

新学術領域研究「運動マシナリー」 第3回全体班会議報告記

執筆: 曾和義幸(法政大学)、須河光弘(東京大学)、中根大介(学習院大学)

宮田新学術領域「運動マシナリー」の第3回全体班会議が平成27年6月10日(水) - 12日(金)、金沢商工会議所会館^{注1}にて、金沢大学の福森先生のお世話により開催された。北陸新幹線が開通した金沢に、計画研究7班、公募研究30班と総括班のメンバー、2人の評価委員の先生方(石渡先生、難波先生)が一堂に介し、総勢120余名の全体会議となった。



今回の報告記は、以下の3名が担当させていただきました。

曾和義幸(法政大学) (セッション 1, 2, 6)
須河光弘(東京大学) (セッション 7, 8, 9)
中根大介(学習院大学) (セッション 3, 4, 5) その他



会議のはじめに領域代表の宮田先生から挨拶がありました。生体運動の研究ではこれまでキネシン・ダイニン・ミオシンといったいわゆる狭義のモータータンパク質、もしくはバクテリアのべん毛を対象とした研究が中心でしたが、新しい材料にも目を向けて、多様性について考えるという機会になれば、という熱い思いが語られました。これは本領域が掲げるコンセプトでもあります。また、領域代表は今回の公募班員の研究対象および年齢を独自に分析することで以下の点を強調しておられました。1. これまであまり交流のなかった真核生物と原核生物の生体運動研究の研究者が半分ずつ混ざり合っている。2. 班員代表者の平均年齢は 46 歳だがかなり広い分布をとっている。これらのことから、本領域は学問分野横断的・学会横断的・年齢層縦断的な研究交流を行う場としてうまく機能することが期待される、とのこと。



セッション1 (座長:本間先生@名古屋大)

領域会議を翻ること 1 週間、私は研究会参加のため琵琶湖湖畔のホテルに向かった。会場に到着するやいなや、満面の笑みをたたえた森先生が私の方へ向かってくる。～(中略)～。それでは、報告記を始めよう。



宮田先生@大阪市大

マイコプラズマ滑走運動のメカニズムに関する新しいモデルが提案された。最小ゲノムの生物であるマイコプラズマは、シアル酸オリゴ糖で修飾された表面に接着して滑走する。滑走運動には Gli349 をはじめとする巨大なタンパク質群が必須であるが、それらと他のコンベンショナルな分子モーターとの相同性は見られず、滑走メカニズムは全く不明である。滑走のためのエネルギー源は、トライトンによる膜構造の破壊後に ATP を加えることで運動を再現できることから ATP 加水分解である。滑走運動に関わる構造として、細胞表層から飛び出している 50 nm 程度の足や細胞膜内側にくらげのような内部構造が電子顕微鏡で観察されている。滑走装置の内部構造を構成するタンパク質は ATP 合成酵素とアミノ酸レベルで 30%一致していることがわかり、ATP 合成酵素から進化した装置であるという興味深い仮説が提案された。電子顕微鏡で観察された内部構造における各粒子間の平均距離を計測すると、ATP 結合時では長く、ADP 結合時では短かった。これまでの実験情報を元に提案された新メカニズムでは、ATP 加水分解に伴う内部構造の距離の変化と、細胞外構造物が表面のシアル酸オリゴ糖への結合と解離

のサイクルを共役するようだ。マイコプラズマの滑走研究を一からスタートして、分子モデルの構築まで進める宮田先生の研究駆動力は圧巻であった。

稲葉先生@筑波大

ハプトネマというユニークな運動器官について発表された。ハプト藻類は、分類上の系統的な位置が明確ではない海洋にすむ原生生物であり、2本の鞭毛の間からハプトネマと呼ばれる細長いフィラメントをもつ。ハプトネマは6-7本の微小管が並んだ構造を取っており、餌の捕捉、障害物センサー、滑走運動等に利用される。Ca²⁺の刺激によって、数ミリ秒で100 μmもの長さを巻き込むコイリングとよばれる高速運動をしめす。コイリングの分子機構を知るためには、鞭毛等を含まないハプトネマのみを精製する方法の確立が必要であり、50%Percollを加えて遠心する調整方法が紹介された。また、微小管の重合促進剤のTaxolを加えると、ハプトネマのコイリングが阻害され、Nocodazoleの場合は特に影響が見られなかった。スパズモネームやバクテリアべん毛の多型変換との関連性についてのコメントがあり、その不思議な運動様式について議論が盛り上がった。

豊島先生@東京大

細胞質ダイニンの運動制御に関する発表をされた。細胞質で働くダイニンの遺伝子は1種類のみであるにも関わらず、その細胞活動に果たす役割は多い。細胞質ダイニンに関わるタンパク質による巧妙な制御機構に注目されている。まず、ダイニンのアダプターの一つであるダイナクチンは、アンテナのような構造をとりながら微小管に会合することを最近明らかにされたことが報告があった。また、細胞質ダイニンは単体で存在する時は分子内で会合するようで、微小管と結合はするものの一方向へと移動することができず、拡散運動をすることが1分子イメージング法によって確認されている。興味深いことに、ダイニンとダイナクチンはそれぞれ単体で微小管と相互作用するにも関わらず、別々に精製後に混合して複合体を形成させると微小管から解離する。この作用はダイナクチンのダイニンと結合する部分である CC1 のみを加えても再現できる。一方、ダイニン・ダイナクチン・BicD の3者複合体は連続的に微小管上を移動することが明らかとなった。1分子イメージング法等によってダイニンを取り巻く複雑な制御メカニズムの解明を計画されている。

