

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K03564

研究課題名（和文）生体分子モーターの内部で起きる非平衡散逸の定量と数理モデル解析

研究課題名（英文）Quantification and mathematical modeling of non-equilibrium dissipation inside biomolecular motors

研究代表者

有賀 隆行 (Ariga, Takayuki)

大阪大学・大学院生命機能研究科・准教授

研究者番号：30452262

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：細胞内で小胞を運ぶキネシンは、化学エネルギーを力学的な仕事へと変換する生体分子モーターである。その運動機構の理解の進展とは裏腹に、エネルギー変換の理解は進んでいなかった。本研究では、私たちがこれまでの研究や他の課題で見出した、キネシンの内部散逸やゆらぎによる加速といった非自明な現象を説明する数理モデルの構築を行った。その結果、熱力学的な要請を満たしつつ、各種の実験結果を説明できるモデルの構築に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エネルギーをいかにして効率よく利用するのは、人類にとって重要な課題である。生物が作り出す小さな分子モーターは、環境の熱揺らぎを有効に使いながら化学的なエネルギーを力学的な仕事へと効率よく変換している。その仕組みを実験と理論を通じてマイクロなスケールから理解することは、人類が今まで活用していなかったエネルギー利用の仕組みを、将来的に応用可能とする意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：Kinesins that carry vesicles in cells are biomolecular motors that convert chemical energy into mechanical work. Despite progress in understanding their kinetic mechanisms, our understanding of energy conversion has not progressed. In this study, we constructed a mathematical model to explain nontrivial phenomena such as internal dissipation and fluctuation-induced acceleration of kinesins, which we found in our previous studies and in other projects. As a result, we succeeded in constructing a model that can explain various experimental results while satisfying thermodynamic requirements.

研究分野：生物物理学

キーワード：生体分子モーター 1分子計測・操作 エネルギー変換 非平衡物理学

1. 研究開始当初の背景

細胞内で小胞輸送を司る生体分子モーター・キネシン(図1)は、ATPの加水分解に伴う自由エネルギー変化($\Delta\mu$)を力学的な仕事へと変換する非平衡開放系ともみなすことができる。しかし、これまでの分子モーターを用いた1分子研究では、分子モーターの「機能」だけに着目した観察研究が主流であり、その発展と比較するとエネルギー入出力に関する理解は進んでいなかった。その原因は、1分子のような小さい系ではゆらぎの効果が顕著に現れるために従来の熱力学の適用が難しいこと、また分子モーターは本質的に非平衡な系でありながら、その統一的な理論の枠組みが未完成なことが挙げられる。しかし、近年になり非平衡条件で成り立つ幾つかの等式が理論的に提唱[1-3]され、それらの実験的検証[4-6]も進みつつある。特に、Harada, Sasaの提唱した非平衡系で成り立つ新しい等式は、速度のゆらぎ(相関)と、小さい外力を摂動として与えたときの速度変化(応答関数)の差分で表される揺動応答関係の破れを計測することで、従来法では物理量として直接計測できなかった、非平衡系での散逸を実験的に定量することを可能とした[3]。

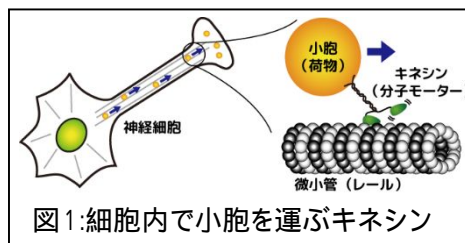


図1:細胞内で小胞を運ぶキネシン

2. 研究の目的

私たちは、1分子キネシンの力学操作と応答計測を行い、Harada-Sasaの提唱した新しい等式[3]を利用してキネシンの運動に伴う非平衡散逸を定量した。その結果、入力された化学エネルギーの大部分が、計測プローブからは見えない形で、キネシン分子の内部から散逸されているという非自明な結果を新たに見いだした[7]。本研究では、その未知の内部散逸がどう生み出されるのか、キネシンの分子内部でのエネルギーの流れの定量的な理解を目的とする。

