

戦略的創造研究推進事業  
－戦略創造プログラム－

研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」

研究領域中間評価用資料

平成18年3月28日

## 1. 戦略目標

### 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（平成14年度設定）

#### 1) 名称

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

#### 2) 具体的な達成目標

DNA、タンパク質などの生体分子の動作原理等を活用した各種の機能性材料、生体適合性材料、バイオデバイス、システム等の開発及び、ナノマシンテクノロジー技術を活用した細胞手術、遺伝子治療システム、バイオアクチュエーター等の開発に向けた技術の確立を目指す。

このため、2010年代に実用化・産業化を図るべく、以下のような成果等を目指す。

- ・人間の五感に匹敵する又は五感を超える感度を持つ高感度な外場応答材などによるインテリジェントなセンサ技術の開発及び、情報処理機能を持つ使い易いマンマシンインターフェースとして、高感度かつ知的なセンサの開発
- ・ドラッグデリバリーの標的精度を単一細胞レベルにまで高めるとともに、細胞・遺伝子治療の要素技術の開発を通じた、ナノテクノロジーを設計基盤とする安全・無痛・高効率医療効果を得るトータルなシステムの提案
- ・タンパク質分子やその複合体が関与する生体内反応を手本に、分子構造及び分子間相互作用の柔軟な変化を利用した、素子自体が状況を判断して最適な動作をするナノソフトマシンの開発
- ・遺伝情報に基づいて生体が行うようなプログラムに基づく自己組織化現象によるナノ構造制御の物質・材料構築技術の探索を通じた、生体を超える分子モーター、分子デバイス、五感センサ、脳型デバイス等の人工生体情報材料の開発

#### 3) 目標設定の背景及び社会経済上の要請

経済のグローバル化と国際競争の激化等に伴う産業競争力の低下、雇用創出力の停滞といった現下の経済社会の課題を科学技術、産業技術の革新により克服し、我が国の産業競争力を強化し、経済社会の発展の礎を着実に築くことが不可欠である。このような革新的な科学技術、産業技術の発展の鍵を握るものとして、ナノレベルで制御された物質創製、観測・評価等の技術であるナノテクノロジーが、近年急速に注目されている。

具体的には、

- ①新たな医療システムとして期待の高い極小システムの構築が急がれる一方、
- ②ライフサイエンスとナノテクノロジー、電子技術などとの融合等が、次代の科学技術革命を拓くものとしての期待が高い。

また、これらの実用化・産業化の目標を達成するためには、ナノレベルでの計測・評価、加工、数値解析・シミュレーションなどの基盤技術開発や、革新的な物性、機能を有する新物質創製への取り組みが必須である。

なお、総合科学技術会議分野別推進戦略（平成13年9月）においても、ナノテクノロジー・材料分野においては、国家的・社会的課題の克服のため、「医療用極小システム・材料、生物のメカニズムを活用し制御するナノバイオロジー」が5つの重点領域の1つとして位置づけられているところである。

#### 4) 目標設定の科学的な裏付け

創薬、再生医療等の医療への応用が期待されるライフサイエンス分野において、ゲノム技術の活用、

疾病予防・治療技術開発、生物機能を高度に活用した物質生産、食料科学・技術開発等に加えて、新たな技術や手法の開発が求められており、そのためにナノテクノロジーの利用が不可欠である。

このようなナノバイオテクノロジーは、米国においては、2000年から Cornell 大学を拠点として、Nanobiotechnology Center プロジェクトを開始している他、英国でも、オックスフォード大学、グラスゴー大学を中心としたナノバイオテクノロジーへの総合的な取り組みが開始されている等、昨今、欧米における取り組みの強化が目立つ分野である。ナノバイオテクノロジーについては、バイオテクノロジーと物理、ナノテクノロジー、電子技術などの融合が次代の科学技術革命を拓くものとして期待が高く、我が国においてもこのような新たな分野において、世界のトップを目指すべく、緊急かつ戦略的な取り組みを開始すべき領域である。

具体的には、

- ・高感度かつ知的なセンサーに関しては、情報を検知するセンサーについての開発は進んでいるところであるが、さらに多様な情報を超高感度で検知し、情報を処理伝達できる知的センサー及び材料の開発が重要度を増している。
- ・IT 化医療に関しては、個々の DNA 分子に対して自由に人工操作を加えるトップダウン型ナノテクノロジー的方法の開発が急務であるとともに、ドラッグデリバリーシステムとしては、高度なターゲット制度、放出医薬のモニター方法、ナノマニピュレータの開発が待たれている。
- ・ナノソフトマシンについては、既に個々のタンパク質の動態を観察、操作し、分析するための 1 分子テクノロジーはほぼ確立しているが、これを発展させ、細胞内での個々の生体分子複合体レベルでの機能解明と相互の分子の作用ネットワークのメカニズムの解明及びその医療応用等への取り組みが求められている。
- ・プログラム自己組織化については、最近では複数の分子種を構造制御しながら配列しようとする研究がなされているところであるが、人工分子を機能デバイスとして発展させていくためにより高密度に集積するとともに、集積した機能物質を利用したセンサー、メモリー等の開発等が求められる。

## 5) 重点研究期間

ナノテクノロジー分野については、競争が激しく多くの研究領域を推進する必要があるため初年度のみ公募とし、次年度以降には新たに同じ研究領域での公募は行わない。1 研究課題は概ね 5 年の研究を実施する。(なお、優れた研究成果をあげている研究課題については、厳正な評価を実施した上で、研究期間の延長を可能とする。)

## 2. 研究領域

### 「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」(平成 14 年度発足)

この研究領域は、ナノレベルでの分子構造や分子間相互作用の変化等を利用して働くソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用に係わる研究等を対象とする。

具体的には、生体に学ぶソフトナノマシンの動作機構の解析・制御およびその原理を活用したソフトナノマシンの構築、利用に関する研究、タンパク質や合成分子等の高次機能構造体によるソフトナノマシンの高効率エネルギー変換、エネルギー供給、情報の変換、伝達に係わる研究等も含まれる。なお、本研究領域は戦略目標「情報処理・通信における集積・機能限界の克服実現のためのナノデバイス・材料・システムの創製」および「環境負荷を最大限に低減する環境保全・エネルギー高度利用の実現のためのナノ材料・システムの創製」にも資するものとなる。

### 3. 研究総括

宝谷 紘一 (名古屋大学 名誉教授)

4. 採択課題・研究費

(百万円)

採択年度	研究代表者	終了時 所属・役職	研究課題	研究費
平成 14 年度	相沢 慎一	県立広島大学生命環境学部・教授	生物ナノマシン回転運動の一般化作動機構の解明	232
	伊藤 博康	浜松ホトニクス(株)筑波研究所・専任部員	タンパク質分子モーターを利用したナノメカノケミカルマシンの創成	222
	遠藤斗志也	名古屋大学大学院理学研究科・教授	タンパク質トランスロケータの作動原理の解明	181
	神谷 律	東京大学大学院理学系研究科・教授	振動するバイオナノマシンの原理と構築	268
	原口 徳子	(独)情報通信研究機構関西先端研究センター・主任研究員	遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製	240
	原田 慶恵	(財)東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所・副参事研究員	DNA 分子モーターの動作原理の解明	188
	藤吉 好則	京都大学大学院理学研究科・教授	高次細胞機能構造体観察・制御技術の開発	479
	柳田 敏雄	大阪大学大学院生命機能研究科・教授	ゆらぎと生体システムのやわらかさをモデルとするソフトナノマシン	655
平成 15 年度	二井 将光	(財)微生物化学研究会生物化学研究センター・特別研究室室長	高効率ナノモーターとしてのプロトンポンプの分子機構解明	233
平成 16 年度	高田 彰二	神戸大学理学部・教授	バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング	125
			総研究費	2,823

## 5. 研究総括のねらい

ソフトナノマシンに関する当領域は、自己組織能、自立的適応能、自己修復能などの生体分子機械に特有な極めて巧妙でしかも柔軟な動作原理の解明とその応用を大きな目標としている。1980年にわが国で、「単一分子機械の直接観察」という大変独創的な研究が旗揚げした。その流れは、JSTの前身である新技術開発事業団において私が総括を務めたERATO（超分子柔構造プロジェクト）他、幾つかのプロジェクトに受け継がれ、まさに国産の学問領域として発展した。90年代に至り、これらのプロジェクトは多くの成果をあげた。当領域の10の研究課題の中の半数はその直接的な成果に基づくものであり、この領域の研究代表者や共同研究者である、柳田、原田、木下、伊藤、相沢、上村、宗行等は当時その運動を率い、もしくは第一線で多大な成果をあげた研究者達である。

現在、この学問領域は世界的な大きな分野に成長し、国際的にも研究レベルは大きく進展した。現在それでもなお、わが国が主導的な役割を担っている。この分野の成果はまた新しい問題を提起するに至り、拡大した裾野を巻き込み、新たな観察技術の開発（藤吉、オルデンバーグ、上村）、上位の生体階層への拡大（原口、神谷、豊島、本多、遠藤、坂口）により生体分子機械の本質的な問題解明に向けて発展を続けている。この10年間の成果によって提起された問題は新たな局面を迎えている。この領域のねらいは、卓越した上記の構成メンバーの総力を結集し、この国産ともいえる分子機械動作原理の本質的解明への突破口を自らの手で開くことである。この分野の創生期から参画し発展の一部始終を共に歩んだ者として、問題の完結には至らぬまでも、この10年の成果が提議した新たな壁を乗り越えることを切に願っている。

