

平成 21 年 5 月 26 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19840028

研究課題名（和文） 回転分子モーターの反応・力学モデルの構築

研究課題名（英文） Mechano-chemical modeling of rotary motor molecules

研究代表者

有賀 隆行（ARIGA TAKAYUKI）

東京大学・大学院工学系研究科・助教

研究者番号：30452262

研究成果の概要：

回転分子モーターである F1 の反応力学モデルの構築を目指し、申請者が独自に開発した個々の触媒サブユニットへ特異的に変異を導入するハイブリッド F1 の再構成手法を用いて、分子の内部状態の解釈まで可能にした 1 分子回転観察系を構築した。様々な変異体を用いたハイブリッド F1 の回転について、新たに開発した角度解析プログラムを用いて解析を行った結果、これまで発見されていなかった新規回転ステップの素過程（約 20 度のサブ-サブステップ）が、各種変異体で普遍的に起こる事象であることが確認できた。この結果は、F1 という回転分子モーターの回転メカニズムにとっての新たな発見となるだけでなく、生体分子機械がいかにして反応を力学運動に変換しているかを解き明かす鍵となる成果である。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,350,000	0	1,350,000
2008 年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	405,000	3,105,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：生物物理・化学物理

キーワード：生体分子モーター、自己組織化、1 分子計測、エネルギー変換、生物物理

1. 研究開始当初の背景

これまで、理論物理の側面からの分子モーターの力学運動についての研究では、ラチェットモデルをはじめとして、1 分子をひとつの質点とみただけのモデル構築が盛んであった。しかしながら、申請者らをはじめとして 1 分子を直接観察してきた実験結果より、1 分子内部のサブユニット間での協同作用や、その複雑な内部構造の自己組織化など、とてもダイナミックで複雑なメカニズムがひと

つの蛋白質分子機械の中に存在していることが明らかになってきた。これら表現するのに、たくさんの水分子の衝突をひとつの「ゆらぎ頂」におしこめて、1 分子を一つの質点として見る粗視化手法を用いた記述にはどうしても限界があると思われる。

一方で、その蛋白質分子機械の内部で行われる化学反応に目を向けると、ATP 加水分解反応でのたったひとつの水分子の動きを記述するだけで沢山のシュレディンガー方程

式を用意せざるを得ず、第一原理計算を用いた計算機実験手法などでは、依然多くの粗視化過程を必要とし、それでもなお運動機能全体の記述にはまだまだ到達が難しいのが現状であった。

2. 研究の目的

蛋白質分子機械の化学-力学変換機構を普遍的に記述しうる理論モデルの構築を目指し、本研究期間では、とりわけ回転する分子モーター(F₁-ATPase)に絞ってその協同的な分子内クロストークの非平衡統計物理学的側面からの理論的記述を明らかにし、実験でも検証することを目的とした。

3. 研究の方法

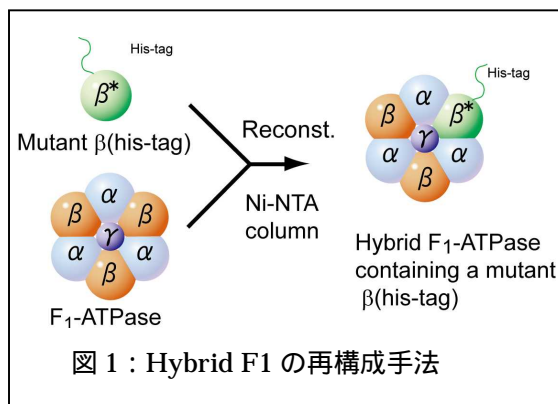
複数のサブユニットから成るシステムとしての生体分子モーターを、非平衡開放系として捉えて見た新たな理論モデルの構築を目指し、実験・理論の両面から研究を進めた。

1) 生体分子モーター運動の直接観察。

申請者の開発した新たな1分子計測手法である、個々の触媒サブユニットへ特異的に変異を導入するハイブリッド F1 の再構成手法(図1)を新規研究機関で立ち上げ、その回転を顕微鏡下で直接観察することにより F1 内部での個々のサブユニットの振る舞いまで観察し、その酵素反応および運動特性を詳細に記述した。