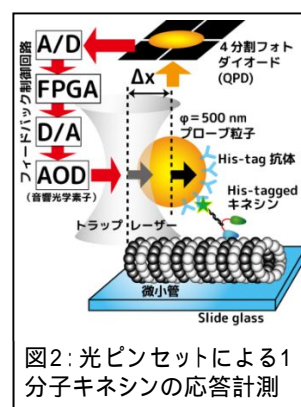


図2: 光ピンセットによる1分子キネシンの応答計測

3. 研究の方法

キネシン分子内部でのエネルギーの流れを理解するために、まずはこれまでにキネシンの挙動を説明するために用いていた現象論的な数理モデルを拡張し、物理的な(熱力学的)な要請を満たし、かつ、分子内部での運動様式を反映した数理モデルを新たに構築した。

さらに運動中のキネシン1分子のゆらぎと応答を計測できる1分子力学応答顕微鏡(図2)を用いて、様々な条件での1分子力学応答計測を行い、数理モデルによる予想とすり合わせを行った。また、無負荷時の数理モデルパラメータを正確に取得するため、蛍光1分子全反射顕微鏡(TIRFM)の構築も行った。

4. 研究成果

(1) 実験からの要請と物理的な要請を同時に満たすキネシンの数理モデルの構築

これまでに着目してきた(生理的条件に近い)高い自由エネルギー変化の条件から、低い自由エネルギー変化の条件でキネシンのエネルギー変換がどのように変化するかを考察を行うため、キネシンを用いた各種の実験結果からの要請を満たしつつ、局所詳細釣り合い(LDB)の条件を組み込んだ、キネシンの新しい理論モデルを構築した(図3)。その結果、生理的な条件である高い自由エネルギー変化の条件では、局所詳細釣り合いの条件の有無はシミュレーション結果に影響を及ぼさないが、逆に低い自由エネルギー変化の条件では局所詳細釣り合いの条件が陽に現れる可能性が示唆された。この成果を、キネシンの非平衡エネルギー論の研究として投稿中であった論文を再投稿する際にレフェリーコメントへの対応として盛り込んだ結果、Physical Review Letter誌に採択された[7]。また、この成果はEditors' suggestionとして編集部から高く評価された上に、Featured in Physicsとして米国物理学会誌で紹介記事も書かれた[8]。また、これらの成果を解説する総説を執筆し、国内学会誌である生物物理誌と国際誌のBiophysical Reviews誌に掲載された[9,10]。

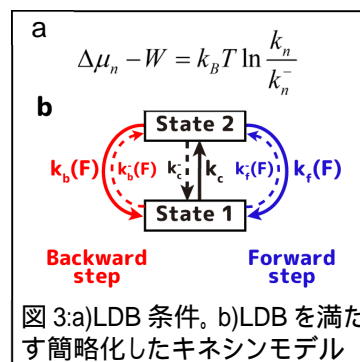


図3:a)LDB条件。b)LDBを満たす簡略化したキネシンモデル

(2) 確率過程模型としての解釈と解析

上記のモデルをさらに発展させ、京都大学との共同研究を通じてキネシンの確率過程模型としての解釈を行い、その成果を物理学学会にて連名で発表を行った。

(3) キネシンの外力ゆらぎによる加速特性

本研究課題と並行して実施していた別課題において、外力の大きなゆらぎによるキネシンの運動の応答を計測していたところ、特に高負荷時においてキネシンが加速するような結果が得られていた(図4a)。この実験結果について、本課題で得られた数理モデルを適用して検証を行ったところ、実験結果を再現することができた(図4b)。加えて、生体内のような大きな外力ゆらぎ環境下での挙動を予測し、さらに大きなゆらぎに対しては空回りするような事象も予測された。この成果は別課題で得られた実験成果と纏めて投稿し、*Physical Review Letter* 紙に掲載された[11]。この論文も *Editors' suggestion* として編集部から高く評価され、さらに *Featured in Physics* として米国物理学学会誌で紹介記事も書かれた[12]。また、この成果を解説する総説・記事を執筆し、国内学会誌である「生物物理」誌と国内雑誌「月刊細胞」に掲載された。