## 6. 選考方針

今回の戦略的創造研究推進事業のプログラムの募集については、これまでのCRESTプログラム以上の極めて高い研究能力や優れた業績を持つ研究者による大型プロジェクトであるとのイメージがあった。特に生体分子機械の研究分野においては、大変高い評価が定着しておりかつ大型のプロジェクトを率いた経験を持つ研究者をはじめとした蒼々たる顔ぶれの方々から応募があった。研究分野は細胞レベルから超分子、人工分子ハイブリッド系、新規な測定技術を盛り込んだものなど、多様であった。提案の多様性は応募開始以前より予想されていたので、アドバイザーの専門も物理、化学、生物、医学、工学と広く、比較的若い7人の方々を選ばれた。初年度、14年度は応募のあった21件の研究課題はなかなか魅力的なものが多く、13件が面接審査の対象となった。最終的には女性研究者2人を含む8人の提案が採用され、年齢構成も42歳から55歳とおおむね若い人が多かった。プロジェクトの予算規模が3段階に分けられていることが、比較的萌芽的色彩をもつ若手の課題をも採用しやすくして、良かったと思っている。採用されなかった提案もよく考えられており、予算が許せば是非採用したいものが多かった。

15年度は、初年度採択の伊藤チームと同じプロトン共役ATPaseを研究対象とする二井チームが採択された。このテーマは、数十年來の生化学上の主要なテーマであったものが、わが国の先見的な発想と一分子観察技術が生物物理学の主要テーマに一変させたものである。生物物理学的な極めてユニークな発想で探求する14年度採択の伊藤チームに対して、長年の生化学の蓄積をもとに、最新の一分子計測を取り入れて成果をあげている二井チームからの応募があり、この分野の国際的な競争も踏まえ両者の研究上の相補的な関係がこの大きなテーマに対して有効であると考え、採択を決定した。

16年度はナノテクノロジー分野別バーチャルラボ全体でのシミュレーションに関連した課題の公募が行われ、選考ののち、関係の深い領域に加えるという採択方式によって、当領域に高田チームの「バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング」が新たに加わった。この課題には、当領域の4チームの研究課題についての計算機シミュレーションが含まれており、研究交流が直接的な成果をお互いに生むことを期待している。

## 7. 領域アドバイザー

領域アドバイザー名	所属	役職	任期
前田 雄一郎	理化学研究所播磨研究所	グループリーダー	平成 14 年 10 月～平成 15 年 5 月
石渡 信一	早稲田大学理工学部	教授	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
月原 富武	大阪大学蛋白質研究所	教授	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
山下 一郎	松下電器先端技術研究所	主席研究員	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
栗原 和枝	東北大学多元物質科学研究所	教授	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
金子 邦彦	東京大学大学院総合文化研究科	教授	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
曾我部 正博	名古屋大学大学院医学系研究科	教授	平成 14 年 10 月～平成 20 年 3 月
郷 信広	日本原子力研究所関西研究所	特別研究員	平成 16 年 10 月～平成 20 年 3 月

当研究分野が境界領域から生まれ、新しい観察技術を自ら生み出しながら発展して来た領域であることから、領域アドバイザーとしては、物理、化学、生物、医学、工学のそれぞれの専門分野の人材の中から、生物の機能につながる研究を行っている比較的若い現役の研究者の中から 7 人の方々が選ばれた。

## 8. 研究領域の運営

この領域の研究代表者、共同研究者は自身が高い研究能力をもち大きな成果を挙げているばかりでなく研究組織の運営能力についても実績のある研究者である。それぞれの課題に対してこの 3 年間多くの実績をあげている。また、5. 研究総括のねらいにも述べたようにこの領域自体が一つの理念から発した経緯があり、アドバイザーも含め領域内のチーム間の交流は非常に活発で、いろいろな会合の機会に意見交換を行っている。さらに、観察技術の情報交換や研究材料の調製を通して研究員の交流も盛んに行われている。領域としては各チームの研究の進捗状況を把握するため毎年一回の領域会議で研究発表を行っている。また、研究チームと事務所の関係も緊密で良好な関係にあり、予算執行について、各チームの要望、計画変更なども事務所において充分把握している。研究総括としては、研究の進捗を把握し、それぞれの分野の世界的な研究の進展に伴う研究方針の修正に必要な調整を、各代表者の要望に応じて判断し必要な予算措置を常時行っている。また、3 年半の間に新たな 4 グループ（本多グループ、宗行グループ、上村グループ、松影グループ）の共同研究の参加、研究要員の参加要請も、代表者の要望をもとに、あるいは研究総括の判断で行ってきた。特に 17 年度は課題の中間評価が行われ、その結果をうけて神谷チームに上村慎治（東京大学総合文化研究科）、原口チームに松影昭夫（日本女子大学理学部物質生物科学科）の 2 つの新たな共同研究グループを参加させることを決定し 18 年度から開始する。研究実施場所の確保、契約など、事務処理上の多少の問題を除けば領域運営は戦略目標達成に向けて順調に行われている。

## 9. 研究の経過

当領域の構成は次のように分類できる。

- (1) 一分子計測技術によって観察可能になった単位分子機械の機構の解明  
柳田、木下、伊藤、宗行、二井、豊島、本多、高田、相沢、本間
- (2) 新たな計測技術、操作技術の開発、応用  
藤吉、上村、原田、
- (3) 生体の持つ分子機械の医学、工学への応用を目指す研究  
伊藤、原口

- (4) 細胞もしくはオルガネラのレベルの機能を担う複雑な分子機械の複合体についての研究  
神谷、原口、藤吉
- (5) 計測技術の進歩により近年分子レベルで研究対象になった分子機械の特定とその機能の研究  
遠藤、坂口

以下、それぞれについて、背景、研究の現状、成果などについて記す。

#### (1) 一分子計測技術によって観察可能になった単位分子機械の機構の解明

生物は化学エネルギー、若しくは電気化学エネルギーによって力を発生させる分子機械を持っている。1996年には生化学のエネルギー代謝の重要な酵素である  $F_1F_0$ -ATPase の化学共役反応が、実は回転運動を介して行われているという衝撃的な証明が当領域の木下氏等によってなされた。この証明によって、生化学の重要なテーマであった ATP 合成酵素が生物物理学のテーマに一変した。同時に、主として生体の運動器官の問題であった化学・力学変換の分子機械の研究は、膨大な蓄積をもつ生化学をも対象とする可能性があることになった。

この(1)グループに分類された研究の最終的な目標は、分子機械のもつ力発生メカニズムである。現時点では、それぞれの分子機械に応じて様々なメカニズムが提案されている。しかし現在、各々の機械についても合意に至ったメカニズムはない。

アクチン・ミオシン系、キネシン・チューブリン系を対象とした 1998 年採択 ICORP 「一分子過程」で柳田らの行った研究が、従来定説として取り扱われていたレバーアーム説を覆す大きな成果をあげた。この研究が、化学反応と分子機械運動の共役がルースかタイトかという問題を世界的に認識させることになった。その後、柳田チームではこのモデル化を行い、1985 年発表の 1 ATP 分解当たりの滑りが 60nm (アクチン 10 分子に相当) であったというデータを、協同性を加味したアンサンブルとして説明できるメカニズムの理論的な論文 (**Biophysics, Vol.1(2005) No.0 1-19**) を当領域の成果として発表し、一応の決着を見た。その基礎となる、分子機械がいかんにして長時間高い自由エネルギー状態を保つか、という本質的な問題に対して実験および理論的な研究を続けている。

この(1)グループのもう一つの柱である  $F_1F_0$ -ATPase については、当領域の 5 つの研究グループ (木下、伊藤、宗行、二井、高田) が研究を行っている。この系は現在構造変化による、いわばレバーアーム説と同じ力発生メカニズムと考えられている。この考えに基づいた詳細なメカニズム解明のための研究は木下、伊藤、宗行、二井を中心に精力的に進行中である。また自由エネルギー変換器として見た場合のエナジエティックスに関して、現在のモデルでの解釈に無理があることが指摘されている。これに関して 17 年度から参加した宗行グループで実験系を確立し成果をあげつつある。二井らは長年の生化学研究の豊富なデータの蓄積、特に V-ATPase の研究、変異株についての生化学的研究を基礎としたバイオインフォマティクスのアプローチで構成部品の機能特定に大きな情報を得ている。また、分子動力学の手法でシミュレーションによる研究を 16 年度に採択された高田らが行っている。

細菌の運動器官であるべん毛モーターは、電気化学ポテンシャルの下で流れるイオン流と共役して回転する回転モーターである。当領域では相沢、本間の 2 つのグループが研究している。本間グループでは  $Na^+$  の流れに共役した細菌について遺伝子工学を用いて構成部品の機能特定を行って成果を挙げている。また、一分子計測技術を持つ研究室との共同研究で回転のステップを初めて検出し昨年発表した (**Nature 437,916-919**) 相沢グループは詳細な顕微鏡観察によってモーターの構造推定の根拠とされてきた重要な実験に例外があることを見出し、部品の機能の同定を行ってきた。18 年度からはメカニズム解明に大きな意味を持つ、固定子、回転子を同定するため、蛍光を発現した部品の直接観察を行う予定である。これについては、一分子観察の高い技術を持つ伊藤氏の協力を得て研究を進める。

力発生についての興味ある一般モデルの一つに熱機関的なファインマンのラチェットメカニズムがある。16 年度から研究に参加した本多グループは、アクチン繊維についてファインマンラチェットを思わせる興味ある現象を見出した。現象が真正なものであれば運動蛋白質研究の本質的な問題に非常に大きな影響を与える現象であり、領域として現象の検証を行う必要があると判断した。17 年度で現象の再現性を格段に向上させた結果を出した。



