

平成 28 年 5 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25610121

研究課題名(和文)微小管系分子モーターの化学-力学共役機構と力学的破断特性の統一的解明

研究課題名(英文)Chemomechanical network modeling for molecular motor dynamics of kinesin

研究代表者

墨 智成 (Sumi, Tomonari)

岡山大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：40345955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、観測結果に基づいて、キネシンの化学-力学状態遷移ネットワークモデルを論理的に構築し、動力学的特性の統一的再現を実現した。主要サイクルの解析により、一般に信じられている標準的モデルとは本質的に異なる次の結果を得た。

(1)特定のサイクルのみに依存せず、ATP濃度および外部負荷に応じてサイクルの反応経路を変化させながらdead endを回避して、安定した前進ステップ運動を実現する。(2)後方への外部負荷に対するロバスト性を維持するために、ATP濃度にかかわらず、主要サイクルに対するネットワーク上での適切な反応経路を選択している。

研究成果の概要(英文)：We present a chemomechanical network model of molecular motor kinesin that is systematically developed on the basis of experimental observations, and demonstrate that it can qualitatively reproduce available all the experimental results of motor dynamics. The analysis of the local excess fluxes shows that an ATP-concentration dependence of the dominant forward stepping cycle and (2) supports a gated rear head mechanism where the forward step is controlled by ATP hydrolysis and the resulting ADP-bound state of the rear head at saturating ATP levels. The network picture suggests that for saturating ATP concentration, the energy from ATP hydrolysis is used to concentrate the chemical transition flux on the network to a force-generating state that can produce the power stroke. At low ATP levels, the energy is used to avoid states that are fragile against backward load because the leading head is weakly bound to microtubule.

研究分野：生物物理学

キーワード：分子モーター 化学-力学共役機構 確率的モデリング 力学的破断過程 一分子観測 キネシン 溶媒和自由エネルギー 密度汎関数理論

### 1. 研究開始当初の背景

分子モーターの理論的研究の一つとして、確率的モデリングに基づいたアプローチが用いられており、生命現象の切り口として、理にかなった強力な研究手段である。細胞骨格系分子モーター「キネシン」は、ATPの加水分解エネルギーを力学的仕事に変換することにより、細胞の中心から外側に向かって微小管上を二足歩行しながら細胞内物質輸送を担うモータータンパク質である。キネシンの動力学特性を研究するにあたり、数多く確率的モデルが提案されており、一分子計測による実験データを再現している。しかしながら、これらの研究では一般に、確率的に生じる化学反応の経路に強い制約を課し、あらかじめ選択した単一もしくは多くて二つ程度の反応サイクルのみを考慮した化学-力学共役モデルが用いられてきた。一方、分子モーターが用いる化学反応の経路は、例えばATPの濃度や外部負荷によって、反応サイクルの律速段階は強く影響を受けることが予想される。従って、事前に選択した反応経路のみを考慮したシンプルなモデルを使って、特定の観測結果を定量的に再現できたとしても、人為的な描像である可能性は否めず、化学-力学共役機構の本質的理解には至らなのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、出来る限り直感的な反応経路の選択を回避しながら、観測結果に基づいて論理的かつ系統的にキネシンの確率的モデルを構築し、これまでに一分子観測実験によって報告されている動力学特性の統一の再現を試みる。それにより、様々なATP濃度および外部負荷下における、化学-力学ネットワーク上での主要な反応サイクルを特定する。それにより、化学的エネルギーの力学的仕事への変換においてキネシンが使っている基本的メカニズムを明らかにし、化学-力学共役機構の本質的理解を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究では、Liepelt と Lipowsky によって提案された Chemomechanical network theory に基づいた確率的モデリングを出発点として用いる[Phys. Rev. Lett. **98**, 258102 (2007)]。この方法では、ATP結合サイトを一つずつ持つ二つの頭部(足)に対し、三つの化学的状態(ATP結合、ADP結合、及びヌクレオチド無し)を仮定すると、その組合せから全部で $3 \times 3 = 9$ 状態が得られ、化学的状態遷移を表すエッジは18通りとなる(図1)。なお、ATPおよびempty状態の頭部は微小管に強く結合し、ADP状態では弱く結合することが実験により示されている。これらの化学的状態に対して、片足のみ微小管と強結合し(ATP or empty状態)、もう片方は弱結合となる状態(ADP状態)の間で生じる力学的ステップ遷移を表すエッジは2通り存在し、いずれの場合

