間分解能、数十ナノメートルの位置精度を達成した。単一有機蛍光分子を用いて得たこの時間分解能は現時点において世界一である。この分解能は従来の研究のようにサイズの大きな金コロイドプローブが持っていたさまざまな問題を克服する上で重要な業績である。なぜなら、蛍光プローブを用いれば、例えばタンパク質に比べてサイズが十分小さいので拡散に与える影響が無視できるからである。また、プローブを結合することによるタンパク質の機能阻害も小さく、さらに脂質へのプローブ結合も可能となるなどさまざまな利点が挙げられる。この方法を用いて蛍光標識リン脂質、蛍光標識膜貫通タンパク質の一分子追跡観測を行い、金コロイドの結果を確定したことにより、生体膜の分子が一定のコンパートメント（区画）の中で運動しているというコンセプトは不動のものになったと考えられる。

脂質および膜タンパク質の運動のコンパートメント化は楠見グループの重要な発見である。彼らはその機構として、膜骨格フェンスモデル、アンカード膜タンパク質ピケットモデルを提唱してきた。これは膜特有の分子間相互作用の重要な柱の一つである。したがって、彼らの説を物質的に裏付ける、膜裏打ち骨格の電子顕微鏡解析が完成したことは重要な成果である。本グループは長い歳月をかけて電子顕微鏡トモグラフィの方法論を開発し、アクチン繊維によってコンパートメント化した膜裏打ち構造を詳細に明らかにした。これは国際的にも高く評価され、膜生物学に新しいパラダイムを提唱するものである。

2-2. シグナル変換場グループ (aim2:細胞膜における情報変換システムの作動原理)

本課題では GPI アンカー型受容体 CD59 を用いたシグナル変換ラフト形成に関する研究の進展が評価できる。本研究はラフトの既成概念を根本から変える可能性を秘めている。CD59 ダイマーが前駆ラフトを形成し、さらに CD59 が集まったクラスターがコレステロール等とともにラフトを形成する。これに PLC γ 、Lyn、Gai などがリクルートされるが、いずれもラフトへの結合時間は 0.1~0.25 秒ほどであることが見いだされている。このようなラフトの短時間での形成と解消はラフトが非常に安定な構造であるという今までの考え方を大きく変えるものであり評価できる。この研究で 2 量体を形成してコレステロール、糖脂質をリクルートして準安定ラフトを形成し、シグナル受容に伴い安定なラフトに転化するという機構を考えているようであるが、脂質の関与と役割はもう少し研究を積み重ねて証明していく必要がある。

2-3. 1分子ニューロモジュレーショングループ (aim4:シナプス構成分子のダイナミクスの解明)

本研究はシナプスニューロンでの **NMDA-R** の動態について興味ある結論を得ている。生きている神経細胞で受容体の補給がどのように行われているかを実験的に示したことの意義は大きい。これは生化学的に観測されている **NMDA** 受容体の循環と関係していると考えられるが、今のところ断片的情報にとどまっているのが残念である。細胞生物学者との共同研究によって担当分子の同定が進むのではないかと考えられる。

2-4. 研究成果（産業・社会的側面）

本プロジェクトは、生物物理学や細胞生物学の基礎研究に重点がおかれているため、ただちに産業や社会に貢献するという性質の研究ではないが、得られた根本的な原理は将来医療やナノテクノロジーに有用であると考えられる。現在、本プロジェクトの楠見総括は京都大学の再生医学研究所に所属するのであるから、本プロジェクトで開発された技術や計測法を再生医学に生かす新しい展開が今後期待される。

基礎研究成果の社会還元という点では研究成果を優れた学術誌に発表し世界中に知らしめることと、新聞発表を通して広く国民に重要性を認知してもらうことが重要である。その点で、成果が多数の新聞紙上に報道されている点は高く評価できものの、原著論文数が少ない。現在投稿中の論文をプロジェクト終了後に出版する努力を続けていきたい。

〔研究成果（科学技術的側面）〕 a （成果として良好である）

〔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

本研究はあらゆる細胞が有する「膜」に着目し、膜上の分子のダイナミックな運動を捉えることにより、ナノドメインが有する役割、機能を明らかにしようとするものである。一分子計測にいち早く取り組み、**ERATO** で方法論、研究方向の基礎を作り、本 **ICORP** でそれらをさらに高度化して成果に結びつけた。研究の全体構想は挑戦的、創造的なものであり、それに相応しい的確な領域運営を行った。本プロジェクト期間を通して、生体膜系における一分子研究では世界で抜きん出ている。特に脂質膜上での分子の拡散障壁の発見とそれについてのピケット・フェンスモデル、短時間でのラフトの形成と崩壊、それと結びついたシグナル伝達など、今までの常識を覆す研究成果を上げたことは本 **ICORP** の目的にふさわしいものと言いうことができる。発表された論文の引用数は高いものがあるものの、論文の数がまだ十分とは言えない。今後、細胞生物学者や神経科学者の参画、共同研究などにより膜のダイナミクス学を発展させることが大切であると思われる。

以上を総合して、**ICORP** 膜機構プロジェクトは、良好な研究水準にあったと認められ、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」に資する成果が得られたと判断する。

〔総合評価〕 A （戦略目標に資する成果が得られた）