新井先生@東京大

マイコプラズマ滑走装置の一つである Gli349 の構造解析に関して発表された。Gli349 はシアル酸オリゴ糖のキャッチとリリースを繰り返して、滑走運動の重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、その構造とダイナミクスの関係は全く不明である。Gli349 は似たような配列が18個つながったリピート構造を取るとの報告がある。そこで、巨大なタンパク質 Gli349 をリピート毎に断片化およびリピート

連結体に断片化して、それぞれの NMR・X 線溶液散乱等で構造情報を得ることを目的とされている。過去の報告を元にリピート配列を断片化すると不溶化がみられた。そこで、バイオインフォマティクス的手法で天然変性領域を予測し、境界領域を新たに予測すると、過去の論文で報告されていたリピートの境界と少し異なっていた。新たなリピート境界の情報を元に切り出した配列の一部 (KLM 配列) についての構造が示されていた。滑走運動のキーとなる Gli349 のダイナミクスが明らかとなり、宮田先生の運動モデルと合わされば、滑走運動のメカニズムの解明に近づくと期待できる。

池上先生@浜松医大

軸系ダイニンのレール側である微小管の修飾に注目した研究報告をされた。微小管にポリグルタミン酸を付加する修飾がされると負電荷が増えるが、その効果に関する報告はされている。一方、鎖が長くなるだけのポリグリシン化についてはほとんど報告がない。ポリグリシン化による立体障害が微小管-ダイニン間の相互作用に影響を与える可能性があるが、ポリグリシン化をおこなう酵素をロックアウトしてもマウスの生死には全く関わらない。精子の運動の様子は野生型とは異なるが、受精能には影響がないらしい。ポリグリシン化修飾の影響を *in vitro* motility assay 系で調べる研究を進める予定にされている。また興味深いことに、ポリグリシン化修飾はゴリラのような近縁種にまで保存されているのにも関わらず、ヒトだけは消失しているようだ。例えば2足歩行など、ゴリラとヒトとの違いを生み出すことにポリグリシン化に関わるかもしれない、という進化の観点からも微小管ポリグリシン化を考察することも目指すスケールの大きな発表であった。

セッション2 (座長:中山先生@長崎大)

森先生@京大

タンパク質分泌を駆動する Sec システムに関

する発表をされた。大腸菌は、プロトンで駆動する SecDF を1セットもつ。海洋性ビブリオ菌

は、ナトリウムイオンで駆動する SecDF とプロトンで駆動する SecDF をもつ（それぞれ SecDF-1 と SecDF-2 とよぶ）。SecDF-1 はその他の Sec タンパク質と染色体上でオペロンを組んでおり、様々なナトリウムイオン環境下において機能している。一方、SecDF-2 は、別の染色体に単独でコードされており、低ナトリウムイオン環境下でのみ発現して機能する。このイオン濃度環境の違いによって機能する SecDF を切り替える制御メカニズムについて紹介された。Vemp2 は SecDF-2 の上流にコードされるシグナル配列を持つタンパク質であり、ナトリウムイオン駆動力が十分ある時は SecDF-1 によって排出されている。しかし、ナトリウムイオン濃度が低下すると、SecDF-1 による排出能が低下して Vemp2 の分泌が正常に進まなくなるため、翻訳途中でリボソームが捉えられてしまう。Vemp2 遺伝子下流には mRNA のステムループが予測されているが、翻訳の停止に伴ってループ構造が不安定化し、SecDF-2 遺伝子の SD 配列が露出する。その結果、SecDF-2 の発現量が上昇し、プロトン駆動力を利用したタンパク質分泌システムが稼働する。SecDF の環境変化による巧妙な切り替えは、タンパク質の分泌量をモニターすることで実現する興味深いシステムのようなのだ。

西山先生@京大

独自に開発された高温・高圧顕微鏡を利用した微生物の運動に関する発表があった。海底の熱水噴出孔は、数百°Cの高温環境と 0°Cに近い低温環境が隣り合わせの極端な温度差が生じており、その中間温度が生命誕生に重要であったらしい。このような極限環境を顕微鏡下で実現し、細胞運動の研究を計画されている。まず、85°Cが至適生育温度のアーキア KOD1 株での基礎データが紹介された。つぎに、好圧性菌である *Shewanella violacea* DSS12 株を高圧環境下での運動観察の結果が報告された。1 気圧 8°C 環境下で 20 時間程度飼育した DSS12 株の運動を高圧顕微鏡で観察したところ、500 気圧下での遊泳速度は 1 気圧下よりも 20%減少するとい

う予想に反した結果となった。ただし、ビブリオ菌では同じ実験条件で 78%速度が減少したので、DSS12 株は圧力に対する感受性は低い可能性がある。また、熱水噴出孔を実現すべく、サンプル表面化に置かれたクロムを赤外レーザーで照射する制御法も紹介された。今後、装置の最適化によって、アクセスすることが困難な極限環境の顕微鏡における再現を予感させる発表であった。

