

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名:タンパク質のナノダイナミクス高速撮影装置の開発
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者 安藤 敏夫 金沢大学理工研究域数物科学系 教授

主たる共同研究者

菅原 康弘(大阪大学大学院工学研究科 教授)

小椋 光(熊本大学発生病学研究所 所長)

森川 耿右(大阪大学蛋白質研究所 客員教授)

3. 研究実施概要

タンパク質の構造と機能メカニズムの解明のためにこれまで様々な技術開発が行われてきた。しかし、水中に在って機能している個々のタンパク質分子そのものを高い空間・時間分解能で直接見る技術は存在しなかった。従って、タンパク質分子の構造が機能中にダイナミックに変化する様子をサブ分子スケールの解像度で連続的に観察することは不可能であった。この不可能を可能にする顕微鏡(高速バイオ AFM)を開発し、機能しているタンパク質分子を映像として捉えることを目標として、本チームは研究を開始した。

AFMは水中にある試料を高い空間分解能でイメージングできる唯一の顕微鏡であるが、従来のAFMは1画像を撮るのに分のオーダーの時間を要する。AFMは様々なデバイスからなり、それらデバイスのほとんどがイメージング速度(走査速度)を律する。そこで、それらデバイスすべての高速化に向けた最適化や高速制御技術を開発する必要があった。また、観察対象が脆いタンパク質であり、ナイーブな分子間相互作用を含むことが多いため、高速性と低侵襲性の両立という困難な課題を達成する必要があった。様々な技術開発と観察実験を並行して進めながら、装置の問題点を、観察実験を通して明確にし、それを解決する技術開発に取り組むという作業を繰り返した。その結果、イメージング速度の理論的限界にほぼ達する高速バイオ AFM 装置を開発することに成功した。走査範囲にもよるが、ナイーブなタンパク質間相互作用をも乱さずに1画像を40-70msで撮れる。

タンパク質の動態イメージングでは、装置そのものも重要であるが、試料系や試料を載せる基板を高速 AFM イメージング向けに最適化する必要がある。この最適化の必要性と問題点は、種々の異なる性格をもつタンパク質(モータータンパク質、DNA 結合タンパク質、AAA タンパク質、膜タンパク質など)を実際にイメージングすることにより初めて知ることができた。高速 AFM も含め AFM は溶液中に浮いている試料を見ることができない。試料を基板に載せる必要があるが、強く吸着して試料の構造や機能を乱すことは避けなければならない。逆に緩く吸着して激しくブラウン運動してはまったく観察できない。従って、試料にどのような工夫を加え、どのような基板を調製しなければならないかを十分に検討する必要があった。

上述の装置、試料系への工夫、種々の性質をもつ基板の開発を進めた結果、次のようなタンパク質の動態観察に成功した。モータータンパク質であるミオシンVがアクチンフィラメントに沿って運動する様子、光駆動プロトンポンプであるバクテリオロドプシン(bR)が光照射によって構造変化する様子、bRの2次元結晶に非結晶領域のbR トライマーが結合・解離する動的平衡の様子、ストレプトアビジンの2次元結晶の格子欠陥の異方性拡散の様子などを捉えることに成功した。また、最近注目されているタンパク質の天然変性(ID)領域の実態を捉えることにも世界で初めて成功し、ID 領域の物理的特性を明らかにした。細胞内で種々の機能をもつことが知られている AAA タンパク質 p97 の機能に関係すると思われる動的構造変化を捉えることにも成功した。もちろん、種々工夫したが最終的な動態観察にまだ至っていないタンパク質系もある。

以上のように、機能しているタンパク質分子のダイナミックな振舞いを鮮明な映像として捉えるという世界初の成果を得た。且つ、いくつかの試料系については、得られた映像を通して機能解明に迫ることに成功し、世界

に先駆けて開発した高速バイオ AFM の有効性を見事に実証した。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

走査速度、イメージング速度の理論的考察を行い、装置各部の最適化を実施した結果、理論限界と思われる実用的な高速バイオ AFM の実現に成功した。その結果、水中での生体高分子の機能に関わる動態や相互作用をビデオレートの時間分解能で実時間観察することを可能にした。さらに、この開発を基盤に応用研究を実施するグループにも開発中の装置を設置して、応用研究における実質的な技術展開と装置開発へのフィードバックを図るなど、装置開発を担当するグループと応用研究を実施するグループの連携がはかられた。ミオシン V のダイナミクスをはじめいくつかのサンプルを用いて有用な知見を得ている。種々のタンパク質のイメージングにも成功し、分子レベルでの機能メカニズムの解明にも貢献できた。当初計画には無かった DNA 結合タンパク質 FACT の天然変性領域の可視化に成功した。分子動力学計算による解析でしか予測されていなかった天然変性領域の実態を観測できたことは目覚ましい成果である。また、ストレプトアビジンの2次元結晶の格子欠陥の異方性拡散の観測など、生体系の動的過程への展開が行われた。

原著論文 45 報、総説等 29 報、国内外の招待講演 121 件、口頭発表 65 件、ポスター発表 130 件、受賞 8 件、マスコミ報道 14 件等、外部発表のレベルは高く評価できる。また知財出願も計 15 件(うち国内 10 件、海外 5 件)で、極めて高く評価でき、すでに企業への実施許諾 3 件を実施し、さらに 3 件が交渉中であることも成果の重要性を物語っている。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

新しい計測・分析基盤技術の開発の観点から、一般の研究者の常識を超えた成果であり、オリジナリティーの高い計測装置の開発に世界に先駆け成功している。他の追従を許さない技術であり、科学技術への高い貢献が期待される。生体分子の動態や相互作用を高分解能で実時間観察することは、生命科学の重要な諸問題を解明しようとするために通らなければならない課題であり、この装置が様々な分野で有効に使われれば、各分野の発展に大きな貢献をもたらすことは必至である。この夢の道具がさらに身近で手軽に使えるようになり、よりユーザーフレンドリーな装置に改良されたとき、生物学分野へさらに大きな貢献が期待される。

我国発の AFM 関連装置として世界で使われる可能性を秘めている。既に研究代表者を中心に、欧米の研究者たちに、この方法の有効性をアピールし共同研究を働きかけ、その技術を普及させようとする努力が重ねられている。その姿勢は評価されるものであり、今後の進展が期待される。ただし、日本の研究資金によって育まれた研究成果なので、海外企業ではなく日本で企業化したいものである。

4-3. 総合的評価

水中に在って機能している個々のタンパク質分子がダイナミックに変化する様子をサブ分子スケールの解像度で連続的に観察する高速バイオAFMの開発を行い、機能しているタンパク質分子を映像として捉えることに成功した。日本が世界に誇れる卓越した技術開発である。

この手法が様々な生体分子系に応用され、他の方法では得られなかった新しい知見が得られている。今後実際の観測から生命現象の解明のためのブレークスルーとなるような新しい発見の可能性が十分に期待される。そ

れに向けてさらに技術開発、生物研究者との共同研究、そしてそれらを支える研究体制の強化が引き続き望まれる。

今後、生細胞、チャネル、遺伝子などその成果のインパクトの大きいことが予想される系へ挑戦してほしい。生物を見据えることにより、応用がまだまだ広がるものと思われる。