

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 16 日現在

機関番号：32641

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008 ～ 2012

課題番号：20118010

研究課題名（和文） F1-ATPase モーターの機能における揺らぎと水和

研究課題名（英文）

Understanding of the function of F1-ATPase motor in terms of fluctuation and hydration

研究代表者

宗行 英朗（ MUNEYUKI EIRO ）

中央大学 理工学部 教授

研究者番号：80219865

研究分野：生物物理学，生化学

科研費の分科・細目：新学術領域研究・水和とATP

キーワード：ATP，水和，分子モーター，F1-ATPase，非平衡.

1. 研究計画の概要

ATP はその加水分解に際して得られる自由エネルギーを通して生体内のエネルギー通貨とも言える役割を果たしている。ATP の加水分解の自由エネルギー変化は水中でおこるため反応前後の水との相互作用の変化の影響を強く受けており、蛋白質が ATP を分解して機能する場合も蛋白質と水の相互作用が重要な影響を及ぼす。本研究では F1-ATP による ATP の加水分解自由エネルギーと回転運動の化学力学変換のメカニズムの理解を出力を定量的に評価するための外部トルク印可システムを用いて、エネルギーの入出力関係を正確に見積るとともに種々のヌクレオチド結合の熱力学的パラメーターを求めて、さらに非水溶媒などを利用してとともに、水中で ATP を加水分解して働く分子機械特有のダイナミクスに対する水和の効果を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

現在までに回転電場印可・温度調節可能な顕微鏡を稼働させるところまで持ってきて実際に F1-ATPase の回転を低温で観察して高濃度の ATP でもステップが観察できることを確認した。ヌクレオチドの結合の温度依存性の解析については単離サブユニットと $\alpha_3\beta_3\gamma$ 複合体に対する各種ヌクレオチドの結合のデータがほぼ出そろってきており、エントロピー変化とエンタルピー変化の違いなどが明らかになってきている。水の溶媒としての働きを直接的に検証するために非水溶媒である DMSO による影響を検討した。DMSO を 30% 加えた条件下で F1 のステップ回転時の角速度の低下が観察された。DMSO の溶媒の粘度に対する影響をレーザーピンセットで捕捉した粒子のブラウン運動や、F1 に固定した回転プローブに対する揺動散逸関係を利用した解析から見積り、ステップ回転時に発生する

トルクが減少していることが確認できた。更にストールトルクも減少していることが示されたが、定量的な解析はこれからである。もっとも大きな成果としては、非平衡物理学の成果である Harada-Sasa 等式を利用した F1-ATPase の回転に伴うエネルギーの散逸の見積りがある。これは回転自由度でのエネルギーの散逸を ATP の加水分解自由エネルギーや外部トルクを制御して測定したもので、その結果、F1-ATPase は実験条件下でほぼ 100% の効率で ATP の加水分解自由エネルギーを回転自由度を介して散逸させることが分かった。これは分子機械の理解のための大きな進歩であると考えている。また揺らぎはエントロピーと深い関係があるが、エントロピーと情報が物理量として等価であることを示す実験が本研究で用いている装置によって示され、分子機械の理解に新しい局面を開くものと大いに期待している。

3. 現在までの達成度

研究の進捗状況に記したように、予定より遅れているものもあれば予想外に進んだところもある。全体としては、②の概ね順調に進展している、に相当すると考えている。

4. 今後の研究の推進方策

本新学術領域研究の期間が残り 2 年であることを考えると、現在までにあまり進めなかったところを突破すべく努力するか、本研究の前半で進展した部分を更に伸ばしてゆくかを選ぶべきであると考えている。うまく行っている研究も一旦手をゆるめると極端に効率が落ちることがあるので、ここではそれを避けるべく、前半で良く進んだ外部トルク印可システムを用いた揺らぎとエネルギー変換の研究を中心に、戦果の拡大をめざしたいと考えている。

5. 代表的な研究成果
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

Shimo-Kon R., Muneyuki E., Sakai H., Adachi K., Yoshida M., Kinoshita K. Jr., Chemo-mechanical coupling in F1-ATPase revealed by catalytic site occupancy during catalysis. *Biophys J.* 査読有 Vol.98 (2010) 1227-36

Toyabe, S., Okamoto, T., Watanabe-Nakayama, T., Taketani, H., Kudo, S., Muneyuki, E. Nonequilibrium Energetics of a Single F1-ATPase Molecule *Phys. Rev. Lett.* 査読有 Vol.104 (2010) 198103

Toyabe, S., Sagawa, T., Ueda, M., Muneyuki, E., Sano, M Experimental demonstration of information-to-energy conversion and validation of the generalized Jarzynski equality *Nature Physics* 査読有 Vol.6 (2010) 988-992

Muneyuki Eiro, Sekimoto Ken. Allosteric model of an ion pump. *Physical Review E* 査読有 Vol.81 (2010) 011137-1~9

Yasuno, T., Muneyuki, E., Yoshida, M., and Kato-Yamada, Y. Modulation of nucleotide binding to the catalytic sites of thermophilic F1-ATPase by the e subunit: Implication for the role of the e subunit in ATP synthesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 査読有 Vol.390 (2009) 230-234

[学会発表] (計 18 件)

Toyabe, S., Sagawa, T., Ueda, M., Muneyuki, E.,

Sano, M. Information-heat engine as a model system of molecular motors 日本生物物理学会 第 48 回年会 2010 年 9 月 22 日 東北大学川内キャンパス

Kikuchi, Y., Naka, Y., Osakabe, H., Toyabe, S., Ueno, H., Muneyuki, E. スクレオチドと F1-ATPase との結合の熱力学パラメータの測定 Thermodynamic parameters of nucleotide binding to the catalytic sites of F1-ATPase revealed by fluorescence measurement. 日本生物物理学会第 48 回年会 2010 年 9 月 22 日 東北大学川内キャンパス

Toyabe, S., Watanabe-Nakayama, T., Okamoto, T., Kudo, S., Muneyuki, E. F1-ATPase のストールトルク Stall torque of F1-ATPase 第 47 回日本生物物理学会年会 2009 年 10 月 31 日 アスティ徳島(徳島)

Naka, Y., Muneyuki, E., Osakabe, H., Masaïke, T., F1-ATPase の β -サブユニット(Y341W)単体へのスクレオチド結合の温度依存性 Temperature dependence of nucleotide binding to β -subunit of F1-ATPase revealed by fluorescence measurement. 第 47 回日本生物物理学会年会 2009 年 10 月 31 日 アスティ徳島(徳島)

Toyabe, S., Watanabe-Nakayama, T., Okamoto, T., Taketani, H., Kudo, S., Sugiyama, S., Muneyuki, E., F1-ATPase 一分子の揺動散逸定理の破れの測定 Measurement of Violation of Fluctuation Dissipation Theorem of Single Molecule F1-ATPase 第 46 回日本生物物理学会年会 2008 年 12 月 3 日~5 日 福岡国際会議場(福岡)