

生化学会シンポジウム「運動超分子マシナリーの機能メカニズム」報告記

執筆：森 博幸、監修：小嶋誠司

第 85 回日本生化学会大会シンポジウム 2S15「運動超分子マシナリーの機能メカニズム」(オーガナイザー：名大・小嶋誠司、京大・森博幸)が、平成24年12月15日(土)午後2時30分から、福岡国際会議場第5会場で開催された。福岡は、曇り時々雨の生憎の天候ではあったが、会場には入りきれない程の聴衆が押し寄せ(多少のリップサービスを含む)、熱気にあふれかえっていた(かなりの誇張を含む)。この場面を目にしたオーガナイザーはもはや涙があふれ出るのを抑えることはできなかった・・・(嘘八百)。

学会の様子を、嘘を交えずに冷静に振り返る前に、この日に至るまでの経緯を簡単に記しておく。

(企画)

「宮田新領域『運動マシナリー』の宣伝を兼ねて、名大・小嶋、京大・森でシンポジウムを企画しよう。」との話が持ち上がったのは、2012年の3月のことであった。応募を薦めて下さった名大・本間先生の方から、「特に新領域の内容には拘らず、自分達の好きな形で進めて良いよ。」との言葉を頂いた。当初頂戴した案(イオントランスポーターの構造・機能に焦点を当てたシンポ)は何となく気が乗らず、別の方針で進めることにした¹。そうは言っても、多少は領域の宣伝になるように「**運動マシナリー**」の看板を入れつつ、全体として統一が取れるように以下の2点を決めた。1)オーガナイザーの無名ぶりを逆手に取って²、実際に現場で面白い研究をしている

若手の人だけで編成する³。2)本領域が、「クライオ電子線トモグラフィー」「高速原子間力顕微鏡(高速AFM)」「急速凍結レプリカ電子顕微鏡」の技術開発・研究支援を進めていることを参加者に知ってもらうために、これらの技術を用いて面白い成果を挙げている人にも是非発表に加わってもらう⁴。

上の基準に合う発表者として、中根さん(長崎大)、若林さん(当時東大、現東工大)、加藤さん(阪大)、古寺さん(金沢大)の4人とオーガナイザーの小嶋(名大)、森(京大)の6人のメンバーを選び、公募シンポジウムに応募した。

(採択と方針)

6月に入り、本年大会のプログラム委員長より、「サクサク!」の連絡を受け取った。採択率43%(20/46)の狭き門を勝ち抜いたことになる。生化学会ではあまり馴染みのない「運動」をキーワードにしていたことが功を奏したのかも知れない。加えて、幸いなことに大会2日目の午後という良い時間と場所を割り当ててもらうことができた。

早速の作戦会議である。プログラム上、少しでも参加者の関心を集め統一感を高めるため、講演タイトルの主題は、「XXマシナリー」の形とし、具体的な内容は副題で説明をしてもらうようにした。オーガナイザーのわがままを聞いて下さった講演者の皆さんに感謝したい。後は、本番に向けて皆を“ぎゃふん”と言わせるような面白いデータを揃えるだけだ。(それが最も難しい事は言うまでもないが・・・)

(前夜祭)

シンポを盛り上げるためには、講演者みんなの連帯感が欠かせない。そのためには、「これはもう飲むしかないでしょう!!」という事で、前日 12/14 の夜にシンポジスト6名と本間先生で決起集会を開いた。場所は、博多の超人気モツ鍋店「山中(赤坂店)」である⁵。約2時間、美味しい料理に舌鼓を打ちながら至福の時間を過ごした。プライベートな話も含め⁶、色々な情報交換もでき、親密度は一気に高まった。これで、シンポジウムの成功は間違いない。すっかり安心して、発表の準備もせずに危うく寝てしまうところだった。



(前列左より、本間、小嶋、若林

後列左より、森、加藤、古寺、中根)(敬称略)

(当日)

筆者達を含め講演者が会場に勢揃いしたのは、開始約20分前の午後2時10分頃。会場には、30人程度の人々が既に入室しており(そのうち半数近くは顔見知りであったが・・・)、講演者と会場スタッフだけのシンポジウムは避けられそうで、情けないことにちょっとホットする。パソコンを預けた後は、皆で馬鹿話をしながら、緊張感をやり過ごす。その後、イスは後ろの方から徐々に埋まって行き、開始の頃には、6、7割程度の入りとなった。(最終的には立ち見の人も出た。前の方は少し空いていたが。) その中には、誰もが名前を

