

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H01864

研究課題名（和文）物理的に妥当な関係式による生体分子モーターF1-ATPaseのエネルギー論の展開

研究課題名（英文）Development of energetics of biomolecular motor F1-ATPase from the perspective of physical plausibility

研究代表者

中山 洋平（Nakayama, Yohei）

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：20757728

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：生体分子モーターの一種であるF1-ATPaseは、アデノシン三リン酸(ATP)を消費して分子モーターとして動作するだけでなく、逆にATP合成酵素としても動作する。本研究では、この2つの動作が単なる互いの逆過程ではなく、大きく異なった性質を持つことを明らかにした。F1-ATPaseのエネルギー論を調べるために使われていた関係式の妥当性を考え直す、という着想がこの過程では鍵となった。また、2つの動作の間の非対称性を生み出しているメカニズムも解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

明らかになったメカニズムは、分子モーター・ATP合成酵素のどちらかとして動作している場合のみに働く制御機構とみなせる。ATPは細胞内のエネルギー通貨と呼ばれる分子であるため、その合成を担うF1-ATPaseの制御は精密になされていると期待できる。そのため、今回得られた成果は他の生体分子モーターや人工分子モーターに制御機構を実装する上での指針になる、という意義がある。

研究成果の概要（英文）：A biomolecular motor F1-ATPase may operate not only as a molecular motor driven by the hydrolysis of adenosine triphosphate (ATP), but also as a part of ATP synthase. We clarified that these two operations are not simply the reverse processes of each other, but are qualitatively quite different. A key idea was to reconsider the physical validity of a formula used in a previous research. In addition, we elucidated mechanisms behind an asymmetry between the two operations.

研究分野：非平衡熱・統計力学

キーワード：分子モーター 非平衡熱力学 非平衡統計力学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

(1)  $F_1$ -ATPaseは、細胞内のエネルギー通貨とも呼ばれるアデノシン三リン酸(ATP)を合成する $F_0F_1$ -ATP合成酵素の一部をなすタンパク質である。一分子のタンパク質の運動を直接測定する一分子実験の技術と、熱ゆらぎが顕著な系において熱力学的な概念を定式化するゆらぎの熱力学の枠組みが発達したことによって、 $F_1$ -ATPaseの特異な熱力学的な性質を持つことが明らかになってきている。なかでも、ATPの分解によって生じた自由エネルギーが、 $F_1$ -ATPaseの回転軸の回転運動によって100%放出される、という低内部散逸の性質は、回転運動とATP結合部位の間のアロステリックな相互作用をモデル化する上での手掛かりとなった。

(2) タンパク質の運動を記述する際に良く用いられるのが、自由エネルギー地形と呼ばれる反応座標の関数である。ところが、この自由エネルギー地形には反応座標の選び方によって値が変わってしまうという問題があり、物理的に妥当な定義になっていないことに、私たちは気づいた。また、先に述べた $F_1$ -ATPaseの低内部散逸の性質を調べるために使われたHarada-Sasa等式も、特定の反応座標の選び方を前提としており、一般には正しい結果を与えるとは限らない、ということも見出した。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究課題では、 $F_1$ -ATPaseが機能する上で必要不可欠な、回転運動とATP結合部位の間のアロステリックな相互作用に関する理解を、一分子実験によってさらに精密なものとするを目的とした。特に、低内部散逸であるという結果に基づいて提案されている非対称アロステリックモデルと呼ばれるモデルを、別の角度から検証することによって、このモデルがどの程度の範囲まで妥当なのか、また変更される必要があるのであればどのような変更を受けるのかを明らかにすることを目指した。

(2) 実験結果の解釈においては、反応座標の選び方のような人為的な要素に左右されないことが必要である。Harada-Sasa等式が与える結果は一般には反応座標の選び方に依存するため、この事実が $F_1$ -ATPaseが低内部散逸であるという結論に影響しているかどうかも明らかにする。また、この着想の元となった自由エネルギー地形が反応座標の選び方に依存する問題についても、さらに詳しく調べる。

### 3. 研究の方法

(1) 予備的な実験で、Harada-Sasa等式の結果と整合しない結果を得ていたため、どのようにHarada-Sasa等式を修正すればその不整合が解消するか、というアプローチで研究を進めることを予定していた。ところが、得られていた結果について詳しく検討したところ、Harada-Sasa等式との不整合は別の理由で説明がついたため、異なるアプローチを選択することとした。

