

「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」

平成16年度採択研究代表者

高田 彰二

(神戸大学理学部 助教授)

「バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング」

## 1. 研究実施の概要

最適な動作をするソフトナノマシンの創製のためには、手本として、バイオナノマシンの作動原理を総合的に理解することが重要であり、そこには新しい理論モデルが不可欠である。本研究は、分子モーターなどのバイオナノマシンの多様な機能発現の機構を、動的な構造情報に立脚して、理論的に解明することを目的とする。そのためにまず、1) 配列情報と各分子の構造情報からバイオナノマシンの動的構造モデリングを行う。次に、バイオナノマシンの階層性に着目して、原子レベルと粗視化レベルの両方から機能発現機構に迫る：すなわち2) 粗視化レベルの大域的なエネルギーランドスケープ論による機能発現の統計力学的モデリング、及び3) 原子レベルの機能発現分子動力学シミュレーションを行う。主対象を、 $F_0F_1$ -ATPase、アクトミオシン、べん毛などとする。理論・モデル・シミュレーションによって個々の系の実験を説明するとともに、そのモデルから検証可能な予測を行い、新しい実験、ソフトナノマシン創製に貢献する。

## 2. 研究実施内容

### 動的構造機能グループ

1) 以前から準備的に研究を進めてきた、フォールディング研究で開発された粗視化モデルを用いた $F_1$ -ATPaseの回転シミュレーションをさらに進め、木下らの実験結果との比較を行うとともに、トルク伝達に重要と考えられる部位の特定を行った。これらの結果をまとめて、最初の論文を仕上げた（論文は投稿中）。2) 上記シミュレーションは回転運動を生じるが、大きな問題点は、その効率が著しく悪いことである。その最大の原因は今のモデルの作り方にあることが分っており、その解決のためにもっとも本質的と思われるmultiple Go modelを考案し、小さな蛋白質系でテスト計算を行った。新しい理論モデルはほぼ期待通りに動いており、17年度には、 $F_1$ -ATPaseへの応用が可能である。3)  $F_0$ の回転シミュレーションを実現するためには、a-subunitとc-subunitの複合体 $ac_{10}$ の構造モデルが必須である。実験で調べられているのはc-subunitモノマーのみである。16年度はまず、 $F_0$ のa-subunitの構造モデル構築を試みた。多数の技術的困難に出会い、現在まだモデル構築の途中である。

### 統計力学グループ

3年半にわたる研究プロジェクトの最初の半年として、粗視化動力学モデルの構築を行い、今後の解析のための基礎を固めた。アクチオシンの運動に関する実験データの解釈をめぐって従来からレバーアームモデルとブラウン運動モデルの間に論争があるが、粗視化動力学モデルによるシミュレーションの結果は、両方の運動様式が共存している可能性を示唆した。さらに信頼おけるデータの獲得をめぐってモデルの改良の必要が認められた。また、フォールディング過程の理論的モデルをミオシンに相同性のあるRas分子の機能発現に適用した。GTP結合型からGDP結合型へ変化する過程で、Rasのヌクレオチドに接する部分が固定されるのに伴い、それを補償するかたちでヌクレオチドに接していない $\beta$ シートの構造ゆらぎが増大することを示し、機能発現に大規模な構造変化が現れる様子を理論的に記述した。こうして、シグナル伝達と分子モーターの機構に共通する蛋白質の機能発現の論理をエネルギーランドスケープ理論によって分析する準備が整いつつある。また、Protein Aを対象としたフォールディング過程についての理論と実験の詳細な比較を行い、フォールディング過程が高次元で生じることに着目すれば、これまで説明することができなかった実験結果をエネルギーランドスケープ理論に基づく簡単なモデルで説明できることを示した。現在、これらの内容を発表するための論文を準備している。

### 分子動力学シミュレーショングループ

分子動力学シミュレーショングループは、大規模シミュレーション法を用いて細菌べん毛フックの機能メカニズム研究を開始した。フックは、推進力を生み出すスクリューにあたるべん毛繊維と基部にある回転モーターの間にある部位で、様々な方向を向き得るべん毛繊維に回転力を伝達するユニバーサルジョイントとして機能する。また、フックは1種類の蛋白質（サブユニット）約120分子が会合した生体超分子であり、分子間の相互作用を保ちながら最大20Åも分子間距離を変えることができる。本年度は、まず素繊維方向の分子間距離の変化に注目し、フックが分子間相互作用を保ちながら大きな分子間距離の変化を許容する過程を、水分子をあらわに含めた大規模なシミュレーションを行い、そのメカニズムを研究した。具体的には大規模な分子動力学計算を用いて分子間距離の伸長・圧縮をおこない、分子間相互作用の変化を観察することで、フックがドメイン間の角度を変えながら分子間の相互作用面をずらしていくことで大きな分子間距離の変化を許容していることを明らかにした。

### ゆらぎと構造変化グループ

熱揺らぎと構造変化の関係の理論を、統計力学の線形応答理論をベースに構築し、種々のタンパク質に応用した。この方法では、低分子との結合を外界からの摂動ととらえ、その摂動に対するタンパク質の応答として、タンパク質の構造変化を捉えている。タンパク質の応答のあり方は、タンパク質の非結合状態の熱揺らぎと深く関わっており、分

分子動力学シミュレーションや基準振動解析を用いて導出される。この方法を鉄結合タンパク質、クエン酸合成酵素に適用して、その有効性を検証したところ、分子結合に対するタンパク質の構造変化の予測値が、結合状態と非結合状態の結晶構造の差とよい相関が得られた。また、低分子結合のモデルを変化させて、タンパク質の応答の変化をみたところ、構造変化の予測値は結合のモデルの違いには鋭敏に反応しないことがわかった。このことは、タンパク質の動ける方向に異方性が高く、構造変化可能な方向が限られており、限られた方向に応答して構造変化していることを示している。さらに、本研究の主たるターゲットであるF<sub>1</sub>-ATPaseに対して適用したところ、ATP結合に対して予測されたタンパク質の応答が、モータ回転の初期段階と相応することがわかった。つまり、βサブユニットの熱揺らぎとγサブユニットの熱揺らぎが回転方向にカップルしており、ATP結合の摂動がそのβサブユニット、γサブユニットの熱揺らぎの相関を通じて、回転力を生じていることを示している。

### 3. 研究実施体制

#### 動的構造機能グループ

- ① 研究分担グループ長：高田彰二（神戸大学大学院理学部、助教授）
- ② 研究項目：バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング

#### 統計力学グループ

- ① 研究分担グループ長：笹井理生（名古屋大学大学院情報科学研究科、教授）
- ② 研究項目：バイオナノマシン機能発現のエネルギーランドスケープ論による統計力学的モデリング

#### 分子動力学シミュレーショングループ

- ① 研究分担グループ長：北尾彰朗（東京大学分子細胞生物学研究所、助教授）
- ② 研究項目：バイオナノマシン機能発現の分子動力学シミュレーションモデリング

#### ゆらぎと構造変化グループ

- ① 研究分担グループ長：池口満徳（横浜市立大学大学院国際総合科学研究科、助教授）
- ② 研究項目：バイオナノマシンの構造ゆらぎと構造応答の理論モデリング

### 4. 主な研究成果の発表

#### (1) 論文発表

- M. Ikeguchi, J. Ueno, M. Sato and A. Kidera, “Protein structural change

upon ligand binding: Linear response theory", *Phys. Rev. Lett.*, **94**, 078102 (4 pages), (2005)