生体分子モーター

—進化が生んだ超高性能ナノマシン—*

Biological Molecular Motor—Super Nano-machine Created by Evolution—

鳥谷部祥一**
Shoichi TOYABE

Key words molecular motor, ATP synthesis, thermal fluctuation, statistical physics, nano machine

1. 生体ナノマシン

生体内では多様な生体ナノマシンが働いている。レールの上を2本足で歩いて細胞内の輸送を担うキネシン（車）、DNAの情報を1文字ずつ複製するDNAポリメラーゼ（コピー機）、力学運動を介してエネルギー変換を行うATP合成酵素（発電機）や、べん毛を回転させてバクテリアを推進するべん毛モーター（電気モーター）など多種多様である。括弧書きしたように、われわれの身の回りを見てみると、似たような動作をする機械がある。しかし、サイズが大きく異なる。生体ナノマシンはタンパク質でできており、およそ10 nm程度であるが、身の回りの機械は1 mのオーダーである。つまり、1億倍も大きさが違う。したがって、似たような働きをするといっても、その動作原理は大きく異なるだろう。

大きな機械では、力学や電気的な相互作用のみを考えればよく、化学結合等の相互作用は無視できる。一方、ナノマシンの働く小さいスケールでは多様な相互作用が同程度の大きさで効き、複雑に絡み合う¹⁾。だからこそ、極めて豊かで精巧な装置が実現できるのだろう。さらに、生体ナノマシンは、熱揺らぎにさらされ、周りから溶媒分子が激しく衝突する中で動いている。それにもかかわらず、これらの生体ナノマシンは、ロバストかつ高効率で働いている。その動作原理の解明は、生物学、化学、物理学を総動員して解くべき大きな問題であると考えられる。また、さらに欲を出せば、このような分子モーターをまねて、人工的に自律的なナノマシンを作れないだろうか。これは、ナノテクノロジーの一つの目標であろう。

2. F₁ モーター

われわれが研究しているのは、F₁モーター（F₁-ATPase）と呼ばれる大きさ10 nm程度の回転モーター

で、これまで自然界で見つかった中では最小の回転モーターである（図1-a）。F₁モーターは、他の分子モーターと同様に、タンパク質の複合体である。回転軸と固定子（6量体から成るリング）でできており、燃料となるATP（アデノシン3リン酸）分子（図1-b）を分解しながら軸が一方方向に回転する。その大きさはわずか10 nmしかないの、顕微鏡でも回転は見えない。しかし、固定子をガラス上に貼り付けて、軸にサブミクロンサイズの大きな粒子を付けることで、1分子の回転を光学顕微鏡で観察できる（図1-c）²⁾。回転の軌跡から分かるように、ステップ状に回転する（図1-d）。止まっている状態はATPの結合を待っている状態であり、ATPが結合すると分解しながら120°回転する。すなわち、1回転で三つのATPを消費する。

図1 F₁モーター a: F₁モーターは回転軸(γ)と6量体から成る固定子リングから成るタンパク質の複合体で、ATPを加水分解しながら、γ軸が一方方向に回転する b: ATP(アデノシン3リン酸)のADPとP_iへの分解により、20 k_BT/ATP程度の高エネルギーが得られる c: サブミクロンのプローブ粒子を付けることで、顕微鏡で1分子の回転を観察することができる。一つの粒子では回転しているのかどうか分からないので、2個の粒子を結合する d: 粒子の回転を高速カメラで撮影し、回転の軌跡をプロットした

*原稿受付 平成30年7月20日

**東北大学(仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-05)

図2 F_1 モーターの回転メカニズム a: β サブユニットに ATP が結合する。ただし、それぞれの化学状態は異なる b: 化学状態が変化すると、 γ 軸とリングの間の相互作用がスイッチする c: 離散的なポテンシャルの切り替えにより、ステップ状に回転する d: β サブユニットはヒンジ構造をしており、ATP や ADP をかみこむようにして折れ曲がる。

このように、1 分子実験では化学反応の 1 回 1 回を見ることができ、動作原理を調べるのに適している。

3. F_1 モーターの回転機構

しかし、タンパク質、つまりただの高分子が、いかに回転することができるのか？ その回転メカニズムはほぼ分かっている (図 2)。固定子には ATP が結合する部位 (β サブユニット) が 3 か所ある。これらの 3 か所で結合状態が異なり、一つは ATP が結合し、一つは ATP が分解した ADP と P_i (リン酸) が結合し、三つ目は何も結合していない空の状態である (図 2-a)。空の部位 (左) に ATP が結合すると、上の ATP が分解され、右の ADP と P_i が外れる。結果として、化学状態が 120° 回転したことになる。再び、空の部位に ATP が結合して、同じ反応により化学状態が 120° 回転する。これを繰り返すわけである。これが、運動にどうつながるのか。実は、ATP 結合部位のある β サブユニットはヒンジ構造をもち (図 2-d)、ATP が結合すると、それをかみこむように曲がる。つまり、化学状態によって構造が変化する。化学状態が全体として 120° 回転すると、それにともなって、軸とリングの力学的な相互作用が 120° 回転し (図 2-b)、これにより γ 軸が回転する (図 2-c)。

