

ATP 加水分解によって惹き起こされるミオシン分子モーターの  
変形運動に関する分子動力学シミュレーション

Molecular dynamics simulations of the transformational vibration of  
myosin molecular motor due to the ATP hydrolysis

川久保 達之  
Tatsuyuki KAWAKUBO

桐蔭横浜大学 工学部  
Faculty of Engineering, Toin University of Yokohama

筋肉の収縮はそれを構成するミオシンフィラメントとアクチンフィラメント間の相対的滑り込み運動によるものであり、そのような方向性のある運動はミオシン分子の頭部内に入ったアデノシン三リン酸(ATP)の加水分解により誘発されることが知られているが、メカニズムは分かっていない。本プロジェクトでは、ATPの加水分解によって放出されるエネルギーがミオシン頭部の各原子の熱振動にどのような変調をもたらすかについて、100 ns の分子動力学シミュレーションを行った結果、特に300K の温度では、ATPの加水分解が各原子に対しある方向に偏った熱振動を励起する傾向のあることが明らかになった。

Muscle contraction is caused by directional movement of myosin heads along actin filaments. This movement is triggered by ATP hydrolysis within the myosin head, but its mechanism remains unknown. We carried out 100 ns all-atom molecular dynamics simulations at three temperatures to investigate the effect of ATP hydrolysis upon thermal vibrations of atoms in the myosin head. The results revealed that the thermal fluctuations are biased in one direction relevant to directed movement of the myosin head.

*Keywords:* Muscle contraction, Myosin, Actin, ATP hydrolysis, Biased thermal vibrations

## 1. 背景と目的

人類は、ワットが発明した蒸気機関以来現代の内燃機関にいたるまで、化石燃料がもつ化学的エネルギーを一旦高温の熱エネルギーに変え、それをさらに機械的ないしは電気的エネルギーに変換する方式によってエネルギー文明を構築してきた。今問題になっている原子力発電もエネルギーの元は原子核の結合エネルギーであるが、電気的エネルギーに変えるのに、熱エネルギーを経由するという点では同じである。熱エネルギーから力学的エネルギーへの変換効率にはカルノー効率を越えられないという制約がある。それに引き換え、生体系は化学的エネルギーを高温の熱エネルギーを経由することなくかなり高い変換効率で力学的エネルギーに変えているが、

そのメカニズムはまだ分かっていない。

生体運動の典型的な例である筋肉は図1に示すような階層構造をもっているが、その収縮は、生体系に共通なエネルギー供給物質であるアデノシン三リン酸(ATP)の加水分解によって駆動される筋肉中のミオシンフィラメントとアクチンフィラメント間の相対的な滑り込み運動によるものであることが1957年 Huxley によって明らかにされた。アクチンフィラメントは2本の数珠玉状分子の鎖を振り合わせたような構造をしており、一方のミオシンフィラメントは頭部と尻尾からなる沢山の分子を尻尾の部分で束ねたような構造をしていて、両者の滑りこみ運動はミオシンの頭部がその中に取り込んだATPの加水分解のエネルギーによって変形し、少し先にあるアクチン分子と

結合してはそれを引き寄せるといったモデルが考えられていた。しかし滑り運動を続けるには結合と解離を繰り返さなければならず、そのような物理的モデルを考えるのは難しいことであった。

