

Title	生体ナノモーターが一方向に動く仕組み : キネシンはエントロピーの力で一方向に動く
Author(s)	谷口, 雄一
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46740
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	谷口雄一
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第20415号
学位授与年月日	平成18年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科機能創成専攻
学位論文名	生体ナノモーターが一方向に動く仕組み—キネシンはエントロピーの力で一方向に動く—
論文審査委員	(主査) 教授 若林 克三 (副査) 教授 柳田 敏雄 教授 野村 泰伸

論文内容の要旨

生体ナノモーターの一つであるキネシンは、細胞内にある物質を細胞骨格である微小管に沿って一方向に運搬する能力を持つ。キネシン運動の基本単位は、前後いずれかに発生される 8 nm の大きさのステップ運動であり、決まった向きにこのステップ運動を優先的に発生させることで、一方向性の運搬機能を実現している。しかしながら、キネシンがどのようにしてステップ発生の向きを一方向に制御しているのかは、これまでの研究では明らかとなっていなかった。

本論文では、キネシンの前向きステップ運動(フォワードステップ)と後ろ向きステップ運動(バックワードステップ)が、様々な物理的条件下でどのようにその発現頻度を変えるかを解析することで、前後のステップを生み出す力学的・熱力学的背景を調べた。キネシン1分子が生み出すステップ運動を測るために、光ピンセットナノ計測法を用いた。キネシンにマイクロオーダーの大きな目印(ビーズ)をつけて、光ピンセットを用いて捕捉・操作することにより、キネシン1分子の運動をナノメートルの精度で検出した。観察された前後のステップの発生速度から、ステップ発生に必要な活性化エネルギー量(ΔG)を定量した。その結果、前後のステップの活性化エネルギーはそれぞれ 8.7 kBT、14.7 kBT と求まり、ステップ運動の発現頻度に前後差を与えているのは、6 kBT の自由エネルギー差であることがわかった。次に、様々な温度条件を変えて、同じように前後のステップ運動の観察を行った。これは、活性化自由エネルギー量($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$)の構成要素である活性化エンタルピー量(ΔH)と活性化エントロピー量(ΔS)を、それぞれ決定するためである。その結果、前後のステップの活性化エンタルピーは等しいのに対し、活性化エントロピーには 6 kBT の差があることがわかった。このことは、6 kBT のエントロピー差が、同量の自由エネルギーの前後差を生み出し、キネシンの運動に一方向性を与えていることを意味している。さらに今回の結果は、キネシン・微小管相互作用の前後非対称性により生まれる立体障害がキネシンのステップに一方向性を生み出していることを示唆している。

今回の結果は、熱力学的観点からの生体ナノモーター1分子の運動発生の記述を与えるものである。ランダムな熱揺らぎを利用して人工機械とは異なるメカニズムで働く生物分子機械の動作原理の解明に有力な手がかりを与えるものとして期待される。

論文審査の結果の要旨

本論文では、生体ナノモーターが生体内で行う一方向性運動の動作機構について、将来の人工ナノメートル素子への応用の可能性も含めた熱力学的かつ分子化学的知見が得られている。

まず、生体ナノモーターの一つであるキネシンの運動発生を1分子レベルでかつナノメートルの精度で捉えるために、光ピンセット生体1分子ナノ計測法を一部改変して適用することに成功した。これにより、キネシン1分子による、主として前、時として後ろに発生される8ナノメートルの大きさの単位ステップ運動を様々な物理条件（温度・負荷条件）下で観察することが可能となった。

検出された各物理条件における前後のステップ運動については、3つの性質（ステップサイズ・ステップの方向性・ステップの待ち時間）に注目して、統計的かつ定量的な特徴抽出が行われた。その結果、前後のステップ発生過程における内部化学状態の確率論的遷移過程が明らかとなった。ここでの知見は、ステップ発生の熱力学的機序を理解する上で、大きく寄与しうるものである。

キネシンの運動発生機構に関する熱力学的知見を得るために、代表的な熱化学反応理論である遷移状態理論を応用して、ステップ発生の熱力学的プロセスの具象化が行われた。先述の計測法を用いて解析上十分な標本数が得られたキネシンの運動に対して、遷移状態理論から派生した自由エネルギー地形モデルを基とした統計的な解析を行うことで、結果として前後のステップ発生過程に付随する各種の熱力学的変化量（活性化自由エネルギー量、活性化エンタルピー量、活性化エントロピー量、活性化距離）を得た。得られた結果は、キネシンがエントロピーを駆動力として一方向性の運動を引き起こしている重大な実験事実を明確に示すものである。決定された熱力学量は、ステップ反応における系の内部エネルギー変化や分子機序、力学的構造を反映したものであり、生体ナノモーターの動作原理に関する今後の研究に対しても非常に重要な手がかりを与えるものである。

今回得られた結果と先例研究の結果との関連性を考察する上で、決定された熱力学量に基づいたステップ発生の分子モデルが構築された。このモデル化は、これまでの構造学的研究では明確にされていなかった一方向性運動を生み出すための分子メカニズムの問題に1つの明快な解答を与えるものである。さらに、キネシン運動のエネルギー入力であるATP加水分解反応との対応に関しても、実験結果と併せた詳細な考察が行われている。

以上のように、本論文は、キネシンの1分子レベルの運動発生について熱力学・分子化学の面から詳細に解析を行っており、生体ナノモーターの動作メカニズムに関する統一的理解を与えうるものである。また、生体ナノモーターなどの生体分子機械は、周囲の熱ノイズを利用して機能するという、これまでの人工機械とは異なる特徴的な性質を持っており、生体機械の機能発生と熱ノイズとの関係を定式化した今回の結果は、将来の分子機械の設計においても有力な指針を与えるものとして期待できる。従って、本論文は博士（工学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。