知っている大先生のお顔も所々にあり、少し嬉しくなった。

定刻になり、オーガナイザーの小嶋さんの説明でシンポジウムの幕が開いた。シンポジウム開催の主旨説明の後に、宮田新領域の紹介を行った。多くの方々に領域のHPを訪問して頂きたいものだ。(この原稿を読まれている方は、既に訪問されている事は疑いない訳だが・・・)

以下は、各講演の概要である。加えて、各講演者に自身の研究の「売り」を書いて頂いたので、それも掲載する。皆さん真面目にアピールしてくれたので、概要は簡単に済んで大助かりである。

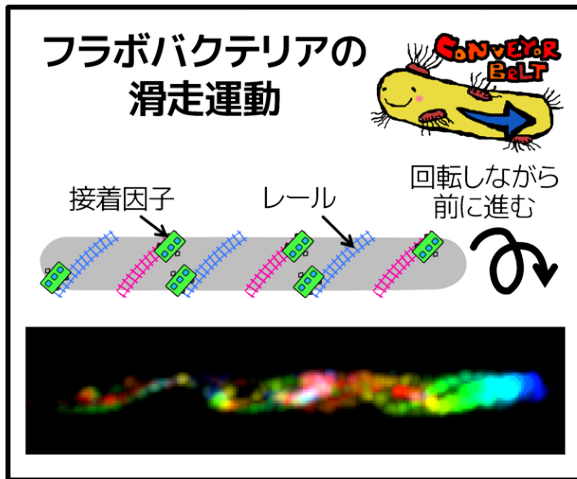
1、中根(長崎大): フラボバクテリアの滑走マシナリー

トップバッターは、独特の味のある語り口が魅力の中根さんである。

既存の運動装置とは全く異なる新規な装置を用いて滑走するフラボバクテリアの運動を紹介した。細胞外膜表面に存在するタンパク質複合体⁷が、細菌表面に存在する螺旋状の線路に沿って移動することにより運動するとのモデルを提案した。内膜を挟んで形成されるPMFエネルギーを使って、外膜上に存在するタンパク質をどのように動かしているのか? 「この運動装置の構成因子は、歯周病菌の分泌装置と関連が深い。」との話も出されたが、両者がどのような形で関わっているのか興味が尽きない。今後の展開が楽しみである。

(アピールポイント)

私たちの研究室では、フラボバクテリアの滑走運動の研究をしています。これは、べん毛や線毛をつかわない、未知のバクテリアの運動です。この運動様式は複雑で、前後に滑るように運動、反転、回転します。



これまでに、運動に関連する 20 種類以上のタンパク質が同定されていますが、機能はほとんどわかっていません。これらのタンパク質群は、歯周病を含む、様々な感染症と深く結び付いています。けれど、マシナリーの動きや形にせまる研究は、ほとんどありませんでした。最近、私たちは、このバクテリアの外膜の一部が、高速に動いていることを見つけました。動いているのは、運動時に接着因子として機能する 700 kDa の巨大タンパク質でした。接着因子が、らせんに沿って動くことで、複雑な運動様式を達成していると考えています。

このマシナリーの研究は、はじめたばかりで、様々な謎がまだまだ残っています。長崎大学では、一緒に研究して下さるポスドクや技術職員のかたを募集しています。長崎は、夜景も綺麗で、観光スポットも多く、魚も安くて美味しいです。興味をもっていただけた方は、私たちの研究室のポスに連絡いただくと助かります。(中山浩次 長崎大学 大学院医歯薬 口腔病原微生物 knak@nagasaki-u.ac.jp)