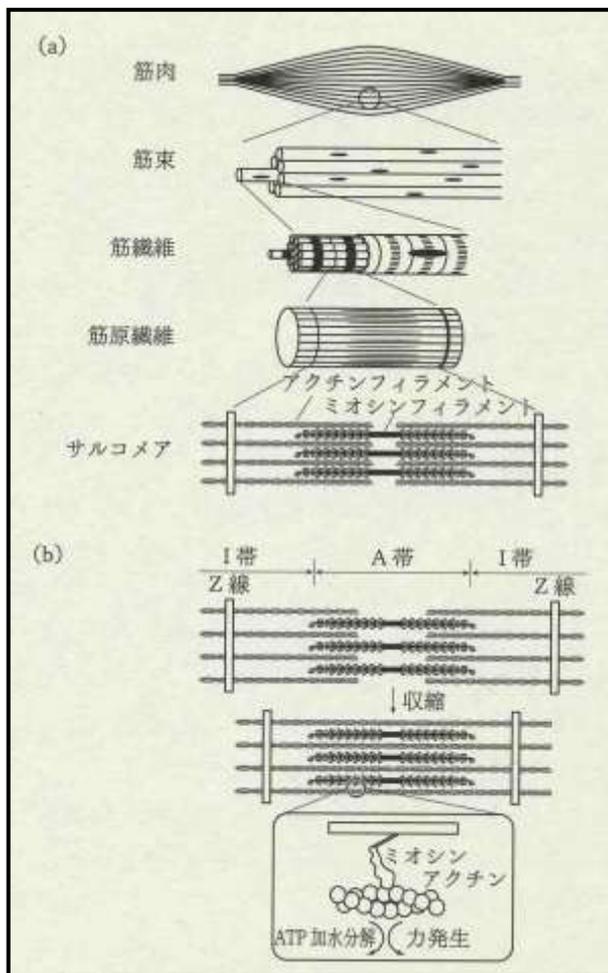


図1 (a) 筋肉の階層構造 (b) ATP の加水分解によるミオシンとアクチンの相対運動の結果起こる筋収縮  
柳田敏雄著「生物分子モーター」より

1990年代の後半になり、阪大の柳田敏雄博士のグループが蛍光色素で標識した1個のミオシン分子がアクチンフィラメントに沿って運動する様子を蛍光顕微鏡で直接観察することに成功した。それによって、ミオシン分子は1回のATP加水分解によって一定の距離進むのではなく、常に小刻みにランダム運動をしながら、ときおり確率的に前方にステップ状に進み、ときには後戻りすることもあることなどが明らかになった。

ミオシン頭部の大きさは16nm 程度の小さなもの

であるから常に熱ゆらぎに支配されており、小刻みなランダム運動が観察されたのは当然であるが、確率的にせよ運動がなぜ一方向にドリフトするのかそのメカニズムは分かっていない。それには、まず分子を構成する各原子の熱振動の詳細を調べることが必要であるが、各原子の位置を熱振動レベルの時間分解能で実験的に観察することは不可能である。そこでわれわれは数年前から、分子動力学シミュレーション専用のPCを使って1回のATP加水分解が放出するエネルギーがミオシン頭部の各原子の熱振動にどのような変調をもたらすかについての計算機シミュレーションを行ってきた。その結果、ATP加水分解による摂動が各原子の熱振動にある方向に偏った非対称性をもたらすことが分かったが、全体の run time が10ns と短く、X線解析から予想される構造変化とつぎ合わせるには不十分であった。

本プロジェクトでは、run time を100ns まで伸ばし、計算の対象をミオシンの頭部だけでなく軽鎖を含む尾部の一部まで広げ、さらに環境温度を250K、300K、350Kに選んだ場合の違い、非線形系のランダム運動で考慮する必要がある初期値の違いによる効果などの検討も行った。その結果、各原子の熱振動の偏りとその結果得られる分子全体の平均構造の変化が、特に300K の場合、X線解析から得られる構造変化と類似していることが分かった。アクチンフィラメントとの相互作用による互いの滑りこみ運動の発現は今後の問題であるが、ミオシン分子が常にランダムに振動しているものの、ATPの加水分解はその振動の対称性を破り、一方向へドリフトさせる要因となり得ると云える。

## 2. 概要

具体的には、図2に示すようなホタテガイのミオシン分子S1(モーター部位、軽鎖および軽鎖結合部位の全原子を含む)の構造解析データ(PDB; 1kk7)を用いた。計算を実施するx、y、zの座標は図に点線で示した直交座標であり、x座標は軽鎖を含む尾部に沿ってとり、y軸はミオシンが筋原繊維内にあるときのアクチンフィラメントの軸に平行にとった。