神谷先生@学習院大

鞭毛の滑走運動に関する発表があった。クラミドモナス鞭毛の鞭打ち運動はよく知られているが、滑走運動もするらしい。この運動は、膜上に結合したプラスチックビーズが鞭毛上を動くことで確認でき、鞭打ち運動性をしていない鞭毛上でも見られる。膜貫通タンパク質を介した鞭毛内輸送系によって、ビーズの滑走運動が駆動されていると考えられる。滑走運動で運ばれたビーズは、多数集まってアグリゲーションをおこすが、これらは蛍光レクチンで染色される。つまり、鞭毛の滑走運動には糖タンパク質が関わっていると期待され、その正体を今後明らかにされる予定である。また、ビーズの滑走運動はクラミドモナス鞭毛特有の現象ではなく、ウニの初期胚でも観察された。鞭毛内輸送系を利用した滑走運動について、その普遍性についても研究を発展される。

見理先生@感染研

肺炎マイコプラズマ *Mycoplasma pneumoniae* の滑走運動を担うタンパク質群の構造解析を目指されている。今回は特にタンパク質 P1 に着目した報告があった。P1 はシアル酸オリゴ糖鎖に結合する約 170 kDa のタンパク質であり、宮田先生・新井先生が発表されていた *Mycoplasma mobile* の Gli349 に機能的には近い。これまでの研究で P1 の精製には成功しており、X 線溶液散乱の結果から、その形状は均一であることがわかっている。P1 の一部ドメインを断片化して可溶化した標本は結晶化しなかったようだが、この断片化 P1 に EYFP を融

合させたタンパク質標本は結晶化した。その結晶からの回折は、残念ながら構造解析には十分な強度ではなかったらしい。ただし、タンパク質からの回折であることは間違いないようで、今後の進展が期待される。

渡邊先生@東京大

膜電位の制御・タンパク質構造変化の可視化技術に関する発表があった。F型ATP合成酵素をはじめとする膜電位駆動型のタンパク質の評価のために、従来はパッチクランプ電極またはイオンの拡散電位を利用した方法が採用されていた。しかし、実験の効率が悪い、長時間の実験ができないといった問題があった。最近、多数のウェルに脂質二重膜を形成するマイクロチップ技術に、電圧制御が可能な電極の組み込みに

成功された。膜電位感受性のDiBac4試薬で作成したマイクロチップでは電圧制御が可能であること、F型合成酵素を膜に埋め込んだ状態でフルオレセインによるpH計測によると、電圧を加えることプロトンが組み上げられる様子が観察されている。また、マイクロチップに組み込んだF型合成酵素は自由拡散をするため、ウェルの底に合成酵素を固定する方法および回転の検出についても報告された。ウェルの高さを小さくする試みについても研究が進展しており、今後は膜電位と回転計測のシステム融合を進められる。これまで制御・計測が難しかった膜電位駆動型タンパク質の入出力応答を一分子レベルで計測できれば、一気にメカニズム解明へと近づくのだろう。

セッション3 (座長:福森先生@金沢大)

前日の若手有志飲み会は遅くまで盛り上がったにも関わらず、朝からほとんどすべての人が集まり、熱い議論が交わされました。コーヒーブレイクの際に登場するお菓子のセンスが素敵で、3つくらい食べてしまいました。



本間先生@名古屋大、南野先生@大阪大

バクテリアべん毛のお話でした。単離したビブリオのべん毛モーターが数百particlesの平均化ですごくきれいに見えたのが印象的でした。高速回転しているべん毛のステップ計測も素敵でした。三男が家出したということですが、その分、長男次男がバシバシと働いておられるのが良くわかりました。カメラのように入力を制御した条件下や、適切な変異株における計測では、ステップのなにが変わるのかと想像してしまいました。

錦見先生@北里大

免疫細胞が動くときに大事な、膜表面のタンパク質のお話でした。医学的にはとても重要なことなのですが、バクテリアを専門にしているものにとっては新鮮で、勉強になりました。Inactivationの際に膜表面で生じるタンパク質の構造変化がかなり大きいようなので、光学顕微鏡で動く様子が捉えられないかなと思いました。

曾和先生@法政大

バクテリアべん毛の細胞の中での動きを見るというすごく魅力的でチャレンジングなお話でした。「MotBは固定子であることを改めて確認」というフレーズをよく覚えています。空間分解能から角度分解能がほしいと決まると答えられていたので、回転モーターを研究するときには、それを意識しようと思いました。^{注2}

加藤先生@帯広畜産大

トキソプラズマは滑走運動を示すので前から興味を持っていました。フラボバクテリアと似ていて、細胞を回転しながら動かし、軌跡が円状になったりと、興味深いです。侵入するところが一瞬ということですが、これをどうにかして、格好良く可視化できないかなと思いました。ちなみに、発表中に登場しました金沢の北國新聞は「ほっこく」と呼ぶようです。

中村先生@東北大

スピロヘータの運動の仕組みについてでした。らせんのもものが動くのは素敵です。スピロプラズマの動きにも興味があるので、比較して、想像しながら聞いていました。体のくねり、というものがやっぱり難しくって、辻褃合わせのような動きも多いので、本

当に意味のあるものが何なのか、あんまりヒトに見せないように動いてるんじゃないかとさえ思ってしまうます。スピロヘータは種によって体の動かし方が違うように見えるものまた不思議なところだなと感じました。