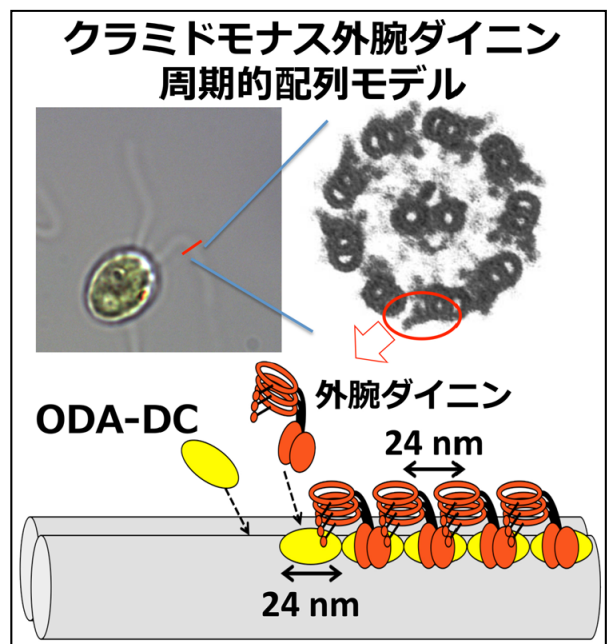
2、若林（東工大）：クラミドモナスの鞭毛運動マシナリー

若林さんは、最近、東工大の久堀研の准教授として異動された。世の中本当に狭い

ものだ。落ち着いた語り口で丁寧に発表された。

前半では、真核生物鞭毛研究のモデル生物クラミドモナスの運動マシナリーを概説した。強い光にビックリしてカエルのように鞭毛をばたつかせて逃げているクラミドモナスが妙に可愛らしかった。

講演の後半の内容については下のアピールポイント中に書かれているので、そちらをご覧ください（下のコメント読む前に、アピールポイントを先に読んで下さい）。話をうかがって、外腕ダイニンの正確な配置については、なるほどと思ったのだが、では、このドッキング複合体が、どのようにして特定の位置に正しく配置されるのか??? 謎は尽きない。今後、その全貌を解明していただけることだろう。



(アピールポイント)

私は緑藻クラミドモナスを用いて、真核生物鞭毛・繊毛の運動調節と構築のしくみを研究しています。鞭毛は500種類以上のタンパク質が96 nmの周期性を保って組み立てられる、精密な「分子機械」です。近年、その構造の詳細が徐々に明らかになってきましたが、どのようなしくみで鞭毛

が組み立てられ、また運動が調節されるのか、その分子メカニズムの詳細は分かっていません。今回の講演では、鞭毛打の原動力を生み出すモータータンパク質の1つである外腕ダイニンが微小管上の決まった場所に24 nm周期で配列するしくみについて、主要な役割を演じる「外腕ダイニンドッキング複合体」の構造と機能を中心に概説しました。

研究室ではこの他に、鞭毛運動やクラミドモナスの細胞行動がレドックス（酸化還元）シグナルによって調節されることを最近見出し、その分子機構についても研究しています。私は2012年11月に現所属に異動しました。現在（12月末）ようやくクラミドモナスの培養を始められたという状況ですが、今後鞭毛の構造と運動について新しい研究を展開させたいと思っています。

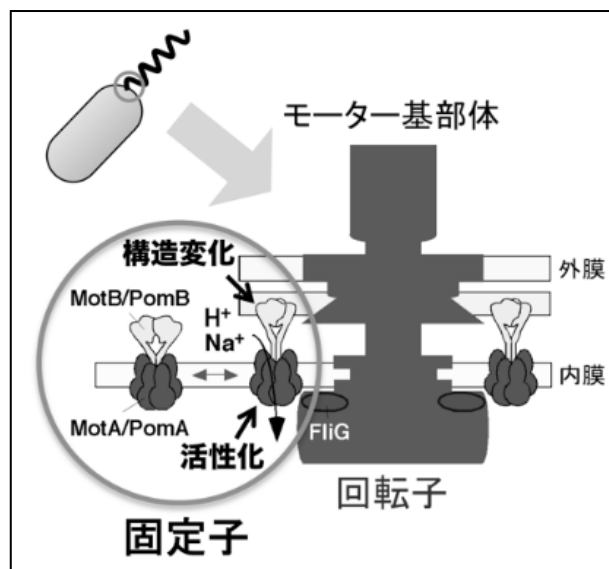
3、小嶋（名大）：細菌べん毛運動マシナリー

続いて小嶋さんが登壇された。細菌のべん毛運動マシナリーの運動メカニズム、特にイオン濃度勾配エネルギーの運動エネルギーへの変換に関して、構造解析、生化学、生物物理学を組み合わせた最新の知見を報告された。その内容については、お人柄がにじみでた丁寧な「アピールポイント」中に詳しく述べられているので、余計な説明は不要だろう。そのまま下を読んでいただきたい。

