

▶ 16 番染色体上にあることが突き止められた。Fregin たち<sup>5</sup>は、VKOR 変異の種類の違いがワルファリン耐性になるか血液凝固因子の欠損を起こすかの違いになっているのではないかと考え、齧歯類染色体にあるワルファリン耐性領域に似たヒト染色体領域に問題の遺伝子があることを突き止めた。

そこで Rost たちと Li たちはヒトの 16 番染色体に的を絞った。Rost たち<sup>1</sup>は、問題の DNA 領域に 100 を超える遺伝子が存在することに気づいた。彼らは遺伝子のリストをふるいにかけるため、VKOR 活性を遺伝的に欠損した患者とラットを調べた。すると、ビタミン K 依存性血液凝固因子を欠損した 2 つの家系と、遺伝性のワルファリン耐性をもつ 4 つの家系と、ワルファリン様毒素に耐性のある多数のラット系統の 3 者では、ある特定の遺伝子に変異があることがわかった。さらに Rost たちは、魚類やカエル、そしてカにも同様の遺伝子があることを見つけた(ただし、ショウジョウバエにはなかった)。

Rost たちの報告によると、この VKOR の候補遺伝子は低分子量の膜貫通タンパク質をコードしており、このタンパク質は細胞内区画の 1 つである小胞体に存在している。このタンパク質はさらに大きい複合体の 1 成分にすぎない可能性が残されているため、Rost たちはこのタンパク質にビタミン K エポキシド還元酵素複合体サブユニット 1 (VKORC1) と名づけた。その正常な遺伝子からつくられたタンパク質は VKOR 活性を示し、この活性はワルファリンによって阻害される。血液凝固因子欠損症の患者の遺伝子がコードする変異タンパク質は、予想された通り不活性である。意外なことに、ワルファリン耐性をもつ人々の変異タンパク質は、培養細胞で調べた場合にはワルファリンに対してかなりの感受性を示す。VKORC1 変異が生体内でどうやってワルファリン耐性を生じるのかは、まだ解明されていない。

Li たち<sup>2</sup>は、VKOR 変異患者を研究対象とする機会に恵まれなかったが、この不利な条件を独創的な方法で乗り越えた。彼らはまず、16 番染色体の問題の領域から、機能がわかっていたり機能の予想がついていたりするタンパク質の遺伝子を除外した。次に、膜貫通領域と思われる領域をもつタンパク質の遺伝子候補を 13 個選び出した (VKOR は膜タンパク質だと見られているためである)。

Li たちはその次に RNA 干渉法を使って VKOR 遺伝子を特定した。この手法では、二本鎖の低分子干渉 RNA 分子 (siRNA) を細胞内に挿入する。細胞内で RNA 分子は適合するメッセンジャー RNA を標的として分解させる。その結果、これらのメッセンジャー RNA をコードする遺伝子は効果的に発現が抑制される。Li たちは、VKOR 活性の高いヒト細胞で、13 個に絞り込んだ候補遺伝子それぞれの発現が抑制されるように siRNA を設計した。そして、ある 1 個の遺伝子だけ (これは Rost たちの見つけた VKORC1 遺伝子と同じもの) を標的にすることで、VKOR 活性が大きく低減することを見つけた。この遺伝子は、昆虫の細胞で発現すると活性のある VKOR を産生し、この VKOR はワルファリンによって阻害された。Li たちが述べているように、siRNA を利用したこの方法は、たとえ研究対象の生理活性が多量の遺伝子産物に左右されるとしても、機能解析の工夫が可能な他のポジショナルクローニング研究で使えるはずである。

VKOR はこれまで、大型の多タンパク質複合体だと考えられていた。しかし Li たちは、たった 1 種類のタンパク質を発現させることで、VKOR 活性のない昆虫細胞に VKOR 活性をもたらすことができた。低分子量のタンパク質が他の還元酵素類とのはっきりした関連性もなしにこのような働きをするのは荷が重すぎるように思えるが、この分子は単独でビタミン K の再生処理を担っている可能性がある。

こうして VKOR 遺伝子が捕まったからには、

動物生体内でビタミン K エポキシドを還元する電子の化学的供給源も突き止めることができるはずだ。研究室ではさまざまなスルフィドリル化合物が調べられているが、今回の進展によりニコチンアミドやフラビンなど他のありふれた還元酵素補因子の果たす役割も研究対象となりうる。ワルファリンの標的と見られるこの物質の構造を解明するのも、大事な作業である。おそらく構造解明によって、これまでより優れた凝血塊解消用のビタミン K アンタゴニストが見つかるだろうし、殺鼠剤用のアンタゴニストも見つけられることだろう。

