

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： ゆらぎと生体システムの柔らかさをモデルとするソフトナノマシン
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

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)

主たる共同研究者

難波 啓一 (大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

菊池 誠 (大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

3. 研究内容及び成果

### 3 - 1. 研究課題全体の研究内容

これまで追試の出来なかった 5.5nm ステップを、ミオシンVを使ってプローブ顕微鏡で観察することが出来た。またステップ運動にブラウン運動が係わっていることは、ステップ運動の間にランダムな回転運動をすることも示された。さらに、ランダムなブラウン運動を1方向の運動にバイアスする機構を計測することが出来た。1分子レベルでのダイナミックな構造と機能の関係も明らかになり、生体分子が熱ゆらぎを利用して機能しているメカニズムが明らかになった。これまで開発してきた1分子計測技術をさらに展開し、1分子のゆらぎレベルまで精確に計測システムを確立した。

### 3 - 2. 各グループの研究成果

#### ゆらぎと機能相関計測グループ

1分子計測技術を使って分子モーターのゆらぎと機能の相関を計測することを目的とした。1分子イメージング、1分子ナノ操作技術、1分子力学計測技術などを開発し1分子レベルでミオシンやキネシンの運動特性の研究を行ってきた。その結果、ブラウン運動を駆動力にしたミオシンの運動が見られた。また筋肉のミオシン以外のミオシンについて1分子計測技術による化学・力学反応の同時計測を行った。筋肉ミオシン(ミオシンII)では、1回のATPサイクルのたびにミオシンはアクチンフィラメントから解離し、長距離運動することができないために正確な計測が難しかった。ミオシンVはアクチンフィラメントから解離することなく長距離滑り運動をし、また大きなステップ運動もすることもわかった。ミオシンVと筋肉のミオシンの結果と比較した結果、異なったミオシン間に共通のメカニズムが存在する可能性が示唆され、また走査プローブ顕微鏡によるミオシンの運動の記述が1回の実験のアーティファクトではないことが実証された。

アクチンの特定のアミノ酸(Cys-s74, Gln-41)をドナーとしてCy3、アクセプターとしてCy5で蛍光標識し、1分子FRET法を使って動的な構造を調べた結果、2つの状態の間を自発的に秒オーダーの時間で行き来していることが示された。同様の現象は細胞内スイッチ蛋白質であるRasでも観察された。

#### 理論・モデリンググループ

ミオシンモータードメインについて、構造変化とヌクレオチド解離の動力学計算を行なった結果、ヌクレオチドが結合している間はnear-rigor構造への緩和がおこらない、またリガンドが特定の部位を動きにくくすることによって構造変化を調整する働きをすることが統一的に理解できた。

ミオシンのコンバーター部に一定の外力をかけた状態で構造変化・ヌクレオチド解離シミュレーションを行ない、ヌクレオチド解離速度が外力の向きや大きさによって変化することを示した。

キネシンとチューブリンそれぞれについて、幅広い温度領域での熱平衡計算を行ない、構造ゆらぎ解析を行なった。その結果ヌクレオチドが結合しない状態で、キネシンの大きな構造ゆらぎはふたつあり、それぞれヌクレオチドおよびレールタンパクとの結合部位に局在することが分った。チューブリンでもリガンド結合部位・チューブリン重合時の結合部位・キネシン結合部位に大きな構造揺らぎが局在している。

#### 4. 事後評価結果

##### 4 - 1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

外部発表件数

論文発表		著作物		招待講演		口頭発表		ポスター発表		特許	
国内	国際	国内	国際	国内	海外	国内	海外	国内	国際	国内	国際
0	39	11	6	37	24	7	12	58	17	0	0

多数の論文発表は得られた成果に応じて妥当である。その他、多数の国際会議での招待講演は多く、研究代表者自身の開拓した分野を学会、社会に定着させた。

分子モーターがゆらぎの中で機能するしくみの解明に向けて、ミオシン、キネシン、アクチンのブラウン運動や、やわらかなダイナミクスの解析が進んでいる。その一方で、このプロジェクト以前に既に大きな成果がえられていたことから、当プロジェクトで「分子モーターのルースな動作原理 決定版」が完成することを期待していた面からいうとややものたりない面も感じられる。今回のプロジェクトで「熱ゆらぎを巧く利用する」生物分子モーターの人工機械としての特色が明確になった。分子モーター研究以外で、Ras分子などを含め他の領域への進展が行なわれたことは評価できる。

##### 4 - 2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

このチームが開発を続ける1分子計測、制御の技術は、1つの研究領域を作った。多くの酵素系の生化学反応を生物物理学の対象としてより深い理解を可能にした功績は非常に大きい。構造解析技術の進歩と相俟って、この計測・制御技術の対象が拡大しこれまでの酵素共役反応やイオン輸送系、物質輸送系、遺伝子複製・組み換え、などを含む1分子酵素学ともいべき領域を作りつつある。その中心命題が「ゆらぎ」である。運動蛋白質について言えば、今回のCRESTで1分子計測にもとづいた単位機械の特性を用いた集合体モデルのシミュレーションでルースカップリングの問題は一応決着をみた。その後、柳田氏の興味を中心はエネルギー変換系に限らないゆらぎを許容した人工素子の実用化に移っている。まだ具体的な成果は得ていないが、企業との共同研究・開発が動き出している。近い将来、柳田研発のルースカップリング素子が現実のものとなるであろう。

##### 4 - 3. その他の特記事項

ゆらぎを利用する概念は新しいプロジェクト、科学技術振興調整費 先端融合領域イノベーション創出拠点の形成「生体ゆらぎに学ぶ知的人工物と情報システム」に取り入れられている。