（アピールポイント）

私は「回転」する運動マシナリーである細菌べん毛の話をしていただきました。難波先生の研究室で作られたべん毛モーターのムービーを見ると、モーターの回転機構はかなり分かってきたように思っていますが、実は固定子と回転子が相互作用して力を出す時に、どうやってイオン

透過のエネルギーを変換しているかという、非常に根本の問題が分かっていないのです。そのためには、イオンを透過しエネルギー変換が可能な、いわゆる「活性を持った固定子」をきちんと特徴付けしなければなりません。



最近の研究で分かってきたことは、固定子は予想外にダイナミックな性質を持ち、常にモーターに固定されているのではなく入れ替わることができる、ということです。さらに固定子はモーターに設置されて初めて高いイオン透過能を持つようになることも明らかになりました。つまり、エネルギー変換の本質は、モーターに設置されてイオン透過能が活性化した固定子の解析から見えてくると考えられます。そこで私たちはまず、固定子の「固定」に関わる領域の構造を解き明かそうと思いました。結晶化に少し時間がかかりましたが、私たちが解いた固定子Bサブユニットのペリプラズム領域の構造は、コンパクトな1つのドメインで成り立ち、他のペプチドグリカン結合タンパク質と良く似たドメインのN末端側に固定子特有のヘリックスが寄り添うような形をしていました。予想以上にコンパクトなこの構造から考えられたのは、回転子周囲へ固定子が集合して設

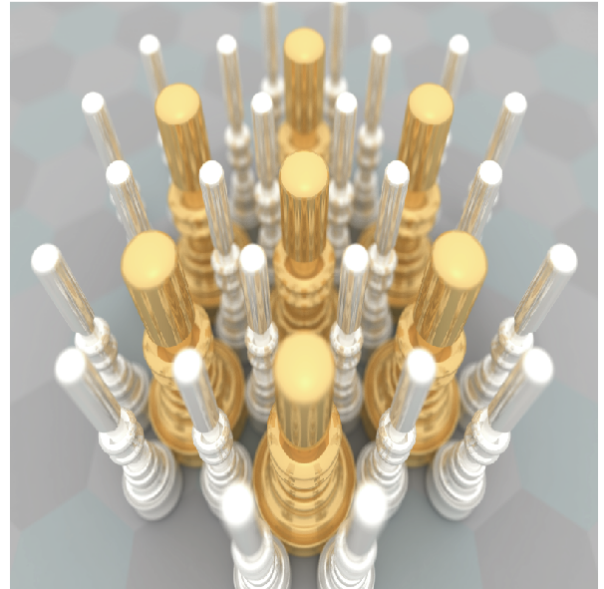
置される際に、N 末端ヘリックスとコアドメイン間の相互作用が崩れる大きな構造変化が誘起されてイオン透過活性の上昇と細胞壁への固定が起こるということでした。H⁺駆動型と Na⁺駆動型の固定子は似た構造をもつことと、この構造変化を阻害するジスルフィド架橋実験の結果は、構造変化モデルを支持しています。分かりやすいモデルなので皆さんの印象には残るようなのですが、「本当に構造変化は起こっているの？」といつも聞かれます。そう、まだ直接構造変化を見た訳ではないのです。今後は領域の可視化技術を応用してダイナミックな固定子の姿を捉えたいと思っています。

4、加藤（阪大）：電子顕微鏡で捉えた運動マシナリー

加藤さんはクライオトモグラフィーの専門家である。本シンポで最も盛り上がった講演の1つと言ってよいだろう。

フランスのマルセイユ沖を遊泳していた磁性細菌 MO-1 が捕獲された。この菌は両極に極太べん毛様構造を2本持ち、尋常成らざるスピードで泳ぎ回る。この極太べん毛の構造がクライオトモグラフィーの手法により明らかにされた。驚くべき事に、これは、7本の太いべん毛繊維と、細いファイバーが束のようになり鞘に収納されている構造をしていた。「毛利元就の3本の矢」ではないが、複数のべん毛が力を合わせることで、高速の移動を可能にしていると考えられる。名付けて「**水平連結六方7連べん毛モーター**」、秀逸である⁸。これを正しく配置するメカニズムの研究も面白そうだと感じた。「でも、これが本当に回転しているかどうかは誰も観察してないからまだ解らないのですね。」と後でこっそり教えてくれた。

