

生物分子機械に見られる柔軟なシステムのメカニズムの解明

大阪大学工学部応用理工学科機械工学科目機械システム工学コース
 (大阪大学大阪大学院工学研究科知能・機能創成工学専攻先導的融合工学講座)
 マイクロダイナミクスグループ

正 嶋 康 行

生物分子機械

生命活動において重要な機能を担うタンパク質分子を生物分子機械と呼ぶ。特に、受動的にあるいは能動的にイオンや分子を輸送するタンパク質やその集合体をチャンネルやポンプと呼ぶ。また、化学エネルギーを力学的エネルギー

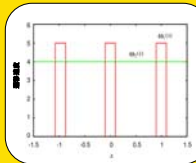
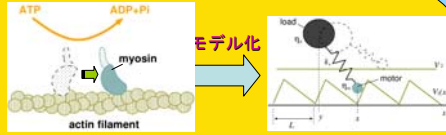
生物分子機械

に変換するタンパク質を分子モーターと呼ぶ。分子モーターに関する研究は長い間なされており、多くのデータが蓄積されている。また、理論的な研究も盛んに行われているが人工機械とは異なる、その動作メカニズムはいまだに解明されていない。

単分子モーターのモデル

ミオシンはATP加水分解反応エネルギーを利用してアクチンフィラメント上を運動する分子モーターである。これはレール上をモーターが移動している様子に例えられる。

モーターとレールの相互作用をポテンシャルとして表す。ATP加水分解時に起こるミオシンの構造変化によるレールとの相互作用の変化を2つの異なるポテンシャルによって表現し、それぞれのモーターの状態を状態1と状態2とする。モーターは2つの状態間を遷移している。ポテンシャル1は非対称な周期関数、ポテンシャル2は一定の値とする。モーターにはおもり(Baekbone)がばねによって結合しており、おもりとモーターはそれぞれランジュバン方程式に従って運動する。ただし、分子モーターの大きさはナノメートルオーダーで、粘性項が慣性項に比べ非常に大きいため慣性項は省略している。



遷移速度

モーターは2つの状態間を右図のようなプロファイルの遷移速度で遷移しているものとする。 ω_1 は状態1から状態2への遷移速度で、ポテンシャル1に対応して周期的に微小区間で一定の値を持ち、その他では0である。 ω_2 は状態2から状態1への遷移速度で場所によらず一定であるとす。

ランジュバン方程式

$$\dot{X}(t) = \frac{V_{0,x}(X(t)) - k_s(X(t) - Y(t)) + \zeta_m}{\eta_m} + \frac{\zeta_m}{\eta_m}$$

$$\dot{Y}(t) = \frac{k_s(X(t) - Y(t)) + \zeta_b(t)}{\eta_b}$$

解析モデル

確率密度関数の定義

時刻 t にモーターが x おもりが y に存在する確率を $P(x,y,t)$ とする。 P は次式で定義される確率密度関数。

$$P(x,y,t) = \langle \delta(x - X(t)) \delta(y - Y(t)) \rangle$$

モーターとおもりがばねで結合されたモデルのFokker-Planck方程式

ランジュバン方程式と確率密度関数の定義から各状態における P_1 、 P_2 の発展方程式 (Fokker-Planck方程式) が得られる。

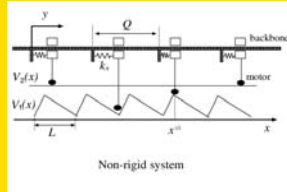
$$\frac{\partial P_1(x,y,t)}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left\{ \left[V_1(x) - k_s(x-y) \right] P_1(x,y,t) \right\} + \frac{\partial}{\partial y} \left\{ -k_s(x-y) P_1(x,y,t) \right\} + D_m \frac{\partial^2}{\partial x^2} P_1(x,y,t) + D_b \frac{\partial^2}{\partial y^2} P_1(x,y,t) - \omega_1(x) P_1(x,y,t) + \omega_2(x) P_2(x,y,t)$$

$$\frac{\partial P_2(x,y,t)}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left\{ \left[V_2(x) - k_s(x-y) \right] P_2(x,y,t) \right\} + \frac{\partial}{\partial y} \left\{ -k_s(x-y) P_2(x,y,t) \right\} + D_m \frac{\partial^2}{\partial x^2} P_2(x,y,t) + D_b \frac{\partial^2}{\partial y^2} P_2(x,y,t) + \omega_1(x) P_1(x,y,t) - \omega_2(x) P_2(x,y,t)$$

D_m 、 D_b はそれぞれモーターとおもりの拡散係数、 η_m 、 η_b はモーターとおもりの粘性摩擦係数、 k_s はばね定数、 ω_1 、 ω_2 は2つのポテンシャル間の遷移速度。

