

「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:

高田を中心に、18 年度、1) 基礎的な技術開発として、熱ゆらぎを利用した生体分子の大規模構造変化をシミュレーションすることのできる多谷モデルの改良、2) プロテアソームの原核生物アナログである AAA+ATPase のシミュレーションによる基質蛋白質トランスロケーションの作動原理の研究、3) ミオシン V のシミュレーションによるアクトミオシン系の歩行運動の研究、4) さらに、トランスロコンによる膜蛋白質および分泌蛋白質の分配およびフォールディングのシミュレーションを行った。

統計力学グループ:

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、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、アクトミオシンお

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。

前年度までに、「ATP加水分解に伴って部分的にアンフォールドしたアクチオシン系が、再び固い rigor 状態に向かうフォールディング過程において滑り運動が生じる」という仮説を検証するための長時間粗視化動力学シミュレーション法を開発し、大量のトラジェクトリーを計算してきた。18年度はこの計算結果を詳しく分析して、仮説の当否を明らかにする具体的な証拠を提出した。この研究では、多くの原子が協同的に運動する多体効果を長時間粗視化動力学シミュレーション法に取り入れる改良も行い、構造転移ダイナミクスの的確な表現法の開発を行った。さらに、カルモジュリンなど、リガンドの結合とともに大きく構造を変える蛋白質の自由エネルギーを統計力学モデルによって計算し、柔軟かく変形する蛋白質が機能を発揮する機構の解明を進めた。

分子動力学シミュレーショングループ:

細菌べん毛は数十種類の蛋白質で構成されるバイオナノマシンである。既にスクリューにあたるべん毛繊維（フラジェリン分子のホモ会合複合体）の超らせん構造転移を原子レベルの詳細モデルを用いてシミュレートし、構造転移のメカニズムを解明してきた。18年度は、前年度から継続してモーターとスクリューとのジョイント部分である細菌べん毛フックの構造変化の機構をシミュレーションによる研究を更に進め、べん毛繊維より柔軟性の高い原因を明らかにした。細菌べん毛フックは蛋白質 FlgE が約 130 分子会合した生体超分子であり、回転モーターが発生するトルクをべん毛繊維に伝達するユニバーサルジョイントである。直線型フックの立体構造モデルからは、フックが超らせんの構造を形成し機能する際には、らせんの内側と外側で分子間距離が約 20 Å も変化することが示唆されている。我々は FlgE の 44 量体からなる大規模系（約 200 万原子）の分子シミュレーションを行い、フックが分子間に存在するギャップを最大限に伸縮することで大きな分子間距離を許容していることを示した。その際、分子間で水素結合ペアを入れ替える「スライディング」が低エネルギー構造変化に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

ゆらぎと構造変化グループ:

本研究では、分子動力学シミュレーション(molecular dynamics simulation)を用いて、構造ゆらぎと機能発現に重要な構造変化の関係性を研究している。

本年度にも、様々なタンパク質へ分子動力学シミュレーションを応用したが、特に、タンパク質の構造ゆらぎ(動的構造)のあり方、特にドメイン運動の情報を、分子動力学シミュレーションの結果から抽出する新しい方法の開発を行った。従来、構造ゆらぎの抽出としてよく用いられてきた相関行列の方法では、分子動力学中のドメイン運動がうまく検出できないという問題があった。そこで、タンパク質の各部分(5 残基程度)の並進運動と回転運動を抽出し、その並進運動と回転運動がど

のくらい類似しているかを相関行列として計算する新たな方法を開発した。この方法ではタンパク質の揺らぎを表す分散共分散行列から変換するだけでよいので一般的であり、様々なタンパク質に応用可能である。次年度には、この方法を分子モーターに適用して、分子モーターの構造ゆらぎとその機能発現について検討する予定である。

3. 研究実施体制

(1)「動的構造機能」グループ

①研究者名

高田 彰二(神戸大学理学部 助教授)

②研究項目

- ・基礎的な技術開発として、熱ゆらぎを利用した生体分子の大規模構造変化をシミュレーションすることのできる多谷モデルの改良
- ・プロテアソームの原核生物アナログである AAA+ATPase のシミュレーションによる基質蛋白質トランスロケーションの作動原理の研究
- ・ミオシン V のシミュレーションによるアクトミオシン系の歩行運動の研究
- ・トランスロコンによる膜蛋白質および分泌蛋白質の分配およびフォールディングのシミュレーションを行った。

(2)「統計力学」グループ

①研究者名

笹井 理生(名古屋大学大学院工学研究科 教授)

②研究項目

- ・アクトミオシンの粗視化モデル改良
- ・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

(3)「分子動力学シミュレーション」グループ

①研究者名

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

- ・大規模分子動力学シミュレーションによる細菌べん毛繊維多型の分子メカニズム解明
- ・べん毛繊維蛋白質 flagellin の輸送に関わるアンフォールディングシミュレーション
- ・大規模分子動力学シミュレーションによる細菌べん毛フックのユニバーサルジョイントメカニズムの解明
- ・細菌べん毛輸送装置のダイナミクス

