

機関番号：14401

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18074007

研究課題名（和文） 膜超分子モーターの革新的ナノサイエンス：総括班

研究課題名（英文） Innovative nanoscience of supermolecular motor proteins working in biomembranes

研究代表者

野地 博行 (NOJI HIROYUKI)

大阪大学・産業科学研究所・招へい教授

研究者番号：00343111

研究成果の概要（和文）：総括班では、各研究グループがスムーズに自発的研究交流を推進するための場を提供することに専念した。そのために、通常の班会議は年1回にとどめ、代わりに構成メンバーが自発的に開催する研究会をサポートした。これ以外に、班員以外の研究者への成果発信と研究交流を目的としたシンポジウム開催や、雑誌の特集記事の編集等を積極的に行った。また、小中高生を対象としたアウトリーチ活動を未来科学館等で実施した。

研究成果の概要（英文）：This organizing group was engaged in providing opportunities to facilitate exchange and cooperation for the researchers of this project. For this purpose, we held the formal meeting only one time per year. Alternately, we supported the meetings by members with free will. In order to spread our achievements and promote the research cooperation outward, we also held many symposiums in conferences including an international symposium held in Kyoto, and we also edited feature issues of journals. Regarding outreach activity, we held experiment course for students from primal school to high school at Kagaku-Miraikan and National Science Museum totally three times.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	10,000,000	0	10,000,000
2007年度	12,600,000	0	12,600,000
2008年度	14,400,000	0	14,400,000
2009年度	14,100,000	0	14,100,000
2010年度	11,000,000	0	11,000,000
総計	62,100,000	0	62,100,000

研究分野：生物学・複合新領域

科研費の分科・細目：生物化学・生物物理学

キーワード：1分子計測、分子モーター、生物物理、MEMS、MD/QM

1. 研究開始当初の背景

ATP合成酵素が分子モーターとして脚光を浴びるようになったのは、1994年にイギリスの J. Walker らによって触媒サブユニットの主要部分の結晶構造が解析され、今から25年以上前にアメリカの P. Boyer によって予想された回転触媒説を実現できそうな分子構造が実際に明らかになってからである。1996年に領域代表者の野地は、ATP加

水分解に伴う一方向の連続的な回転をリアルタイムにビデオカメラに収めることに成功した(野地ら、Nature 1997)。この成功が、同年の J. E. Walker と P. D. Boyer のノーベル化学賞受賞の大きな根拠となったことは周知の事実である。結晶構造が最初に分らなくなった超分子複合体であったことも後押しして、この研究以降、ATP合成酵素は膜超分子モーター複合体として、モータータ

ンパクの 1 分子研究の牽引車となっている。同じくプロトン駆動型の膜超分子モーターであるべん毛モーターの回転の研究の歴史はさらに古い。すなわち、細菌のべん毛基部が回転していることは、30 年以上前からわかっていた。1988 年に米国の H. Berg らが、モータータンパク質の発現を制御することで、エネルギー変換ユニットが独立に機能して速度が変化するという事実を明らかにし、モータータンパク質の実体が少し分かってきた。しかし、そのモーターはプロトン駆動型で、エネルギーの入力の制御が難しいことから、ナトリウム駆動型モータータンパク質の同定が望まれていた。本間らは海に住むナトリウム駆動型べん毛を持つビブリオ菌からモーター遺伝子のクローン化に 1997 年に成功して、べん毛研究に新しい道を開いた。さらに、2003 年には大腸菌のべん毛モーターをプロトン型からナトリウム型に変換することにも成功し、この超分子モーター複合体の研究にも 1 分子研究を適用する基盤が作られた。一方で、ナノ加工技術と 1 分子ナノバイオの融合研究については世界的に見てもまだ数えるほどしか成果があがっていない状況にある。そのような中で、Webb と Creighead によるナノ開口を利用した近接場光アレイを用いた DNA 合成反応測定が注目すべき成果である (Science 2003)。これは、光の波長よりも遥かに小さな直径 50nm 程度の開口を用いて極小領域に限定された近接場光を発生させ、これを利用した高感度 1 分子計測技術である。これは、ナノ加工技術の有効な利用法であると言える。しかし、現在のところ基礎研究やデバイス開発においては、それ以上の成果を出すにはいたっていない。また、マイクロ流体デバイスを利用したタンパク質 folding の研究 (Lipman ら Science 2003) も報告されているが、まだ多分子系から予想された以上の発見には至っていない。このように、ナノ加工技術をタンパク質化学研究に応用するような融合研究は世界的に見てもまだ模索している段階であった。さらに、国内では、分子シミュレーションと 1 分子ナノバイオの融合研究はほとんど実施されていなかった。例えば、1 分子測定・操作実験結果を説明する確率的トイモデルの構築やそのモデルに基づくシミュレーションは多くなされているが、微視的タンパク質構造に基づく分子シミュレーションと 1 分子測定・観察の密接な共同研究は例がない。また、国外では、AFM による fibronectin などの 1 分子タンパク質伸張力による学的アンフォールディング過程や、syntaxin 1 の FRET シグナルに現れるタンパク質開閉構造変化の微視的詳細が分子シミュレーションにより解析されている (Schulten, Grubmueller ら)。さらに、F₁-ATP