2) 理論モデルの構築。

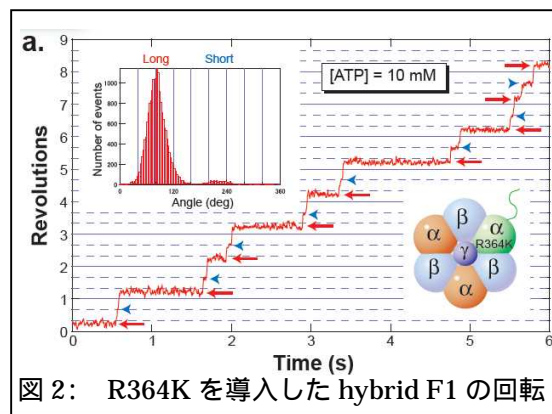
分子モーターのキネティクスを従来の1分子レベルからさらに階層を下げ、個々のサブユニットでの素反応レベルまで解析し、その協同的な働きを非平衡開放系でのシステムとして記述するモデルを構築した。



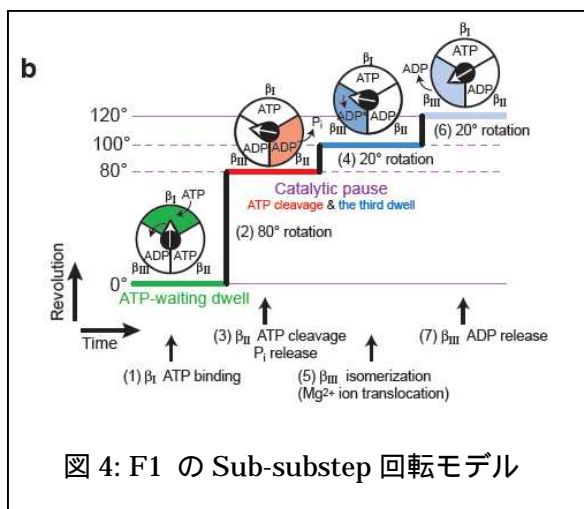
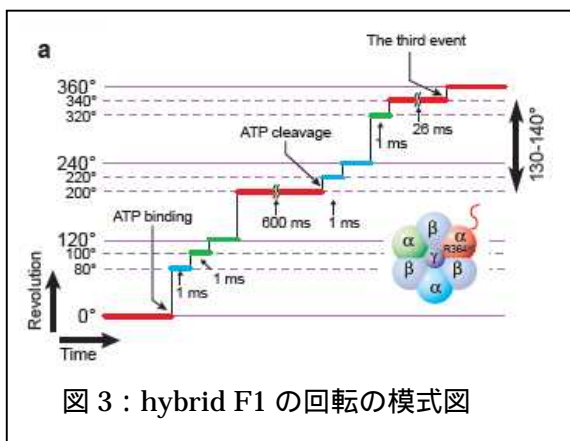
4. 研究成果

まず、生体分子モーターの直接観察の実験を行うため、申請者がこれまでの研究で独自に開発した個々の触媒サブユニットへ特異的に変異を導入するハイブリッド F1 の再構成手法(図1)を新規研究機関で立ち上げ、分子の内部状態の解釈まで可能にした1分子回転観察を可能にした。[Ariga et al. Nature Struct. Mol. Biol, 14, 841-846 (2007), Ariga et al. Biosystems, 93, 68-77(2008)]

様々な変異体を用いたハイブリッド F1 について1分子回転観察を行ったところ、これまで得られていた E190D 変異体のみならず、サブユニットのアルギニンフィンガーと呼ばれるサブユニット R364 を K に変異させたハイブリッド F1 についても、内部でのサブユニット間での協同作用の可視化に成功した(図2)。この成果は2008年6月にアメリカで行われたゴードンリサーチカンファレンス Muscle & Molecular Motors にて発表を行った。



さらにこれらの結果について、あらたな角度解析プログラムの開発を行って詳細に解析を行った結果、これまで発見されていなかった新たな回転ステップの素過程(約20度の Sub-substep)を発見し、さらにそれが各種変異体で普遍的に起こる事象であることが確認できた(図3、図4)。