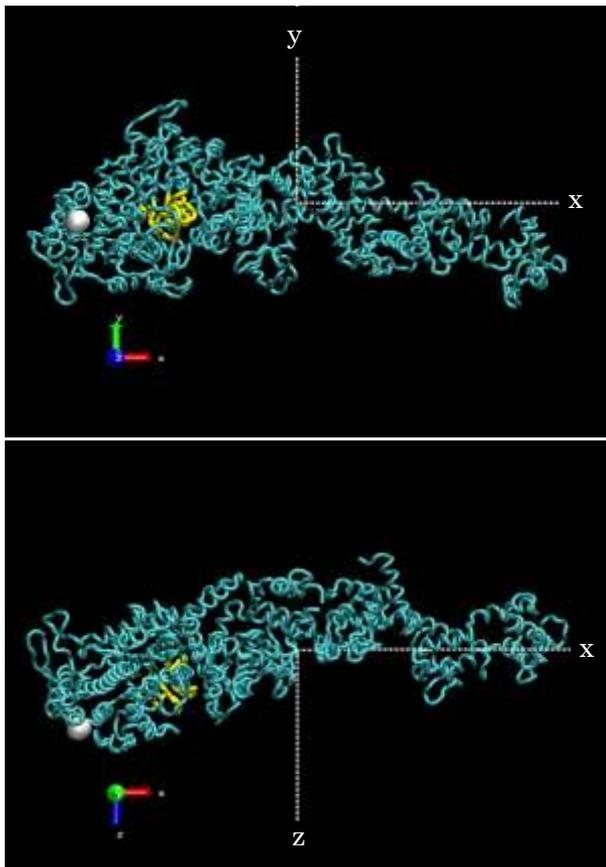


図2 ホタテガイのミオシン分子S1の構造黄色の部分  
はATPの加水分解によって放出されたエネルギーを分配して運動エネルギーを増加させた部位。先端にある白球は Lys 382 の位置。

ミオシン分子全体を多数の水分子からなる直方体の箱に浸けて、総数約18万個の原子の集団とし、先ず、50 ns かけて300 K の温度で熱平衡化する。計算は周期的境界条件法により、ソフトはAMBER 11 の GPU 版 pmemd モジュールを用い、時間刻みは 2 fs とした。熱平衡化した後、次の二つの条件でシミュレーションを行った。

I) 何も摂動を加えず温度も300Kに保ったまま、さらに100 ns の間、各原子の軌道計算を続ける。

II) ATP分子1個が加水分解によって放出するエネルギー  $8.60 \times 10^{-20}$  J をATPがミオシンに結合する際の  $\gamma$ リン酸の位置から半径10 Å 以内にある80個の主鎖原子(図2において黄色で示した部分)に運動エネルギーとして分配する。分配の仕方は熱平衡の状態でのある時点を選び、その時点で各原子が持っている速度に比例する大きさの付加速度をそれぞれの原子に与

える方法をとった。このようにして摂動を与えた時点からさらに100 ns の間各原子の軌道計算を行う。

I)と II)によって得られた各原子の軌道の違いがATP加水分解の効果である。この効果が実際のアクチン系ではどんな運動をしていることになるかを知るには軽鎖結合部位に属する原子を固定し、他の原子の運動はそれに対する相対運動の形に変換すればよい。こうして得られた結果から、ATP加水分解によってミオシン頭部が全体としてどんな動きをするか、またアクチンとの接触の可能性がある部分で、どこがどのように変形するかを明らかにすることができる。

分子動力学シミュレーションと呼ばれるこの計算では温度が重要な役割をもっているので、常温の300 K だけでなく、250K と350K の場合についてもシミュレーションを行いその違いを調べた。また、原子の熱運動という確率現象では時々刻々の原子の位置ではなく、長時間にわたるその分布に意味があり、しかも同じ温度で同じ摂動を与えるならば、その分布の変化が摂動を与える寸前の初期条件によらずに常に同じ傾向をもたなければ生体としての機能をもつことにならない。そこで、まず250K, 300K, 350K の各温度に対して50 ns かけて熱平衡化した後、そのまま100 ns の間軌道計算をする上記 I) のシミュレーションを行い、“ATPなし”のシミュレーションとする一方、ATPの効果を見る II) の方は I) に遅れること1 ns, 2 ns, 3 ns と各原子が違う位置と速度を持つ3つの時点でATPの摂動効果を入れ、それぞれ100 ns の間計算するシミュレーションを“ATPあり(1)”、“ATPあり(2)”、“ATPあり(3)”と名付けた。

