

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20118004

研究課題名（和文） ATP 駆動蛋白質の機能発現における水の役割：統計力学理論解析

研究課題名（英文） Water Roles in Functioning of ATP-Driven Proteins: Theoretical Analyses Based on Statistical Mechanics

研究代表者 木下正弘 (KINOSHITA MASAHIRO)

京都大学・エネルギー理工学研究所・教授

研究者番号：90195339

研究分野：理論生物物理学，液体の統計力学

科研費の分科・細目：生物物理・化学物理

キーワード：水，ATP，水和，エントロピー，排除容積

1. 研究計画の概要

非常に大きな蛋白質やそれらの会合体をもちかなり精密にかつ短い計算時間で扱うことのできる独自の統計熱力学理論を武器とし、「(1)F₁-モーター(F₁-ATPase); (2)ABC トランスポーター; (3)シャペロニン GroEL; (4)アクトミオシン」を主たる対象として選定して、水が果たす役割を具体的に解明する。以下の概念に注目することを特徴とする：(A) 蛋白質の折り畳み、レセプターとリガンドの結合、蛋白質の会合による高次構造形成などにおいては、水の並進配置エントロピーを増加させることが強力な推進力となる；(B) F₁-ATPase のような蛋白質会合体は、水の並進配置エントロピーをできる限り大きくするように充填された立体構造をとられる；(C) F-actin 近傍におけるミオシンには、水分子の並進移動に起因して、ミオシンおよび F-actin 表面の幾何学的形状を反映したエントロピー力場が形成される。蛋白質とヌクレオチドの相互作用、「蛋白質と ATP の結合⇒ATP の加水分解⇒分解生成物の遊離」の各ステップにおける蛋白質や蛋白質会合体の立体構造変化の仕方、上記エントロピー力場の変化などを解析する。その結果を踏まえ、生体内における他の ATP 駆動蛋白質の機能発現における水や ATP の役割を横断的に解明し、水を脇役としか見ていない現存の ATP エネルギー変換論を根本的に塗り替える。

2. 研究の進捗状況

(1) 水分子の並進移動に起因して、物体近傍の大きな溶質に、エントロピーポテンシャル場が形成されるという概念に注目した。一分子計測の実験事実と、3次元積分方程式論に基づく我々のモデル解析の結果を総合

し、一方向移動のメカニズムに対する描像を得た。解析結果によると、ミオシンは F-Actin と接触した狭い空間内に拘束される。また、強結合サイトが現れる。ミオシンは、ATP または ADP+Pi と結合していないミオシンに対して形成される F-actin に沿ったポテンシャル場と、ATP または ADP+Pi との結合によって幾何学的形状が変化したミオシンに対して形成されるそれを行き来することによって、一方向への移動を実現する。

(2) シャペロニン GroEL への変性蛋白質の挿入およびそれからの折り畳みを終えた蛋白質の放出のメカニズムを明らかにした。ナノメートルスケールの空間内における水和特性効果によって GroEL と蛋白質間に形成される平均力のポテンシャルが、挿入と放出において重要な役割を果たしていることが分かった。

(3) F₁-ATPase に対して、Group I ($\beta_E, \gamma, \alpha_E, \alpha_{TP}$), Group II ($\beta_{TP}, \gamma, \alpha_{TP}, \alpha_{DP}$), Group III ($\beta_{DP}, \gamma, \alpha_{DP}, \alpha_E$)のみを取り出し、我々独自の的方法論を用いて、各々の水和エントロピーを計算した。その結果、水のエントロピー損失を最小に抑えるために、パッキングの不均一性を生じさせる必要があることが分かった。この不均一性が、 γ の回転を生み出す鍵となる。 γ にある特定の方向を向かせると共に、Group III で密なパッキングを実現することが、水のエントロピーの観点から最も有利である。ところが、 $\beta_{DP} \rightarrow \beta_E, \beta_{TP} \rightarrow \beta_{DP}, \beta_E \rightarrow \beta_{TP}$ なる変化が起こるため、 γ を 120 度反時計回りに回転させて、密なパッキングを構築し直す必要が生じる。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

