

A03 揺らぐ非平衡構造によるフィードバック制御：べん毛モーターのトルク発生機構の解明

東北大学大学院工学研究科 鳥谷部祥一

本課題の目的.

バクテリアのべん毛モーターは、1秒間に300回転程度的高速回転によりバクテリアの30 $\mu\text{m}/\text{秒}$ という高速遊泳を実現する、高性能モーターである。べん毛モーターは、回転子とトルク発生を担う10個程度の固定子から成る。興味深いことに、回転中に固定子が結合・解離して動的に入れ替わることが発見された。「べん毛への負荷が大きくなると、固定子を増やしてトルクを増強する」フィードバック制御をしているらしい。しかし、そのメカニズムはほとんど分かっていない。本課題では、「高精度のトルク制御・測定」と「固定子の結合と解離の直接観察」を組み合わせることで重要な量を定量的に計測し、「揺らぐ非平衡構造によるトルク発生機構」の解明を目指す。

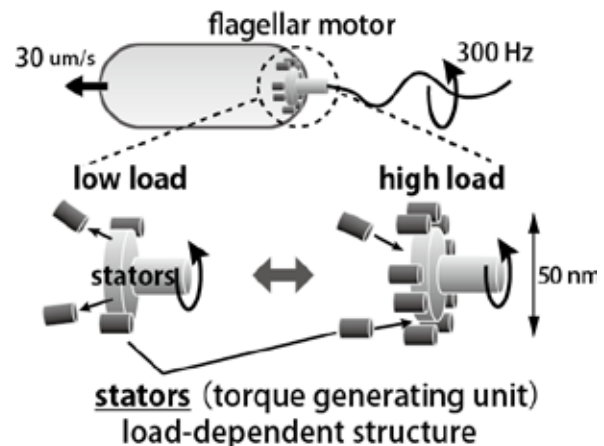


図1. べん毛モーターの固定子数は負荷依存的に変化する。その制御メカニズムの解明に挑戦する。

今年度の成果.

今年度、主に以下の4つの成果を得た。

1. べん毛モーターの高精度トルク制御の実現

回転電場法をべん毛モーターに応用することで、高精度のトルク制御・測定を行った。回転電場法は、微小な誘電体に外からトルクを印可できる実験手法である。これまでもべん毛モーターへの適用例があったが[1, 2]、外部トルクの校正が実現しておらず、限定的な使い方しかできなかった。

我々は、回転分子モーターであるF₁-ATPaseで実現していたトルク校正法[3]をさらに発展させ、べん毛モーターの高精度外部トルク制御に成功した。これまで、測定とトルク校正を独立に行っていたが、細胞の状態は時々刻々と変化するため、効率化が必要である。そこで、測定と同時にトルク校正を行えるようにシステムを改良した。これにより、より高精度のトルク制御・測定を実現した。

2. 1つのべん毛モーターのトルク特性の高精度測定

上記のトルク校正方法を用い、1つのモーターでトルク-スピードカーブを高精度に測定することに成功した。トルク-スピードカーブは、モーターの性能指標として重要である。従来のビーズアッセイ法では、多数のモーターについて平均をとることでトルク-スピードカーブ

を得ていたが、(i) モーターごとに異なる特性が平均化されてしまう。(ii) モーターが出せる最大トルク（ストールトルク）や無負荷時の最大回転速度（ゼロトルクスピード）など重要な指標が外挿で推定するしかない。等の問題があった。新しい実験系により、これらの問題を解決することができた。

3. べん毛モーターのトルク発生機構に関する知見を得た

べん毛モーターが H^+ や Na^+ のイオン流をトルクに変換することは分かっているが、トルクの発生機構はほとんど分かっていない。我々は、1 モーターのトルク・スピードカーブを測定することで、ストール付近でモーターの発生トルクが急激に高くなるなど、モーターのトルク発生機構に関する新しい知見が得られた。これまで、べん毛モーターはパワーストローク機構により回転するというモデルが有力だと考えられてきたが、我々の結果から、パワーストロークとラチェットの組み合わせで回転している可能性が示唆された。また、個々のモーターのトルクスピードカーブを測定することで、モーターや細胞の「個性」が測定可能なシステムを構築できた。

4. モーターへの固定子結合の可視化

蛍光たんぱく質を融合した固定子を用い、固定子のモーターへの結合数を蛍光強度から測定できる系を構築した。この実験系は、すでに他研究室で実現されているが [4]、当研究室では、回転電場法と組み合わせることで、トルク発生と固定子脱着の同時観察に挑戦する。

現在、上記 1-3 に関して論文にまとめている [5]。

来年度の研究計画

来年度は以下の研究を遂行する。

1. 解析法を改良するとともに実験条件を検討し、より高精度のトルク測定・制御を実現する。これにより、固定子脱着によるトルク変化を測定する。
2. 固定子脱着とトルク発生の同時観察を行い、固定子脱着の結合レートのトルク依存性を測定する。我々は、結合ではなく脱離のみがトルク依存性を持っているという仮説を立てているが、その検証を行うことで、べん毛モーターの固定子数制御の機構に迫る。

参考文献：

- (1) M. Washizu, *et al*, *IEEE Trans. Ind. Appl.* **29**, 286 (1993).
- (2) H. C. Berg and L. Turner, *Biophys. J.* **65**, 2201 (1993).
- (3) S. Toyabe, T. Watanabe-Nakayama, T. Okamoto, S. Kudo, and E. Muneyuki, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **108**, 17951 (2011).
- (4) M. C. Leake *et al.*, *Nature* **443**, 355 (2006).
- (5) K. Sato, S. Nakamura, S. Kudo, S. Toyabe, *in prep* (2017).