合成酵素に対する分子シミュレーションも Grubmueller, Karplus や Schulten グループによってなされている。しかし、これらの研究は、タンパク質の力学的構造特性や構造揺らぎのみに関するものである。一方で、本領域計画研究代表者の一人である林は、非経験的量子化学法に基づく酵素化学反応シミュレーションの技術を独自に開発し、タンパク質中における ATP 加水分解反応経路の決定を可能にした。

2. 研究の目的

本領域研究の第一の目的は、わが国のこの分野の研究者が有するアドバンテージを維持、そして発展させ、最終的には膜超分子モーターの新しいタンパク質科学を創造していくことにある。それは、これまでの大きな成果をあげてきた分子遺伝学と生化学研究を先端的なマイクロ・ナノ加工技術を利用した 1 分子ナノバイオ計測と融合させ、そこから得られる結果を構造生物学と分子シミュレーションによって解釈し、再び実験に還元しようというものである。このような戦略的なフィードバックを行うことによって、機能性タンパク質の触媒反応機構がどのような構造基盤によって実現しているのかを原子レベルの分解能で理解することを目指す。この目的を達成するために、まったく新しいナノバイオ技術の開発を推進し、これを全面的に活用できる創造的な共同研究を実施する。

3. 研究の方法

本研究領域が目指しているのは、異なる分野の研究者を結集した総合的な研究であり、その研究企画を総括する総括班の役割は重要である。また、研究領域が発信する新規の技術や成果を他分野の研究にいち早く広報することも総括班の重要な任務である。さらに、領域の構成員の研究成果を研究領域を構成する異なる研究分野とも連携する形で発展させるために、適切に評価することも欠くことができない。具体的に取り組む内容は以下の通りである。

●研究企画

本領域研究では、生化学、1 分子生物物理、新規光学技術、マイクロ・ナノ加工技術、超分子構造解析技術、大規模計算機科学、など、多岐にわたる若手専門家を結集した学際研究を推進する。このような取り組みにおいては、明快な研究戦略目標を掲げるとともに、各研究グループ間における緊密な連携が欠かせない。したがって、総括班の役割は、まず各研究リーダー同士の交流を積極的に促進させるための班会議運営を核とする。また、1 分子ナノバイオに関する学際研究に関する動向を調査する上でも、国内外から各分野

の先導的な招待講演者を交えた企画シンポジウムを実施する。

● 広報

我々の学際研究の取り組みを、国内外に広く発信する。領域研究の成果と1分子ナノバイオに関する学際研究に係る国内外の動向を、ニューズレター発行によって領域内外に発信する。また、上述の通り、班会議以外にも国際シンポジウムを企画する。また、領域構成メンバーが関連する国際会議等において、可能な限り本領域研究を中心とした共同シンポジウム開催を企画することを提案する。

● 評価

本領域における計画研究の代表者は、その平均年齢が40歳と非常に若い。これは、本領域研究が目指すものが境界領域であり、新しい概念・技術を貪欲に吸収する必要があるからである。しかし、これと同時に、研究領域に結集した研究者の研究背景となる各分野においてエスタブリッシュした研究者の広い視野からの意見も不可欠である。そこで、そのような研究者を評価者として迎え、総括班と共同で領域全体の評価を行なう。

4. 研究成果

本領域では、膜超分子モーターの分子メカニズムを目指すため、真の意味での共同研究クラスターを形成するために、生物物理・生化学・構造生物学・マイクロマシン技術・極限分子計測技術・大規模計算機実験技術などの各分野における若手の第一人者を結集した。このような、本領域発足の効果は随所に表れている。各研究成果を述べるスペースはここにはないが、本共同研究クラスターの一つの目玉は、世界的にほとんど前例のない1分子計測と計算機科学実験の共同作業による膜超分子モーターの反応メカニズムの解明である。これに関しては、既に量子化学計算や分子動力学計算によって予言された F_1 -ATPaseの反応メカニズムに関し、これを1分子計測で検証することに成功した。また、1分子計測で発見されたモーター分子の新しい構造状態の原子構造を明らかにする研究が、分子動力学計算によって進んでいる。一方、革新的なナノ計測技術の開発においても、タンパク質の局所的構造変化を計測する1分子計測技術や、数十個の脂質二重膜を同時に計測できる膜アレイデバイスなどが共同で開発されており、大きな成果を上げている。そして、本領域に関連する論文は160報発表されており、班員間の共同研究も本領域発足から現在までで23テーマに達している。これまで、本総括班は班員間の活発な共同研究の醸成に努めてきたが、以上のとおりすでに大きな成果を上げている。このように、各研究活動に対して不要に干渉することなく、個々の研