4. F_1 モーターの役割

このモーターは、人間、バクテリア、植物など、ほぼすべての生物がもっており、その体内のほぼすべての細胞の中で回転している。何のために回っているのだろうか？ 実は、生体内では F_1 モーターは単体で存在せず、 F_0 (エフオー) モーターという別のモーターと複合体を形成する

図3 F_0F_1 -ATP 合成酵素。生体内では、 F_1 モーターは単体で存在するのではなく、 F_0 モーターと複合体を形成している。ATP を分解するのではなく、ATP を合成するのが本来の役割である。

(図 3)。この F_0 モーターは、膜、人間の場合ではミトコンドリアの内膜という場所に埋め込まれている。われわれが食事をすると、消化して得たエネルギーを使って、膜の内外で水素イオンの濃度勾配を形成する。つまり、電池ができる。そして、水素イオンが F_0 モーターを通して膜の外から中へと流れる。すると、 F_0 モーターの c リングが一方向に回転する。このように、 F_0 モーターは電流で動く電気モーターである。

そして、この c リングは F_1 モーターの γ 軸と結合していて、 c リングが回転することで、 γ 軸が無理やり回される。しかし、この回転方向は、ATP を分解しながら F_1 モーターが単体で回る方向とは逆方向である。すると、 F_1 モーターは、ATP を分解するのではなく ATP を ADP と P_i から合成する。このように、 F_1 モーターは可逆なモーターである。ATP は、筋肉を動かしたり多様な生命活動を行ったりするのに必要な体内のエネルギー源である。 F_1 モーターは、この回転機構を使って、体内に必要な ATP のほぼすべてを合成している非常に重要な分子である。この分子および回転機構の発見に関し、1997 年にノーベル化学賞が与えられている。

5. F_1 モーターのエネルギー変換効率を測る

F_1 モーターに限らず、生体分子モーターは、化学エネルギーを使って力学運動を生み出すナノサイズの化学エンジンである。したがって、そのエネルギー変換効率を知ることは重要である。変換効率を知るためには、エネルギーの入力と出力の大きさを知る必要がある。 F_1 モーターの場合、1 ステップで一つの ATP を分解することが実験的に分かっている。したがって、その入力 $\Delta\mu$ (化学自由エネルギー変化) は、ATP の濃度などを与えれば計算できる。一方、出力はモーターが回転運動によりした仕事である。これは、外から負荷をかけることで計測できる。

6. 回転電場法

外から負荷をかけるために、われわれは、回転電場法という、高周波電場を用いたトルク発生法を使用している

図4 回転電場法を用い、回転しているF₁モーターに外部負荷をかける。a: 回転電場法では、四つの電極に高周波の交流電圧を印加する。ただし、電極間で90°ずつ位相をずらす。すると、電極中心に10 MHzで回転する回転電場が生じる。プローブ粒子は誘電体（プラスチック）であり、10 MHzで回転する分極が生じる。ただし、電場に比べて少し時間遅れがある。この、電場と分極の角度のずれのために、粒子には一定のトルクがかかる。b: 外部トルク存在下での回転軌跡。c: F₁モーターが出せる最大仕事。溶液条件（ATP濃度など）を変えることでΔμを制御した。

(図4-a)^{3,4)}。この方法は、プローブ粒子の動きにかかわらず、常に一定のトルクを与えられ、また、電場の大きさを変えることで、動的にトルクの大きさを自由に変えられる。これは、F₀F₁-ATP合成酵素のモデル実験系となっており、F₀モーターの代わりに外部トルクでモーターを回す。

7. F₁モーターは100%のエネルギー変換効率を実現する

ATPを分解しながら一方向に回転しているF₁モーターに対し、回転と逆方向に回転電場法でトルクをかけると、回転速度が遅くなり（図4-b）、トルクを強くしていくと回転が止まった。止まったといっても、ある角度で止まるわけではなく、前後のステップを繰り返して平均的に速度がゼロとなった。さらに強いトルクをかけると、逆方向、つまり、ATPを合成する方向にステップを踏みながら回転する様子が初めて観測された。

回転が止まった状態をストール状態と呼び、その時の外部トルクの大きさをストールトルクと呼ぶ。このストール

図5 熱の測定とエネルギー変換機構。a: 回転で散逸する熱が分かれば、粒子を回す仕事に分かる。b: 回転で散逸する熱Qの測定結果。入力とほぼ同じであることが分かる。c: 回転軌跡の解析により推定した回転機構。ポテンシャルの底で回転軸が回転ブラウン運動し、熱で励起されてポテンシャルの交点付近に来ると、化学状態が切り替わってポテンシャルが変化する。

トルク以上のトルクでF₁モーターは逆回転するので、ストールトルクは、F₁モーターが出せる最大トルクに対応する。そして、この最大トルクに120°をかけると、1分子のATP分解でF₁モーターが発生できる最大仕事となる。Δμを変えてF₁の最大仕事を測定したところ、これらがほぼ一致した（図4-c）。Δμというのは、この反応から取り出せる仕事の熱力学的な限界である。上の結果は、F₁モーターは、その熱力学的限界まで、すなわち、熱力学的効率100%で仕事を取り出せることを意味する。