## (2) 新たな計測技術、操作技術の開発、応用

分子機械の研究分野は、観察技術の開発を自らの手で行って、世界的に多くの研究者を擁する分野に成長してきた。当領域では大きな柱の一つとして、蛋白質構造解析からより高次機能を担う複合体のシステムまで対象とした観察技術開発を目指す藤吉グループを採択した。この研究グループは非常に高度な研究能力を備え、極低温電子顕微鏡の機器開発にとどまらず、高次神経機能解明の鍵をにぎる神経終末の膜蛋白質、足場構造のダイナミックな構造解析を行っている。電子顕微鏡による試料損傷が極低温では押さえられることから、藤吉氏は極低温電子顕微鏡を自ら開発した。それを用いた膜蛋白質の構造解析は、世界のトップレベルの研究者が藤吉との共同研究で大きな成果をあげている。最近の16年間は膜蛋白質の研究に集中しており、これまでに電子顕微鏡で立体構造が解析された4種類の膜蛋白質のすべては、藤吉が開発した極低温電子顕微鏡を用いて行われた(光合成アンテナ蛋白質(*Nature*, **367**, 614-621 (1994))、バクテリオロドプシン (*Nature* **389**, 206-211 (1997))、水チャネル、アクアポリン-1 (*Nature*, **387**, 624-627 (1997))、(*Nature*, **407**, 599-605 (2000))とアセチルコリン受容体 (*Nature*, **423**, 949-955 (2003)))。最近では、国内の著名な研究者との共同研究で、電圧感受性 Na<sup>+</sup>-チャネルや IP<sub>3</sub>受容体の構造も、単粒子解析法を用いて解析を進めており (*Nature*, **409**, 1047-1051 (2001), *J. Mol. Biol.* **336**, 155-164 (2004)等)、これらは、神経細胞等における重要なイオンチャネルの全体構造を解析した結果として注目されている。この様な膜蛋白質の構造学分野で、世界をリードする成果をあげるにとどまらず、興奮性ポストシナプス等における足場蛋白質 (PSD-95 や Homer 等) の構造と機能についても、米国 MBL の R. Oldenbourg との共同研究で独創的な光学顕微鏡であるポルスコープの高速三次元化を行い研究が進められている。

原田は一分子計測技術の開発に大きな貢献をした研究者で、遺伝子組み換えの分子機械の動きを一分子観察で捉えることを目指している。研究材料提供の分担者である品川グループとは緊密な関係にあり、当初の研究計画を順調に進めている。

課題中間評価の結果をうけて、現在の一分子計測技術の元になる基本技術を開発した上村氏を18年度より領域の共同研究に加えた。上村氏は光学顕微鏡を用いた現在の測定分解能 (nm) を 50pm に向上させる三次元の計測技術の開発を目指している。彼は最近 AFM による鞭毛観察により、鞭毛軸糸の径が屈曲運動に伴ってアクティブに変化していることを発見し、軸糸ダイニンの運動解析をこの技術で行う予定である。この領域の神谷の目指す振動現象の解明に大きく貢献する可能性があるかと判断し、研究参加を依頼した。

## (3) 生体の持つ分子機械の医学、工学への応用を目指す研究

この領域は学問的興味に発する研究が多いが、工学的、医学的な応用を視野にいた研究としては伊藤氏と原口氏の研究が際立っている。特に伊藤氏の研究姿勢は伊藤氏のキャラクターに基づくもので、強力な研究能力をもつ木下グループの協力を得て、早期に成果を挙げた。生物が優れた特性を持つ分子機械を持っているのであれば、一分子観察技術、操作技術を用いて直接人工的に分子機械を操ってみようというわけである。伊藤の選んだ分子機械は F<sub>1</sub>-ATPase である。ATP 分解による  $\gamma$  サブユニットの回転を 1996 年に木下等が映像として見せたが、伊藤は起こるとされている ATP 合成を  $\gamma$  サブユニットを外力で回転させて実現した。微量な ATP 合成を蛍光の酵素系を用いて、光学的に検出した。この発表 (*Nature*, **427** (2004) 465-468.) は、明快な成果として多くの報道紙に取り上げられた。ここで開発した一分子操作、計測技術は単位分子機械の工業的な利用の可能性を示した。

原口グループは DNA のシェルターとしての核膜が細胞分裂のある時期に消滅するメカニズムの解明を目指している。これは将来の遺伝子治療に DNA を目標に運搬する技術に繋がることを念頭においた研究である。核膜の消滅・形成は多くの種類の分子機械の協調的な働きによって実現される現象で、近年の研究によりシステムの構成員が徐々に明らかになり、その一つ一つの機能を同定する研究段階である。原口グループは細胞レベルのリアルタイムの観測技術を目的に応じて使いわけ、複雑なシステムの中での動的な制御の仕組みを明らかにしつつある。

## (4) 細胞もしくはオルガネラのレベルの機能を担う複雑な分子機械の複合体についての研究

1950 年来、筋収縮の滑り説、DNA の 2 重螺旋、神経活動電位の理論という大きな事件に代表され

る時期に、生物は分子の機能に還元されて理解できるという信念が強化された。機能分子の探索、同定が進むにつれ 1990 年代に入るとシステムの複雑さが研究の中心になってきた。神谷、原口、藤吉グループの研究対象はそのような高度に組織化された複雑な分子システムである。研究が進むほど登場する分子機械は増えてくる。この 3 つのグループはそのような流れの中で、登場する分子の同定、部品としての機能の同定、情報の実体の同定を精力的に行っている。3 グループとも、その研究能力の高さから、世界的な競争のなかで主導的な地位を確保している。

#### (5) 計測技術の進歩により近年分子レベルで研究対象になった分子機械の特定とその機能の研究

細胞若しくはオルガネラの機能には膜蛋白質の働きが重要である。また、合成された蛋白質は決められた場所に行くための標識が一次元構造に書き込まれている。その情報を読み取り、所定の場所、所定の膜に組み込むための分子複合体が存在する。それはトランスロケーターと呼ばれる。14 年度採択時、多くの蛋白質の輸送、組み込みに携わるトランスロケーターはミトコンドリア、小胞体にそれぞれ一種類と思われていた。遠藤グループ（ミトコンドリア）、坂口グループ（小胞体）も含め、世界的に研究はメカニズムの解明の段階にあると思われていた。その後、異なるトランスロケーターが発見され、現在は新しいトランスロケーターの同定、発見が続き、激しい国際競争の中で精力的に研究を行っている。

### 10. 総合所見

14 年度の採択課題で 2 年目までの論文発表は低調であった。さすがに 3 年目にあたる 17 年後半から発表される論文が増加してきている。前述したように、この領域の採択課題を率いる研究代表者、共同研究者は研究能力、実績ともに優れた研究者、運営者である。研究総括としては、当初から各グループの自発性を損ねるような介入、短期間での評価などを行うべきではないと考えていた。これも前述したが、グループ間の交流も必要とあれば代表者レベル、個々の研究要員レベルで自発的に行なわれ、ここでも研究総括の特別な場作りは不要であるばかりか、多忙な研究者の邪魔にすらなる。実際、半年以上前に年一回の研究代表者、共同研究者全員参加の領域会議の 2 日間の日時を決めるが、毎回候補の選択の余地がないほど多忙な状況である。この 3 年間、領域運営は研究環境整備に有効な事務的処理、予算措置で足りてきた。研究体制の変更も個人、団体で 5 件行ったが、大半は代表者の意向によるものであった。以上、見方を変えれば、課題選考が適切に行われたという事もできる。この領域には、大きな研究組織を持つ柳田チームと極低温電子顕微鏡という大掛かりな設備開発を伴う藤吉チームがある。生物系の領域であるから、必要な適切と思われる研究費には数倍の開きがある。機器開発の比重が大きい場合、研究成果は投資額の相関が強いであろう。実績のある大きな組織の場合もそうかも知れない。安定した投資をするならば、この 2 団体に厚くということになるだろうが、この領域の研究対象は生き物である。科研費申請書類の査読、学会での発表などで、小額の研究費で目に留まる研究も多々あるが、研究総括の裁量範囲、超えてはいけまい。悩むところである。

ともあれ、現時点としての研究総括から見た総合所見としては、成果、運営共に順調と考えている。

5. 研究総括のねらいの終段の記述の「突破口」を期待するところである。

領域評価用資料 添付資料(CREST タイプ)

研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」

1. 応募件数・採択件数

採択年度	応募件数	採択件数
平成14年度	20	8
平成15年度	8	1
平成16年度	17※	1
採択数 計		10

※ 平成16年度は戦略目標（3目標）毎に公募し、ナノテク分野別バーチャルラボ9領域全体で選考した。

## 2. 主要業績

### 2-1 外部発表及び特許出願

研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」外部発表及び特許出願  
(研究代表者毎)

		論文発表		口答発表		出版物		外部発表	特許出願	
		国内	国外	国内	国外	国内	国外	合計	国内	PCT
平成 15 年度	相沢 慎一	1	6	7	0	0	0	14	0	0
	伊藤 博康	0	2	11	4	0	0	17	0	0
	遠藤 斗志也	3	12	25	4	0	0	44	0	0
	神谷 律	0	11	14	6	0	0	31	0	0
	原口 徳子	3	7	19	4	0	0	33	1	0
	原田 慶恵	9	1	33	5	0	0	48	0	0
	藤吉 好則	2	3	12	9	0	0	26	1	0
	柳田 敏雄	0	1	8	5	0	0	14	0	0
	二井 将光	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平成 16 年度	相沢 慎一	2	11	28	10	0	0	51	1	0
	伊藤 博康	4	3	12	3	0	0	22	0	0
	遠藤 斗志也	0	10	25	9	0	0	44	0	0
	神谷 律	0	14	15	16	0	0	45	0	0
	原口 徳子	0	7	17	6	0	0	30	1	1
	原田 慶恵	0	6	16	3	0	0	25	0	0
	藤吉 好則	0	4	9	6	0	0	19	0	0
	柳田 敏雄	0	5	9	7	0	0	21	0	0
	二井 将光	0	3	4	4	0	0	11	0	0
	高田 彰二	0	1	27	1	0	0	29	0	0
平成 17 年度	相沢 慎一	0	9	9	8	0	0	26	0	0
	伊藤 博康	2	0	6	4	0	0	12	1	0
	遠藤 斗志也	0	7	13	3	8	0	31	0	0
	神谷 律	0	7	5	3	0	0	15	0	0
	原口 徳子	1	5	8	3	0	0	17	0	0
	原田 慶恵	1	2	8	3	2	1	17	0	0
	藤吉 好則	0	8	9	3	1	0	21	1	0
	柳田 敏雄	0	3	2	8	0	0	13	0	0
	二井 将光	0	5	5	1	1	0	12	0	0
高田 彰二	4	6	11	5	2	0	28	0	0	
領域合計		32	159	367	143	14	1	716	6	1

研究領域「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」外部発表及び特許出願  
(年度毎)

	論文発表		口答発表		出版物		外部発表	特許出願	
	国内	国外	国内	国外	国内	国外	合計	国内	PCT
H15	18	43	129	37	0	0	227	2	0
H16	6	64	162	65	0	0	297	2	1
H17	8	52	76	41	14	1	192	2	0
領域合計		32	159	367	143	14	716	6	1

## 2-2 代表的な論文

平成14年度採択課題

研究課題名： 生物ナノマシン回転運動の一般化作動機構の解明

研究代表者： 相沢慎一（県立広島大学生命環境学部）

① Shibata, S., Alam, M., and Aizawa, S.-I. (2005) Flagella of the deep-sea bacteria *Idiomarina loihiensis* belong to a family different from *Salmonella* flagella, *J. Mol. Biol.* **352**, 510-516.

