B461

溶液中のラチェットモデル

○小松 英幸¹、入佐 正幸²、児玉 孝雄² (¹九大・先端物質化学研、²九州工大・情報工・生物化学)

分子モーターのエネルギー変換メカニズムにはタイトカップリング型とルースカップリング型がある。タイトカップリング型がたんぱく質の構造変化を基礎とした具体的なモデルであるのと比べて、ルースカップリング型は抽象的なものが多い。ルースカップリングモデルの1つである熱ラチェットモデル¹は、爪車と羽根車に「温度差」を設けて熱揺らぎから仕事を取り出すモデルであり、1分子レベルの実験結果を現象論的に説明できる²。しかし、実際の溶液中での「温度差」の実体は不明である。今回我々は、「温度差」の代わりに「局所的な溶媒分子の衝突確率差」を利用するラチェットモデルを提案する。「局所的な溶媒分子の衝突確率差」を溶媒(水)和の変化と考えると、それはたんぱく質の濃度や構造の変化によって実現できるので、「温度差」より具体性がある。すなわち、分子モーターはATP加水分解に伴う構造変化により、近傍の溶媒分子の衝突確率(溶媒和過程)を変化させて、モーター自体の揺らぎを变調させていると考えることはできないであろうか?この考え方はたんぱく質の構造変化に基づいたルースカップリング型モデルを提供することになる。

現在、上記のようなラチェットモデルに物理的矛盾がないかについて理論的に検討している。また、このモデルがどのような条件において分子モーターの動作原理として適用できるかについても検討する予定である。

1. Vale R. & Osawa F. (1990) *Adv. Biophys.* 26, 97-134.
2. Nishiyama M., Higuchi H. & Yanagida T. (2002) *Nat. Cell Biol.* 4, 790-797.

H. Komatsu, M. Irisa and T. Kodama : Ratchet model in solution

B463

分子モーターの動作原理解明に向けた分子動力学計算

○高野 光則¹、寺田 智樹²、笹井 理生² (¹東大院・総合文化、²名大院・情報科学)

アクトミオシン等の分子モーターの動作原理は、1分子計測を初めてする数多くの実験研究により、その輪郭が次第に浮かび上がってきたといえる。しかし、実験結果やその解釈に論争があることも事実で、その大きな要因の一つは、実際に「働いている」ときの蛋白の姿がまだベールに包まれていることによる。働いている時の姿は、ヌクレオチド状態による結晶構造の違いから、しばしば「紙芝居」的に説明されてきたが、溶液中のスナップショットを示しているかどうかは自明ではない。究極的には、単位分子機械である蛋白質分子システムが化学エネルギーを力学エネルギーに変えるまでの姿を、atomicレベルの連続ムービーで、しかもエネルギーの流れも含めて見せる必要がある。分子動力学計算でこれができないだろうか? 見込みはあるが、計算量の問題、モデルの問題等があり、一筋縄ではいかない。本研究では、まずアクトミオシン複合体の立体構造情報を保持した粗視化モデルを考え、このモデルを非平衡状態に置いた時に何が起こるかを見るための分子動力学計算を行うつもりである。非平衡状態として、アクトミオシン複合体内部の不均一な温度分布を考える。具体的にはミオシン側に高温熱源、アクチン側に低温熱源をおくこと等を考える。このようにコンスタントに熱エネルギーが供給される場合には、ファインマンの指摘のように、一方向性の滑りが期待できるが、realisticな立体構造および内部の巨大自由度を持った「Vale-Oosawaモデル」により、このシナリオの妥当性を検討する。一方、動作原理の新しいシナリオとして、ミオシンのfoldingと一方向性の滑りがカップルする、という考えが寺田らにより提唱された。この考えに沿った分子動力学計算も紹介し、ラチェット風のシナリオと対比させて議論したい。

M. Takano, T. P. Terada and M. Sasai : Molecular dynamics simulation toward elucidating the way how molecular motors work

B462

分子モーターの運動活性における分子間協同性

○江崎 誠治^{1,2}、石井 由晴²、柳田 敏雄^{1,2} (¹阪大院・生命機能・ナノ生体、²科技振・ソフトナノマシン)

分子モーター・ミオシンは、アクチンフィラメント上で前進後退を繰り返しつつも、ATPの加水分解のエネルギーを使うことで一方向に運動し、機能している。一分子計測により明かされたこの確率論的な特性を計算機上で再現すべく、我々はミオシン単分子の挙動のモデル化を進めてきた。ミオシン分子をアクトミオシン系の相互作用ポテンシャル場で運動するブラウン粒子として記述し、このポテンシャル場にATPの効果を想定した時間変調(ポテンシャル揺らぎ)や空間変調(ポテンシャル勾配)を与え、個々のブラウン粒子の挙動を逐次追跡した。その結果、ミオシン分子のATP加水分解反応に伴う5.5 nmを単位とする複数回の確率的なステップや、運動の方向性・ステップ間の時間間隔(dwell time)の負荷依存性を再現することができた(Esaki et al., 2003)。

我々が構築した運動モデルは単頭単分子についてのモデルであるが、このモデルを基に、分子が複数個存在する系での分子モーターの運動を議論することも可能である。特に二つのブラウン粒子が弱いバネにより緩く結合している場合の運動を解析したところ、一方の粒子の状態がアクトミオシン相互作用ポテンシャル場を介して他方の粒子の運動に影響を及ぼし、結果として粒子の運動の方向性及び dwell time に協同性が生じ得ることが確認された。

天然のミオシン分子には双頭構造をとるものも多く、二つのヘッドが密接に連携することで機能すると主張する hand-over-hand モデルなども提案され、検証実験も数多く行われているが、双頭構造の果たす役割について決定的な証拠は未だ得られていない。我々のモデルにおいて協同現象が生じる為の必要条件の特定を進めることにより、分子間・ヘッド間相互作用がもたらす運動特性への影響が解き明かされるものと期待できる。

S.Esaki, Y.Ishii, and T.Yanagida : Model describing the cooperativity of the movement of molecular motors

B464

自由エネルギー地形により描かれるキネシン1分子の確率的な運動

○谷口 雄一¹、西山 雅祥²、石井 由晴³、柳田 敏雄^{3,4} (¹阪大院・基礎工・機能創成、²京大院・理・化学、³CREST・JST、⁴阪大院・生命機能)

キネシンは、ATPを加水分解しながら微小管上を運動する生体分子モーターである。その連続的な滑り運動は、8nmを単位としたステップ状の変位から構成されている。ステップは必ずしも前方向に生成されるわけではなく、時折、後方向にも生成されており、これは確率的なステップ生成メカニズムを示唆するものである。本研究では、両方向性のステップを生み出すメカニズムを明らかにすることを目的として、熱力学的な解析手法を用いてキネシンの運動解析を行った。我々は、1分子ナノメートル計測の手法を用いてキネシンのステップ状変位を観測し、ステップの方向性と頻度の温度依存性を調べた(7-35℃)。その結果、キネシンの前後両方向への確率的な動きは、前後非対称な自由エネルギーポテンシャル上でのブラウン運動として説明できることが明らかになった。前後にステップする際に越える必要のある前後の障壁の高さは、8.5kBTと14kBT(T=293K)であり、両者の差は活性化エントロピーの非対称性に起因する。キネシンは、ATPの加水分解エネルギーにより後方向のエネルギー障壁を高くし、後ろ向きの運動を制御することで、一方向性の運動機能を発現していることが明らかになった。

Y. Taniguchi, M. Nishiyama, Y. Ishii and T. Yanagida : Stochastic movements of single kinesin molecules described by free energy landscape