

自己評価報告書

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008 ~ 2012

課題番号：20118009

研究課題名（和文） ATP 駆動蛋白質の化学力学変換機構の 1 分子解析

研究課題名（英文） Single molecule analysis of the mechano-chemical conversion mechanism for ATP-driven motor proteins.

研究代表者

岩城 光宏 (IWAKI MITSUHIRO)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30432503

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：モーター蛋白質、ミオシン、1 分子計測、1 分子操作、レーザートラップ、化学力学変換

1. 研究計画の概要

本研究では、ATP のエネルギーを使って駆動するアクトミオシン系のエネルギー変換の素過程を 1 分子レベルで解析し、周囲環境の水分子の寄与を取り入れた形でモデル化を行っている。水分子の寄与を評価するに当たって、まずは、溶媒中にショ糖などの共溶媒を添加し水和状態に摂動を加え、アクトミオシンの機能がどのように変調されるか多分子系と 1 分子系で観察を行う。従来の 1 分子計測では観察が難しい運動素過程への共溶媒の影響を調べるために新規計測系、技術の開発も並行して行う。

2. 研究の進捗状況

多数個のミオシン分子をガラス基板に固定し ATP 存在下でアクチンフィラメントの運動を観察する多分子計測においては、2M ショ糖存在下（大部分の水分子をショ糖によって拘束し水和状態に影響がでる条件）で運動の停止が確認された。しかし、ATP の有無によってフィラメントの揺らぎが変化することから、ミオシンに ATP が結合しアクチンとのアフィニティ変化を起こす過程までは起きていることが示唆された。

次いで、ミオシンへの ATP 結合後のエネルギー変換過程がショ糖の添加によってどのように阻害されているのかを、素過程のレベルで明らかにするために、運動素過程が計測可能な実験系の構築を行った。運動素過程を検出する唯一の手法としてマイクロニードル法があるが、技術的な難しさがあるために溶媒条件などの実験条件を変えてデータを取得することは現実的ではない。そこで、光ピンセット法と DNA をナノ材料として利用す

る技術を組み合わせることで、ミオシンモーター部位の運動素過程を高時空間分解能で検出する手法を新規に開発した。本手法によって、ミオシン分子の運動素過程を従来の手法よりも簡便かつ生理的運動自由度に近い形で観察することに成功した。溶媒変調などの様々な条件下での計測が可能になった。

また、上記手法のために新たに構築した顕微鏡装置を用いてモーター部位に力を加えることによって、エネルギー変換機構の新たな仕組みを明らかにした。ATP 加水分解産物である Pi のミオシンからの解離はエネルギー変換における最重要過程であるが、力による制御を受けてミオシン分子内への水分子の流入の促進とミオシン分子からの Pi 解離ルートの開閉を行う可能性を示唆した。

最後に、試行段階ではあるが、ショ糖存在下における運動素過程の観察にも成功した。ミオシンへの ATP 結合後では、モーター部位はバルク水の衝突によるブラウン運動を行いながら一方向に運動し Pi の解離に伴って運動（エネルギー変換）が完結する。1M ショ糖存在下では、粘性の影響もあり遅いブラウン運動になるものの、ブラウン運動過程が終了するまでの時間はほとんど影響がなかった。

本研究では、アクトミオシンの運動素過程の直接観察は可能であるが、ATP 加水分解反応の素過程への影響、水和状態への影響は直接的に評価できない。そこで、公募班の伊藤氏との共同研究によって、ATP 加水分解反応への影響を評価してもらうため、詳細な実験条件の情報交換、サンプルの状況把握を現在進めている。また、水和状態への影響は鈴木氏との共同研究を検討中である。また、ミオ

シンのブラウン運動過程で想定されるアクチンフィラメントとの相互作用ポテンシャルの物理的基盤としての水の並進エントロピーの寄与を評価するために、木下氏らとアクトミオシン系に対する共同研究を行い、論文として発表を行った。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
(理由)

アクトミオシンの1方向運動ステップ内部を直接可視化する新規手法の開発と観察の成功、ステップ内部のブラウン運動を整流する機構の解明することができた。またこれをベースに共溶媒添加による水和状態変調時の素過程への影響を評価することができるようになった。

4. 今後の研究の推進方策

共溶媒の添加は、水和状態の変調以外の因子にも影響を与える。1分子計測によってエネルギー変換に重要となる運動素過程の直接観察が可能であるため、この過程に絞って共溶媒の影響を酵素反応素過程と運動素過程、水和状態評価を行うことで、エネルギー変換における水の役割をクリアに議論できるように有機的に連携しながら研究を進めていく。また、試行実験の段階である、共溶媒添加時における運動素過程の観察を進め、多分子実験で運動停止となる条件で、1分子素過程レベルで何が起きているのか明らかにする。

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2件)

①K. Amano, T. Yoshidome, M. Iwaki, M. Suzuki, M. Kinoshita, "Entropic potential field formed for a linear-motor protein near a filament: Statistical-mechanical analyses using simple models", Journal of Chemical Physics, Vol. 133;045103-1-045103-11 (2010)、査読あり

②M. Iwaki, A. Iwane, T. Shimokawa, R. Cooke, T. Yanagida, "Brownian search-and-catch mechanism for myosin-VI steps", Nature Chemical Biology, Vol. 5;403-405 (2009)、査読あり

[学会発表] (計18件)

①M. Iwaki, "Observation of mechanical process for myosin-II by a dark-field microscopy combined with an optical trap",

Biophysical Society 55th Annual meeting, 2011年3月5日、Baltimore, Maryland

②M. Iwaki, "Brownian search-and-catch mechanism for myosin-VI steps", Gordon research conferences -Stochastic physics in biology-, 2011年1月23-29日、Ventura, California

③岩城光宏, "共溶媒の効果: ATP 駆動モーター蛋白質の1分子計測の場合", 日本生物物理学会第65回年次大会, 2010年3月22日、岡山大学

④ M. Iwaki, "Effect of Cosolvent on Brownian search-and-catch mechanism for actomyosin", International Symposium on Hydration and ATP energy, 2010年3月8-10日、仙台

⑤M. Iwaki, "Brownian search-and-catch mechanism for myosin-VI steps", Biophysical society 54th annual meeting, 2010年2月20-24日、San Francisco

⑥岩城 光宏, 「ナノ粒子を利用したモーター蛋白質の高速1分子ナノイメージングと操作」、第82回日本生化学会大会、2009年10月21日、神戸ポートアイランド

[図書] (計2件)

①岩城光宏、日本生物物理学会、「生物物理: ストレインセンサーが制御するミオシンV Iのブラウン運動整流機構」、2010年、88-89

② Mitsuhiro Iwaki, 大阪大学出版会、「Annual Report of Osaka University -Academic Achievement- 2009-2010」、2010年、1頁

[その他]

報道関連情報

①岩城光宏、日本経済新聞「筋肉を収縮させる力 分子センサーが制御」2009年5月