現在ようやくわかったこと、それは、複数種のビタミン K 依存性血液凝固因子の欠損が、2 つの遺伝子、つまりビタミン K カルボキシラーゼ遺伝子か、Rost たちが報告した VKORC1 遺伝子のどちらかの変異によって、起こりうるということだ。ただし、今手元にあるリストには漏れがある可能性もある。もし漏れがある場合には、患者の家系に連鎖解析を施せば、ビタミン K 再生処理のさらなる成分がすぐにも発見できるかもしれない。 ■

筆者の J. Evan Sadler は、ワシントン大学 (セントルイス) 医学部のハワード・ヒューズ医学研究所 (the Howard Hughes Medical Institute, Washington University School of Medicine, St Louis, Missouri 63110, USA) に所属している。

e-mail: esadler@im.wustl.edu

1. Rost, S. *et al. Nature* **427**, 537-541 (2004).
2. Li, T. *et al. Nature* **427**, 541-544 (2004).
3. Wu, S. M., Cheung, W. F., Frazier, D. & Stafford, D. W. *Science* **254**, 1634-1636 (1991).
4. Kohn, M. H. & Pelz, H. J. *Blood* **96**, 1996-1998 (2000).
5. Fregin, A. *et al. Blood* **100**, 3229-3232 (2002).

## ナノファイバーは どうやって伸びる?

Pulickel M. Ajayan

カーボンナノファイバーが炭素を含む蒸気からできてくる原子スケールの仕組みは、数十年の研究にもかかわらず解明されていなかった。今回の研究では、高分解能の電子顕微鏡を使って、炭素分子がでこぼこの上を動いていく様子が明らかにされた。

原文: *Nanotechnology: How does a nanofibre grow?*

*Nature* Vol.427(402 - 403)/29 January 2004; www.naturejpn.com/digest

D'Arcy Thompson は歴史的な研究書 *On Growth and Form*<sup>1</sup> の中で「物体の形

は成長を支配する力を図解している」と書いた。しかしながら、多くの場合、成長と形態の

▶ 関係は複雑すぎて特定できない。気相中のカーボンフィラメントの成長はその適例である。

この問題についての論文は多く、魅力的で変化に富んだ例は十分あるにもかかわらず、カーボンナノファイバーの成長についての決定的なモデルはできていない。首尾一貫した実験データが欠けているためである<sup>2,3</sup>。この材料が工業技術に大きな影響を及ぼすであろう<sup>4</sup>ことを考えれば、成長機構を理解し、洗練された特性を持つナノファイバーを製造できるようにすべきである。本誌1月29日号426ページに発表されたHelvegら<sup>5</sup>の研究によって、長年待たれていたナノファイバーの成長の謎を解くカギが示された。

ナノスケールのカーボンファイバーは、金属触媒ナノ粒子と炭化水素の蒸気とが高温下で相互作用することで成長する。炭化水素分子は触媒と蒸気の界面で解離し、炭素が凝結して、円筒の形をしたグラファイトの尾、多層ナノファイバーになる(図1)。

どのようにしてナノファイバーが形成されるかは全く分かっていない。触媒粒子はナノファイバーの成長端にとどまっている(先端成長)かもしれないし、開始端にすわっている(基部成長)かもしれない<sup>6</sup>。成長過程における(構造や形状といった)粒子自体の状態もまた分かっていないが、粒子の大きさとファイバーの直径は同じぐらいである。

実験的には、ナノファイバーの成長を原子スケールで直接観察するのに十分な時間・空間分解能で、この高温での触媒反応のダイナミクスを追跡することは困難であると示されていた。Helvegらが発表したナノファイバーの成長の初期段階を捉えた写真は、*in situ*の高分解能透過型電子顕微鏡法によって、極めてすばらしい発達ぶりを明確にとらえたものだ。Helvegらは、高分解能透過型電子顕微鏡

の中にあるメタンと担持された(直径5から20nmの)ニッケルナノ粒子間に約500°Cで起こった触媒反応をリアルタイムで記録することに成功した。得られた像をフレームごとに解析することによって、ナノファイバーの成長を先導する事象が明らかになった。

触媒粒子は先端成長の処方にしたがって成長するナノファイバーとともに動いているように思われる。ナノファイバーの成長が触媒粒子の急激な形状変化によって促進されているのは、驚くべきことだ。