これらの実験結果は、F1 という回転分子モーターの回転メカニズムにとっての新たな発見となるだけでなく、生体分子機械がいかにして反応を力学運動に変換しているかを解き明かす鍵となる成果である。

それらの実験結果をもとに新規に構築したモデルの一部については、論文として発表し[T. Ariga et al. Biosystems, 93, 68-77, 2008]、実験的に確かめられた新たな発見については2008年12月の日本生物物理学会第46回年会にて発表を行った。

5. 主な発表論文等

(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 5 件)

- 1) T. Ariga, E. Muneyuki, M. Yoshida, F1 ATPase rotates by an asymmetric, sequential mechanism using all three catalytic subunits, Nature structural and molecular biology, 14, 841-846, 2007, 査読有

- 2) 有賀隆行、回転モーターF1 の分子内協同作用 ハイブリッド変異体を用いて、生物物理、49、080-083、2009、査読有

- 3) T. Ariga, The concerted nature between three catalytic subunits driving the F1 rotary motor, Biosystems, 93, 68-77, 2008, 査読有

- 4) T. Komori, S. Nishikawa, T. Ariga, A. H. Iwane, T. Yanagida, Simultaneous measurement of nucleotide occupancy and mechanical displacement in myosin V, a processive molecular motor, Biophysical Journal, 98, L4-6, 2009, 査読有

- 5) T. Komori, S. Nishikawa, T. Ariga, A. H. Iwane, T. Yanagida, Measurement system for simultaneous observation of myosin V chemical and mechanical events, Biosystems, 93, 48-57, 2008, 査読有

[学会発表](計 10 件)

- 1) 有賀隆行、回転分子モーターの協同的なメカニズムについて、第一回ソフトマター物理若手勉強会、2007/08/27、広島

- 2) 有賀隆行、生体分子モーター：その協同的な働きによる力発生と制御機構、非線形動力学コロキウム、2007/09/13、京都大学基礎科学研究所(招待講演)

- 3) T. Ariga, T. Komori, S. Nishikawa, A. H. Iwane, T. Yanagida, Measurement system for mechano-chemical coupling: Combining optical tweezers and fluorescent microscopy, BIOCOMP 2007, 2007/09/30, イタリア ピエトリスルマーレ

- 4) 有賀隆行、分子モーターの協同的作用とその制御、理論と実験 研究会、2007/10/13、広島大学大学院理学研究科

- 5) 有賀隆行, F1 ATPase は3つの部位での非対称で連続的な機構で回転する, 日本生物物理学会 第45回年会, 2007/12/23, パシフィコ横浜(口頭発表)

- 6) T. Ariga, E. Muneyuki, M. Yoshida, F1 ATPase rotates by an asymmetric,

sequential three site mechanism,
Biophysical Society 52nd Annual
Meeting, 2008/02/05, Long Beach,
California, USA

- 7) T. Ariga, E. Muneyuki, M. Yoshida,
F1 ATPase rotates by an asymmetric,
sequential three site mechanism,
Gordon Research Conferences, Muscle &
Molecular Motors, 2008/06/29,
Colby Sawyer College New London, NH,
USA
- 8) 有賀隆行、宗行英朗、吉田賢右、F1の
逐次的な回転機構と新モデルについて、
理論と実験 研究会, 2008/10/10, 広島
大学
- 9) 有賀隆行、宗行英朗、吉田賢右、サブ
ユニット変異体を導入したハイブリッド
F1の非対称な回転, 日本生物物理
学会第46回年会, 2008/12/03, 福岡国
際会議場
- 10) 有賀隆行、回転分子モーターF1の分
子内協同(協調)作用、パイオ操作 1分
子 / 研究&見学会、2009/01/30、理化
学研究所横浜研究所免疫・アレルギー科
学総合研究センター(招待講演)

〔図書〕(計 1 件)

- 1) S. Nishikawa, T. Komori, T. Ariga, T.
Okada, Y. Ishii, and T. Yanagida,
"Imaging and nanomanipulation of an
actomyosin motor", "Single Molecule
Techniques: A Laboratory Manual" P. R.
Selvin and T. Ha eds., 2007, pp. 650
(pp. 325-346)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有賀 隆行 (ARIGA TAKAYUKI)
東京大学・大学院工学系研究科・助教
研究者番号: 30452262

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし