

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：34521

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K05254

研究課題名(和文)水が駆動する巨大生体分子の自律化メカニズムの熱力学解析

研究課題名(英文)Thermodynamic analysis of bimolecular assembly driven by solvent water

研究代表者

原野 雄一 (Harano, Yuichi)

姫路獨協大学・薬学部・准教授

研究者番号：60456259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生体分子の自律化(タンパク質の立体構造形成、分子認識など)の過程は、全て液相で起こることから、溶媒である『水』の存在が大きく関与している。また、実験として観測される重要な生体分子の挙動はsec以上(系によってはday～month)という長い時間スケールである。以上のことから、生体分子と水を含んだ全系に対する分子論と熱力学とを統合した理解が必要である。本研究では、近年我々の研究グループが開発した水和自由エネルギーの高速計算法を用い、巨大生体分子の構造変化に対する自由エネルギー地形を描くことで、水の熱力学的性質が如何に関与するかを理論化学的に明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は生体分子の自律化メカニズムを、生体分子そのものに求めるのではなく、水溶媒環境を含めた全系として捉える点に特色があるため、液体理論のバイオ研究への応用という点での特色があるとともに「分子の集合・離散」という点では「タンパク質-リガンド結合」のエネルギー論として創薬の基礎を築くものである。

また、本研究で用いる理論的手法は、全原子モデルで記述されているので、一般的な理論化学的手法である分子シミュレーション技術や量子化学的手法と融合させることにより、より広範囲なエネルギー論が可能になる。本研究は理論研究にとどまらず、実験とのダイレクトな共同研究が可能になった。

研究成果の概要(英文)：Because the processes of biomolecular autonomy happen in a liquid phase, existence of "the water" greatly participates. In addition, the important biomolecular behavior observed as an experiment is a time scale of more than sec (depending on a system day - month). It is necessary for us to understand that integrated the molecular aspects and thermodynamics for all systems, containing the water with a biological molecule. In this study, we clarify how a thermodynamic property of the water participates by describing the free energy landscape for the structural change of the huge biological molecule using a high speed numeration of the hydration free energy that the study group of us developed based on theoretical chemistry.

研究分野：生物物理学

キーワード：生体分子 熱力学 溶液化学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質をはじめとする生体高分子の『立体構造』は、生命現象を理解する上で極めて重要な鍵である。近年における構造解析技術の発展により、タンパク質を中心とした数多くの生体分子の立体構造が原子レベルで明らかとなった。それら立体構造が如何に相互作用するかを解明し、『機能』へと結びつけるかが、次世代の立体構造を基礎としたバイオサイエンスの課題であろう。しかしながら、それら立体構造の形成過程や相互作用に関する普遍的原理は未だ発見されていない。

一方、生体分子が関与する生体内におけるあらゆる自律化プロセス(タンパク質の立体構造形成、分子認識など)は液相で起こるので、溶媒である“水”の存在が大きく関与していると考えられる。その重要性は、『クリプトビオシス現象』にも見られるように、細胞・組織レベルからも多分に推察される。したがって、“水”そのものが生体分子の物理化学的な性質を支配しているといっても過言ではない。

近年、計算機を取り巻く技術革新は目覚ましく、分子シミュレーションを用いた研究が活況を呈している。特に D. E. Shaw らのグループにより、(小さな球状蛋白質に限定されるが)全原子モデルを用いた水溶液中におけるタンパク質の折り畳み追跡が可能となった [D. E. Shaw et al., *Commun. ACM*, 51, 91 (2008)]。しかしながら、K. A. Dill らが総説で述べている様に、折り畳みの分子シミュレーションが可能になったとしても、蛋白質立体構造の熱力学的性質に関する情報は著しく乏しい [K. A. Dill & J. L. MacCallum, *Science*, 338, 1042 (2012)]。また、実験として観測される重要な生体分子の挙動は 1sec オーダー以上(系によっては day~month) という長い時間スケールであることが殆どである。従って、この程度のオーダーの時間スケールと、分子という空間的ミクロなレベルでの挙動を鑑みると、やはり熱力学的な記述が重要になると考えられる。

2. 研究の目的

生体分子の自律化(タンパク質の立体構造形成、分子認識など)の過程は、全て液相で起こることから、溶媒である『水』の存在が大きく関与している。また、実験として観測される重要な生体分子の挙動は sec 以上(系によっては day~month) という長い時間スケールである。以上のことから、生体分子と水を含んだ全系に対する分子論と熱力学とを統合した理解が必要である。

本研究では、近年我々の研究グループが開発した水和自由エネルギーの高速計算法を用い、巨大生体分子の構造変化に対する自由エネルギー地形を描くことで、水の熱力学的性質が如何に関与するかを理論化学的に明らかにする事を目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、『巨大生体分子の自律化』、すなわち、生体分子が自発的に会合・離散するメカニズムに対する水の役割を、分子論と水和熱力学に立脚し解明することを目的とする。そのために、まず巨大生体分子の構造変化に伴う『自由エネルギー地形』を、全原子モデルを用いて作成する。その際、分子シミュレーションと形態熱力学を統合した計算法を用いる。作成した自由エネルギー地形のプロファイルを基に、生体分子の構造と系の自由エネルギーとの関係を把握する。さらに「エネルギー要素分割」を実施し、どの成分が系の自由エネルギー変化に寄与しているかを解析し、駆動力としての水の性質を明らかにする。

巨大分子の構造変化や多量体の形成といった、構造的もしくは空間的自由度が大きな系を取り扱う場合、多次元空間における自由エネルギー地形を明らかにする必要がある。そのことで、タンパク質などの巨大分子がどのような構造変化を経るか、さらに、どのようなエネルギー成分が寄与するかを解明するための重要な情報が得られる。

本研究の特色でもある水和自由エネルギーの高速計算は、積分幾何学における『Hadwiger の定理』に基づいた形態計測法を分子形状に適応している。このことで数値的な正確さを維持しながらも計算時間の大幅な短縮を実現している [R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, *Phys. Rev. Lett.* 97, 078101 (2006)]。また、本手法を分子シミュレーションの枠組みで用いられている力場に適応することで、分子論と熱力学とのシームレスな統合を実施する。この取り組みに関しては、全原子系の水和自由エネルギー計算の専門家である松林伸幸 教授(大阪大学・基礎工学部)および R. Roth 教授(独・チュービンゲン大学)の協力を得た。

上述の式の定義では、どのような構造変化に対しても水和自由エネルギーが算出できる。しかしながら、より精密な自由エネルギー地形を得る為に、溶質分子である生体分子に関して、より効率的な構造サンプリングを実施しなければならない。蛋白質のような巨大分子に対するサンプリングには様々な手法が提案されているが、マルチカノニカル法やレプリカ交換法などの拡張アンサンブルに基づく手法を実施する。

4 . 研究成果

具体的な研究対象は、蛋白質（Protein G のなど比較的小さなもの）の折り畳み機構から始め、F1-ATPase などの動的挙動までを検討した。一連の計算が終了したので、上記の様な解析を実施し、最終的には分子設計への応用を検討した。

本研究で用いる理論体系および自由エネルギー関数の定義では、それぞれ生体分子のエネルギーと水和の寄与に分離されているので、水和の効果を定量的に抽出した。より具体的な物理量としては水和エネルギーと水和エントロピーである。さらに、自由エネルギー変化に対して、各構成原子の寄与に分割できるので、アミノ酸置換レベルでの分子設計指針を得た。この成果は蛋白質の構造をベースとした *in silico* 創薬にも直結しており、実用的な分子設計プログラムへと結実させた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Y. Takechi-Haraya, K. Aki, Y. Tohyama, Y. Harano, T. Kawakami, H. Saito, E. Okamura	4. 巻 10
2. 論文標題 Glycosaminoglycan Binding and Non-endocytic Membrane Translocation of Cell-permeable Octaarginine Monitored by Real Time In-cell NMR Spectroscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 42-60
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ph10020042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Hayashi, H. Oshima, Y. Harano, M. Kinoshita	4. 巻 28
2. 論文標題 Water based on a molecular model behaves like a hard-sphere solvent for a nonpolar solute when the reference interaction site model and related theories are employed	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Phys.: Condens. Matter	6. 最初と最後の頁 344003
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1088/0953-8984/28/34/344003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 T. Yoshidome, T. Ekimoto, N. Matubayasi, Y. Harano, M. Kinoshita, M. Ikeguchi	4. 巻 142
2. 論文標題 An Accurate and Efficient Computation Method of the Hydration Free Energy of a Large, Complex Molecule	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 J. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 175101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----