(4)「ゆらぎと構造変化グループ」グループ

①研究者名

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

- ・全原子分子動力学シミュレーションによるタンパク質(F₁-ATPase 等)構造ゆらぎの計算
- ・線形応答理論による構造ゆらぎと立体構造変化の関係解析
- ・膜タンパク質(F₀ 等)に対する、生体膜を含めた分子動力学シミュレーション

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Tomoshi Kameda and Shoji Takada, Secondary structure templates the folding of nearby polypeptides, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103: 17765-17770, 2006
- Kei-ichi Okazaki, Nobuyasu Koga, Shoji Takada, Jose N Onuchic, and Peter G Wolynes, Multiple-basin energy landscapes for large amplitude conformational motions of proteins: Structure-based molecular dynamics simulations, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103: 11844-11849, 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: 5367-5372, 2006
- Chigusa Kobayashi and Shoji Takada, Protein grabs a ligand by extending anchor residues: Molecular simulation for Ca²⁺ binding to calmodulin loop, *Biophysical Journal*, 90: 3043-3051, 2006
- 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: 3141-3146, 2006.
- H. Kenzaki and M. Kikuchi, Diversity in free energy landscape and folding pathway of proteins with the same native topology, *Chem. Phys. Lett.* **427**, 414-417 (2006).
- H. Kenzaki and M. Kikuchi, Coarse-grained protein model, cooperativity of folding and subdomain structure, *Chem. Phys. Lett.* **422**, 429-433 (2006).
- K. Itoh and M. Sasai, Flexibly varying folding mechanism of a nearly symmetrical protein: B domain of protein A, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, No.19, 7298-7303 (2006).

- T. Ushikubo, W. Inoue, M. Yoda, and M. Sasai, Testing the transition state theory in stochastic dynamics of a genetic switch, *Chem. Phys. Lett.* **430**, No.1-3, 139-143 (2006).
- S. I. Nishimura and M. Sasai, Modulation of the reaction rate of regulating protein induces large morphological and motional change of amoebic cell, *J. Theor. Biol.* **245** No.2, 230-237 (2007).
- W. Inoue, and M. Sasai, Roles of noise in single and coupled multiple genetic oscillators, M. Yoda, T. Ushikubo, *J. Chem. Phys.* **126**, 115101-1-11 (2007).
- T. Hotta, and M. Sasai, Fluctuating hydration structure around nanometer-size hydrophobic solutes II - Caging and drying around single-wall carbon nanotubes -, *J. Phys. Chem. C* **111**, No.7, 2861-2871 (2007).
- Akio Kitao and Gerhard Wagner, Amplitudes and directions of internal protein motions from a JAM analysis of ¹⁵N relaxation data. *Mag. Res. Chem.*, *44(S1)* 130-142, 2006
- Steven Hayward and Akio Kitao, Molecular Dynamics Simulations of NAD⁺-induced Domain Closure in Horse Liver Alcohol Dehydrogenase. *Biophys. J.*, 91, 1823-1831 (2006)
- Hiroshi Nakagawa, Mikio Kataoka, Yasumasa Joti, Akio Kitao, Kaoru Shibata, Atsushi Tokuhisa, Itaru Tsukushi, Nobuhiro Go. Hydration-coupled protein boson peak measured by incoherent neutron scattering. *Physica B.* 385-386, 871-873 (2006)
- Hiroshi Nakagawa, Atsushi Tokuhisa, H. Kamikubo, Yasumasa Joti, Akio Kitao, Kaoru Shibata, Mikio Kataoka. Dynamical heterogeneity of protein dynamics studied by elastic incoherent neutron scattering and molecular simulations. *Mater. Sci. Eng. A.* 442, 356-360 (2006)
- Tadaomi Furuta, Fadel A. Samatey, Hideyuki Matsunami, Katsumi Imada, Keiichi Namba and Akio Kitao, Gap compression/extension mechanism of bacterial flagellar hook as the molecular universal joint. *J. Struct. Biol.*, 157, 481-491 (2007)
- Y. Sugita, N. Miyashita, T. Yoda, M. Ikeguchi and C. Toyoshima, "Structural Changes of the Cytoplasmic Domain of Phospholamban by Phosphorylation at Ser16: A Molecular Dynamics Study", *Biochemistry*, 45, 11752-11761, 2006.
- C. Addy, M. Ohara, F. Kawai, A. Kidera, M. Ikeguchi, S. Fuchigami, M. Osawa, I. Shimada, S.-Y. Park, J. R. H. Tame and J. G. Heddle, "Nickel binding to NikA: an additional binding site reconciles spectroscopy, calorimetry and crystallography", *Acta Cryst.* D63, 221-229, 2007.
- Y. Harano, R. Roth, Y. Sugita, M. Ikeguchi, M. Kinoshita, "Physical basis for characterizing native structures of proteins", *Chem. Phys. Lett.* 437, 112-116, 2007.