これまで漫然と右巻きも左巻きもいろいろなピッチのべん毛があると考えられていたが、大きなピッチのもの(FamilyI)と小さなピッチのもの(FamilyII)に大別できることがわかった。さらに FamilyI は周毛性、FamilyII は局毛を形成していた。この2種への大別は、べん毛運動の流体力学的な要請に基づくと思われるので、その理論的根拠が注目されている。

② Sowa Y., Rowe, A.D., Leake, M.C., Yakushi, T., Homma, M., Ishijima, A. & Berry, R.M. (2005). Direct observation of steps in rotation of the bacterial flagellar motor. *Nature* **437**, 916-919.

大腸菌内でナトリウム駆動型として機能するキメラモーターを用い、入力エネルギーを減少させ、相互作用するモーターユニットを1分子レベルにすることで、低回転速度を作り出した。この条件下で、微小ビーズを繊維部分に付着させ、その重心位置をナノ計測することで、モーターは約14°を基本単位とするステップ状の回転をすることを検出した。

③ Asai, Y., Yakushi, T., Kawagishi, I. & Homma, M. (2003). Ion-coupling determinants of Na<sup>+</sup>-driven and H<sup>+</sup>-driven flagellar motors. *J. Mol. Biol.* **327**, 453-463

大腸菌 MotAB と海洋性細菌 PomAB の間でキメラタンパク質を作成し、それらの機能を解析した。A subunit と B subunit の膜貫通領域が Na<sup>+</sup> 型、B subunit の細胞外領域が MotB 由来のキメラモーター (PomA/PotB7<sup>E</sup>) は、驚くべきことに、MotXY を必要とせず、AB subunit 単独で Na<sup>+</sup> 駆動型モーターとして、大腸菌 Mot<sup>-</sup> 株中でも Na<sup>+</sup> 駆動型モーターとして機能した。その遊泳速度は、本来の H<sup>+</sup> 駆動型によるものより速かった。大腸菌の H<sup>+</sup> 駆動型べん毛モーターを Na<sup>+</sup> 駆動型モーターに変換できたことにより、イオン特異性解明に大きく貢献すると考えられる。

研究課題名： タンパク質分子モーターを利用したナノメカノケミカルマシンの創成

研究代表者： 伊藤博康（浜松ホトニクス(株)筑波研究所）

① Hiroyasu Itoh, Akira Takahashi, Kengo Adachi, Hiroyuki Noji, Ryohei Yasuda, Masasuke Yoshida, and Kazuhiko Kinoshita, Jr. "Mechanically driven ATP synthesis by F<sub>1</sub>-ATPase" *Nature*, **427** (2004) 465-468.

分子モーターである ATP 分解酵素のローターである  $\gamma$  サブユニットに磁性ビーズをとりつけ、強制的に逆回転することにより、F<sub>1</sub>-ATPase が ADP と Pi から ATP を合成し溶液中に放出することを証明した。力学的エネルギーの化学エネルギーへの直接変換に初めて成功した

② Takayuki Nishizaka, Kazuhiro Oiwa, Hiroyuki Noji, Shigeki Kimura, Eiro Muneyuki, Masasuke Yoshida, and Kazuhiko Kinoshita, Jr. "Chemomechanical coupling in F<sub>1</sub>-ATPase revealed by simultaneous observation of nucleotide kinetics and rotation" *Nature Struct. Mol. Biol.*, **11** (2004) 142-148.

ATP 分解酵素 F<sub>1</sub>-ATPase の三つの ATP 活性部位への ATP の結合と、 $\gamma$  サブユニットの回転を同時に可視化することのできる光学顕微鏡システムの開発により、Binding Exchange Mechanism (回転と ATP 結合、解離の関係) を初めて可視化した。ATP 加水分解がされるのは、三つの結合部位の1つに ATP が結合したあと、 $\gamma$  サブユニットが120度回転し、次の結合部位に ATP が結合し、さらに120度回転

して、最初の ATP が加水分解されて放出される。

③ Ryohei Yasuda, Tomoko Masaike, Kengo Adachi, Hiroyuki Noji, Hiroyasu Itoh, and Kazuhiko Kinosita, Jr. "The ATP-waiting conformation of rotating  $F_1$ -ATPase revealed by single-pair fluorescence resonance energy transfer" **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **100** (2003) 9314-9318.

$F_1$ -ATPase が回転分子モーターであることの証明のきっかけとなった Walker の結晶構造のモデルは、ATP 加水分解中（80度）の構造であることを、活性部位である  $\beta$  サブユニットと、ローターである  $\gamma$  サブユニットにとりつけた蛍光色素のエネルギー移動のふるまいにより証明した。Walker の結晶構造モデルには ATP が2個ついているので、ATP の加水分解による回転はバイサイトモデルで説明できる

**研究課題名：** タンパク質トランスロケータの作動原理の解明

**研究代表者：** 遠藤斗志也（名古屋大学大学院理学研究科）

① M. Esaki, T. Kanamori, S. Nishikawa, I. Shin, P. G. Schultz, and T. Endo, Tom40 protein import channel binds to non-native proteins and prevents their aggregation **Nature Struct. Biol.** **10**, 988-994 (2003)

ミトコンドリアタンパク質は、ミトコンドリアの外膜と内膜の二枚の生体膜を通過して、ミトコンドリア内に取り込まれる。この膜透過を担う外膜上のトランスロケータのタンパク質を通す孔の性質を解析した。その結果、この孔がつるつるではなく、膜透過するアンフォールドしたタンパク質を保護するシャペロンとしての機能を有することを発見した。

② D. Ishikawa, H. Yamamoto, Y. Tamura, K. Moritoh, and T. Endo Two novel proteins in the mitochondrial outer membrane mediate  $\beta$ -barrel protein assembly **J. Cell Biol.** **166**, 621-627 (2004)

ミトコンドリアへのタンパク質移行は、外膜と内膜のトランスロケータ複合体が担う。トランスロケータ複合体を構成する因子はすべて同定されたと考えられていたが、最近まだ同定されていない新因子が多数残っているらしいことがわかり、その同定に向けて競争が繰り広げられている。ここでは外膜の  $\beta$  バレル型膜タンパク質のミトコンドリア移行に関わる新規因子を2種類発見し、その機能を明らかにすることに成功した。

③ A. Takano, T. Endo, and T. Yoshihisa tRNA actively shuttles between the nucleus and cytosol in yeast. **Science** **309**, 140-142 (2005)

従来、タンパク質は合成された場所から機能すべき場所に移行することが重要であるが、RNA は核で転写されればその後サイトゾルに移行するだけ、と考えられていた。しかし今回、tRNA が核からサイトゾルに移行した後、再び核に戻ることを発見した。tRNA が核とサイトゾルを行き来していることは、tRNA の品質管理において重要な可能性もあり、RNA のトラフィックがタンパク質トラフィックと同様に重要であることを初めて示す発見となった。

**研究課題名：** 振動するバイオナノマシンの原理と構築

**研究代表者：** 神谷 律（東京大学大学院理学系研究科）

① Matsuura, K., Lefebvre, P.A., Kamiya, R. and Hirono, M. Bld10p, a novel protein essential for basal body assembly in *Chlamydomonas*: localization to the cartwheel, the first nine-fold symmetrical structure appearing during assembly. **J. Cell Biol.** **165**, 663-671. (2004).

鞭毛の基部体は動物細胞の中心子と相同の構造を持つが、この小器官が形成される機構は細胞生物学上の大きな謎とされている。本論文は、その構造形成過程の初期に異常がある変異株を作製・解析した結果を報告したものである。この分野で最も重要な雑誌の一つ JCB の表紙をかざった。また、顕著な発見として、他の有力誌にも紹介された。

② Aoyama, S. and Kamiya, R. Cyclical interactions between two outer doublet microtubules in split flagellar axonemes. **Biophys. J.** **89**, 3261–3268. (2005).

鞭毛の内部構造を部分的に破壊した実験系を作製し、2本の微小管だけで周期的な振動運動を発生できることを示した。その現象の解析から、鞭毛における屈曲波の伝播機構について、新しい考えを提唱した。

③ Yagi, T., Minoura, I., Fujiwara, A., Saito, R., Yasunaga, T., Hirono, M. and Kamiya, R. An axonemal dynein particularly important for flagellar movement at high viscosity: implications from a new *Chlamydomonas* mutant deficient in the dynein heavy chain gene *Dhc9*. **J. Biol. Chem.** **280**, 41412–41420. (2005).