究者の自由な発想と連携を大事にする雰囲気重要であったと考えられる。

このような共同研究クラスター形成促進のために、自主的勉強会を開催しており、特にATP合成酵素に関する最新のデータを持ち寄って議論する「 F_1 勉強会」と、人工平面膜の作成技術やデバイス技術を議論する「膜張りまっせ」は活発に開催されており、合計20回近く開催された。また、全国にまたがる共同研究促進のためにTV会議システムが導入され非常に有効に利用された。

情報発信も積極的に行っており、本経費によって、以下の学会やシンポジウム、会議、研究会を開催した。また、本領域の班員が中心となって編集した書籍等編集も行った。

①シンポジウム、会議、研究会

2006年

- Micro/nanodevices for biophysical measurements
Fifth East Asian Biophysics Symposium & Forty-Fourth Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan
企画者：野地、竹内
- 生命科学の革新的ナノバイオロジー
日本分子生物学会2006年フォーラム
企画者：野地、竹内、
- 日本生体エネルギー研究会
企画者：久堀
- 領域会議
革新的ナノバイオ第1回班会議
企画者：野地

2007年

- 領域会議
革新的ナノバイオ第2回班会議
企画者：野地
- F_oF₁勉強会
企画者：西坂、宗行英朗
- 膜張りまっせ
企画者：野地、田端、竹内
- 企画シンポジウム①
第45回日本生物物理学会年会
企画者：林重彦、池口満徳
- 原核生物の高次機能を担う超分子複合体の構造と機能
BMB2007 ワークショップ
企画者：福森義宏(金沢大学)・本間
- 日本生体エネルギー研究会
企画者：久堀

2008年

- 領域会議
革新的ナノバイオ第3回班会議
企画者：野地
- 企画シンポジウム
第46回日本生物物理学会年会
企画者：今田勝巳・本間道夫

- 生命システムの階層間をまたぐイメージング技術

BMB2008 ワークショップ

企画者：野地博行・永井健治

- 日本生体エネルギー研究会

企画者：久堀

2009 年

- International Symposium "Innovative nanoscience of supermolecular motor proteins working in biomembranes"

企画：野地博行・林重彦

- 領域会議

革新的ナノバイオ第4回班会議

企画：野地博行

- 「メンブランチランスフォーマー！！～生体膜の形を変えるための合体と解離～」

第47回日本生物物理学会年会企画

企画者：田端和仁・滝口金吾

- 「タンパク質のダイナミクス計測のためのイメージング」

蛋白質科学会

企画：野地博行・原田慶恵

- 膜張りまっせ

主催：竹内昌治・野地博行

- 日本生体エネルギー研究会

企画者：久堀、野地

2010 年

- 第36回日本生体エネルギー研究会特定領域研究「革新的ナノバイオ」合同シンポジウム

企画：野地博行

- 領域会議

革新的ナノバイオ第5回班会議

世話人：西坂崇之、竹内昌治

- 「バクテリアの中の分子機械と細胞システムの革新的ナノサイエンス」

第48回日本生物物理学会年会企画

企画者：西坂崇之、野地博行

- 第2回膜輸送体研究会

企画：永井健治、野地博行、田端和仁

総数 24

②書籍編集、その他外部発信

2006 年

- 体験実験実習

第3回オープンラボ in 未来館「分子モーターを回すには？1分子を操るナノサイエンス」

企画者：野地

- 領域HP作成

<http://www.nojilab.t.u-tokyo.ac.jp/okutei/>

2007 年

- 専門誌における特集号

蛋白質・核酸・酵素 (タイトル: ナノ技術

を用いた F₁-ATPase の力学エネルギー、化学エネルギー変換の計測 2007 年 4 月号 Vol152 No4)

- 体験実験実習①

「青少年のための科学の祭典」「クルクル回るタンパク質分子を見てみよう！」

企画者：野地

- 一般向けの体験実験実習②

体験実験実習 第4回オープンラボ in 未来館 「分子モーターを回すには？1分子を操るナノサイエンス」

企画者：野地

2009 年

- 専門誌における特集号

「蛋白質・核酸・酵素」(共立出版) 2009 年 12 月号特集「生命システムの階層間をまたぐイメージング技術」、企画：野地博行・永井健治

また、以下に領域に対する評価者からのコメントについても記載する。

④評価者からのコメント

木下一彦先生 (早稲田大学・教授)

