

「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。これまでに、1) 独自の粗視化モデルにより F_1 -ATPase の回転シミュレーションを行い、トルク伝達機構や化学力学共役のしくみについて理論的考察を行った、2) アクトミオシン系について、独自の粗視化シミュレーション法を活用し、分子モーターの機構解析を進め、アクチン表面とミオシン間の静電相互作用の役割について検討した、3) 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行い、また 4) F_1 -ATPase の β サブユニットについて、精密・長大な分子シミュレーションを行い、好熱菌由来のタンパク質とウシ由来のタンパク質との類似性、差異などを明らかにした。今後、さらなるシミュレーション研究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では、まず 1) ソフトナノマシンの大規模構造変化をシミュレーションする一般的な粗視化分子シミュレーションモデルとして、多谷エネルギー地形モデルを定式化し、テスト計算を行った。大規模な構造変化ダイナミクスを、物理的にまずまず意味のある形でシミュレーションするモデルが完成し、論文を執筆した。2) このモデルを使って F_1 -ATPase の回転シミュレーションの高効率化、可逆化に挑戦した。エネルギー変換効率は、それ以前より 10 倍程度大きくなったが、依然として、実験と比して小さ過ぎると考えられる。3) プロテアソームの最近アナログである AAA+ATPase による、ATP 依存的な基質タンパク質のアンフォールディング+トランスロケーションのシミュレーションを行った。4) また、トランスロコンの中を、基質タンパク質が通る様子を調べるシミュレーションも進行中である。

統計力学グループでは、フォールディング研究を通して発展したエネルギーランドスケープ論を応用し、数 10nm 以上の大規模構造変化、ミリ秒以上の長時間スケールの現象を扱う粗視化シミュレーション法を開発して、分子モーターおよびシグナル伝達タンパク質の動作機構を明らかにする。とりわけ、**アクチン**および**キネシン**を対象にして、熱揺らぎの中で柔軟に構造変化するシステムにおける力発生のメカニズムを解析し、分子モーターの動作機構に関する国際的な論争解決に向けて貢献することを目的とする。

17年度は、16年度に開発された Go モデルに基づく粗視化シミュレーション法を活用し、分子モーターの機構解析を進め、アクチン表面とミオシン間の静電相互作用の役割について検討した。さらに、構造予測のための経験的方法を利用して、蛋白質立体構造形成ダイナミクスシミュレーションを行い、粗視化シミュレーション法の改良の可能性を検討した。

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行った。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 20 Å も分子間距離を変えることができる。本年度は、昨年度の素繊維方向の相互作用研究をさらに発展させ他の方向の相互作用も考慮するために、44 分子からなるフックのチューブ上構造を 3 種類構築して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、既に原子レベルでの構造モデリングが行われている 2 つのドメイン D1 と D2 部位の直線型構造を元にモデリングを進めた。直線型以外の立体構造は実験的に原子レベルでは決定されていないので、右巻き・左巻きの超らせん構造をモデリングによって構築し、原子レベルのモデルを作成することができた。現在、これらの 3 種類の構造がシミュレーション上ほぼ安定に得られており、ユニバーサルジョイントとしてもメカニズムを解明するためにこの系の詳細な構造解析を進めている。

ゆらぎと構造変化グループは、平成 17 年度には、タンパク質分子モーター F₁-ATPase の β サブユニットについて、好熱菌由来のタンパク質とウシ由来のタンパク質について、それぞれ溶媒分子も露わに含めた 100 ns の全原子分子動力学シミュレーションを行った。従来、F₁-ATPase の β サブユニットの分子動力学シミュレーションは行われていたが、β サブユニットのオープン構造は γ サブユニットとの相互作用によってもたらされているので、基質がない状態でも β サブユニット単体ではクローズド構造になるという結果を導き出していた。しかし、NMR を用いた実験では、基質のない状態では β サブユニット単体はオープン構造であり、クローズド構造にはならないという結果が出て矛盾していた。このことは、分子モーターの作動原理を考える上で解決しなくてはならない重要な問題であった。そこで、従来のシミュレーションのおよそ 10 倍にあたる長時間の計算を行った結果、β サブユ

ニット単体は、平均構造をみるとオープン構造であるが、熱的に大きく揺らいでいることが明らかになった。この揺らぎの方向の中に、分子モーター機能に重要な構造変化が内在しており、タンパク質が、うまく熱揺らぎを利用して、機能を発現している様子が明らかになってきた。