鞭毛・繊毛の運動を駆動するダイニンには、内腕、外腕と呼ばれる構造中に多くの分子種が含まれる。本研究では、特定の内腕ダイニン分子種を欠いた変異株の解析から、単頭型ダイニンと呼ばれるダイニンの構造と機能の興味深い特徴を明らかにした。このタイプのダイニンのアミノ酸配列が決定されたのは全生物種を通じて初めてのことであり、鞭毛運動機構の解明のために重要である。

④ Masaya Nishiura, Takahide Kon, Katsuyuki Shiroguchi, Reiko Ohkura, Tomohiro Shima, Yoko Y. Toyoshima, Kazuo Sutoh, A single-headed recombinant fragment of Dictyostelium cytoplasmic dynein can drive the robust sliding of microtubules. **J. Biol. Chem.** **279**, 22799–22802 (2004)

運動機能を有するダイニンモータードメインを世界で初めて発現させることに成功し、その発現・運動システムについて報告した。

⑤ Takahide Kon, Masaya Nishiura, Reiko Ohkura, Yoko Y. Toyoshima, and Kazuo Sutoh. Distinct functions of nucleotide-binding/hydrolysis sites in the four AAA modules of cytoplasmic dynein, as revealed by biochemical characterizations of recombinant fragments. **Biochemistry** **43**, 11266–11274 (2004)

ダイニン AAA モジュールの WalkerA, WalkerB モチーフに変異を導入して、4箇所の AAA モジュールが微小管滑り運動に果たす役割を調べた。その結果、細胞質ダイニンでは3箇所の ATP 加水分解部位があるが、そのうち第一番目の AAA モジュールの ATP 加水分解が滑り運動と共役していることが示された。

⑥ Takahide Kon, Toshifumi Mogami, Reiko Ohkura, Masaya Nishiura & Kazuo Sutoh. ATP-hydrolysis cycle-dependent stem motions in cytoplasmic dynein. **Nature Structural and Molecular Biology** **12**, 513–519 (2005)

GFP, BFP 融合ダイニンモータードメインを用いて、FRET (蛍光エネルギー遷移測定) によりダイニン尾部のパワーストロークを検出した。

研究課題名： 遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製

研究代表者： 原口 徳子 ((独) 情報通信研究機構関西先端研究センター)

① Chikashige, Y., Tsutsumi, C., Yamane, M., Okamasa, K., Haraguchi, T. and Hiraoka, Y. (2006) Meiotic proteins Bqt1 and Bqt2 tether telomeres to promote the bouquet arrangement of chromosomes in fission yeast. **Cell (in press)**.

染色体と核膜の相互作用を研究する一環として、分裂酵母の減数分裂期の染色体を核膜につなぎ止めるタンパク質の解析を行った。その結果、減数分裂の染色体を核膜上の SPB につなぎ止める因子として Bqt1、Bqt2 と名付けた2つのタンパク質を発見した。これらのタンパク質はテロメアを SPB に結合させるために両方が必要であること、テロメアと SPB にはそれぞれ Rap1 と Sad1 を介して結合することを発見した。

② Haraguchi, T., Holaska, J. M., Yamane, M., Koujin, T., Hashiguchi, N., Mori, C., Wilson, K. L. and Hiraoka, Y. (2004) Emerin binding to Btf, a death-promoting transcriptional repressor, is disrupted by a missense mutation that causes Emery-Dreifuss muscular dystrophy. **Eur J Biochem.** **271(5): 1035-1045**

核膜タンパク質の異常によって起こる遺伝病エマリードライファス筋ジストロフィーの原因を調べるために、原因タンパク質であるエメリンと結合する因子を検索し、アポトーシス促進性の転写抑制因子である Btf を同定した。このタンパク質は核タンパク質であり、アポトーシスを誘導するとエメリンと結合することを示した。

③ Miyamoto, Y., Saiwaki, T., Yamashita, J., Yasuda, Y., Kotera, I., Shibata, S., Shigeta, M., Hiraoka, Y., Haraguchi, T., and Yoneda, Y. (2004) Cellular stresses induce the nuclear accumulation of importin- $\alpha$  and cause a conventional nuclear import block. **J. Cell Biol.** **165: 617-623.**

細胞に UV 照射や熱ショックなどのストレスを与えると細胞核の核移行能が変化することを発見した。その原因として核輸送因子であるインポータイン  $\alpha$  が核内に蓄積し、Ran が細胞質に多くなるなど、核移行に必要な因子が異常になっていることを示した。同じ条件でも熱ショックタンパク質である hsc70 の核輸送は影響を受けず、ストレス時には通常の核輸送を止めてストレスタンパク質を選択的に核に輸送するシステムが存在することを示した。

**研究課題名：** DNA 分子モーターの動作原理の解明

**研究代表者：** 原田 慶恵 ((財) 東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所)

① Yoshie Harada Studies on Biomolecules Using Single Molecule Imaging and Manipulation Techniques. **Sci. Tech. Adv. Mat.** **5, 709-713, 2004**

1 分子イメージング顕微鏡法と 1 分子操作技術を使って生体分子の機能を調べた。

② Takayuki Ohnishi, Takashi Hishida, Yoshie Harada, Hiroshi Iwasaki and Hideo Shinagawa Structure-function analysis of the three domains of RuvB DNA motor protein. **J. Biol. Chem.** **280, 30504-30510, 2005**

3つのドメイン構造で構成されている RuvB 蛋白質の個々のドメインについて解析した。また、それぞれのドメインが協調して働くことにより RuvB は分岐点移動を促進することが示唆された。

③ Yashiro Sasuga, Tomomi Tani, Masahito Hayashi, Hisashi Yamakawa, Osamu Ohara and Yoshie Harada Development of a microscopic platform for real-time monitoring of biomolecular interactions. **Genome Research,** **16, 132-139, 2006**

生体分子などを固定したマイクロビーズを光ピンセットで捕捉し、さらに光反応性の架橋剤を用いてガラス基板上に固定する操作を繰り返すことで、高密度集積マイクロビーズアレイを作成する方法を考案した。

**研究課題名：** 高次細胞機能構造体観察・制御技術の開発

**研究代表者：** 藤吉 好則 (京都大学大学院理学研究科)

① A. Miyazawa, Y. Fujiyoshi and N. Unwin Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. **Nature,** **423, 949-955 (2003).**

極低温電子顕微鏡を用いて、ニコチン性アセチルコリン受容体の構造を 4Å で解析した論文。これにより、このタイプの受容体の原子モデルが作製された初めての例で、神経伝達物質によるゲーティング機構などが提案された。



② Y. Murata, T. Doi, H. Taniguchi, and Y. Fujiyoshi Proteomic analysis revealed a novel synaptic proline-rich membrane protein (PRR7) associated with PSD-95 and NMDA receptor. **Biochem. Biophys. Research Communications**, **327**, 183-191 (2005).

ポストシナプスに存在するタンパク質をプロテオミクス的手法で解析し、PRR7と名付けた新しい膜タンパク質を発見した。この分子の機能の解析を行った結果、PSD-95とNMDA受容体と結合することが解明された。

③ T. Gonen, Y. Cheng, P. Sliz, Y. Hiroaki, Y. Fujiyoshi, S. C. Harrison, T. Walz, Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals. **Nature.**, **438**, 633-638 (2005).

目の水晶体線維細胞に発現している水チャネル、アクアポリン-0の構造を電子線結晶学を用いて1.9Å分解能で解析した。脂質や水分子の配置などの構造も解明され、脂質膜の中に強固に構成されている機構などが解明された。

研究課題名： ゆらぎと生体システムのやわらかさをモデルとするソフトナノマシン

研究代表者： 柳田 敏雄 (大阪大学大学院生命機能研究科)

① T. Watanabe, H. Tanaka, A. Iwane, S. Maki-Yonekura, K. Homma, A. Inoue, R. Ikebe, T. Yanagida, M. Ikebe A one-headed class V myosin molecule develops multiple large steps successively. **PNAS** **101**, 9630-9635 (2004)

単頭のみオシンVが双頭と同じように大きなステップで連続的に運動することを示した。これまで単頭のみオシンでは運動の途中でアクチンフィラメントからはずれてしまっただけで連続運動はできないものと考えられていた。分子モーターの運動のメカニズムを考える上で画期的な論文である。

② Y. Taniguchi, M. Nishiyama, Y. Ishii, T. Yanagida Entropy rectifies Brownian steps of kinesin **Nature Chemical Biology** **1**, 342 (2005)

前後にステップしながら1方向性の運動をするキネシンの運動を1分子計測し、熱力学的に解析を行った。その結果、方向性のないブラウン運動は前後のエントロピー差によって方向性が生じ1方向への運動をすることがわかった。

③ J. Kozuka, H. Yokota, Y. Arai, Y. Ishii, T. Yanagida Dynamic polymorphism of single actin molecules in the actin filament **Nature Chemical Biology** **2**, 83 (2006)

アクチン分子は動的な多型性を持つことが1分子蛍光イメージングを使って示された。とりわけ、みオシンの運動性に関して、活性型、抑制型の2つの動的平衡にあり、みオシンの結合によって、アクチンの形態が変化することが示された。このような動的な多型性はみオシンのルールとして、細胞運動の調整機構として重要であることがわかった。

平成15年度採択課題

研究課題名： 高効率ナノモーターとしてのプロトンポンプの分子機構解明

研究代表者： 二井 将光 ((財)微生物化学研究会生物化学研究センター)

① M. Nakanishi-Matsui, S. Kashiwagi, H. Hosokawa, S. D. Dunn, D. J. Cipriano, Y. Wada, and M. Futai, Stochastic high-speed rotation of Escherichia coli ATP synthase F<sub>1</sub> sector: The ε subunit-sensitive rotation. **J. Biol. Chem.**, **281**, 4126-4131 (2006).