セッション4 (座長:森先生@京都大)

このセッションでは、計画班以外は複雑系マシナリーの班員の方の発表となりました。このセッション以後3日目最後まで、複雑系マシナリーが続きました。ただし、はじめの領域代表の挨拶でもあったとおり、カテゴリわけはあんまり関係ないということで、ここでも原核・真核問わず、様々な運動マシナリーの発表がなされ、それ自体がこの領域の大きな魅力であるように感じました。

伊藤先生@東洋大

プロトン・ナトリウム以外でも動くべん毛モーターのお話でした。変な環境には変なバクテリアがいるものだと感心してしまいます。もしかすると、変なイオンで動くものが実はいろんなところにいるのかもしれませんが。極限微生物・環境微生物の分野にも目を向けないと、自分に言い聞かせました。フラボバクテリアやシネココッカスといったイオン駆動力で動くと考えられている変なバクテリアも、実は特殊なイオンなのかもと考えを巡らせました。今度実験してみようと思います。

んの6因子(?)だけで、生き物っぽいふるまいが再現できているのにびっくりしました。きっと混ぜる順序や割合など、たくさんの過程がこれまでにあったのだと想像されますので、それも含めて今度ゆっくり講演を聞いてみたいと思いました。

久堀先生@大阪大

レジオネラの Type IVB 分泌系のお話でした。単離した分泌装置の形をいろいろな変異株で比較し、真ん中の穴の大きさが違うということに気づかれた、とのことでした。穴の大きさが思ったよりも大きくなって、このままだとスポスポ抜けてしまいそうなので、どのようにして開閉の制御が行われているのだろうと思いました。膜と膜との fusion で輸送が行われているのなら、上手に細胞の一部を触ると輸送が見えたりしないかなと、思っていました。

伊藤先生@千葉大

原形質流動のときにみられる自己組織化のような現象をマイクロパターンの中で再構成するというお話でした。お見せいただいたビデオが手作り感満載だったのが印象的でした。原形質流動を模した条件下では、アクチンの動きが全く異なっていたので、これも硬さなどによって、繊維同士の寄り添いに違いが出て、模様が登場しているのかと想像しました。パターン自身の柔らかさを変えるというのも、実際の生体に近いのかもと思いました。

安永先生@九州工業大

アクチン束化因子、細胞動態、アクチンの非対称構造変化を主にクライオ電子線トモグラフィーを用いて、観察するというお話でした。少し内容とは外れるのかもしれませんが、イオン液体というものを初めて聞いたので、大変興味深かったです。きっと小さいものになると難しいのではと思ってしまいますが、バクテリアサイズものの動きが見えたりしないのかと、想像してしまいました。

五島先生@名古屋大

細胞の中の微小管のダイナミクスを再構成するという内容でした。興味深いビデオが次から次へと出てくるので、詳細は理解できませんでしたが、ほ

セッション5 (座長:南野先生@大阪大)

ここでは、総括班の活動について8名の演者から説明がなされました。

宮田先生@大阪市大

総括班の大きな役割の一つが、議論の場を提供することである、とのこと。班会議以外にも気軽に運動マシナリーについて議論できる場として、Facebook にディスカッションページを作成されたようです(以下のサイトを参照 <https://www.facebook.com/mycmobile>)。また、今年度中に開催されるイベントとして、以下の学会・研究会を挙げられた。1. 研究者に妄想を語ってもらうというユニークなシンポジウム@日本生物物理学会 (2015.09.13-15.) 2. 領域そのままの内容のシンポジウム@日本細菌学会 (2016.03.23-25.) 3. 真核生物と原核生物の交流の場@生体運動研究合同班会議 (2016.01.08-10.)

加藤先生@大阪大

クライオトモグラフィーの説明と、単粒子解析やトモグラフィーを個別の研究対象に適用する際に考えるべき点を丁寧に説明いただいた。トモグラフィー撮影を行うスーパーな電子顕微鏡は実情、結構混んでいるということですので、条件検討や期待される形や形の変化などをかなり事前に準備してからお願いしないと、手間をとらせてしまうだろうという気持ちになりました。万能な装置ではないと強調されていましたが、ネガティブ染色ばかりやっている私としては、スルメだけじゃなくてイカも見てみたいなぁという気持ちになることは少なくありません。相変わらず領域代表が回る映像が面白い。

片山先生@大阪市大

総括班の急速凍結レプリカがこの1年でかなり改善したというお話でした。1. ヘリウムガスおよび、そのタンク 2. 凍結用銅ブロック周辺の改善 3. バルザス風ななめ切りナイフ 4. 膜厚計 などにより、片山先生のお墨付きもいただいたとのこと。生まれ変わったフリーズフラクチャーを試されたい方は、領域代表まで。マイコプラズマのような柔らかいもの

は苦手で、細胞壁があるようなしっかりしたものが得意だということです。だとすると、細胞骨格が再配置し始めるときの細胞壁の配向具合なども面白いのかもしれませんが、柔らかいものは苦手なのかもしれませんが、どうか改善できれば、バクテリアのプロトプラストや反転膜などにも使えるので、見たいものがさらに増えそうな予感がしました。