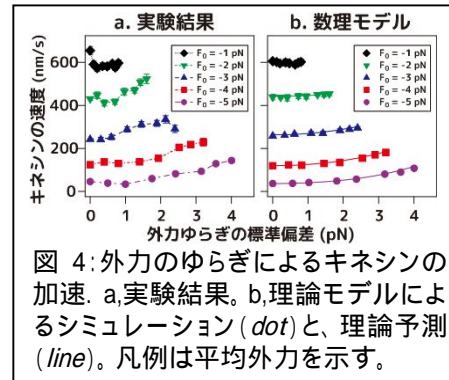


図4:外力のゆらぎによるキネシンの加速。a,実験結果。b,理論モデルによるシミュレーション(dot)と、理論予測(line)。凡例は平均外力を示す。

(4) 数理モデルのさらなる拡張

これまで構築してきたキネシンの数理モデルを、野生型キネシンだけでなく、キネシンの変異体、特に片方の頭部のみに変異を加えたヘテロ変異体で得られた実験結果にも適用すべく、理論の拡張を行った。その結果、これまでは一つのジャンプする質点として捉えていたキネシンの運動を、両足が交互に踏み出すモデルへと拡張した。この新しいキネシン数理モデルは数値シミュレーションによってヘテロ変異体での負荷と速度の関係は再現できた(未発表)が、外力ゆらぎへの応答や、非平衡散逸の変異体を用いた実験結果を正しく予言できるかどうか今後の課題となっている。

(5) 数理モデルの検証実験

研究成果(1)において予想された、局所詳細釣り合いの条件が陽に現れる低い自由エネルギー変化の条件での運動解析を行うため、一分子計測系のセットアップを行った。まずは無負荷での運動特性を詳細に解析するため、1分子蛍光イメージングを可能とする全反射顕微鏡(TIRFM)を新たに構築した。長らく続いたコロナ禍の影響と2度にわたる研究実施機関の異動が重なり、実験結果と数理モデルとのすり合わせには遅れがでていたものの、新たな1分子計測系の構築による予備的な結果(未発表)が得られつつある。

