

「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

柳田 敏雄

(大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

「ゆらぎと生体システムの柔らかさモデルとするソフトナノマシン」

1. 研究実施の概要

熱ゆらぎによって駆動する生体分子モーターの仕組みを、まず実験的に詳細に記述することを目指した。レバーアーム説に集約される構造変化による運動ではミオシンの運動は説明できないことが示され、さらに単頭ミオシンを使ってブラウン運動による運動の可能性を確かめた。またブラウン運動のランダムな運動はATPのエネルギーを使って方向性が与えられると考えられるがその分子機構に迫る計測システムを立ち上げることを目指した。具体的にはレール蛋白側のアクチンフィラメントの役割を検証するシステムの構築を目指している。また、熱揺らぎによるメカニズムを理論的アプローチと協調して進めてゆく。初年度にあたり、研究体制の整備と立ち上げを行った。主にはゆらぎと機能相関計測グループの立ち上げに主力を注ぎ、次年度以降に他のグループを順次立ち上げてゆく。

①熱揺らぎを駆動力にしたミオシンの運動の解析

(i) 単頭ミオシンを使った運動の解析

ミオシンVというモーターは2つのモーター部位を使って、ヒトが歩行するように長いレバーアームを使って大股に動いてゆくと考えられ、レバーアーム説を支持する証拠として受け入れられてきた。しかし遺伝子工学的にレバーアームの長さを短くした変異ミオシンVや、天然に短いレバーアームを持ったミオシンVIでも同じように動くことが示され、機械論的なメカニズムによるのではなく、熱揺らぎによる動作機構を考えなければいけないことが、強く示唆された。さらに単頭のミオシンVを使って運動がどのように起こるか調べた。単頭の分子では2本足歩行はできないので、レバーアーム説にとっては重要なテストになる。その結果、単頭のミオシンVでも双頭のミオシンVと同じように運動することが実験的に示され、熱ゆらぎの可能性を示唆するものである。

(ii) ミオシンVIのやわらかな運動

ミオシンVIは短いレバーアームにもかかわらず、大きなステップサイズを持つが、負荷依存性を持つなどその性質は環境に大いに依存している。これはミオシンが本来ゆらぎによる柔軟の機構で機能していることによる。そこでこの性質をさらに詳しく計測することで、そのメカニズムを探った。

(iii) ミオシンVのサブステップの検出

ミオシンIIではATP 1分子のエネルギーによりサブステップが存在することが、プローブ顕微鏡を使って示された。同じ技術を使ってミオシンVの大きなステップにサブステップが存在するか実験的に検証した。ミオシンVはミオシンIIとは異なり連続的に運動するので、サブステップとステップを区別するのが非常に難しい。明確に区別する条件を検討して、実験を行っている。

(iv) キネシンを使った熱揺らぎの役割の検証

キネシンは1個のATP分子の加水分解で1ステップ運動することが分かっている。しかしこの分子モーターでも、逆方向のステップが存在することを考えステップの方向性を解析してみると、ブラウン運動によりステップしていることが分かってきた。ATPのエネルギーはこのランダムな方向性を制御するために使われている。詳しい解析によるとそれはエントロピー的に方向性が決められていることが分かった。

②方向性制御のためのアクチンフィラメントの役割

(i) アクチンフィラメント上に沿った協同性のイメージング

アクチンフィラメント上でATP存在下で結合をイメージングした。その結果すでに滑り運動しているミオシン分子の前に別のミオシン分子が付きやすいことが示された。このことは運動しているミオシン前に何らかの場が作られ、結合が強くなっていることを示しており、ランダムなブラウン運動をするミオシン分子に方向性を与えるメカニズムとして重要な発見であると思える。

(ii) アクチンフィラメントの中の単分子の構造変化

アクチン分子内のエネルギー移動を観察することにより、そのダイナミックな構造変化を観察する。その結果、アクチン分子はATP存在下でミオシンの影響を受けて大きな構造変化をすることが示された。これは上述の場の存在とも考えあわせ。アクチンの積極的な役割を強く示唆するものである。

2. 研究実施体制

ゆらぎと機能相関計測グループ

- ① 研究分担グループ長：柳田 敏雄（大阪大学・教授）
- ② 研究項目； 1分子計測技術による分子モーターのダイナミクスの計測
生体システムでの柔らかい機構の計測

構造ダイナミクス解析グループ

- ① 研究分担グループ長：難波 啓一（大阪大学・教授）
- ② 研究項目：電子顕微鏡を使った分子モーターの動的構造解析

モーター分子の設計作成グループ

③ 研究分担グループ長：池辺 光男（マサチューセッツ大学教授）

研究項目：遺伝子工学を使ったモータータンパク質の設計作成

理論・モデリンググループ

④ 研究分担グループ長：菊池 誠（大阪大学・教授）

研究項目：ブラウン運動を基礎とした理論解析と分子モーターのモデリング

人工筋肉グループ

⑤ 研究分担グループ長：長田 義仁（北海道大学教授）

研究項目：人工筋肉の創製