古寺先生@金沢大

原子間力顕微鏡の走査速度を飛躍的に改善させた高速 AFM の利用について、説明がなされた。今回の班会議では、高速 AFM を会場まで持ってきていただき、実演していただいた。あっという間に、アクチン繊維のらせんが見えるので、本当にびっくりです。アクチンとコフィリンのように一分子から多分子での協調性まで面白いように見えるので、生体分子で応用できるものは、もっともっとあるのだろうと思いました。今年も AFM 夏の学校が開催されるそうです。旅費と宿泊費が支援され、かつプロの指導のもと観察ができるという素晴らしい会です(以下のリンク先を参照 http://www.se.kanazawa-u.ac.jp/bioafm_center/j/summer-school.htm)。注4

中根@学習院大

学習院大学 西坂研の顕微鏡設備を紹介した。光学顕微鏡は、生体運動研究においてもはや当たり前のツールとなっているが、新規に生体運動研究に参画されたかたや、これまでなじみのなかったかたを対象として光学顕微鏡のサポートを行っている。一分子計測や、3次元位置検出顕微鏡と光ピンセットの組み合わせ、から、シンプルに微生物の動きを観察するという事まで、お力になれるとうれしいです。

川上先生@山形大

本領域が支援する 3D プリンタとその応用につ

いて説明がなされた。山形大学にはライフ 3D プリ
ンタ創生センターがあるようで、その設備の紹介も
していただいた。本領域とは少し離れるかもしれま
せんが、臓器さえもプリントできて、しかも柔らかい
というのが、大変興味深かったです。カラーの分子模
型は、企業ブースなどのおまけとしても大好評だと
いうのは納得でした。

伊藤先生@東洋大

領域のアウトリーチ活動の一環として、生体運動
のビデオライブラリを充実させている。現在までに
500 件近くのビデオがアップロードされている。領域
の関係者には、積極的にビデオライブラリへの投稿
をお願いします、とのことです(アップロードは下記
リンク先を参照のこと [http://bunshi5.bio.nagoya-
u.ac.jp/~mycmobile/video/](http://bunshi5.bio.nagoya-u.ac.jp/~mycmobile/video/))。このライブラリをさらに
改善するためのアイデアや、より親しみやすい名称
を募集中とのこと。^{注3} 僕はよくライブラリを使用して
いるのですが、カテゴリわけがより細かくされている
ほうが助かるかなと思ってしまいます。たとえば、原
核生物の中にも、べん毛、線毛、滑走運動、その他

など、です。それに加えて、伝説のビデオコーナ
ーなんか良いかもしれません。柳田先生の昔のビデ
オも普通に並んでいるので、特設コーナーなんかも
楽しそうです。

佐藤先生@長崎大学、加藤先生@大阪大

総括班のビデオライブラリにかんするアプリと、
生体運動にかかわるゲーム開発について説明がさ
れた。図鑑ライブラリは、生き物やタンパク質や装
置についての簡単な説明と、それに関するビデオ
がお手軽に見られるというもので、iPhone と
Android からアプリのダウンロードができます。今
回の公募班員のみなさまの協力もまだまだ募集中
とのこと。ゲーム開発は、毎回僕が好きな発表
のひとつで、この回の見どころのひとつだと思われ
ます。加藤さんはまだまだだと言われていましたが、
研究対象がゲームの中で動いているというのは、と
ても幸せな気持ちになります。領域代表は完璧で
なくても良いから、どんどん載せちゃいなよ派でした。
来年の班会議での報告が楽しみです。

セッション6 (座長:宮田先生@大阪市大)

特別講演 安藤先生@金沢大

安藤先生が長年にわたり開発されてきた高速
原子間力顕微鏡(高速 AFM)に関する技術と生命
現象への応用について講演された。まず、筋肉
の分子メカニズムに関する論争について紹介され、
実験データから導き出される最終的な結論のば
らつきを無くすためには、観察の直接性が高め
る必要があることを強調された。このような背
景のもと、安藤先生は分子レベルの事象を直接
的に画像化できる AFM の高速化に 1993 年に
着手された。2001 年の米国生物物理学会で発表
された時には、1 フレーム当たり 80 ms で画像
を取得できており、現在ではビデオレートを実
現されている。高速 AFM を使うと研究が十分
された系であっても新しい発見を見つけ出すこ
とができるという言葉が印象的であった。

今回、高速 AFM を使った生命現象への応用

研究が 3 つ紹介された。まず、有名なミオシン
V の運動イメージングについて紹介された。こ
の観察の過程で、ATP の作用に変わる何らかの
手段で後ろ足をアクチンから解離させればミオ
シン V は前方に動くという仮説を立てられた。
この仮説を証明するために、イメージング中に
ミオシン V の後ろ足を走査する時のみカンチレ
バーで力を加えることで、ATP 加水分解を経る
ことなくミオシン V を順次動かしていく衝撃的
な動画を紹介された。また、この結果からミオ
シン V の ATP 加水分解のエネルギーの利用法
について議論された。次に、分子シャペロンの
GroEL-GroES について、AFM による GroES
結合解離のキネティクス解析を紹介された。2 つ
のリング間の協同性によって ADP release の遅
延をおこして上手く GroEL の 2 セットの役割

を切り替える点について、ミオシン V の運動との類似性を指摘された。3 つめとして、天然変性タンパク質の解析について紹介された。天然変性タンパク質とは、ターゲットに結合して **folding** すると秩序構造をとるので、X 線結晶解析を使えない。高速 AFM を使って、逐次変化する天然変性タンパク質の端から端までの長さを測定することで、構造を取る部分と構造を取らない部分との境界を ± 2 残基の精度での解析を実現できるらしい。

