

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23年 3月 29日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 北海道大学・電子科学研究所

職・氏名 (ふりがな) 教授・小松崎 民樹

1. 事業名 相手国 (アメリカ合衆国) との共同研究 振興会対応機関 (NSF)
2. 研究課題名 生体系の複雑性と多様性の解明を目指した一分子計測技術の創生
3. 全採用期間

平成 21 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 (2 年 ヶ月)

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 5,000 千円

初年度経費 2,500 千円、 2年度経費 2,500 千円、 3年度経費 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 900 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 (ふりがな)	所属・職名	研究協力テーマ
李 振風 り しんびゅう	北海道大学 電子科学研究所・准教授	二値的時系列データからの反応ネットワーク再構成
寺本 央 てらもと ひろし	北海道大学 電子科学研究所・助教	時系列のシンボル化可能性の原理的理解
河合 信之輔 かわい しんのすけ	北海道大学 電子科学研究所 博士研究員	時系列データからランジュバン方程式復元
伊藤 正寛 いとう まさひろ	北海道大学 電子科学研究所 博士研究員	非平衡定常ネットワークのエネルギー地形
清 一人 せい かずと	神戸大学 大学院生(北海道大学特別研究学生:2010年3月迄)	機械受容チャネルの開閉キネティクスのべき性
高橋 聡 たかはし さとし	東北大学 多元物質科学研究所 教授	新規一分子長時間測定法の開発
鎌形 清人 かまかた きよと	東北大学 多元物質科学研究所 助教	キャピラリー内トラップによる長時間観察法の開発
小井川 浩之 おいかわ ひろゆき	東北大学 多元物質科学研究所 博士研究員	ライン共焦点顕微鏡によるマイクロ秒分解一分子追跡

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 プリンストン大学化学科 Associate Professor YANG, Haw

(3) 相手国参加者 (代表者の氏名の前に○印を付すこと)

氏名	所属・職名 (国名)	研究協力テーマ
○Haw Yang	プリンストン大学准教授(米国)	一分子実験の新しい測定系と解析手法の開拓
Yan-Wen Tan	プリンストン大学博士研究員(米国)	Adenylate Kinase の Mg^{2+} 分子認識
Jeff Hanson	プリンストン大学博士研究員(米国)	Adenylate Kinase の Mg^{2+} 分子認識
Daniel Montiel	プリンストン大学大学院生(米国)	量子ドットの一分子トラッキング
Irina Gopich	国立衛生研究所上級研究員(米国)	光子カウンティング統計理論の多準位モデル

6. 研究概要 (研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。)

研究目的: 分子機械は(人工機械に比べて)熱揺らぎに晒されながらも極めて小さな入力に対して頑健に動作することが知られているが、その動的機序は解明されていない。例えば、1分子レベルでは、(自由)エネルギー地形は、観測する時間スケール、リガンド結合に特徴的な時間スケール、それに応じて誘起されるタンパク質の構造変形が生じる時間スケールなど、色々な時間スケールに応じて変化する多様性に富んだ動的な概念であることが理論的に示唆されている(Gopich IV, Szabo A. *J. Phys. Chem. B* 107, 5058 (2003)、Baba A, Komatsuzaki T, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 19297 (2007))。しかしながら、従来の一分子計測実験では、生体分子の構造変形過程を長時間追跡することが困難であるため、これらの理論的考察の実証、さらには、“集団では見えてこない”1分子レベルでの新しい動的概念の発見は極めて少ないのが現状である。本研究課題は、日米の研究者が独立に蓄積してきた知見をもとに、熱的に揺らぐ環境下における分子機能を1分子レベルで長時間計測する新しい測定系の開発、観測される時系列データから背後に存在する(自由)エネルギー地形および反応ネットワークを読み解くための解析基盤技術の確立、および観測された時系列データに依拠した、1分子レベルの新しい概念の創出、を最終目的とする。

研究内容: 本研究課題では、Gopichら、Yangらが開発してきた、観測された量(例:蛍光共鳴エネルギー移動強度)から評価する系の物理量(色素間距離)に変換する解析理論、と小松崎らが開発してきた、「1分子由来」の物理量の時系列データから“多次元自由エネルギー地形”および“状態遷移ネットワーク”を再構成する解析理論、の2つの理論を融合させた新しい一分子時系列解析手法を構築する。また、高橋らが開発してきた、基板の影響を取り除いたキャピラリーフロー実験系をより長時間測定が可能となるように装置開発し、また、分子の拡散の影響を取り除くために、ドナーとアクセプターからの二つの蛍光を同時計測できるように拡張する。ついでGopichらが開発してきた分子拡散を考慮に入れた光子カウンティング統計理論を多準位系に拡張し、観測されるFRET強度から生体機能分子の分子認識メカニズムを解明する。

以上の一分子計測技術におけるもっとも重要な課題を、日米の研究者の知識や専門技術の相互移転を行い、将来を担う日米の若手研究者を含めた人的交流を通じた強力な協力体制を作ることで効率的かつ飛躍的な研究の発展を図る。

研究成果: 小松崎、Yangらは「1分子由来」の物理量の時系列データから構成された状態遷移ネットワークの遷移の幾何学的な特性を定量化する新しい指標を考案し、フラビン還元酵素の一分子データに対して、その有用性を実証した(*JPCB* 2009)。小松崎らはYangらの量子ドットのプリンキング現象のように、暗状態、明状態の二値的な時系列データから、背後に存在する状態遷移ネットワークを再構成する新しい解析理論を新規に構築した(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 投稿準備中)。高橋らは、キャピラリーフロー実験系に流れを制御するシステムを導入し、生体分子の構造変化を長時間追跡する装置を新規に開発した。観測された酵母由来のシトクロム *c* の時系列データに対して、小松崎らの一分子解析理論を適用し、背後に存在する局所平衡状態と非局所平衡状態をそれぞれ同定した。その結果、シトクロム *c* は変性状態と中間状態のあいだに他の中間状態が存在することを明らかにした(鎌形ら *Nature Communication* 投稿中)。更に、高橋らはドナーとアクセプターからの二色の蛍光強度を同時計測できる新しいキャピラリーフロー実験系を開発し、DNA、マルトース結合タンパク質の構造変化をマイクロ秒の時間分解能でガラス基板などの影響なしに測定することに成功した。現在、Gopichらによって、多準位系に拡張された光子カウンティング統計の近似理論(*JPCB* 2010)による解析を検討している。この他にも、時系列データから背後に存在する(一般化)ランジュバン方程式を復元する手法などを新規に開発した。さらに、我々の研究活動を広く学会や社会へ普及させるため、関連学会等でワークショップを開催し、John-Wiley & Sons, Inc. から *Single Molecule Biophysics: Experiments and Theories*(Advances in Chemical Physics) (2011)を共編出版した。