

「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」
平成14年度採択研究代表者

伊藤 博康

(浜松ホトニクス(株)筑波研究所 主任部員)

「タンパク質分子モーターを利用したナノメカノケミカルマシンの創製」

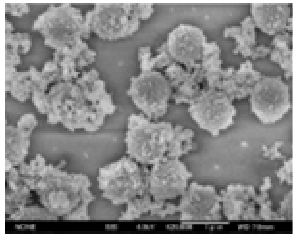
1. 研究実施の概要

“生体内では、化学的エネルギーを力学的エネルギーに直接変換する「仕掛け」がある。この「仕掛け」のうち特に高級なものは、状況に応じて、逆の反応（力学エネルギーを化学エネルギーに変換する）を行うという柔軟性も持っている信じられている。これらのエネルギー変換の仕掛けを作っているのが、タンパク質やRNAでできた分子機械である。タンパク質やRNA分子でできた分子機械に、力を加えて（力学的操作）化学合成を行わせる、あるいは力により化学反応を制御するというナノメカノケミカルマシンを創り出したい。これまで思いもよらなかった機能を実現することにより、ソフトナノマシンとしての分子機械のメカニズムの解明に資するだけでなく、バイオテクノロジーの新機軸の一つとなりうるのではないかと期待している。

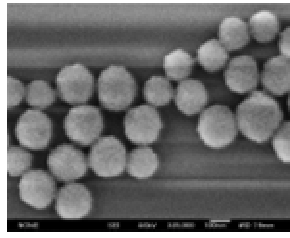
本研究では、まず、 F_1 -ATPaseに注目している。我々が知る世界で一番小さな回転分子モーターである。生体内では主にATP合成酵素として働くこの分子機械は、生体から取り出すと、ATPのエネルギーを使ってγと呼ばれるサブユニットを回転させる。回転の目印を捕まえて逆方向（時計方向）に回転させれば、この酵素はATPを合成するだろうか。研究実施の成果の一つとして、これを実際に証明して見せたことはすでに報告済みである。ATPは高エネルギー化学物質であり、貯蔵も可能である。最終的には、生体のエネルギー代謝システムを利用した人工機関のモデルを提案したいと考えている。現在は、 F_1 -ATPaseの回転や、強制的な逆回転によるATP合成のメカニズムの詳細を探るために、現在の操作・計測システムの改良を継続している。

2. 研究実施内容

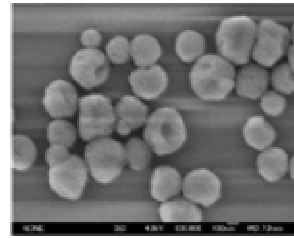
分子モーターの計測・制御には、光学顕微鏡を基本としたシステムを構築しているが、試料回りの安定性（チャンバーの厚さ方向の制御、ステージのドリフト、および、強制的な逆回転の取っ手、あるいは、回転の目印として用いている磁性ビーズの特性）が深刻な問題となっていた。今年度、計測・制御システムの改良をほぼ終了し、性能評価開始の準備ができた。磁性ビーズに関しては、光学顕微鏡、および、電子顕微鏡観測により形状観測を行った。合成確認の際に想像していたことがあるが、粒径、あるいは、表面形状が、



S社 (737 nm)



A社 (200 nm)



A社 (300 nm)

写真：市販の磁性ビーズの電子顕微鏡写真。実際の実験にはS社（左端）を用いているが、観測・操作実験洗浄などの操作を加えているので、写真よりも多少きれいな表面が現れていることを期待して

我々が期待する特性とはかなり差があった（写真）。また、ロット間の差も著しかった。このようなプローブを用いる場合、精度の高い計測・操作を実現するためには、早急に解決しなければならない問題であることを再確認し、次年度以降の課題とする。また、 F_1 -ATPaseの回転のメカニズムの解明に関して、極低濃度領域のATP領域まで、1つのメカニズムで回転している可能性があることを提案した。

3. 研究実施体制

一分子工学グループ

- ① 研究分担グループ長：伊藤 博康（浜松ホトニクス株式会社筑波研究所、主任部員）
- ② 研究項目：1分子操作・検出支援システムの開発

一分子生理グループ

- ① 研究分担グループ長：木下 一彦（自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター、教授）
- ② 研究項目：1分子操作に適した分子機械の改変と精製、
分子機械の機能向上のための環境整備

4. 主な研究成果の発表

(1) 論文発表

- Naoyoshi Sakaki, Rieko Shimo-Kon, Kengo Adachi, Hiroyasu Itoh, Shou Furuike, Eiro Muneyuki, Masasuke Yoshida, and Kazuhiko Kinoshita, Jr.
" One rotary mechanism for F_1 -ATPase over ATP concentrations from millimolar down to nanomolar "
Biophys. J., **88** (2005) 2045-2056.
- Kazuhiko Kinoshita, Jr., Kengo Adachi, and Hiroyasu Itoh
"Rotation of F_1 -ATPase: How an ATP-driven molecular machine may work"

Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., **33** (2004), 245-268.

- M. Yusuf Ali, Kazuaki Homma, Atsuko Hikikoshi Iwane, Kengo Adachi, Hiroyasu Itoh, Kazuhiko Kinosita Jr., Toshio Yanagida, and Mitsuo Ikebe
"Unconstrained steps of myosin VI appear longest among known molecular motors"
Biophys. J., **86** (2004) , 3804-3810.