(2) 非対称アロステリックモデルの妥当性を調べる新しいアプローチとして、このモデルから予言される $F_1$ -ATPaseの性質が一分子実験でも観察されるかを調べることにした。予言される性質について検討したところ、ATP合成酵素として働く場合と、ATPを消費して分子モーターとして働く場合で、回転速度の基質濃度依存性に定性的な差が生じることが判明した。そのため、一分子実験において、回転軸に外部からトルクを加えてATPを合成させる、トルクを加えずに分子モーターとして動作させる、という2つの場合について、基質であるATP・ADPの濃度を変化させた時の回転速度を測定した。また、実験結果との定量的な比較を行うために、非対称アロステリックモデルの数値計算も行った。

(3) 自由エネルギー地形については、どのような定義であれば反応座標の選び方に依存しない物理的に妥当な形になるか理論的に調べた。これまで主に対象としてきた反応座標が1変数である場合に加えて、反応座標が多変数である場合に、これまでの結果がどのように一般化されるかを調べた。

(4) (2)で得られた結果は、ATP合成速度とATP分解速度とで非対称な制御がなされている、とみなせるものであった。類似の機能を持っていると考えられる $F_1$ -ATPaseのインヒビションと呼ばれる機構についても、一分子実験で調べた。回転軸に外部から加えるトルクの変化を調整させながら、インヒビションによって生じる回転の停止の統計的な性質や、その結果生じる速度の抑制度合いを測定して、ATP合成・分解の速度の非対称性について調べた。

#### 4. 研究成果

(1) 一分子実験によって、F<sub>1</sub>-ATPaseの回転速度の基質濃度依存性をATPを合成/分解している場合それぞれで調べたところ、非対称アロステリックモデルが予想する通り、定性的に異なる基質濃度依存性が得られた(図1)。ATPを分解している場合には、酵素反応速度論でよく知られているMichaelis-Mentenの式に従う、という従来の実験で得られていたものと同じ基質濃度依存性が得られた。これに対して、ATPを合成している場合では、Michaelis-Mentenの式とは異なる基質濃度依存性を示すことが明らかになった。この実験結果を再現するようにモデルパラメータを調整して、非対称アロステリックモデルの数値計算を行ったところ、基質濃度依存性が定性的に異なることを再現することに成功した(図1)。この結果は、非対称アロステリックモデルの妥当性を支持すると同時に、モデルを構築する上での出発点となった、Harada-Sasa等式を使った実験の妥当性も示唆している。

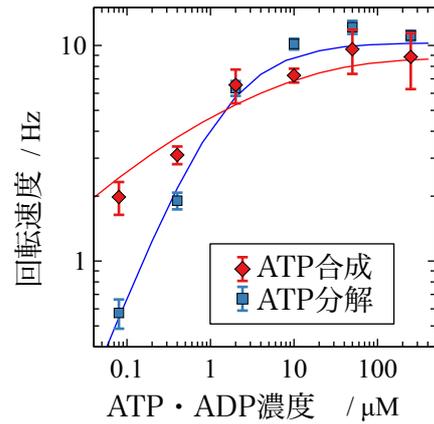


図1: 回転速度の基質濃度依存性。データ点は実験結果、曲線は数値計算によるフィッティング結果。

(2) さらに、数値計算で得られた情報を詳しく調べて、定性的に異なる基質濃度依存性を生じさせているメカニズムも明らかにすることができた。具体的には、基質の結合が起こるときの回転軸の角度が、基質濃度を変化させたときにどのように変化するかを調べた。ATP合成の場合には、基質濃度と共に基質の結合が起こる角度が変化していくのに対して、ATP分解の場合にはほぼ一定の角度に保たれていた。その結果、ATP分解の場合には、反応が1次元的なモデルに帰着され、Michaelis-Mentenの式に従う基質濃度依存性を示していることが明らかとなった。

(3) 自由エネルギー地形に、物理的に妥当な性質を満たすことを要請した場合の公式

$$F(z) = -T \ln P(z) \sqrt{\det \mathbf{D}(z)} + \text{const}$$

を理論的に導いた。ここで、 $P(z)$  は平衡状態における  $z$  の確率密度分布、 $\mathbf{D}(z)$  は拡散係数行列、 $T$  は平衡状態の温度である。 $\det \mathbf{D}(z)$  が定数となる場合には、この公式は従来の自由エネルギー地形と一致するため、 $\det \mathbf{D}(z)$  が  $z$  に依存する場合への拡張になっている。

(4) インヒビションによる回転の停止は、ATPを分解している場合に特有の現象であり、大きなトルクが加わってATPを合成している場合には観察されない、という事実を、一分子実験において初めて確認できた(図2)。また、回転・停止それぞれの継続時間の平均値がトルクの大きさに対してどのように変化するか調べたところ、回転の継続時間はトルクに依存せずほぼ一定であり、停止の継続時間が変化することによって停止している時間の比率が変化することが明らかになった。これらの結果を踏まえて、F<sub>1</sub>-ATPaseのインヒビションを記述するモデルを構築した。このモデルでは、回転軸の角度に加えて、F<sub>1</sub>-ATPaseが回転と停止どちらの状態にいるかを表す変数を導入したが、回転軸の角度のみで表されるようなモデルと比較したところ、ATP合成速度を落とさずにATP分解速度のみを抑制することができ、という優位性があることが明らかになった。