実際の筋原繊維ではミオシンフィラメントの幹の部分は動かずに頭部が揺れ動くことによってアクチンと相互作用することが分かっているので、フィラメントに近い軽鎖結合部位の原子位置を固定し、他の原子の運動はそれに対する相対運動の形に変換した。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 ミオシン頭部の先端にある Lys 382 中の $\alpha$ 炭素の運動

MD シミュレーションの対象としたホタテガイのミオシン分子の構造 (PDB:1kk7) は主鎖に 1135 個の  $\alpha$  炭素を含むが、そのうち頭部の先端にあって実際の筋原繊維内ではアクチンフィラメントに近い部位にある Lys 382 (図2における白球) の 1 ns 毎の位置の  $y-z$  平面への投影図を図3に示す。温度が 250K, 300K, 350K の場合について、それぞれ、“ATPの加水分解による摂動がない場合”と摂動を加えるが、その時刻を変えて各原子の位置と速度が違う3つ場合から出発させる “ATPあり(1)”、“ATPあり(2)”、“ATPあり(3)”の4枚の図を載せてある。

図3の  $y$  軸、 $z$  軸は図2において点線で表わした軸であり、従って図3は図2の  $+x$  の方向から見た Lys 382 の動きを表している。点の色やマークの違いは 100 ns の間の動きを 20 ns 毎に区別できるようにしたものである。なお、図2での Lys 382 の位置は  $y$  成分が僅かにマイナス、 $z$  成分がプラスであるのに対し、図3の ATPなしの初期状態ではいずれの温度でも  $y$  がプラス、 $z$  がマイナスになっているのは、50 ns の熱平衡化の間に分子全体が変形したからである。

ところで、250K と 300K における点の散らばり方を見ると、いずれも原点付近を中心とする円弧状に散らばっており、ATPの摂動があると特に 300K の場合、円弧が  $-z$  方向に伸びているのが分かる。これは頭部全体が本来振れ運動に対して不安定であって、ATPによる摂動はその運動を助長し右回り方向(図の  $-z$  方向)に偏らせる傾向があることを示唆している。これに対し温度が 350K になると、運動の範囲に秩序だった傾向が見られず、異なる初期値から出発した(1)、(2)、(3)の3つの分布も共通性がなくカオスの様相を呈している。