粒子の形状は触媒と蒸気の反応によって順番に変わっている。球状と伸張状態との間の形状変化は急激にかつ繰り返し起こる。細長い形をしているとき、粒子はテンプレートの働きをし、粒子表面を炭素原子が拡散することによって整列したグラファイトの層の形成を促進する。この像をより細かく観察すると、核形成とグラファイト層の成長はニッケルナノ粒子の「出っぱったところ」つまり連続的に出たり消えたりしている単原子のステップ端面で起こっていることが分かる。このステップ端面機構には理論計算による裏付けもある。

成長過程の間、ニッケル触媒はナノ粒子表面の低エネルギー面に制限されて結晶構造をずっと維持している。形状の変化は、グラファイト層がニッケル表面を覆ったり表面が外に現れたりを繰り返す時に、表面エネルギーのバランスが変わることによって起こる。ニッケル表面の一部がまわりをとりまく蒸気と直接接触し続けることが重要である。粒子がグラファイト層に完全に包まれてしまうと、金属と蒸気との反応がそれ以上起こらなくなるため、ナノファイバーの成長が止まる。

Helvegら<sup>5</sup>による実験は、小さな粒子がナノスケールの成長触媒として用いられるとき

には、形状の変化が重要であることを示している。それどころか、反応によって引き起こされた金属粒子の再形成は金属ナノ粒子に固有の構造的な不安定性とかなりの類似点がある<sup>8</sup>。ナノファイバーの最終的な形状を決める力のダイアグラムは粒子形状の劇的な変形と密接に結びついている。粒子が大きくなると、形状のゆらぎはエネルギー的に不利になり、大きな粒子はナノファイバーを成長させる効率的な触媒とならないことがわかる。

だが、ここで注意しなければならないこともある。Helvegら<sup>5</sup>が提案した機構は特定の場合にのみ、妥当なかもしれない。つまり、より細いカーボンナノチューブにまで拡張するのは容易ではない。カーボンナノチューブにおいては、ナノファイバーよりも炭素の格子が規則正しく、触媒粒子がナノチューブ組織に常にくっついているようには見えない。したがって、今回の発見が正しいとしても、ナノスケールのカーボンフィラメントの成長の謎が完全に解けたわけではない。だが今回の研究は相当に大きな実験的障害を克服し、ナノファイバーが成長する様子を初めて直接見ることができた。リアルタイムでナノスケールの観察を最初に行ったものであり、これによってナノテクノロジーの分野でナノファイバー合成をよりよくコントロールできるようになるだろう。 ■

筆者の **Pulickel M. Ajayan** はレンセラー工科大学・材料科学工学学部 (Department of Materials Science and Engineering, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, New York 12180-3590, USA) に在籍している。

e-mail: [ajayan@rpi.edu](mailto:ajayan@rpi.edu)

1. Thompson, D.A. *On Growth and Form* (Cambridge Univ. Press, 1917).
2. Baker, R. T. K. & Harris, P. S. *Chem. Phys. Carbon* **14**, 83–165 (1978).
3. Tibbets, G. G. in *Carbon Filaments and Nanotubes: Common Origins, Differing Applications* (eds Biro, L. P. et al.) 63–73 (Kluwer, Dordrecht, 2001).
4. Terrones, M. *Annu. Rev. Mater. Res.* **33**, 419–501 (2003).
5. Helveg, S. et al. *Nature* **427**, 426–429 (2004).
6. Charlier, J. C. & Iijima, S. in *Topics in Applied Physics* Vol. 80 (eds Dresselhaus, M. S. et al.) 55–80 (Springer, Berlin, 2001).
7. Hansen, P. et al. *Science* **295**, 2053–2055 (2002).
8. Ajayan, P. M. & Marks, L. D. *Phys. Rev. Lett.* **63**, 279–282 (1989).
9. Nerushev, O. A., Dittmar, S., Morjan, R.-E., Rohmund, F. & Campbell, E. E. B. *J. Appl. Phys.* **7**, 4185–4190 (2003).
10. Banhart, F. et al. *Int. J. Mod. Phys. B* **15**, 4037–4069 (2001).

**図1** ナノファイバーの成長。高温下で触媒が存在すると気相の炭化水素分子は解離する。この走査型電子顕微鏡像に見られるように、分子中の炭素はナノファイバーになる。Helvegらによってこの過程が研究され、原子スケールの機構が明らかになった。