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（神戸大学理学部、助教授）

②研究項目：

- 1) F1-ATPase の自律的、高効率、可逆回転機構の理論研究
- 2) ミオシン V の滑り運動の理論研究
- 3) AAA+ATPase による基質タンパク質のアンフォールディング・トランスロケーション機構の理論研究
- 4) トランスロコンによる新生ポリペプチド鎖の配送・フォールディング機構の理論研究

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：

- 1) アクトミオシンの粗視化モデル改良
- 2) アクトミオシンの粗視化モデル滑り運動シミュレーション

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総合理学研究科、助教授）

②研究項目：

- 1) 分子モーターF₁-ATPase の全原子分子シミュレーション
- 2) 熱揺らぎと立体構造変化の物理理論構築

4. 主な研究成果の発表

(1) 論文（原著論文）発表

動的構造機能グループ

○ 朴 聖俊，千見寺 浄慈，広川 貴次，富井 健太郎，高田 彰二，タンパク質立体構造

予測の現状と未来, 人工知能学会誌, 20(4)

- 対話的動作を考慮したタンパク質立体構造予測システム
蟻川浩, 増田慎吾, 古田忠臣, 金文珍, 朴聖俊, 高田彰二, 藤川和利, 砂原秀樹
情報処理学会論文誌 2005
- 実数値GAによるタンパク質立体構造の2層比較
朴 聖俊, 高田 彰二, 山村 雅幸
情報処理学会論文誌, Vol.46, No.3, pp.898-910, 2005
- Yoshimi Fujitsuka, George Chikenji, and Shoji Takada, **SimFold energy function for de novo protein structure prediction: Consensus with Rosetta**, *Proteins:Structure, Function, and Bioinformatics*, **62**:381-398, 2006
- George Chikenji, Yoshimi Fujitsuka, and Shoji Takada, **Shaping up the protein folding funnel by local interaction: Lesson from a structure prediction study**, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103**(No.9):3141-3146, 2006
- Nobuyasu Koga and Shoji Takada, **Folding-based molecular simulations reveal mechanisms of the rotary motor F1-ATPase**, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103**(No.14):5367-5372, 2006

統計力学グループ

- Fluctuating hydration structure around nanometer-size hydrophobic solutes I -Caging and drying around C₆₀ and C₆₀H₆₀ spheres -,
T. Hotta, A. Kimura, and M. Sasai, *J. Phys. Chem. B***109**, No.39, 18600-18608 (2005).
- Correlation between evolutionary structural development and protein folding,
C. Nagao, T. P. Terada, T. Yomo, and M. Sasai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, No.52, 18950- 18955 (2005).

分子動力学シミュレーショングループ

- Yasumasa Joti, Akio Kitao and Nobuhiro Go, **Protein Boson Peak Originated from Hydration-Related Multiple Minima Energy Landscape** *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 8705-8709 (2005)
- Akio Kitao, Koji Yonekura, Saori Maki-Yonekura, Fadel A. Samatey, Katsumi Imada, Keiichi Namba, and Nobuhiro Go, **Switch interactions control energy frustration and multiple flagellar filament structures** *PNAS*, 103,13, 4894-4899 (2006)

ゆらぎと構造変化グループ

- T. Oroguchi, M. Ikeguchi, K. Saeki, K. Kamagata, Y. Sawano, M. Tanokura, A. Kidera and K. Kuwajima, "Atomically Detailed Description of the Unfolding of α -Lactalbumin by

- the Combined Use of Experiments and Simulations”, *J. Mol. Biol.*, 354, 164–172, 2005.
- M. Hashido, M. Ikeguchi and A. Kidera, “Comparative simulations of aquaporin family: AQP1, AQPZ, AQP0 and GlpF”, *FEBS. Lett.*, 579, 5549–5552, 2005.
 - Y. Sugita, N. Miyashita, M. Ikeguchi, A. Kidera and C. Toyoshima, “Protonation of the acidic residues in the transmembrane cation-binding sites of the Ca^{2+} -pump”, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 6150–6151, 2005.
 - S. Ki, F. Sugihara, K. Kasahara, H. Tochio, A. O-Marubayashi, S. Tomita, M. Morita, M. Ikeguchi, M. Shirakawa and T. Kokubo, “A novel magnetic resonance-based method to measure gene expression in living cells”, *Nucl. Acids Res.*, in press.