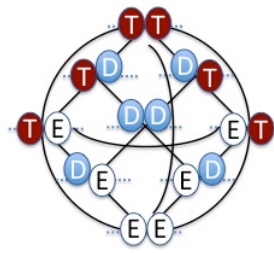


図1.キネシン頭部へのヌクレオチド結合状態(ATP結合Ⓣ, ADP結合ⓓ, ヌクレオチド無しⓔ)によって生成される9つの化学的状態と18通りの化学的状態遷移(実線). ⓓは、微小管と弱結合する。

も前足が強結合、後ろ足が弱結合の場合に、前進ステップ遷移が生じる可能性が示唆される。これらの二種類の力学的ステップ遷移のうち、前足にATPが結合した状態で生じる力学的遷移を、力発生する能動的ステップ遷移とし、前足がempty状態で生じる力学的遷移を、外力によって駆動される受動的ステップ遷移として導入した。後者の必要性は、ATP非存在下において観測されている、外力によって駆動された能動的歩行速度のADP濃度依存性を再現するのに必要不可欠であり、これらの観測結果から、力学的遷移には、ATPエネルギーによって駆動される能動的ステップ遷移と、外力によって駆動される受動的ステップ遷移とが存在することが示唆される。本研究では、両足とも弱結合(ADP状態)となる化学的状態を消去した8状態ネットワークに、これら二種類の力学的ステップ遷移を考慮した8状態モデル(図2)を提案し、これまでに報告されている分子モーター速度、前進後退ステップ比、平均走行距離、破断速度のATP濃度および外部負荷依存性に関する、統一の再現を実現した。なお、(1)各頭部のヌクレオチド結合状態に依存した微小管との結合の強さ、および(2)分子内張力に起因した化学的状態遷移の間に存在する対称性/非対称性に基づいて、状態空間の拡大によって増大した反応速度パラメータの系統的な決定を行った。

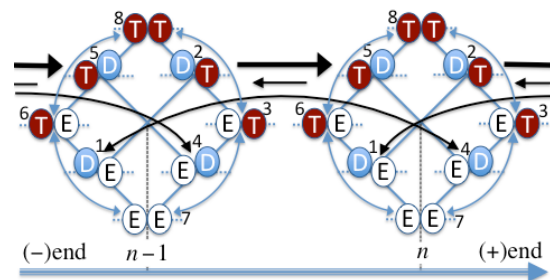


図2.キネシンの化学-力学状態遷移ネットワークモデル. 実線は化学的及び力学的状態遷移. 太矢印(上部)は、ATP加水分解に共役した力発生する前進ステップ運動. 双方向細矢印(下部)は外力による能動的ステップ運動を記述する。

### 4. 研究成果

得られた化学-力学状態遷移ネットワークモデルをベースに、様々な条件下における主要なサイクルを解析し(図3)、以下の点を明らかにした。(1)特定のサイクルのみに依存せず、ATP濃度に応じてサイクルの反応経路を変

化させながら dead end を回避して、安定した前進ステップ運動を実現する。(これは単一サイクルモデルでは観測されない)(2)ATP 高濃度下における前進ステップ遷移は、後ろ足での ATP 加水分解反応に伴う微小管との弱結合化によって制御されている。(3)低 ATP 濃度下では、後ろ足での無駄な ATP 加水分解反応が主要サイクルとなり、その間に確率的に前進ステップ遷移が生じる。(4)後方への外部負荷に対するロバスト性を維持するために、ATP 濃度にかかわらず、主要サイクルに対するネットワーク上での適切な反応経路を選択している。

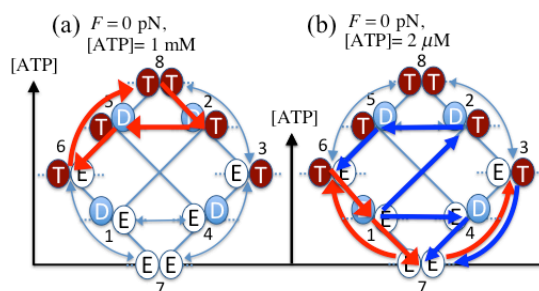


図 3. ATP 濃度に依存したネットワーク上での主要前進ステップサイクル。左側の軸は ATP 濃度レベルに対応し、ATP レベルが高い状態の出現確率は、ATP 濃度の上昇に伴い増加する。

これらの解析に関連し、本研究では、化学-力学状態遷移サイクルに対するエネルギー保存則を、単位時間当たりの熱力学量に基づくものへと拡張することにより、分子モーターなどに適用可能な非平衡定常状態における必要条件を導出した。

また、化学-力学状態遷移サイクルを構成する各状態遷移の自由エネルギー面の計算に必要な、高精度で高効率な溶媒和自由エネルギー計算法を開発した(図 4)。この手法は、密度汎関数法において導入する参照系を、従来通りの理想気体から、液体状態の記述においてより有効な剛体球参照系に置き換えることにより、従来法の hypernetted chain(HNC)近似に比べ、密度汎関数テーラー展開の速やかな収束を実現している。

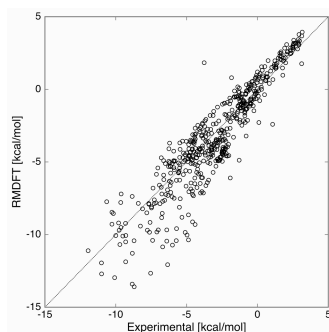


図 4. RMDFT による 504 有機分子の SFE と実験との比較。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① T. Sumi, A. Mitsutake, and Y. Maruyama, A Solvation-Free-Energy Functional: A Reference-Modified Density Functional Formulation, *J. of Comput. Chem.*, 査読有, 36, 2015, 1359–1369, DOI: 10.1002/jcc.23942
- ② T. Sumi, A. Mitsutake, and Y. Maruyama, Erratum: “A solvation-Free-Energy Functional: A Reference-Modified Density Functional Formulation”[*J. Comput. Chem.* 2015, 36, 1359–1369], *J. of Comput. Chem.*, 査読有, 36, 2015, 2009–2011, DOI: 10.1002/jcc.24035
- ③ K. Mochizuki, T. Sumi, and K. Koga, Driving forces for the pressure-induced aggregation of poly (N-isopropylacrylamide) in water, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有, 18, 2016, 4697–4703, DOI: 10.1039/c5cp07674a
- ④ K. Abe, T. Sumi, and K. Koga, Mean-Field Approximation to the Hydrophobic Hydration in the Liquid–Vapor Interface of Water, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 120, 2016, 2012–2019, DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b10169
- ⑤ T. Sumi, H. Imamura, T. Morita, Y. Isogai, and K. Nishikawa, Model-potential-free analysis of small angle scattering of proteins in solution: insights into solvent effects on protein–protein interaction, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有, 16, 2014, 25492–25497, DOI: 10.1039/c4cp03606a
- ⑥ T. Sumi, H. Imamura, T. Morita, and K. Nishikawa, A model-free method for extracting interaction potential between protein molecules using small-angle X-ray scattering, *J. of Mol. Liq.*, 査読有, 200, 2014, 42–46, DOI: 10.1016/j.molliq.2014.03.014
- ⑦ K. Abe, T. Sumi, and K. Koga, Temperature dependence of local solubility of hydrophobic molecules in the liquid-vapor interface of water, *J. of Chem. Phys.*, 査読有, 141, 2014, 18C516-1-18C516-8, DOI: 10.1063/1.4896236
- ⑧ A. Okumoto, T. Akiyama, H. Sekino, and T. Sumi, Time series data analysis using DFA, *AIP Conference Proceedings*, 査読有, 1585, 2014, 175-180, DOI: 10.1063/1.4866638
- ⑨ T. Sumi and H. Sekino, Effects of hydrophobic hydration on polymer chains immersed in supercooled water, *RSC Advances*, 査読有, 3, 2013, 12743–12750, DOI: 10.1039/c3ra41320a
- ⑩ H. Imamura, T. Morita, T. Sumi, Y. Isogai, M. Kato and K. Nishikawa, Modulation of the intermolecular interaction of myoglobin by removal of the heme, *J. of Syn. Rad.*, 査読有, 20, 2013, 919–922, DOI: 10.1107/S0909049513022772

〔学会発表〕（計 10 件）

- ① T. Sumi and S. Klumpp, キネシンの化学-力学状態遷移ネットワーク: ATP 濃度および外部負荷依存性, 日本物理学会第 71 回年次大会, 2016 年 3 月 21 日, 東北学院大学(仙台)
- ② T. Sumi and H. Sekino, Effects of hydrophobic hydration on polymer chains immersed in supercooled water, International Conference on Water Science, 2014 年 4 月 16 日, Peking (China)
- ③ T. Sumi, Y. Maruyama, and K. Koga, A reference-modified density-functional theory for improving solvation free energy, The 8th Mini-Symposium on Liquids, 2014 年 7 月 5 日, 岡山大学 (岡山)
- ④ T. Sumi, H. Imamura, T. Morita, Y. Isogai, and K. Nishikawa, Model-free method for extracting protein-protein interactions in solutions using small-angle X-ray scattering data, 9th Liquid Matter Conference, 2014 年 7 月 24 日, Lisbon (Portugal)
- ⑤ T. Sumi, and T. Morita, Solute-induced fluctuations in binary solvent mixture, EMLG - JMLG annual meeting 2014, 2014 年 9 月 11 日, Roma (Italy)
- ⑥ T. Sumi, and T. Morita, Solute-induced fluctuations in binary solvent mixture, International Meeting on Applications of Statistical Mechanics of Molecular Liquid on Soft Matter, 2014 年 9 月 15 日, Bangkok (Thailand)
- ⑦ T. Sumi, and S. Klumpp, Chemomechanical network modeling of kinesin, The 52st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2014 年 8 月 26 日, 札幌コンベンションセンター (札幌)
- ⑧ T. Sumi, H. Imamura, T. Morita, Y. Isogai, and K. Nishikawa, A model-potential-free analysis of protein-protein interactions using small-angle X-ray scattering, 3rd International Conference on Molecular Simulation (ICMS2013), 2013 年 11 月 19 日, 神戸国際会議場(神戸)
- ⑨ T. Sumi, H. Imamura, T. Morita, Y. Isogai, and K. Nishikawa, An integral equation approach for protein interactions using small-angle X-ray scattering data, The 51st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2013 年 10 月 30 日, 京都国際会議場(京都)
- ⑩ T. Sumi and S. Klumpp, Revisit of chemomechanical network theory of kinesin, Multiscale Motility of Molecular Motors, 2013 年 9 月 23 日, Potsdam (Germany)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

墨智成 (SUMI, Tomonari)

岡山大学・大学院自然科学研究科・准教授

研究者番号 : 40345955

(2)研究協力者

Stefan Klumpp

Max-Planck Institute (MPI) of Colloids and Interfaces (Potsdam), ゲッティンゲン大学