水平連結六方7連べん毛モーターのモデル



（アピールポイント）

今回、私はクライオ電子線トモグラフィーを用いた構造解析の一つの結果として、MO-1 のべん毛モーターの構造解析について発表させていただきました。この研究はフランスの CNRS との共同研究で始めたプロジェクトで、当初それほど興味を持って始めた訳ではありませんでした。しかし構造解析をしてみると、それが非常に面白いことに気がつきました。特に7本のべん毛繊維と24本の細い繊維が六方格子状に規則的に配置して一つの束を作っているということは、想像すらしていませんでした。余談ですが、我々はこのべん毛モーターを”水平連結六方7連べん毛モーター”と名付け、その配列を表した荘厳なCGと共にプレス発表したところ、新聞社からの問い合わせは一件もありませんでしたが、桁違いに多いFacebookの”いいね”とTwitterでのツイートを頂きました。我々が使うクライオ電子線トモグラフィーという技術は、機能状態の分子構造を解析できる唯一の手法で、構造生物学の分野で非常に強力なツールです。なにより、”目で見える”ことによる説得力は分野外の人にもわか

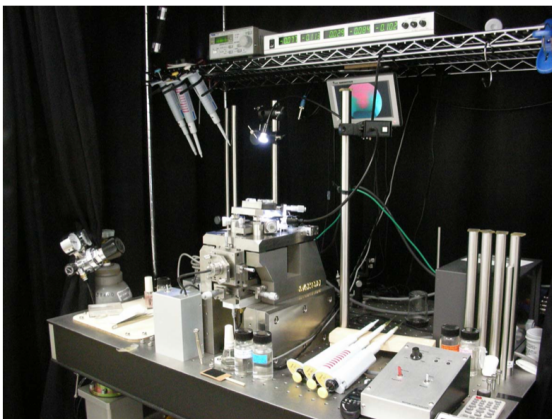
りやすく、特に素人には新鮮に写るのだと思います。本領域ではこのクライオ電子線トモグラフィーの研究支援も行っております。興味をお持ちでしたらご一報ください。

5、古寺（金沢大）：高速 AFM で捉えた運動マシナリー

5 番目は古寺さんである。タイトルから解る通り、安藤研で開発している高速 AFM を用いて種々のタンパク質の動きを直接観察されている。本研究手法は、「運動マシナリー」の解析にはとても相性が良く、色々な情報を得ることができることから、フロアの食いつき方が、その次の講演者の場合とまるで違っていた。

古寺さんも丁寧にアピールを書いていたので、詳細は下を読んでいただきたい。私も機会があれば AFM 夏の学校に参加したいと考えている。皆で行きましょう！！

高速AFM装置の写真



液中ナノメートル世界を動画で撮影!!

（アピールポイント）

今回の発表では、はじめに、私たちの研究室で開発してきている高速 AFM の原理と性能について簡単に紹介しました。次に、高速 AFM による運動マシナリー研究のケーススタディとして、大阪市立大学の宮田真