最後に、今後の高速 AFM のさらなる発展のために現在行われている技術開発について紹介

された。細胞レベルで起こる動的現象を捉えるために、広域走査範囲のスキャン方法の開発や溶液インジェクション等の応用技術の開発、プローブ側走査方式に変更することによる蛍光顕微鏡等の技術の組み合わせなどを進められている。

今回の会議において高速 AFM のデモンストレーションも拝見したが、装置のパラメータを変更するとリアルタイムで像が変化していく様子はまさに驚愕であった。私も過去数年間にわたり AFM の改良・応用の研究をしていたが、隔世の感があった。



セッション7 (座長:伊藤先生@東洋大)

福森先生@金沢大

磁性細菌のお話でした。このバクテリアは、マグネトソームと呼ばれる体内にあるナノサイズの磁石をつかって、細胞は地磁気の向きを感知することができる。このようなマグネトソーム複合体の形成機能に加えて、べん毛に及ぼす影響を明らかにしていくとのことでした。研究は多岐に及び、新種の磁性細菌を発見されるということもされているので、さらに面白い材料が見つかるのではと期待してしまおう。磁気ピンセットを使えば、バクテリアの運動を自由自在に制御できるのかもしれないと思いました。

須河先生@東京大

光学顕微鏡下のタンパク質の角度変化を検出する新しい計測法のお話でした。蛍光の偏光と FRET を組み合わせることで、溶液中で自由回転拡散している生体分子であっても、構造のねじれを捉えることが可能になるようです。10 度くらいの精度で検出可能とのことですので、様々な生体分子に応用ができるのではと思いました。

若林先生@東京工大

クラミドモナスは正または負の走光性を示す。

しかし、正負の走光性を示す分子メカニズムはまだ良く分かっていなかった。クラミドモナスの細胞の酸化還元状態により、走光性の正負の切り替えが起こることを発見した。さらに酸化還元状態と走光性の正負の対応が野生型とは異なる変異体を単離できており、細胞内カルシウム濃度の計測や、トランス鞭毛とシス鞭毛の運動の差異を解析することで、走光性の分子メカニズムの解明を目指す。

田代先生@静岡大

原核生物の中には、ガス小胞を形成することで、光・酸素などの資源を有利に獲得できるように細胞体の浮力の調整を行う。このガス小胞は、GvpA や GvpC といったタンパク質から構成される。セラチア属細菌で見られる様々な形状のガス小胞の構造解析、形成メカニズム、さらにべん毛運動とガス小胞の制御メカニズムなどの解析を進めていく。

進藤先生@名古屋大

組織の形態形成や創傷修復において、個々の細胞は、組織内部の位置や隣接する細胞との位置関係に応じて、形態を変化または移動する。アフリカツメガエル胚の形態形成における

Convergent extension (収斂伸長運動) をモデルに研究を進めている。Septin により活性型ミオシンが細胞接着面に局在し、Convergent extension が起こることを突き止めている。電子顕微鏡観察による構造解析などから、細胞集団における運動マシナリーの制御機構に迫る。

申先生@京都大

脂質二重膜の形態変化において、脂質二重層の内葉と外葉それぞれのリン脂質組成が重要となる。細胞では、flippase と floppase による能動

的なリン脂質の flip/flop 運動により、リン脂質組成の非対称性が調整されている。申グループでは、flippase の 1 つである P4-ATPase の細胞内局在を決定し、flippase 活性測定法の改良などを行っている。また、P4-ATPase の ATP10A を発現させると、ホスファチジルコリンが細胞の内側へが flip し、細胞が凹むことなどを発見した。P4-ATPase の機能解析を進め、flip 活性の上流および下流の分子メカニズムを解明していく。

セッション8 (座長:上田先生@産総研)

中山先生@長崎大

非運動性のバクテロイデーテス細菌である歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の病原性プロテアーゼ分泌に関与する機能未知遺伝子群は、運動性のバクテロイデーテスにおいては滑走運動に関わる。よって、滑走運動と病原因子分泌の 2 つの役割を持つ分子マシナリーの存在が示唆される。この分子マシナリーの構成要素である SprB は、菌体表面上を左螺旋のレールに沿って運動している。しかも、SprB が別の SprB を追い越すことがあるので、複線である。しかし、そのレールの実態は分かっていない。電子顕微鏡観察による構造解析の結果、幅約 7 nm のレイヤー構造が見つかった。SprB が動くレールとなる構造物の可能性があり、このレイヤー構造を中心に解析を進めていく。

杉村先生@京都大

ショウジョウバエの翅上皮の発生過程において細胞の形態変化や移動をモデルに、細胞集団運動におけるアクトミオシン系の機能解析を行う。ベイズ推定法により、生体組織内で非侵襲的に力を定量化することに挑戦している。AIP1-GFP による蛍光イメージングにより、AIP1 は外力依存的に局在が変化し、外力がないと局在しないことが分かった。そこで、外力依存的に何が変化することで AIP1 の局在が変化