多分子モーターのモデル

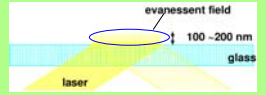
モーターは単独では確率的であまりさをもった動作をするが、多数のモーターの集合体は、例えば筋繊維の収縮運動のような、複数のモーターが協調して機能を発現していると考えられる。その場合は右図のような多数のモーターが共通のバックボーンにばねによって結合しているモデルを考えることができる。モーター同士は直接作用しあうことはないが、バックボーンを通して互いに影響を及ぼす。



生物分子機械の大きさは数十ナノメートルオーダーであり、通常の光学顕微鏡では観測することができない。1分子イメージング技術はタンパク質1分子の運動や力を計測することが可能にする。

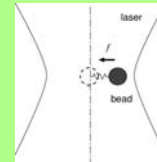
エバネッセント光

カバーガラス下面からレーザーを照射し全反射させると、カバーガラス上面近傍にわずかな光がしみ出る。この光をエバネッセント光と呼ぶ。



通常の照明法では光が強視野全体が明るくなり分子モーターの位置を観測することができないが、エバネッセント光を利用すると、蛍光ラベルした分子モーターを1分子単位で観測することができる。

1分子イメージング技術

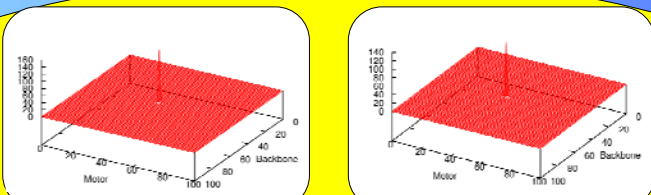
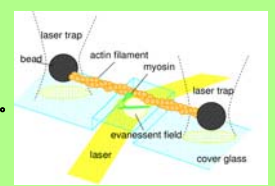


レーザートラップ

集光したレーザーによって水中の微小物体を非接触的にトラップする方法を光ピンセットと呼び、トラップした物体がトラップ位置から移動すると、変位に比例した復元力が働く。変位を測ることで0.1 pN の力を計測することができる。

化学反応と力学反応の同時測定

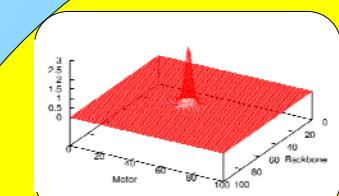
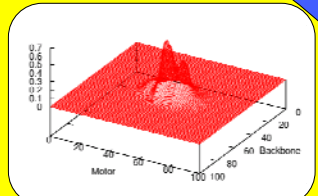
右図はアクチンフィラメントの両端にビーズを取り付け、レーザーとトラップにより捕捉している。そのアクチンフィラメントの中央をカバーガラスの上においたミオシンと作用させATPをくわえる。トラップしたビーズの変位の測定と、ミオシンとATPの結合解離を観測することで、ミオシンがアクチンフィラメントを引っ張る力とATP加水分解反応とが同時に計測できる。



シミュレーション結果

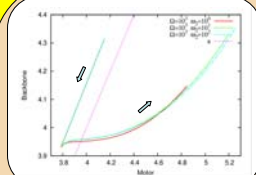
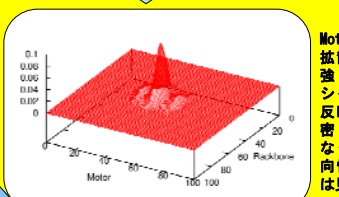
おもりとモーターがばねで結合された、単分子モーターのシミュレーション結果。

確率密度の分布はMotorの正の方向に少しだけ強く拡散している。これは非対称なポテンシャルの形状に関係していると考えられる。

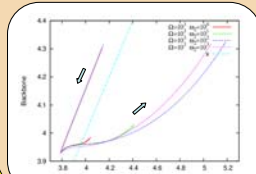


確率密度は拡散しているが、拡散に方向性はほとんど見られない。

Motor軸方向への拡散の度合いが強く、ポテンシャルの形状を反映して、確率密度が山形になっている。方向性のある移動は見られない。



遷移速度1を一定にして、遷移速度2を変化させたときの確率密度関数の重心の移動。遷移速度1が大きいほど重心が移動しやすい傾向にある。



遷移速度2を一定にして、遷移速度1を変化させたときの確率密度関数の重心の移動。遷移速度1が大きいほど重心が移動しやすい傾向にある。

確率密度の山の頂点がMotor軸およびBackbone軸の正の方向へ徐々に移動している。これは、モーターの移動に伴いばねが引っ張られ、モーターと同じ方向へ移動し始めていると考えられる。