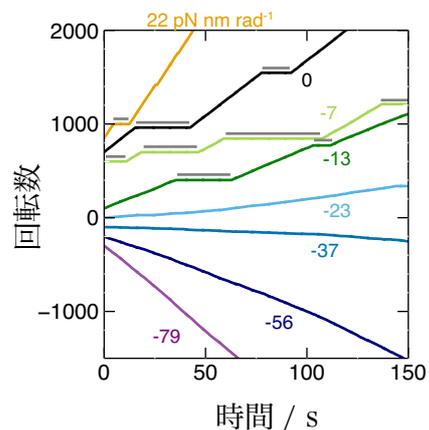


図2: 回転時系列のトルク依存性。インヒビションによる停止は、

(5) 本研究では、F<sub>1</sub>-ATPaseが基質濃度依存性とインヒビションによる回転の停止という2つの点でATP合成と分解とで非対称性を持っていること、そのメカニズムを明らかにした。これらの非対称性が持つ生理的な役割を明らかにすることは今後の課題である。また、Harada-Sasa等式が一般には反応座標の選び方によって結果が変わるにもかかわらず、なぜ(1)で行った実験と整合する結果を与えていたのか?という問いがあることを見出すことができた。

ATP分解方向(+方向)に回転しているときにだけ起こる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakayama Yohei, Toyabe Shoichi	4. 巻 126
2. 論文標題 Optimal Rectification without Forward-Current Suppression by Biological Molecular Motor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physical Review Letters	6. 最初と最後の頁 208101-1,5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevLett.126.208101	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 Sasa Shin-ichi, Nakagawa Naoko, Itami Masato, Nakayama Yohei	4. 巻 103
2. 論文標題 Stochastic order parameter dynamics for phase coexistence in heat conduction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 062129-1,29
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevE.103.062129	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 Tanaka Mana, Kawakami Tomohiro, Okaniwa Tomoaki, Nakayama Yohei, Toyabe Shoichi, Ueno Hiroshi, Muneyuki Eiro	4. 巻 119
2. 論文標題 Tight Chemomechanical Coupling of the F1 Motor Relies on Structural Stability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 48 ~ 54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bpj.2020.04.039	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 Itami Masato, Nakayama Yohei, Nakagawa Naoko, Sasa Shin-ichi	4. 巻 103
2. 論文標題 Effective Langevin equations leading to large deviation function of time-averaged velocity for a nonequilibrium Rayleigh piston	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 22125
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevE.103.022125	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 Seya Atsumasa, Aoyagi Tatsuya, Itami Masato, Nakayama Yohei, Nakagawa Naoko	4. 巻 2020
2. 論文標題 Multiplicative Langevin equation to reproduce long-time properties of nonequilibrium Brownian motion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment	6. 最初と最後の頁 013201 ~ 013201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-5468/ab54bc	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 Nakamura Takenobu	4. 巻 132
2. 論文標題 Derivation of the Invariant Free-Energy Landscape Based on Langevin Dynamics	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Physical Review Letters	6. 最初と最後の頁 137101-1,6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevLett.132.137101	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6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中山洋平
2. 発表標題 F1-ATPaseが示すATP合成/分解の間で非対称な基質濃度依存性のTASAMによる解析
3. 学会等名 日本物理学会 2023年春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中山洋平, 鳥谷部祥一
2. 発表標題 F1-ATPaseの反応速度のATP分解/合成とで非対称な基質濃度依存性
3. 学会等名 日本物理学会 第77回年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中山洋平
2. 発表標題 生体分子モーターF1のATP合成という目的に合った設計原理
3. 学会等名 日本物理学会 2021年秋季大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山洋平, 鳥谷部祥一
2. 発表標題 自由エネルギーの浪費を抑えるF1-ATPaseの速度論的制御機構
3. 学会等名 日本物理学会 2020年秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山洋平, 鳥谷部祥一
2. 発表標題 Kinetic ratchet mechanism of F1-ATPase selectively suppresses hydrolysis of ATP
3. 学会等名 The 58th Annual Meeting of the BSJ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山洋平, 鳥谷部祥一
2. 発表標題 F1-ATPaseにおけるATP合成/分解の非対称性
3. 学会等名 日本物理学会 第75回年次大会
4. 発表年 2020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
研究 分担 者	中村 壮伸  (Nakamura Takenobu)  (10642324)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員    (82626)	

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
---------	---------