F-ATPase (FoF<sub>1</sub> ATP synthase)のF<sub>1</sub>部分のγサブユニットに直径40nmから200nmの金粒子をつけ、ATP加水分解に依存した回転を、レーザー光源を用いて、暗視野顕微鏡下に観察した。その結果、F<sub>1</sub>の回転にはゆらぎがあること、ミリ秒の分解能で見ると約10%の分子が回転していること、εサブユニッ

トは回転を停止させること等を明らかにした。

- ② T. Hirata, A. Iwamoto-Kihara, T. Okajima Y. Wada and M. Futai, Subunit rotation in vacuolar-type proton pumping ATPase: Relative rotation of *G* as to *c* subunit. **J. Biol. Chem.**, **278**, 23714 - 23719 (2003).

リソソーム、エンドソーム等のプロトンポンプである V-ATPase をガラス表面に固定し、*G* サブユニットにアクチンフィラメントをプローブとして結合させた。V-ATPase の ATP 加水分解に伴ってフィラメントが回転し、F-ATPase あるいは  $F_1$  と同様の物理的性質を示した。

- ③ G.-H. Sun-Wada, Y. Murata, M. Namba, A. Yamamoto, Y. Wada, Y., and M. Futai, Mouse proton pump ATPase C subunit isoforms (C2-a and C2-b) specifically expressed in kidney and lung. **J. Biol. Chem.**, **278**, 44843 - 44851 (2003).

マウスのプロトンポンプ ATPase のストーク部分を形成する *C* サブユニットに  $C_{2a}$  (腎臓特異的)  $C_{2b}$  (肺特異的) のイソフォームがあることを発見した。普遍的に存在する  $C_1$  と比較したところ、 $C_{2a}$ 、 $C_{2b}$  を持つ V-ATPase は  $C_1$  を持つものに比較してプロトン輸送活性が低かった。

平成 16 年度採択課題

研究課題名： バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング

研究代表者： 高田 彰二 (神戸大学理学部)

- ① K. Itoh and M. Sasai, Dynamical transition and proteinquake in photoactive yellow protein, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101, No. 41, 14736-14741 (2004).

蛋白質が複数の異なる状態をとる場合、対応する自由エネルギー極小間の遷移を陽に扱う必要がある。エネルギーランドスケープ理論は、こうした遷移をエネルギー面上の拡散運動として記述し、多くの実験を説明してきた。本論文では、水溶性の光受容蛋白である photoactive yellow protein (PYP) を例にとり、速いモード運動と遅いエネルギーランドスケープ上の運動がいかに関係するか？という問題を考え、光受容によって局所的なアンフォールディングを含む大きな構造変化が引き起こされる機構を解明した。

### 3. 受賞等

平成 18 年 3 月 1 日現在

	賞の名称	授与者名	受賞月
藤吉 好則	科学技術政策担当大臣賞	産学官連携功労者	2005 年 6 月
藤吉 好則	名誉博士	クルージュナボカ医科薬科大学	2005 年 10 月
藤吉 好則	山崎貞一	財団法人材料科学技術振興財団	2005 年 11 月
藤吉 好則	慶應医学賞	慶應義塾医学振興基金	2005 年 12 月
藤吉 好則	島津賞	財団法人島津科学技術振興財団	2006 年 2 月
前田 正洋	最優秀ポスター賞	第 15 回フラビンおよびフラビン蛋白質に関する国際会議	2005 年 4 月

#### 4. シンポジウム等

平成 18 年 3 月 1 日

シンポジウム名	日時	場所	参加者	演題数
第 1 回領域会議	H15.9.3~4	名古屋ガーデンパレス	非公開 (総括・アドバイザー・研究代表者・共同研究者・他研究要員)	8 演題
第 2 回領域会議	H16.10.7~8	住友生命名古屋ビル	非公開 (総括・アドバイザー・研究代表者・共同研究者・他研究要員)	15 演題
第 3 回領域会議	H17.10.13~14	名古屋大学鶴友会館	非公開 (総括・アドバイザー・研究代表者・共同研究者・他研究要員)	15 演題

#### 5. その他の重要事項 (新聞・雑誌・テレビ等)

主要報道は以下の通り

- ・「腎臓の機能、たんぱく質再吸収、酵素が作用 微生物化学研」(2006. : 日経産業新聞: 二井チーム)
- ・「生きた細胞の動きを立体的に可視化 DNA やたんぱく質をその場で観察 DDS の評価や遠隔医療に道」(2003. 10: ナノテク専門ニューズレター 日経 先端技術 vol. 48:1-3: 原口チーム)
- ・「ひらめきの瞬間 21 世紀の担い手たち」(2003. 03 号: 日経サイエンス、2003. 12: Japan Medicine 、2003. 12: 月刊薬業、2005. 3: 日経産業新聞: 原田チーム)
- ・「極低温電顕を開発 京大 藤吉教授に慶應医学賞」(2005. 11: 科学新聞 他: 藤吉チーム)
- ・「体内で水だけ高速透過「水チャンネル」高精度で構造解析 水分子の動きも確認」(2005. 12: 京都新聞 他: 藤吉チーム)
- ・「たんぱく質 生命をかたちづくるもの 第IV部極低温で “生きた姿” 解析困難だった膜たんぱく 構造研究に電子顕微鏡技術」(2005. 12: 読売新聞: 藤吉チーム)
- ・「細菌の「モーター」観察」(2005. 10: 朝日新聞: 相沢チーム)
- ・「バクテリア鞭毛モーター 回転運動ステップ状変位計測」(2005. 10: 科学新聞: 相沢チーム)
- ・「細菌のべん毛 動く仕組み解明」(2005. 10: 日経産業新聞: 青沢チーム)
- ・「バクテリアのべん毛回転を解明 ナノマシン開発に貢献」(2005. 10: 日刊工業新聞: 相沢チーム)
- ・「バクテリアべん毛モーター 回転ステップ状変位を計測」(2005. 10: 化学工業新聞: 相沢チーム)
- ・「たんぱく質動く仕組み解明」(2005. 10: 日本経済新聞朝刊: 柳田チーム)
- ・「レーザー技術で発見・ノイズ利用し”歩く”」(2005. 10: 読売新聞朝刊: 柳田チーム)
- ・「分子モータのエネルギー変換機能「逆回転も可」を確認」(2004. 1: 日本工業新聞: 伊藤チーム)
- ・「生命エネルギー合成再現 分子モーター回転で成功」(2004. 1: 静岡新聞: 伊藤チーム)
- ・「生命活動エネルギー源 ATP 人工合成に成功」(2004. 1: 中日新聞: 伊藤チーム)
- ・「たんぱくモーター」制御 ATP 合成に成功」(2004. 1: 日経産業新聞: 伊藤チーム)
- ・「生命活動のエネルギー源「アデノシン 3 リン酸」人工合成に成功”分子の機械”への応用期待」(2004. 1: 日刊工業新聞: 伊藤チーム)
- ・「生物のエネルギー源 ATP 合成法を実証」(2004. 2: 読売新聞: 伊藤チーム)
- ・「技術トレンド本社調査「先進性」への評価が高かった上位 2 1 テーマ 最高点は東工大・浜松ホトニクス、生物のエネルギー合成」(2004. 12: 日本経済新聞: 伊藤チーム)
- ・『「ナノマシン」の開発を目指せ!』(2004. 7: NHK 教育テレビ「サイエンス ZERO」: 伊藤チーム)

#### 6. その他の添付資料

なし

## 7. 中間評価結果

### 平成14年度採択課題平成17年度中間評価結果

1-1. 研究課題名：生物ナノマシーン回転運動の一般化作動機構の解明

1-2. 研究代表者名：相沢 慎一（県立広島大学生命環境学部 教授）

1-3. 研究概要：

バクテリアのべん毛モーターは水素イオンの流れで回転する運動器官であるが、いまだにその作動原理はわからない。本研究では、バイオインフォマティクス手法でべん毛構成タンパク質の起源を探り、それぞれのパーツの由来および機能特性を明らかにすることで回転運動の起源を探る。この手法はべん毛モーターのみならず、細胞表面上の物質輸送装置など種々のナノマシンの作動機構解明にも役立つ。

1-4. 中間評価結果

1-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

研究は当初の計画に沿って順調に進んでいる。べん毛の回転機構について、遺伝的解析と個体観察を併用した共同研究によって、定説を覆す複雑な多くの知見を見出している。べん毛の回転機構に対して、トルク発生に関わる再検討すべき本質的な問題を明らかにしつつある。この研究体制が遺伝子解析と生化学を専門とする本間グループと顕微鏡による回転計測、構造観察に優れた相沢グループからなることが非常に有効に機能している。他の運動蛋白質と同様にべん毛のトルク発生のメカニズムの解明には、まだまだ時間を要するが、このチームの研究はユニークでこの分野の今後の進展の突破口を開くことが期待される。

1-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

べん毛形成過程についての定説、トルク発生のメカニズムに関する定説を覆す事実の発見等、発表済みの成果以外にも、これまで未知であった、新しい運動器官を持つ細菌の研究でも世界的に最高のレベルを持つ集団である。その中から技術として産業化に結びつく研究も進めており、研究代表者自身も技術への指向を持っている。今後の期間でトルク発生ユニットの特定、産業化に結びつく研究が成果として期待できる。

1-4-3. 今後の研究に向けて

定説を覆すいくつかのユニーク概念を提出しているが、一度定着した定説を覆すには多大の労力を要する。そのための実験事実の積み重ねが求められる。トルク発生のメカニズム解明に近づくにつれ、研究の対象がナノ計測まで広がりつつあり、現体制でその分野の研究要員、研究設備の確保が急務となっている。これについては場合によっては当領域に属する一分子計測専門の他チームとの連携も視野にいれるべきであり、具体化しつつある。必要があれば、領域を超えた共同研究も予算措置が可能であれば有効であろう。また、海外の研究機関、人材との交流、共同研究を頻繁に行っており、この分野での世界的な中心となっている。