したのか解析を進めていく。1 つの可能性として、アクチンの構造変化が考えられる。

岩楯先生@山口大

ゾウリムシなど繊毛虫の繊毛のメタクロナル波について、従来 hydrodynamic coupling 説が有力であった。しかし、物理的な障害物があってもメタクロナル波が伝わることを発見し、この結果は hydrodynamic coupling 説を否定する。そこで、細胞そのものの弾性によりメタクロナル波が伝わる可能性を考え、細胞をメカニカルに引っ張る装置を構築し、メタクロナル波の周波数応答を調べたところ、引き込み現象が起きた。しかし、細胞が外力に対して応答した可能性など、実験結果を再考する必要がある。確かな証拠を得るために、新たに実験系を構築し、メタクロナル波のメカニズムに迫る。

林郁子先生@横浜市立大

病原性バチルス属において、低コピー数しかない pXO1 が正確に娘細胞に分配されるにはチューブリン様タンパク質 TubZ が必須である。このプラスミド分配は、TubZ を重合分子モーターとする分配機構により駆動される。この分配機構において、転写因子 TubR と TubY が関わっており、これまでに TubR、TubZ の結晶構造解析、TubR の DNA 認識配列の決定などを行って

きた。また、TubY の細胞内局在を解析している。TubZ, TubR, TubY, セントロメア様 DNA の立体構造、機能解析を進めていく。

八木俊樹先生@県立広島大

鞭毛繊維運動において、ダイニンによる微小管の滑り運動を鞭毛の屈曲運動に変換するのに、中心小管とスポークが重要であることを突き止めている。中心小管の変異株の解析を進め、軸

糸の直径の調整が屈曲運動に重要であることが分かってきた。例えば、 Δ CP/RS 変異株の軸糸の直径は 1~2 nm 縮み、 Δ DRC/Nexin は直径が伸びていた。屈曲運動中の軸糸の直径の変化を蛍光イメージングにより捉えることや、スポークの長さを変えた形質転換体の運動性の解析などから、軸糸の直径変化と屈曲運動の関わりを明らかにしていく。

セッション8 (座長:宮田先生@大阪市大)

上田太郎先生@産総研

上田グループでは、Cofilin と HMM の相互排他的なアクチンへの結合を明らかにした。また、高速 AFM 観察の結果によると、Cofilin が結合した F-actin のピッチは 36-nm から 27-nm に減少することから、cofilin が結合したことで F-actin の構造が変化することを示す。さらに、この F-actin の構造変化は P-端側へ伝達することもわかってきた。一方で、Myosin が結合すると、ピッチが長くなる。これにより、cofilin の結合を阻害すると考えられる。これらの結果は、F-actin の構造多形性を示唆し、細胞内でのアクチンの構造多形性を捉えるべく研究を進める。

中根大介先生@学習院大

シアノバクテリアの *Synechococcus* は、べん毛がないにも関わらず、約 25 $\mu\text{m/s}$ で遊泳する。その運動メカニズムについては、いくつかのモデルが提案されているが、良く分かっていない。cccp で運動活性が失われるので、ion motive force だと考えられる。S-layer と SwmB (1 MDa) からなる運動機関があると考えられている。Tethered cell assay で細胞がガラス面上で回転すること、電子顕微鏡観察により 200-nm 程度の毛が生えていることを発見した。この毛がどう遊泳運動と関わっているのか解析を進めていく。

玉腰雅忠先@東京薬科大

Type IV pili (Tfp) は、細胞の twitching、細胞外 DNA の取り込み、病原微生物の宿主細胞の認識など多くの現象に関わる。Type IV pili は PilA の重合・脱重合により線毛の伸長・収縮がおき、伸長・収縮それぞれの機能を担う ATPase が存在すると考えられている。しかし、分子メカニズムはまだ良く分かっていない。そこで、熱安定性が高い高度好熱菌の Type IV pili を用いて、解析を進めていく。これまでに未知の lipoprotein を同定している。また、高度好熱菌の twitching motility を、高温環境下でもリアルタイムで観察できる実験系を立ち上げる。

塩見大輔先生@立教大

バクテリアの形態はペプチドグリカンにより形成される。ペプチドグリカン合成酵素の空間配置を制御しているのが MreB であり、MreB は MreC/D、PBP2、RodZ などとともに elongasome 超分子を構成する。これらの細胞内および膜上での動きを解析したところ、分子ごとに動きが異なっているようであった。さらに解析を進めていく。また、先細りしている細胞など様々な形態を示すバクテリアにおける MreB の動きを観察し、MreB の動態と形態形成の因果関係を明らかにしていく。

岡田康志先生@理研

KIF5 はアメーバでは進行方向に局在し、神経細胞では Growth cone の先端に局在する。な

ぜ KIF5 がこのような局在を示すのか解析を進めている。これまでに、KIF5C は GTP 型の MT を認識し、また KIF5C が Growth cone を選ぶのではなく、KIF5C が行った先に Growth cone が伸びることなどが分かってきた。

森本雄祐先生@理研

細胞性粘菌の走化性運動において、細胞内 pH 上昇や Ca^{2+} 濃度の低下など、イオンの流れを伴う。したがって、膜電位の変化が、細胞運動

を制御する重要な要因の 1 つと考えている。そこで、運動する 1 細胞の膜電位を継時的にかつ安定して計測でき、さらに細胞の局所の膜電位を制御する計測技術を確立する。そこでまず、電位感受性色素(DiSBAC₂(3))による膜電位の蛍光イメージングを行った。cAMP wave と膜電位変化とはおおよそ同期していたが、同期しないケースも観察された。オプトジェネティクスを応用することで、cAMP wave と膜電位変化の因果関係について解析を進めていく。^{注5}