#### 3.2 ATP加水分解による分子全体の構造ゆらぎのモード変化

3次元的に配列する原子集団が揺らいでいる状況を2次元の図面で表現するのは難しいので、ミオシン分子の主鎖を一続きの緑色の紐で表わし、その紐が 10

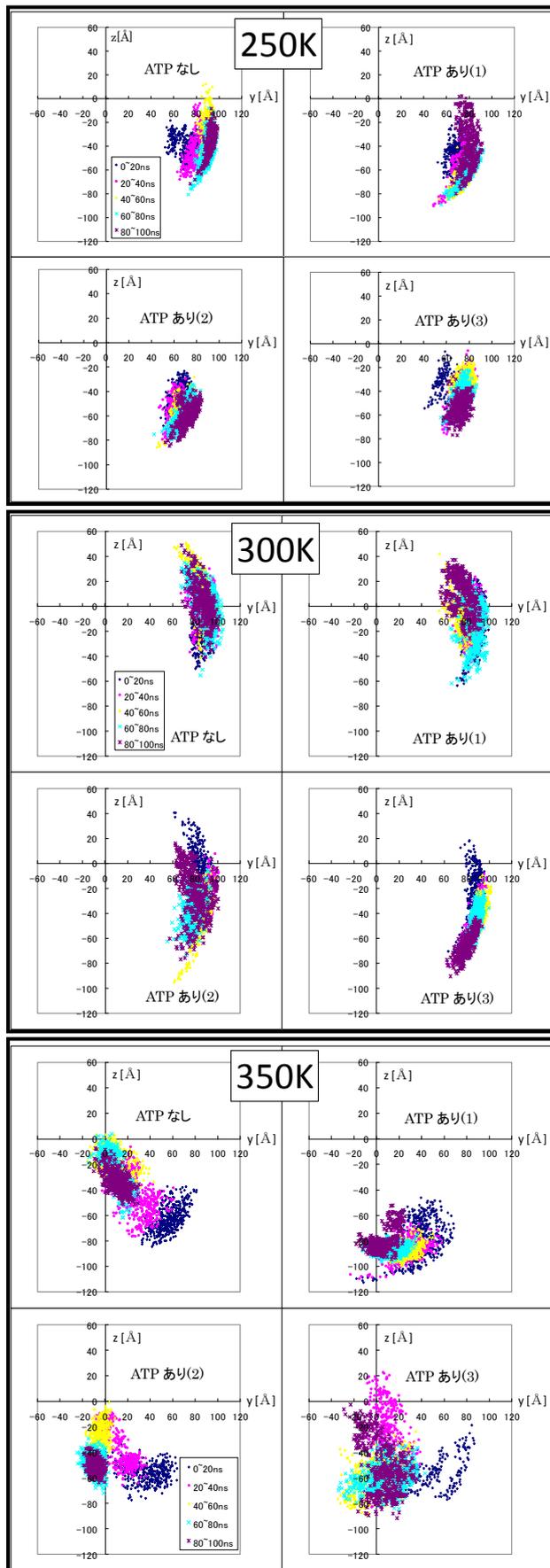


図3 Lys 382 の 1 ns 毎の位置の  $y-z$  平面への投影図 ns 毎にどう変形するかを描くことによって構造ゆらぎを表したのが図4である。温度は 250K, 300K, 350K

の3つの場合であり、それぞれについて三方向から見た“ATPなし”と“ATPあり”の構造ゆらぎの図を比較して横に並べた。図中にある黒い線は、“ATPなし”の平均構造を表す線で、同じ線に対応する右側の“ATPあり”の図中にも記入して、ATP加水分解によって本来の平均構造からどれだけずれるかが分かるようにした。

この図によると、250K ではATPによる摂動を与えたときでも構造のゆらぎはATPなしの場合の平均構造からそれほどはみ出さないが、300K では、ATPありの場合、頭部が尾部との接合部を蝶番いにして $-z$ 方向へ回転する形で大きくはみ出している。これは図3において300K では Lys 382 の $\alpha$ 炭素の運動が円弧上を右回りの方へ伸びていることに対応する。さらに高温の350K では構造ゆらぎはさらに広がり、しかもその広がる方向は図には示していないが、図3で述べた初期値が違う(1)、(2)の場合は違った方向になり秩序性が無い。

以上を要約すると次のようになる。ミオシンS1の構造解析データ(PDB:1kk7)を用いて、ミオシンを構成する原子の熱運動がATPの加水分解によってどのように変調されるか、250K, 300K, 350K の3つの温度で100 ns のMDシミュレーションを行った。その結果、軽鎖を含む尾部を固定したとき、頭部は尾部との接合部を蝶番いとするような振じれ運動を起こすことが分った。その運動の方向はミオシンが筋原繊維の中におさまっている際には、アクチンフィラメントの軸に垂直な方向である。この変形運動は温度が300Kの時に顕著に現れ、250Kではその兆候はあるものの弱く、350Kでは逆に運動が激しくカオス的であり、秩序立ったモードは認められない。

### 3.3 考察

上にのべたようなミオシン分子のATPの摂動による変形運動は、急速凍結電子顕微鏡法やX線溶液散乱による構造解析の実験でも示唆されている構造変化に対応しており、筋肉収縮の分子論レベルでの初段階のメカニズムとして極めて興味深い結果であると思われる。ミオシン分子がアクチンフィラメントと相互作用して互いに滑り込む運動をするのに、ミオシン頭部に励起された運動がアクチンフィラメントの軸と垂直な向きであるのは都合が悪そうであるが、