1-4-4. 戦略目標に向けての展望

課題名にある機構の完全な解明は先の話であるが、そのために避けて通れない定説の地道な見直しを着実に進めており、その中から突破口が開けることが期待される。

1-4-5. 総合的評価

このグループは同時期に採択されたICORPの超分子ナノマシンとともにJSTの前身の新技术開発事業団におけるERATOの流れの一つであり、この分野では日本の研究が世界をリードしている。この間に計測技術は日本の貢献によって大きく進歩しており、構造解析のICORPと機能解明のこの

グループが両輪となってメカニズム解明を目指している。このグループの研究は今後の研究の基盤を現在の進んだ計測技術を用いて検証し修正するという大きな役割を果たしている。

2-1. 研究課題名：タンパク質分子モーターを利用したナノメカノケミカルマシンの創製

2-2. 研究代表者名：伊藤 博康（浜松ホトニクス(株)筑波研究所 主任部員）

2-3. 研究概要：

生体内には、化学的エネルギーを力学的エネルギーに直接変換するタンパク質やRNA でできた分子機械があるが、分子機械を「力づくで化学反応を逆行させる」ことを人工的に実現した例は未だない。分子機械に、力を加えて(力学的操作)化学合成を行わせる、あるいは力により化学反応を制御するというナノメカノケミカルマシンを創り出すことを目指す。これまで予想されなかった機能を実現することにより、ソフトナノマシンとしての分子機械のメカニズムの解明に資するだけでなく、バイオテクノロジーの新機軸の一つとなることが期待される。

2-4. 中間評価結果

2-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

当初の計画にある、人工的な仕事による ATP の合成について、競争の中で先んじて成果をあげ、そこで開発した操作技術、微細加工技術、計測技術をもとに次の段階の人工のメカノケミカル合成システムの構築への研究を行っている。困難ではあるか明確な目標、研究計画に基づいて順調に進んでいる。

2-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

高い精度の操作技術の開発と、合成された微量の ATP の検出技術を用いて、F1-ATPase による人工的な ATP の合成に成功した。課題の掲げた明確な目標の一つを2年を待たずして達成し、学会のみならず社会的にも大きな反響があった。この成功は課題の掲げた「マシンの創製」の基盤技術開発上の成果としてだけでなく、ケモメカニカル変換器としての F1-ATPase の合成メカニズムの直接的証明として大きな成果でもある。本課題は前者に重きを置いているが、エネルギー変換器としてのエナジェティックスの研究は学問的に重要なテーマであり、研究体制の拡充により今後その面での予想外の進展が期待できる準備が整ったといえる。

2-4-3. 今後の研究に向けて

本研究の成果は、適当な対象に対して、人工的メカノケミカルシステムの可能性をひらく成果であり、技術としての応用を視野にいたした工学としてのシステム化に向かうことを期待している。また、代表者も述べているように、終了時までには分子モーターの設計図を完成してほしい。さらに、生体エネルギー変換系の一般的な問題である入出力の計測を可能にする技術でもあり、メカニズム解明を目指す研究に大きく貢献することが期待できる。

2-4-4. 戦略目標に向けての展望

本領域中でも、明確に工学的応用を視野にいたした課題である。終了期間内での具体的応用は期待するものではないが、ここで開発した技術は将来のバイオテクノロジーの基盤技術となるものである。

2-4-5. 総合的評価

研究目標が明確であり、順調に研究も進んでいる。さらに、メカニズムに迫る研究も準備も整い、強力な共同研究者との協力により今後大きな成果を期待できる。

3-1. 研究課題名：タンパク質トランスロケータの作動原理の解明

3-2. 研究代表者名：遠藤 斗志也（名古屋大学大学院理学研究科 教授）

3-3. 研究概要：

生体膜を舞台とするタンパク質の精密配置を制御するのが、タンパク質トランスロケータである。本研究では、トランスロケータによる局在化シグナル読み取りの仕組み、タンパク質通過用チャンネルの機能、モータ機能の原動力、膜へのタンパク質組込みの仕組みの解明を目指す。オルガネラや細胞表層機能の改変、新しいドラッグデリバリーシステムや膜を足場とした精密なタンパク質集積技術の開発などへの展開が期待される。

3-4. 中間評価結果

3-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

採択時には単一と考えられていたタンパク質トランスロケータの新しい因子が次々に発見され、トランスロケータ研究の流れが因子発見の世界的競争に向かっている。そのため当初の研究計画において予定されていたメカニズムの解明の段階に至っていない。その中で、このグループは精力的に研究を進め、いくつかの新しいトランスロケータを発見し、さらにシャペロン機能、トランスロケータ機能について新しい知見を得ている。現段階でのこの分野の状況は多様化の方向に向かっている。

3-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

新しいトランスロケータの発見とその構造解析、物理化学的解析など多くの成果をあげており、激しい競争の先頭を行くグループである。このグループの総合的な研究能力を生かし、今後もこの分野で世界をリードしていくと考える。

3-4-3. 今後の研究に向けて

当初の状況とは異なる多様化の方向への展開の中で、機能解明を目指すためには、複合体の構造解析が重要である。個々のサブユニットの構造解析を積上げてトランスロケータの機能に迫る戦略では限界がある。構造解析可能な安定な複合体の調整が鍵を握ると思われる。

3-4-4. 戦略目標に向けての展望

当初の研究計画と状況が変化して、総合的研究能力が問われる中で、このチームはミトコンドリアを対象とする遠藤グループと小胞体を対象とする坂口グループで構成され、研究状況の変化に対応する総合力を有する。2つのグループ間での連携は良好であり、今後もこの分野で主導的地位を保つと考える。

3-4-5. 総合的評価

新規トランスロケータや、新規トランスロケーション機構の発見など、当初の予想を大きく超える成果が出ており、グループ間の連携も申し分ない。

4-1. 研究課題名：振動するバイオナノマシンの原理と構築

4-2. 研究代表者名：神谷 律（東京大学大学院理学系研究科 教授）

4-3. 研究概要：

鞭毛繊毛は高速の波動運動を行う細胞器官で、原生動物からヒトにいたる多くの生物で細胞の運動や物質の輸送に重要な働きをしている。本研究では、その波動を作り出している主要なタンパク質を使って、高速振動を行うナノマシンを人為的に構築する方法を開発する。そのような微小振動装置は医療分野でドラッグデリバリーなどへの広い応用が考えられるとともに、工学分野で微小のアクチュエーターとして使われる可能性を秘めている。

#### 4-4. 中間評価結果

##### 4-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

振動運動再構成という具体的課題にむけて、構造機能連関をいくつかのアプローチで進めており、いずれの課題も着実に進んでいる。高次の生体分子システムとして今後の展開が期待できる。

##### 4-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

ダイニン内腕を構成する蛋白質の遺伝子解析の他、豊島グループによる細胞質ダイニンの一分子計測、ダイニン重鎖の結晶化などの進展があった。2年目を迎えた本多グループでは運動観察の再現性を飛躍的に向上させ信頼できるデータが得られた。鞭毛の構造、運動機能単位、運動メカニズムの階層を異にする3つのグループが共同することで、250種類もの蛋白質から構成される複雑なシステムの理解につながると思われる。

##### 4-4-3. 今後の研究に向けて

対象がきわめて複雑な系であり、構造と振動現象の本質的な関連を解明することは困難と思われる。軸糸微小管架橋蛋白質の同定を進めている点は今後も継続すべきである。振動系についての大胆なモデル構築を期待する。また、本多グループで想定している範囲を蛋白質重合体に限定すべきではないと考える。

##### 4-4-4. 戦略目標に向けての展望

目標とする振動運動を発生する分子機械の構築は今後2年で可能と考えられる。その先に鞭毛レベルの構造体の再構築にどこまで迫れるか期待する。

##### 4-4-5. 総合的評価

複雑な鞭毛という複合体の研究を中心とした神谷グループが力発生のユニットマシンを対象としている豊島グループ、及び、力発生メカニズムの一つであるファインマンラチェットについての検証を行っている本多グループという階層の異なる2つのグループと連携したことにより今後新しい展開が期待される。この分野で世界的にリードする存在になっている。

#### 5-1. 研究課題名：遺伝子デリバリーシステムとしての人工細胞核の創製

5-2. 研究代表者名：原口 徳子 ((独) 情報通信研究機構関西先端研究センター 主任研究員)

#### 5-3. 研究概要：

細胞核は染色体分離に先がけて崩壊し、染色体分離が完了すると染色体の周りに核膜が自己集合的に形成されることにより、再形成される。本研究は、まず、染色体の周りに核膜が形成される機構を明らかにし、さらに、その原理を利用し操作することにより特殊機能を持った人工細胞核を創ることを目指す。これにより、遺伝子治療や薬剤投与などに役立つ特殊な機能をもった遺伝子デリバリーシステムの開発が期待される。

#### 5-4. 中間評価結果

##### 5-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

細胞レベルのイメージング技術の開発が順調に進み、電顕観察との対応により核形成に関連した蛋白質の同定と相互作用、ダイナミクスを明らかにしてきた。未知の部分の多い新しい分野でありこのグループの開発した観察技術により今後多くの知見が得られると期待される。

##### 5-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

核形成過程の機能をなう蛋白質の相互作用をイメージング技術で詳細に観察している。多くの蛋白

質の関与する複雑なプロセスが解かれつつある。まだ、記述的な段階であるが、今後メカニズムの解明に向かうと期待される。人工細胞核については実験系の探索の段階であり、今後に期待する。

#### 5-4-3. 今後の研究に向けて

新しい分野であり記述的な段階で、研究が分散した傾向を持が、その中で重要なテーマを絞り込む努力が必要であろう。また、生体高分子や人工ドラッグデリバリーなどの材料研究者との連携も考慮すべきである。

#### 5-4-4. 戦略目標に向けての展望

核膜形成のメカニズムの解明は医療の面でそれ自体大きく貢献するが、人工ドラッグデリバリーというユニークな発想も、研究がその段階までくればナノテクノロジーとして多くの応用の可能性を持つと期待される。

