

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	新しいイメージング手法による鞭毛の分子機構
研究機関・部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	吉川 雅英

【研究目的】

真核生物の繊毛・鞭毛の研究は、ヒトの疾患に関係する重要性(図1)と生命科学の上での重要性から急速に進展しつつある。繊毛・鞭毛の働きは大きく分けて「プロペラ」と「アンテナ」の二つがある。本研究で注目する「プロペラ」としての働きは、生殖において重要な役割をしており、精子は鞭毛によって、卵子は卵管の繊毛によって運ばれ受精に至る。また、哺乳類の発生過程では、回転する繊毛がノード流を作り、身体の左右性を決定するなど、多様な生命現象を司っている。

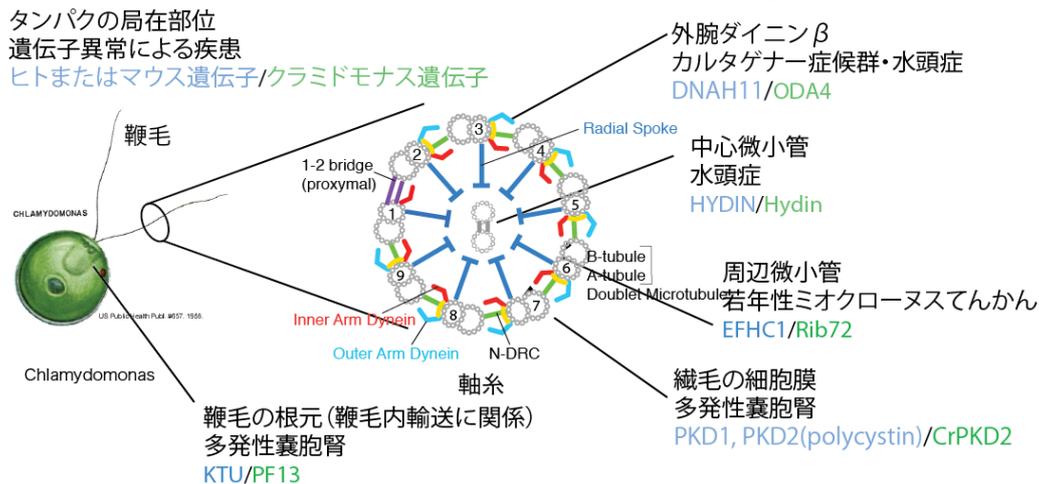


図1 軸糸の構造・遺伝子と、それに関する疾患

繊毛・鞭毛に共通する構造が図1に示す**軸糸**である。軸糸は微小管とダイニンなど数百種類以上のタンパク質から構成される精巧な分子複合体である。軸糸の9+2構造と、その遺伝子群は、本研究で主に使われているクラミドモナスのような単細胞生物からヒトにいたるまで、非常に良く保存されている。中でもダイニンは「プロペラ」の力発生において中心的役割を担っており、ATPを加水分解して周辺微小管の間に滑り運動を起こす。

ただし波打ち運動を起こすためには、特定の場所のダイニンを、特定のタイミングで活性化するための**制御機構**が不可欠である。しかし、その分子メカニズムはほとんど分かっていなかった。

本研究では、軸糸ダイニンが制御されるメカニズムについて、構造と機能の両面からアプローチしてきた。軸糸は非常に複雑なシステムであるため、新しいイメージング手法の開発が必須である。従って、以下の3つを当初の目標として掲げた。

(1) 軸糸のクライオ電子顕微鏡によるサブナノメートル三次元構造

軸糸は、図1に示すように、中心微小管、ラディアルスポーク、周辺微小管の3つに分けられる。

本研究では、この内、力発生に最も重要な周辺微小管を高解像度で見ることを目標とする。このために、クライオ電子顕微鏡を使い、トモグラフィー(細胞内を見ることができると単粒子解析(高解像度解析が可能)の両者の利点を生かした観察手法を確立する。

(2) 3Dトラッキング顕微鏡による鞭毛運動の定量的解析

鞭毛運動を1000フレーム/秒の超高速カメラで追跡し、コンピュータによる画像解析を行う事で、これまでは単離が難しかった変異体をスクリーニングする。また(3)で得られた軸糸ダイニン制御遺伝子の変異株について、鞭毛運動の解析を行う。

(3) 軸糸ダイニン制御遺伝子の同定・遺伝子操作

新たな軸糸ダイニン制御遺伝子の同定を行い、上記のイメージング手法と遺伝学的、細胞生物学的手法を組み合わせることで、これらのタンパク質の構造と機能を明らかにする。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

研究代表者らは「鞭毛の運動が軸糸のダイニンと微小管との相互作用で制御されているのではないか」という仮説のもとに、研究を進めてきた。それを裏付けるような研究成果が概ね得られていると判断できる。例えば、(1) まず、鞭毛は中心微小管が、外側にあるモーターに繋がるラディアルスポークを押し、(2) それがダイニン中間鎖を介し外腕ダイニンのみならず、内腕ダイニンに対しても作用すること、また、(3) FAP20というタンパク質は、周辺微小管の継ぎ目にあり鞭毛の動きのモードスイッチに関係することを示す等の結果が、それに当たる。しかし、シンプルな解り易い結論が出されては無く、真にブレークスルーとよべる研究成果が得られたかと問われれば否定的にならざるを得ない。当初設定のテーマがあまりに遠大で、技術の精緻を駆使してもまだ道半ばという印象を抱いてしまう。懸念されることは、最初に設定した一つ一つの課題そのものを解明すること自体が大きな研究課題となるべきではなかったのかという点である。