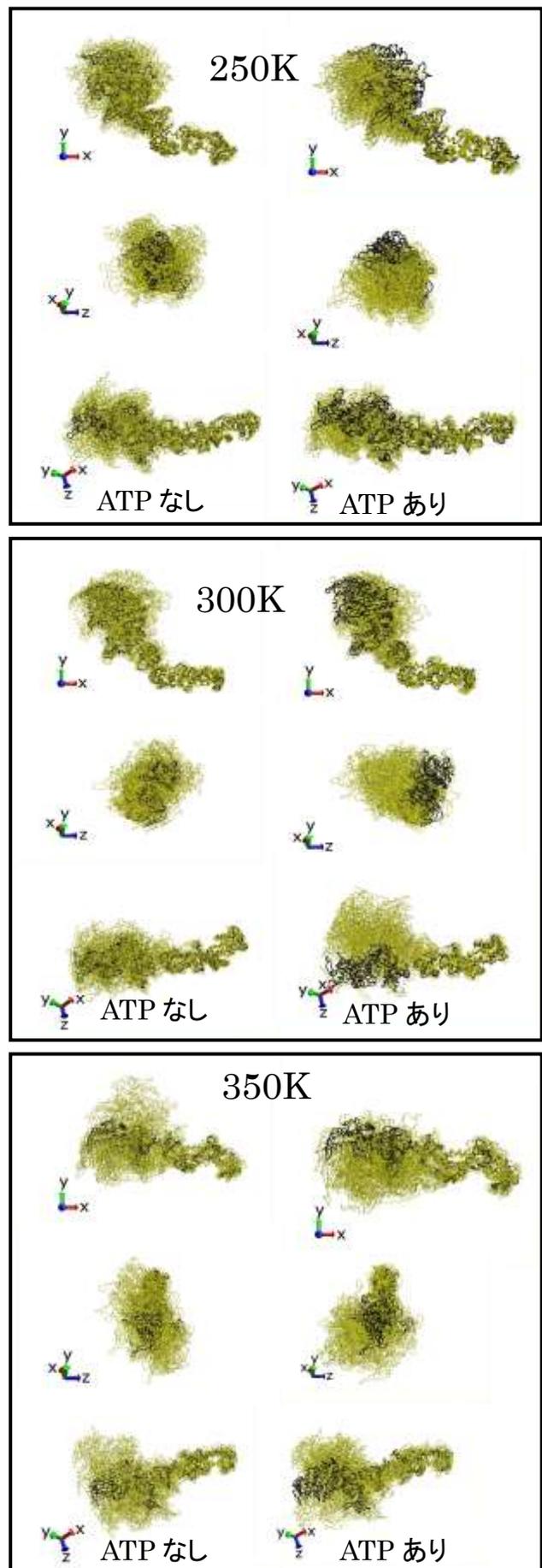


図4 ミオシン分子の構造の揺らぎ

アクチンフィラメントは図1に示すように球状アクチンがつながった二本の鎖の二重らせん構造をしていて、滑り込み運動はらせんを回転させるようなトルクが働くことによって実現しているとする蛍光顕微鏡観察の知見がある。

#### 4. 今後の課題

ここで得られた結果は膨大な計算データに基づくものであるが、それでもまだ 1 個のミオシン分子の僅か100ナノ秒間の挙動に過ぎない。実際の現象はアクチンとの相互作用を考えなければならないし、蛍光顕微鏡で観測される事象と照らし合わせるには数百ミリ秒の時間スケールを必要とする。しかし実験的にアクセスできない時間・空間内でのメカニズムの解明だからこそ、大型計算機によるシミュレーションが今後ますます重要になると考えられる。

生体系でのエネルギー変換の問題は物理的にはまだほとんど解明されていない問題を含んでいる。例えば今回のシミュレーションは、タンパク質が機能を発揮するには、約 300K という地球環境の温度とそれに準じた生体の体温が重要な役割を果たしていることを示唆しているが、それは非線形な複雑系特有の現象であろう。ATPの加水分解がもたらす摂動がミオシンを構成する複雑な構造の原子集団の熱振動をうまく変調して機能させるものと考えられる。熱力学的温度である、各原子の平均運動エネルギーが小さ過ぎれば機能発現まで至らないし、大き過ぎてもカオス的になって機能しないようである。そしてエネルギーの大小だけの問題でなく、分子内のどの部位にトリガーを与えるかも重要なことであろう。その意味で、ATPの加水分解が与えるシグナルは“情報”というほど高度なものではないにしても、“意味のあるトリガー (Semantic trigger) とでもいうべきシグナルではないかと思う。

スーパーコンピュータによるシミュレーションは、実際には起こり得ない virtual な条件でも自在に計算を実行できるから、今後、生体系における機能発現のメカニズムを対象とする全く新たな学問領域を切り拓くのに重要な手段であると考えられる。