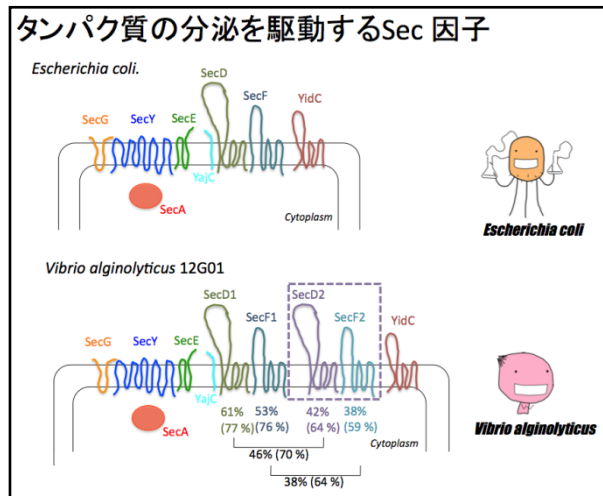
人先生との共同研究で行っている“マイコプラズマの滑走装置”の観察結果と、県立広島大学の相沢慎一先生との共同研究で行っている“べん毛のフックの長さを決定しているタンパク質 (FliK)”の観察結果に関して、発表しました。運動マシナリーを形成する個々のタンパク質の構造動態や、それらの細胞表面上での配置の仕方などを示したのですが、それぞれ興味深い結果が導かれつつあるように思います。今後の展開が楽しみです。ちなみに、今回発表では、9 月の生物物理学会の後に行われた宮田新領域のキックオフミーティングで配られた“缶バッチ”（マイコプラズマ・モービレのバージョン）を付けて発表させていただきました。

また、宣伝になりますが、金沢大学では今年の夏から、金沢大学で誕生した先端バイオ AFM 技術をご自身の研究で使用してみたい若手研究者や学生さんを対象に、「バイオ AFM 夏の学校」という企画を始めました。1 週間という期間でしたが、参加された全ての方が AFM の操作法に慣れ、さらにほとんどの参加者の方が、自身の研究対象の観察にも（程度には差こそあれ）成功されていたようです。ちなみに、今回の発表で使用したマイコプラズマ関連の AFM 画像は、夏の学校に参加された宮田研究室の田原さんと笠井さんが撮影したものなのです。やはり、サンプルの特性を熟知された方が観察すると、面白い結果が次々出てきますね。金沢大の運営スタッフも、ずっとワクワクが続く一週間でした。来年以降も、この夏の学校を開催しますので、興味のある方は、是非参加してみてください。

6、森（京大）：ビブリオ菌のタンパク質分泌マシナリー

最後は森である。運動のシンポにも関わ

らず、1人だけ運動とは無関係な発現制御の話をして興奮をかっていた。この人は、いつも空気を読み（ま）ない困ったちゃんである。



分泌の昂進に関わる膜タンパク質 SecDF は、内膜を挟んで形成される一価カチオン濃度勾配エネルギーを利用して、膜透過途上の分泌タンパク質を引っ張り出すと考えられているが、本シンポではビブリオ菌の SecDF に焦点を当てて以下の話をした。ビブリオ菌は、他の細菌と異なり2種類の SecDF パラログを持つが、両方で用いるイオンが異なっている。即ち、一方は Na⁺の濃度勾配を、他方は H⁺勾配を利用して機能する。H⁺型の SecDF2 の発現は、通常は低く抑えられているが、ビブリオ菌のタンパク質分泌能が低下した時に強い発現誘導が起こる。secDF2 遺伝子上流に位置する u-orf（分泌タンパク質 U-ORF をコードしている）がこの発現制御に関わっている。「U-ORF の分泌能が低下すると、U-ORF タンパク質の合成は、C 末端近くの高度保存領域の位置で停止し、この領域の mRNA の 2 次構造が壊されて、下流の SecDF2 の翻訳が開始される。」との作業仮説を提案した。ビブリオ菌の生存戦略として2種類の SecDF を利用していることから、この因子の重要性が強く示

唆される。

（アピールポイント）

翻訳の停止と共役した下流遺伝子の発現上昇というメカニズムは、大腸菌の secM-secA 系、枯草菌の mifM-yidC2 系で既に知られており、今回が3例目です。全て、タンパク質の分泌、膜組み込みに関わるといふ点が共通しています。このことは、「タンパク質の合成」と「膜透過」という2つの重要な生命反応には極めて密接な関係があることを示していると考えられます。

発現制御の基本的な原理（上流 ORF の翻訳を止めて下流遺伝子の発現を上げる機構）は、3者で共通していますが、翻訳停止に関与する「アミノ酸モチーフ」も、発現上昇される因子も3者で全く異なります。翻訳停止のメカニズムの解明に興味を持たれます。U-ORF による SecD2 の発現制御機構は、ビブリオ属においてのみ観察されることから、進化の後期で独自に獲得されてきたものと解釈できます。翻訳の停止を利用した同様の発現調節機構はまだ他にも存在しているのかも知れません。