総合討論 (宮田先生@大阪市立大学)

ここでは以下の内容が話題に挙がった。

1. 来年の領域班会議の日程

長崎大学の中山浩次先生が世話人。

2016 年 6 月 8-10 日 長崎大学医学部の良順会館にて開催される。^{注6-7}

2. 本年度中のイベント

生物物理学会、生体運動合同班会議、細菌学会にて領域のシンポジウムが開催される。特に生物物理学会でのシンポジウムはチャレンジングな内容のようです。Facebook に掲載されている詳細を以下に張り付けておきました。

「生体マシナリーにおける力発生と進化の共通原理」

近年、解析技術の発展のため、様々なシステムにおける力発生過程が、原子レベルで具体的に議論されるようになってきた。今こそあらためて“各論の先にある共通原理”を考える時であろう。本シンポジウムでは、登壇者の研究対象およびデータの枠を超えた議論を試みる。実際には、各登壇者が持ち時間 10+5 分以内に、最小限に自身の系を紹介し、共通原理にかんする主張および議論を行う。本シンポジウムでは“新しいシンポジウム形態”の模索も目的としている。

【日時】9/14(二日目)午後、2.5 時間

【オーガナイザー】

南野 徹(大阪大), 宮田真人(大阪市大)

【講演者(敬称略, 年齢(登壇予定)順)】

中村修一(東北大), 渡邊力也(東京大), 古寺哲幸(金沢大), 高野光則(早稲田大), 森 博幸(京都大), 原田慶恵(京都大), 柳田敏雄(大阪大), 木下一彦(早稲田大), 吉田賢右(京産大)

3. 総括班のすすめ

高速 AFM と電子顕微鏡の支援が充実しているので、是非。アプリ名について、良いアイデアがあれば、くださいとのことでした。

4. 評価委員からのコメント

石渡先生: 宮田先生の話が印象的だった。多様性・いろんな仕組み目を向けて、研究が進んだ後は、全体像を眺めて、はたらく仕組み、できる仕組み、根本的なことに思いをはせてみてください。再構成については、3 つ以上要素があるときには、入れ方によって変わる、特に3者以上は自分の経験からも大きく変わることがあるので、それを念頭に置いて研究してくださいとのことでした。

5. 様々な参加者からの感想

神谷先生、進藤先生、田代先生、植木先生、ベルタン先生、西山先生から領域班会議に関するコメントをいただいた。班会議の目的でもあ

った、学問分野横断的・学会横断的・年齢層縦断的な研究交流の場として素晴らしく機能しているように感じた。

本会議を支えて下さった、金沢大学 福森研のみなさま、また AFM を実演してくださった古寺さん 安藤研の学生さんに感謝申し上げます。3 日間ありがとうございました。

例によって、次のページにおまけをつけました。森先生のように素敵なおまけとはいきませんが、毎度毎度森先生にお願いするのは申し訳ないので、わたし(中根)が思いついたことを書いてみました。

- 1) 会場からホテルの近くには「金沢城惣構跡」があります。金沢城を防御する目的で江戸時代に築かれたようです。ちょうど「ブラタモリ」という番組でやっていたので、タイムリーでした。意識しながら歩くと、朝の散歩がより良いものになりました。生物物理学会も金沢で開催されるので、次回も近くのホテルにしようかと思いました。
<http://www4.city.kanazawa.lg.jp/11104/bunkazaimain/torikumi/sougamaechousa.html>
- 2) 宮田研の後輩が7月から曾和さんのラボでポスドクをするようです。ちゃんとできるか今からとても心配しています。曾和さん、よろしくおねがいたします。
- 3) 名前については、「生体運動秘宝館」ぐらいのほうが、領域の雰囲気ともマッチしているのではと思いました。そういえば、学生の頃、熱海の研究会に参加した帰りに宮田先生と秘宝館を訪れたのをよく覚えていてます。現存する秘宝館は熱海にしかなく、近年再評価されつつあることを考えると、領域代表には先見の明があったのかもしれない。
- 4) 領域会議の次の日、東京で分子モーター討論会という研究会があったのですが、古寺さんが何事もなかったかのように発表されていたのが印象的でした。前日の会議の後に、高速 AFM を解体して大学まで(結構離れている)運んでいるはずなので、鉄人のように思えました。実は双子なのかもしれません。
- 5) 森本さんと、うちの研究室の木下くんは情報交換会後の宴会で、親睦を深めたそうです。いろいろな方と仲良くなれるのは班会議の醍醐味だと思いました。
- 6) ポスドクのときに、2年間長崎に住んでいたのが、来年の開催が非常に楽しみです。「長崎は今日も雨だった」とありますが、長崎の雨は全国平均程度しかありません。ただ、湿度がすごく高いので、うっかりしているとすぐに布団がカビてしまっています。
- 7) 会場となる良順会館のすぐ裏には原爆遺構の建物があります。鉄筋コンクリで頑丈だったため、焼けずに残ったようです。興味深いことに、今もその建物はゲストハウスとして使われています。山口大学の清水さんはここに宿泊されたこともあります。