研究対象にしていた F_1 -モーター(F_1 -ATPase), ABC トランスポーター, シャペロニン GroEL, アクチオシンのうち, ABC トランスポーター以外については, その機能発現機構の解明を前半でほぼ終了した。さらに, ABC トランスポーターに対しても, ある程度の見通しが得られており, ATP 駆動蛋白質に共通の横断的な機能発現機構の描像もすでに得られている。前半で, 当初の計画の 4/5 近くを終了できたことになる。

4. 今後の研究の推進方策

(1) ABC トランスポーターの多剤排出機構にほぼ専念する予定である。シャペロニン GroEL の機能発現機構と共通の側面と異なる側面があると考えている。領域内の計画研究代表者の櫻井実教授に分子動力学シミュレーションを用いた ABC トランスポーターの立体構造予測を依頼しつつ, その結果を用いた統計力学理論解析を行い, ABC トランスポーターの多剤排出機構の解明を目指す。

(2) 領域内の計画研究代表者の松林伸幸准教授のエネルギー表示法による分子動力学シミュレーション, 公募研究代表者の池口満徳准教授の高速分子動力学シミュレーションと我々の統計力学理論解析を組み合わせることにより, F_1 -モーター(F_1 -ATPase)の機能発現機構の描像をさらに発展させる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 1 件)

- ① T. Yoshidome, Y. Ito, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, “Rotational Mechanism of F_1 -ATPase: Crucial Importance of Water-Entropy Effect”, Journal of the American Chemical Society, **133**, 4030-4039 (2011). 【査読有】
- ② K. Amano and M. Kinoshita, “Model of Insertion and Release of a Large Solute into and from a Biopolymer Complex”, Chemical Physics Letters, **504**, 221-224 (2011). 【査読有】
- ③ K. Amano and M. Kinoshita, “Entropic Insertion of a Big Sphere into a Cylindrical Vessel”, Chemical Physics Letters, **488**, 1-6, (2010). 【査読有】
- ④ K. Amano, T. Yoshidome, M. Iwaki, M. Suzuki, and M. Kinoshita, “Entropic Potential Field Formed for a Linear-Motor Protein near a Filament: Statistical-Mechanical Analyses Using Simple Models”, Journal of Chemical Physics, **133**, 045103 (11 Pages) (2010). 【査読有】

- ⑤ M. Kinoshita and M. Suzuki, “A Statistical-Mechanical Analysis on the Hyper-Mobile Water around a Large Solute with High Surface Charge Density”, Journal of Chemical Physics **130**, 014707(1-11) (2009). 【査読有】

[学会発表] (計 6 2 件)

- ① T. Yoshidome, Y. Ito, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, Crucial Importance of Translational Entropy of Water in Rotation Mechanism of F_1 -ATPase, Pacificchem 2010, Topic Area – Physical, Theoretical & Computational, “New Experimental and Computational Probes of Water in Biological Systems (#130)”, Honolulu, Hawaii, USA, 2010.12.15-20.
- ② K. Amano and M. Kinoshita, Insertion and Release of a Big Sphere into and from a Cylindrical Vessel, Pacificchem 2010, Topic Area – Physical, Theoretical & Computational, “New Experimental and Computational Probes of Water in Biological Systems (#130)”, Honolulu, Hawaii, USA, 2010.12.15-20.

[図書] (計 1 件)

- ① 木下正弘, 「表面の水和の統計力学理論」, 日本化学会・コロイドおよび界面化学部会 35 周年記念出版, 丸善, 「現代界面コロイド科学の事典—シャンプーから宇宙まで—」, 10 章 6 節, pp. 244-245, 2010 年 5 月.

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ

<http://www.iae.kyoto-u.ac.jp/centerbunya/kinoshita/>