<参考文献>

- [1] D. J. Evans et al., *Phys. Rev. Lett.* **71**, 2401 (1993)
- [2] C. Jarzynski, *Phys. Rev. Lett.* **78**, 2690 (1997)
- [3] T. Harada and S.-i. Sasa, *Phys. Rev. Lett.* **95**, 130602 (2005).
- [4] G. M. Wang et al., *Phys. Rev. Lett.* **89**, 050601 (2002)
- [5] J. Liphardt et al., *Science* **296**, 1832 (2002)
- [6] S. Toyabe et al., *Phys. Rev. Lett.* **104**, 198103 (2010)
- [7] T. Ariga et al., *Phys. Rev. Lett.* **121**, 218101 (2018).
- [8] A. G. Hendricks, *Physics* **11**, 120 (2018)
- [9] 有賀, *生物物理* **59**, 300 (2019)
- [10] T. Ariga et al., *Biophys. Rev.* **12**, 503 (2020).
- [11] T. Ariga et al., *Phys. Rev. Lett.* **127**, 178101 (2021)
- [12] P. Ball, *Physics* **14**, 149 (2021)
- [13] 有賀, *生物物理* **63**, 86 (2023)
- [14] 有賀, *月刊「細胞」* **55**, 8 (2023)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 有賀隆行, 立石圭人, 富重道雄, 水野大介	4. 巻 63
2. 論文標題 非熱的なゆらぎが分子モーターキネシンを加速させる	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 86-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.63.86	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 有賀隆行	4. 巻 55
2. 論文標題 非熱的なゆらぎで加速する分子モーター	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 月刊「細胞」	6. 最初と最後の頁 8(140)-11(143)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ariga Takayuki, Tateishi Keito, Tomishige Michio, Mizuno Daisuke	4. 巻 127
2. 論文標題 Noise-Induced Acceleration of Single Molecule Kinesin-1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physical Review Letters	6. 最初と最後の頁 178101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevLett.127.178101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kenji Nishizawa, Natsuki Honda, Masahiro Ikenaga, Shono Inokuchi, Yujiro Sugino, Takayuki Ariga, Daisuke Mizuno	4. 巻 -
2. 論文標題 Feedback Microrheology in Soft Matter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 arXiv preprint	6. 最初と最後の頁 2106.05119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.48550/arXiv.2106.05119	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ariga Takayuki, Tateishi Keito, Tomishige Michio, Daisuke Mizuno	4. 巻 -
2. 論文標題 Noise-induced acceleration of single molecule kinesin-1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 arXiv preprint	6. 最初と最後の頁 2012.04214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ariga Takayuki, Tomishige Michio, Mizuno Daisuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Experimental and theoretical energetics of walking molecular motors under fluctuating environments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 503 ~ 510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-020-00684-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 ARIGA Takayuki, TOMISHIGE Michio, MIZUNO Daisuke	4. 巻 59
2. 論文標題 Measuring Dissipation of Molecular Motor Kinesin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 300 ~ 304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.59.300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ariga Takayuki, Tomishige Michio, Mizuno Daisuke	4. 巻 121
2. 論文標題 Nonequilibrium Energetics of Molecular Motor Kinesin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Review Letters	6. 最初と最後の頁 218101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevLett.121.218101	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件（うち招待講演 11件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 非熱的にゆらぐ細胞内環境に最適化する生体分子モーター
3. 学会等名 Workshop OT 2023 最適輸送とその周辺（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 有賀 隆行
2. 発表標題 生体分子モーターキネシンのエネルギー論とゆらぎによる加速現象
3. 学会等名 第10回ソフトマター研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takayuki Ariga
2. 発表標題 Single-molecule energetics and nonthermal manipulation of molecular motor kinesin
3. 学会等名 2022 East Asian Single-Molecule Biophysics Symposium (EASMB 2022)（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有賀隆行, 立石圭人, 富重道雄, 水野大介
2. 発表標題 分子モーターキネシン1のゆらぎ誘導加速現象
3. 学会等名 第59回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 立石圭人, 有賀隆行
2. 発表標題 人工的な疑似細胞内アクティブ環境 におけるキネシンの運動
3. 学会等名 日本物理学会2021年秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takayuki Ariga
2. 発表標題 Motion of molecular motors reflecting rheological properties in cells
3. 学会等名 The 2nd Joint Meeting of The European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation, The International Society for Clinical Hemorheology, and The International Society of Biorheology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 アクティブなゆらぎとキネシンの数理モデル
3. 学会等名 第10回分子モーター討論会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 キネシン1の運動と細胞骨格が生む無秩序なゆらぎ
3. 学会等名 第58回 日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有賀 隆行
2. 発表標題 キネシン(1)のエネルギー論と細胞内アクティブ環境
3. 学会等名 第9回分子モーター討論会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Ariga
2. 発表標題 Nonequilibrium Energetics of a walking motor kinesin-1
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Ariga
2. 発表標題 Measuring Dissipation of a Molecular Motor, Kinesin-1, and the Mathematical Model Analysis
3. 学会等名 The 1st Symposium on Molecular Engine(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有賀隆行,立石圭人,富重道雄,水野大介
2. 発表標題 アクティブ環境下でのキネシンの運動
3. 学会等名 日本物理学会 第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村和真, 有賀隆行, 伊丹將人, 佐々真一
2. 発表標題 確率過程模型によるキネシンの特徴付け
3. 学会等名 日本物理学会 第 75 回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 分子モーターキネシンの非平衡エネルギー論と細胞内アクティブ環境
3. 学会等名 理論と実験研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Ariga, Michio Tomishige, Daisuke Mizuno
2. 発表標題 Energetics of molecular motor kinesin
3. 学会等名 International Conference on APEF 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Ariga, Michio Tomishige, Daisuke Mizuno
2. 発表標題 Nonequilibrium energetics of single molecule motor, kinesin
3. 学会等名 10th Biennial Single Molecule Biophysics Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 生体分子モーターの非平衡エネルギー論 ~キネシンは効率の悪いモーターだった!?~
3. 学会等名 第2回岡崎発動分子科学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 有賀隆行
2. 発表標題 生体分子モーター・キネシンのエネルギー収支
3. 学会等名 第137回 福工大土曜談話会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------