研究代表者が当初の「全体計画書」の中で、「特定の部位のダイニンを特定のタイミングで活性化させる分子機構が不明である」と述べているが、その問題解明へ突き

進んでいってほしいと願っていた。また、クライオ電子顕微鏡からの3次元再構成法は、非対称的な線維状構造に適用が可能であると述べているが、細胞内には、非常に多くのタンパク質分子からなる複合体が多数働いており、それらの構造解析は進んでいない。本研究で開発された三次元クライオ電子線トモグラフィー標識法を応用して、こうした問題にも取り組んでほしいと強く思う。

なお、life innovation 事業での研究ということを考慮すると、論文執筆や成果獲得のためだけの単なる基礎学問的成果では全く不十分であり、何年か後にヒト疾患に対する明確な応用に至っているかが、本研究課題に対する評価となるはずである。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

研究代表者らが新しく開発したイメージング法を駆使した、鞭毛運動の中核となる軸系の分子機構の解明が研究テーマである。そして「ダイニンの中間鎖が周辺微小管と相互作用することによってダイニンが制御される」という仮説の下に、研究を推進した結果、一定の研究成果が得られたものと判断する。ダイニンの中間鎖(IC2)が外腕ダイニンを周辺微小管に結合させるリンカーではないかという結果や、中間鎖が内腕ダイニンに対しても作用しているという結果も得られている。したがって、クライオ顕微鏡を駆使した鞭毛運動の物理的実態の解明という点で、着実に進展が見られる。さらに、中心微小管から周辺微小管に至るメカニカルな制御機構を、構造と遺伝学を駆使して解明しており、最終ゴールである「鞭毛運動における微小管とダイニンとのシグナル伝達機構の解明」へと研究が伸展することが、課題終了後も期待される。

当初計画の3つの目標は研究を開始したときのものとほぼ同じで、一つ一つが非常に難解な問題であることは理解できるとしても、大きく確実な進展は認められなかったと思われる。

本研究課題の目的はあくまで life innovation であるので、最終的にヒト(疾患)への応用が求められる。この点に関しては言及されているが、終了時点でもその道筋はあまり明確ではない。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

鞭毛の運動が軸系のダイニンと微小管の相互作用で制御されているのではないかとする作業仮説の下に研究を進めてきたが、それを裏付ける結果が着実に得られてい

る。それには以下の2点があげられる。(1)鞭毛のモードスイッチに関する遺伝子として、軸系の中心微小管の構成遺伝子(FAP-X)を同定したこと、(2)ダイニン中間鎖が外腕ダイニンのみならず、内腕ダイニンに対しても作用しているという所見が得られたこと、である。FAP-Xが発見された点は大いに評価できる。

軸系ダイニンの運動制御という問いに突破口は開けていないように思える。複合体の個々の成分についての遺伝学的なアプローチをもっと行うとか、in vitro 再構成系なども試みてはどうか(スタート時にそのようなことが言及されている)。ダイニン複合体構成タンパクの中に病気との関連を匂わすものが見つかっているような記載があるが、特記すべきというまでに至っていない。

当該研究課題で開発された「細胞内単粒子解析法」、「3Dトラッキング顕微鏡法」ならびに「ビオチン化タグによるラベル法」は、今後その適用範囲が広がると考えられる。研究代表者が予想しているように、核膜孔複合体、アポトーシス複合体などに対して、解像度の高い構造解析がなされる可能性が高いと思われる。「ビオチン化タグによるラベル法」は光学顕微鏡レベルに応用される可能性があり、とても期待できる手法である。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

少なくとも構造学的な研究レベルについては、テーマそのものに直結しないとしても精度の高い解析がされていると判断される。当該研究で得られた研究成果をもとに、次のステップとして、1) 中心微小管と周辺微小管との連結の仕組みの解明へ、ならびに2) ダイニンの微小管への結合・解離のスイッチ機構の解明へと研究が伸展することが予想される。

非常に基礎的な課題でかつエネルギー変換という難しい問題を抱えているので、すぐに社会的経済的課題の解決への貢献を期待するのは酷だと思う。確かに、生殖医療の分野における顕微授精の際の正常な精子の選択に適用されるということなどが期待されるという点はある。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

基盤研究(A)から当該研究へと段階的に研究設備を充実させていったことはとても結構なことだと思う。補助事業期間中に研究員や技術補佐員の交代はあったが、専門分野を持った各研究者が有機的に結びついた研究体制を作ったことは評価できる。助成金の使用については特に指摘事項はなかった。また、研究設備が整えられたH23以

降は研究成果が着実に生まれている。欲を言えば、同じモータータンパクを研究している別のグループとの比較で言うと、一般向けの情報発信をもっと活発化させてほしいかった。

論文数はあまり多くないが、研究成果を速やかに発表していることは評価できる。テーマと直結する成果を目指して高評価のジャーナルに投稿しようとしている（一部はすでに発表されている）が、それと並行して着実な成果を発信することも必要である。一方、総説執筆の数が少ないと思われる。

市民公開講座、ITによる発信など、積極的に研究成果を公開しようとしており、その姿勢は大いに評価できる。また、研究代表者らは、最終的な研究成果が教科書への記載につながることを希望しておられるが、それを是非実現してほしいと思う。