

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」の解明を目指した。

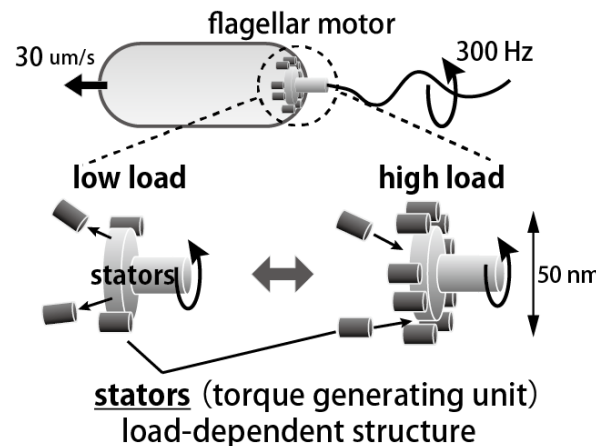


図1. べん毛モーターの固定子数は負荷依存的に変化する。その制御メカニズムの解明に挑戦する。

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、限定的な使い方ができなかった。我々は、回転分子モーターである F_1 -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(図2)。また、テザードセル法では、回転の揺らぎが小さいため、実験系のノイズの影響が大きくなり、測定に大きな問題が生じていた。そこで、Speck-Seifert の等式[5]を用い、実験系のノイズを著しく減らすことに成功し、揺らぎの高精度測定が可能となった。

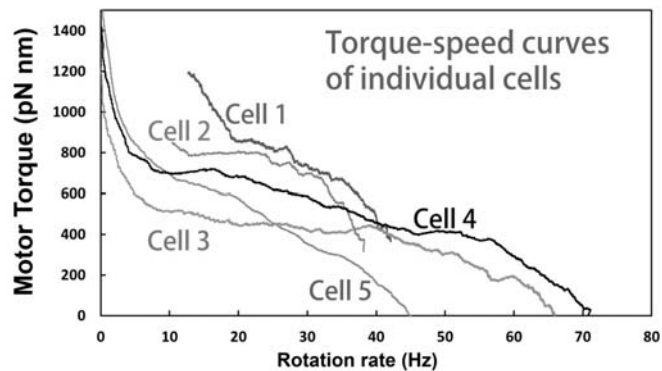


図2. 本実験で得られたトルクスピードカーブの例。これまでは多数のモーターの平均化したトルクスピードカーブしか得られていなかったが、本実験では、個々のモーターのトルク特性を測定することができ、これにより、細胞やモーターの「個性」を議論することができた [6]。

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、今後、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 [6]。

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) Speck and Seifert, *EPL* (2006)
- (6) K. Sato, S. Nakamura, S. Kudo, S. Toyabe, *in prep* (2018)