#### 5-4-5. 総合的評価

細胞レベルのイメージング技術の開発に関しては非常に進展がみられ、多くの成果を得ている。今後、メカニズムの解明も進展が期待され、遺伝子デリバリーシステム開発を目標として順調に進展している。

### 6-1. 研究課題名：DNA 分子モーターの動作原理の解明

6-2. 研究代表者名：原田 慶恵 ((財) 東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所 副参事研究員)

#### 6-3. 研究概要：

遺伝子の相同組換えは、2個のDNAモーターを含むタンパク質複合体によって行われる。2個のモーター分子が協調的に働くことによって、2本のDNA2重鎖はこのタンパク複合体にほどかれながら取り込まれ、別のパートナー鎖と巻き戻された新しい2本の2重鎖DNAが紡ぎ出される。本研究では、この複合体の動きを顕微鏡で直接観察することによってその動作原理を明らかにし、複数分子からなるナノマシンシステムの開発を目指す。

#### 6-4. 中間評価結果

##### 6-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

品川グループのDNA研究と原田グループの一分子計測の技術によってDNAの分岐点移動の可視化に成功した。今後、ステップサイズ計測など計画しており、モーターとしての動作メカニズムに踏み込んだ理解が得られることを期待できる。

##### 6-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

DNAモーター蛋白質の解析が進んでいる。これをもとに、観測されている回転がなんらかの生理機能といかに関連するか明らかになると期待される。

##### 6-4-3. 今後の研究に向けて

生物学上の意味、あるいは機能との関連に踏み込んだ視点からの展開が必要である。Holliday構造に限らず、生物学的に重要な一分子計測のテーマを見出し、検証をすることを期待する。

##### 6-4-4. 戦略目標に向けての展望

一分子計測とDNA研究に実績のあるグループの組み合わせである点、回転による運動検出という点で他の競合するグループに対して優位にたっている。ただし、これらの計測分野では世界的に優秀な研究者が多く、優位性を保つには更なる努力が必要である。



#### 6-4-5. 総合的評価

研究体制も整ったところであり、当初の目標は今後達成されるものと判定する。

#### 7-1. 研究課題名：高次細胞機能構造体観察・制御技術の開発

7-2. 研究代表者名：藤吉 好則（京都大学大学院理学系研究科 教授）

#### 7-3. 研究概要：

傾斜機構付き極低温電子顕微鏡と4D-PolScopeを開発して、神経細胞等の立体構造観察技術を確立すると共に、棘突起や成長円錐等を動的に観察する技術を確立する。本研究では、脳・神経研究や細胞生物学的研究と分子構造研究を繋ぐ新技術の開発と、シナプス形成等に関する研究成果が期待されるのみならず、「新試料交換型極低温電子顕微鏡」と「PolScope」という100億円市場が期待できる装置も開発する。

#### 7-4. 中間評価結果

##### 7-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

傾斜試料台付きの極低温電子顕微鏡の開発予定は当初の計画通り進展している。MBLでの4次元ポルスコープも3次元化を達成し、順調に進展している。この課題の対象である神経終末の動的立体構造の観察、及び膜蛋白質の構造解析ではすでにいくつかの大きな成果が得られており、課題に掲げた目標の達成は確実と考えられる。

##### 7-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

この課題は観察技術の開発と神経終末の動的変化から高次神経機能を明らかにするという2つの目標を設定している。後者での大きな成果はイオンチャンネルの構造解析による機能解明である。今後、ポルスコープと電子線トモグラフィーによる世界最高の観察システムが実現されると期待され、神経機能の解明に大きく貢献すると考えられる。

##### 7-4-3. 今後の研究に向けて

ポルスコープの基本技術開発がMBL中心であるので、国内での専任の研究員の確保が望まれる。また、無染色で観察できる構造は限定されるので、それ以外の構造との同時観察についても今後考慮されることを期待する。

##### 7-4-4. 戦略目標に向けての展望

光学顕微鏡、極低温電子顕微鏡などの機器開発、遺伝子工学、生物試料作成、構造解析技術総てを備え、挙げて神経機能の解明を目指している強力な研究体制を作り上げている。現時点での極低温電子顕微鏡はすでに膜蛋白質の構造解析で重要な研究で使われており、開発中の単粒子解析を可能にする傾斜試料台付きの極低温顕微鏡、その制御技術が完成することで、膜蛋白質の網羅的な構造解析が可能になると思われる。光学顕微鏡観察と合わせて高次神経機能の研究も大きく進展すると予想される。

#### 7-4-5. 総合的評価

目標達成度、成果、今後の見込みとも、いずれも問題はない。国際的に高い評価を得ている。

#### 8-1. 研究課題名：ゆらぎと生体システムのやわらかさをモデルとするソフトナノマシン

8-2. 研究代表者名：柳田 敏雄（大阪大学大学院生命機能研究科 教授）

### 8-3. 研究概要：

生体の運動を担う生物分子モーターは、熱ゆらぎを巧く利用して効率よく働くという人工機械では見られないユニークな性質を持っている。本研究では、蛋白質設計、1分子イメージング、ナノ計測、極低温電顕構造ダイナミクス、理論・計算機シミュレーション解析そして運動再構成などの視点から、分子モーターが熱ゆらぎを利用するしくみを徹底的に追及する。そして、“ゆらぎ”を機能に利用するという素子のユニークな性質が、生体システム特有の“やわらかさ”にどのように関わっているのかを、実験的そして理論的に検討する。これらの結果を基に、高分子ゲルなどを使って、人工的に筋肉運動を再現するモデル系（人工筋肉）の構築を目指す。最終的には、分子モーターで得られた知見をより一般化し、ゆらぎと生物システムの“やわらかさ”についての統一的な概念をうち立てる。

### 8-4. 中間評価結果

#### 8-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

ルースカップリングにもとづく運動蛋白質の研究を、このプロジェクト以前から10年にわたり1分子計測技術の開発と平行して行って、長い間世界的に事実と信じられていたアクチン・ミオシンのレバーアーム説を覆す実験的成果をあげてきたチームである。このプロジェクトでは10年間の蓄積にもとづいて、理論的な背景をもとに集約することに重きがある。人的にも大きな蓄積を持ち、今後の期間で問題の突破口を開くことがこのグループには求められている。

#### 8-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

蓄積された1分子計測技術により運動蛋白質全般について多くの知見を得ている。最近、Fアクチンに長時間安定な2状態があることを蛍光エネルギー移動の計測で発見した。また主要なテーマである分子機械の入出力関係について、フィラメントの集合体のレベルで現われる協同性を考慮した新しいモデルを提唱した。今後、高い測定技術にもとづいたデータが蓄積され、モデルとの対応による一層の展開が期待される。

#### 8-4-3. 今後の研究に向けて

次のステップとして、蛋白質の状態をイメージング（計測）する新たな技術の開発が待たれる。蛋白質相互作用の一連の解析においてATP分解に伴う水分子挙動の影響を調べ、モデルに組み込むことが重要である。難波、菊池グループとの有機的な連携が機能する必要がある。

#### 8-4-4. 戦略目標に向けての展望

このグループの課題は学問的に極めて重大な問題であり、次のステップに進むためには新しい観察技術の開発が欠かせない状況にある。

#### 8-4-5. 総合的評価

長年の蓄積、人的資源を活用し、今後の展開に期待する。

## 平成15年度採択課題平成17年度中間評価結果

### 9-1. 研究課題名：高効率ナノモーターとしてのプロトンポンプの分子機構解明

### 9-2. 研究代表者名：二井 将光 ((財)微生物化学研究会微生物化学研究センター 室長)

### 9-3. 研究概要：

ナノモーターF-ATPase (ATP合成酵素) とV-ATPase (リソソーム等のプロトンポンプ) のエネルギー変換機構と回転・調節機構を解明する。F-ATPaseについてはATP加水分解によるサブユニットの回転機構、特に回転がプロトン輸送に至る機構を明らかにする。さらにF-ATPase全体と膜サブユニット

部分が膜電位/pH 勾配駆動型のモーターであることを実証する。V-ATPase については、回転機構の解析とともにイソフォームによる調節機構を明らかにする。これら、ナノモーターの解析とプロトンポンプの研究を通じて高効率ナノモーターへの展開を目指す。

#### 9-4. 中間評価結果

##### 9-4-1. 研究の進捗状況と今後の見込み

F-ATPase と V-ATPase の回転機構の詳細な解析を行い成果をあげている。また V-ATPase の多様性をイソフォームと関連させ、Cサブユニットと  $\epsilon$  サブユニットのイソフォームに着目して研究が進められている。今後の成果が期待される。

##### 9-4-2. 研究成果の現状と今後の見込み

従来生化学反応で問題とされなかった、酵素反応の活性の分子ごとのばらつき、時間的ゆらぎなどについて、未発表ながら興味深いデータをだしつつある。蓄積の豊富な変異株での酵素活性、運動活性の違いなど、入出力の問題に関係し、重要な情報が得られることが期待される。

##### 9-4-3. 今後の研究に向けて

15年採択課題であり研究機関が一年短い、研究要員の確保も整い、16年度始めから一分子計測を軌道にのせ、データが出てきた段階である。今後、当領域内の1分子計測のチームとの連携は非常に有用である。

##### 9-4-4. 戦略目標に向けての展望

V-ATPase の多様性から得られる情報はプロトン ATPase のメカニズム解明に役にたつ。生化学から生物物理の問題になったプロトン ATPase 研究は、その変化で生化学の知見が軽んじられた面がある。このグループは長年の生化学的研究の蓄積と新しい計測技術の導入によって、独自の発想による研究を行っている。

##### 9-4-5. 総合的評価

採択年度が15年と一年遅れであり、採択時に新しい研究室に居を構えたこともあり、評価対象期間が短い、16年度には軌道にのり、独自の視点からのデータが出ている。チームとして十分に活性が高く、成果に期待したい。