この領域の特徴は、若い研究者が和気藹々とかつ高い志をもって共同研究を進めていること、新しい手法の開発とその応用がうまく連動している(手段のための手段でない)こと、と思われる。昨年度も、光学・原子間力顕微鏡によるイメージング技術、膜操作、理論解析、などをはじめとして着実に革新が進んだ。

吉田賢右先生 (京都産業大学・教授)

特定研究のタイトルにふさわしい研究が進行している。その内容が年とともに豊かになっている印象を受ける。1分子蛍光偏光励起によるリアルタイム構造変化の追跡、細胞内 ATP 濃度のリアルタイム測定、高速 AFM による膜タンパク質の構造変化のセミ・リアルタイム測定など、他の学問領域にもインパクトのある開発である。ATP 合成酵素、細菌鞭毛については、さらに奥深い驚異が露出している。非平衡定常運動中の運動子の揺らぎによって(溶液の粘性抵抗の知識なしで)トルクを測定できるとする理論的誘導から実際に実験においてこれを実証した成果は、役立つ理論として印象的である。

柳田敏雄先生 (大阪大学・生命機能研究科・教授)

若手主体の本特定研究領域は、領域内の交流が活発で、非常にうまく運営されており、成果も多く出て来ている。そして、一般社会の人たちも「なるほど、おもしろい」と感じてもらえるような、迫力のある成果が飛び出して

来ることを期待する。

二井將光先生(岩手医科大学 薬学部・教授)

本特定領域研究は、ATP 合成酵素と鞭毛モーターを中心に研究が進められてきた。研究は反応機構や作動機構、制御機構の詳細な解析にまで及ぶ成果を出している。また、分子シミュレーションの導入、ナノ加工技術の導入、新しい膜タンパク再構成技術の開発、各種顕微鏡(高圧顕微鏡、高速原子間顕微鏡、超分解能光学顕微鏡)の開発などの新しい試みも行われており、新しい方法の開発と提供は高く評価できる。

しかし、5年間にわたって行った研究を振り返って、敢えて指摘をすれば、生理学的な観点あるいは疾病と関連を取り入れる方向もほしかった。また、次の点を説明する責任があるだろう。(1)研究開始当時の研究のレベルが維持されたか、あるいは、さらに高いレベルへ発展させたのか。(2)ナノサイエンスとして、生物学の他の分野の研究者から理解される新しい方向性ができたのか。以上、総合的に見て、本特定研究は成功であったと考える。

阿久津秀雄先生(大阪大学 蛋白質研究所・特任教授)

本特定領域では方法論の開発が一つの特徴になっているが、今年度はその成果がさまざまな形で出てきた。好熱菌プロトンATP合成酵素エプシロンサブユニットの特徴を巧妙に生かした細胞内ATP濃度のイメージングプローブの開発、光吸収に伴うバクテリオロドプシン2次元結晶表面の構造変化の高速AFMによる検出などがあげられる。シミュレーションとの共同研究も着実に進んでいるように見える。これらを生かして領域の最終年度での超分子モーター研究の一段の飛躍を期待したい。

このように、本領域全体に対して、非常に好意的なコメントをいただいている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

総括班は、領域の運営や班員間の共同研究調整、会議開催などが業務となるため、本班より論文発表や書籍編集、学会発表、産業財産権の取得はない。

[その他]

ホームページ等

領域HP

<http://www.nojilab.t.u-tokyo.ac.jp/toku-tei/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野地 博行 (NOJI HIROYUKI)
大阪大学・産業科学研究所・招へい教授
研究者番号: 00343111

(2) 研究分担者

本間 道夫 (HONMA MICHIO)
名古屋大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号: 50209342

久堀 徹 (HISABORI TORU)
東京工業大学・資源化学研究所・准教授
研究者番号: 40181094
(平成18年4月1日～平成20年3月31日)

西坂 崇之 (NISHIZAKA TAKAYUKI)
学習院大学・理学部・准教授
研究者番号: 40359112
(平成18年4月1日～平成20年3月31日)

竹内 昌治 (TAKEUCHI SHOJI)
東京大学・生産技術研究所・准教授
研究者番号: 90343110
(平成18年4月1日～平成20年3月31日)

今田 勝巳 (IMADA KATSUMI)
大阪大学・生命機能研究科・准教授
研究者番号: 40346143
(平成18年4月1日～平成20年3月31日)

林 重彦 (HAYASHI SHIGEHICO)
京都大学・理学研究科・准教授
研究者番号: 70402758
(平成21年4月1日～平成22年3月31日)