8. 回転しているときの効率

以上の結果は、あくまでもストール状態、つまり1ステップ進むのに無限の時間がかかるような準静的過程である。では、一方向にくるくると高速で回っているときの効率はどうなっているのだろうか？

先ほどは、外部トルクに逆らってする仕事を測定したが、くるくると回っているときは、少し違ったアプローチで効率を議論する。プローブ粒子を回すと、その回転に使われた仕事のエネルギーは、すべて熱として溶媒に流れる（図5-a）。したがって、プローブ粒子の回転を通じた熱流Qの量を測定できれば、モーターが粒子を回した仕事に分かる。しかし、たった1分子から出てくる熱など測定できるのだろうか？ 実は、回転の「揺らぎ」と「応答」という量を測定すると、原田-佐々等式⁵⁾という統計力学の定理を使って、この熱流の大きさQを計測することができ

る (図 5-b). 驚くことに, やはり入力 $\Delta\mu$ とほぼ同じ量の熱が粒子から溶媒に流れることが分かった⁶⁾⁷⁾. つまり, くるくると回転しているときも, ATP 分解で得たエネルギーを無駄なく, ほぼ 100%, 回転運動に集中させることができている. これは加水分解しながら回転しているときであるが, 生体内で運動しているような逆回転での ATP 合成時も, ほぼ 100% の効率でエネルギー変換できていることが分かった⁷⁾.

9. 高効率のメカニズム

なぜ, こんなにも効率が良いのか? マクロなエンジンでは, 速く動かすと摩擦が大きくなり, ミクロな自由度を通して熱としてエネルギーが散逸して効率が落ちる. しかし, F_1 モーターはそれ自体がミクロであり, ミクロな自由度でエネルギーの流れを制御できている可能性がある.

そのメカニズムを理解するため, われわれは新規の解析方法を開発し, 回転の軌跡のみから, エネルギー変換機構を推定することに成功した (図 5-c)^{8)~10)}. 分かったことは, F_1 モーターは, 回転軸の熱揺らぎを「見て」, その角度に応じてうまく化学状態を切り替えるというフィードバック操作により, エネルギー変換効率を高めているようだ. これは, ナノサイズの機械だからこそできる制御であろう.

10. 人工ナノモーターを (そのうちに) 造る

このような高効率はモーターが自然界に存在し, われわれの体内でエネルギー変換を担っているという事実には, 驚嘆する. それと同時に, このように自律的に運動する (燃料を分解して一方向に運動する) ナノマシンを造れないかと考えるのは自然であろう.

モーターに必要な動作は, ①燃料を分解する触媒機構, ②燃料分解で得たエネルギーを運動に変化する機構, ③以

上の反応サイクルを繰り返すための再帰的機構の三つである. これらはどれも実現が難しいが, ①と③については, DNA で造ったナノマシンを用いて部分的には実現している¹¹⁾. しかし, ③の実現が自律性という意味では重要である. われわれは, これら三つの性質を兼ね備えたナノマシンの実現を目指し, 実験を行っている. 重要なのは, 化学状態の変化と力学運動を相互にどうカップリングさせるかである. 今後の発展に期待してほしい.

謝 辞

本研究は宗行英朗氏 (中央大学) との共同研究に基づきます.

参 考 文 献

- 1) Phillips and Quake: Phys. Today, **59** (2006) 38.
- 2) Noji, Yasuda, Yoshida and Kinosita: Nature, **386** (1997) 299.
- 3) Watanabe-Nakayama, Toyabe, Kudo, Sugiyama, Yoshida and Muneyuki: BBRC, **366** (2008) 951.
- 4) Toyabe, Watanabe-Nakayama, Okamoto, Kudo and Muneyuki: PNAS, **108** (2011) 17951.
- 5) Harada and Sasa: PRL, **95** (2005) 130602.
- 6) Toyabe, Okamoto, Watanabe-Nakayama, Taketani, Kudo, and Muneyuki: PRL, **104** (2010) 198103.
- 7) Toyabe and Muneyuki: New J. Phys., **17** (2015) 015008.
- 8) Toyabe, Ueno and Muneyuki: EPL, **97** (2012) 40004.
- 9) Kawaguchi, Sasa and Sagawa: Biophys J., **106** (2014) 2450.
- 10) Toyabe and Muneyuki: BIOPHYSICS, **9** (2013) 91-98.
- 11) Wickham et al.: Nat. Nanotech., **6** (2011) 166.

鳥谷 部 祥一

2007 年 3 月 東京大学大学院理学系研究科物理学専攻博士課程修了. 博士 (理学) (2007 年 3 月, 東京大学). 生物物理工学の研究に従事. 生命現象を物理の言葉で解き明かすとともに, 生命現象にヒントを得て物理学の拡張を目指している. また, 生命現象や生体分子を用いたモノづくりにも興味をもっている.