講演終了後、小嶋さんの締め言葉により盛会のうちに終了した。フロアからもたくさん質問が出て、活気にあふれた楽しいシンポジウムとなった（と思いたい）。シンポ終了後も、講演者は、多くの方々から個別に質問を受けたり、実験の具体的な話を尋ねられたりと大忙しだった。特に古寺さんはひっぱりだこであった。知り合いの方からは、「いつもの生化学会では聞けない話が多くて楽しかったよ。」との声をかけていただき、嬉しく感じた。質問等が一段落ついた後で、講演者みんなの集合記念写真を取っていただき、少し高揚した気持ちで会場を後にした。



(左より、古寺、若林、森、小嶋、加藤、中根)

長々と読んでいただきありがとうございました。

次のページにお馬鹿な注釈を付けてあるので、そちらも是非ご覧下さい。

最後になりますが、本シンポジウムにご参加頂いた皆様ありがとうございました。講演者の皆さん、ご苦労様でした。これからもみんなで宮田新領域を盛り上げていきましょう。

追記

細菌から真核生物まで、「運動」は実に様々で、それらの「けったい」な動きを「見る」楽しさからこの分野の研究はスタートするのだろう。次には、それを動かす「装置を調べる」楽しさに興味は向かい、さらに、「そのメカニズム」を調べる楽しさへと研究は深化して行く。どの段階もすこぶる面白く、夢を感じる。

宮田新領域は、多種多様な生き物の「(変な)運動」を研究している人達が気楽に意見交換できる「場」を提供できればと考えています(多分)。代表はちょっと(かなり)怪しい感じですが、気さくな方です。まずは、面白い運動の動画の投稿をお待ちしています。お気軽に以下にアクセスして下さい。

<http://bunshi5.bio.nagoya-u.ac.jp/~mycm/obile/video.html>

注1) 本会では大物の先生によるトランスポーターの企画が採択されており、当初の計画のまま提案していた場合には、玉砕は必至だったと思われる。変更して良かった。

注2) シンポジウムが始まる前、会場の外で講演者の1名が耳にした声である。「運動マシナリーってシンポがあるよね。行く?」「他に聞きたいの無いからね。でも、このシンポの発表者、誰も知らないんだけど。」この講演者は「悪かったな!無名で!」と内心思ったに違いない。でも、発表を聞いて「面白い内容にびっくり!!」したのは参加者に違いない。

注3) 冷静に考えれば、オーガナイザーの1人(47歳)はもはや若手とは言えるはずもなく、選考基準から大きく逸脱するが、「あまりの小物ぶり」と「辛うじて実験現場に残っている」ことから、有資格者と言いきれることにしている。

注4) 候補者の選考の際、「急速凍結レプリカ電子顕微鏡」の技術を持つ若手研究者が思い浮かばず、この技術を継ぐ次の世代の育成の重要性を感じた。本領域がその役目の一旦を担うことが出来ればと期待している。これは領域代表の願いでもある。(多分)

注5) このお店は博多では知らない人はいない程の人気らしく、予約もそう簡単には取れないらしい。タクシーの運転手に店名を告げると、何も言わずに店先まで運んでくれたそうである。この店は、本領域を担当して下さっている学術調査官のI葉さんより推薦していただいた。ほんまにええ店ありがとうございました。皆大満足でした。これからも宜しくお願いします。(へこへこ)

注6) 新婚ほやほやのAさん、ご結婚おめでとうございます。ストイックな生活はほどほどにして早く家に帰りましょう。

注7) 今更言うまでもないが、久堀先生は、吉田賢右研の准教授として長らく研究室を支えて来られた。吉田先生は、森の師匠の伊藤維昭先生の「マブダチ」(死語?)であり、伊藤・吉田研は、京産大のお隣さんでもある。森は、若林さんとは今回が初対面であったが、知り合いの知り合いだったわけだ。狭い世界を生きているとつくづく感じた次第である。

注8) 筆者の少年時代には、「1人より2人がいいさ。2人より3人がいい。」の歌で始まるヒーロー戦隊もの「太陽戦隊サンバルカン」(右図参照、著作権違反かも?)がはやっていたが、正にそれを地でいくような話だ。世の中には面白い事が幾らでも転がっている。

