

平成22年3月31日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19370069

研究課題名（和文）蛋白質が主導する膜形態変化の分子シミュレーション研究

研究課題名（英文）Molecular simulation study of membrane morphology change induced by proteins

研究代表者

高田 彰二（TAKADA SHOJI）

京都大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：60304086

研究成果の概要（和文）：

細胞融合、分裂などの生体膜形態変化は関連蛋白質によって引き起こされる。蛋白質-生体膜複合体の粗視化分子シミュレーションモデルを構築し、それによって膜形態変化過程を調べることが本研究の目的である。蛋白質には多谷モデル、脂質膜には野口モデルを用い、さらに蛋白質-脂質間相互作用には排除体積と疎水性相互作用を考慮に入れた。このモデルによって、ベシクル形成、ベシクル融合、2成分膜ベシクルの相分離、ベシクル出芽などをシミュレーションし、分子機構を調べた。

研究成果の概要（英文）：

Membrane morphology change, such as cell fusion and cell division, is induced by related proteins. The aim of the research here is to develop a coarse-grained simulation model for protein-membrane complex and to apply it to the membrane morphology dynamics. We extended the multiple-basin model for proteins, used Noguchi model for lipids, and proposed the excluded volume and hydrophobic interaction terms for the protein-lipid interaction. By this new model, we successfully simulated vesicle formation, vesicle fusion, phase separation of 2-components vesicle, and budding addressing their mechanisms.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2008年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：ベシクル融合、ベシクル発芽、ラフト、粗視化モデル、シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

膜形態変化はナノ秒から秒の広範囲な

時間スケールで起こる複雑な現象であるが、現在のスーパーコンピュータをもつ

てしても、原子レベルの分子動力学シミュレーションはマイクロ秒程度が到達限界である。従って、なんらかの工夫なくしては、膜形態変化の一般的なシミュレーション研究は不可能である。一つの方向として、生体分子システムを原子レベルよりやや粗視化することで、長時間現象を研究するというのが、本研究の狙いであった。

研究代表者は研究開始までに、蛋白質フォールディングや分子モーターの作動機構など、ミリ秒程度かかる蛋白質ダイナミクスを研究するために、粗視化モデルの提案、利用を推進してきた。一方、脂質膜系については、物理および物理化学の研究領域において、過去10年の間に相当数多くの粗視化モデルが提案、実装、検証されてきた。特に野口およびMarrinkの粗視化モデルが成功している。しかし、蛋白質と脂質膜の両粗視化モデルを融合したシミュレーションは研究開始当初皆無であった。

2. 研究の目的

生体膜の形態変化は、ベシクル輸送、細胞融合、細胞分裂、被膜ウイルスの宿主への感染など、生命活動の重要な部分である。膜形態変化の分子機構を考えると、それは蛋白質が主導しており、それに誘導されて脂質膜も変化する。しかし、膜蛋白質および脂質膜はいずれも高分解構造解析が難しい生体分子であり、その集合体システムの高分解の時空構造情報はほとんど得られていない。このような状況で、コンピュータシミュレーションにより時空構造情報を得ることが強く期待される。そこで、本研究の目的は、

蛋白質-脂質膜系の大規模分子シミュレーションの新しいモデルを開発し、それを用いて蛋白質が主導する膜形態変化、特にベシクル融合やベシクル発芽などの生体膜ダイナミクスのシミュレーションを行い、その分子機構を解明することである。

3. 研究の方法

膜形態変化を誘導する直接の要因は、膜蛋白質の大規模構造変化である。蛋白質の大規模構造変化をシミュレーションするためのモデル・計算法は我々が2006年に提案した多谷モデルを基にした。ただし当初の多谷モデルは、リガンド結合過程が含まれないなど限界があった。そこで本研究で多谷モデルを拡張し、リガンド結合を明示的に取り扱うことが出来るモデルを構築した(論文3他)(図1)。

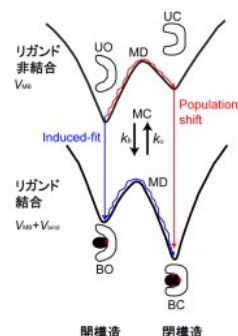


図1
タンパク質の粗視化モデル: 多谷モデルの概念図

既存の粗視化生体膜モデルの幾つかを検討し、そのうち二つのモデル(Brownらのモデルと野口らのモデル)を実装、およびテストした結果、当面は野口モデル(図2左上)を採用することに決定し、研究室で開発してきた蛋白質シミュレーションソフトウェアCafeMolに組み込んだ(学会発表3、8、9、14他)。さらに、野口モデルをもとに生体膜-蛋白質間相互作用を構築した。排除体積と疎水性相互作用の関数を導入し、

以下の計算を通じてそのパラメータを経験的にチューニングした。

4. 研究成果

まず、われわれが提案した粗視化蛋白質モデルである多谷モデルを拡張して（論文3）、それを用いて被膜ウイルスが宿主に感染する際に主要な役割をする糖タンパク質の構造変化シミュレーションを行った。ここでは実験的に構造情報が精度よく得られている水泡性ヘルペスの糖蛋白質3量体を例にとりてシミュレーションを行った。これまで融合前構造から融合後構造までの変化は、3量体が一旦解離してから構造変化し再集合すると考えられてきたが、シミュレーションは一旦解離することなく構造変化が完了することが可能であることを示唆した（学会発表14）。

次に、粗視化脂質モデルの選定を行った。我々が当初適用しようとしていたBrownらのモデルは、幾つかの試行実験の結果、本研究には適さないことが明らかになった。モデル内の相互作用に不自然さがあり、そのために蛋白質との相互作用を含めると予期しなかった不具合が起こった。原因を探求した結果、Brownらのモデルが不適であると結論した。次に、野口らのモデルを採用し、試行実験を行ったところ、膜への膜蛋白質の挿入など、幾つかのテストをパスし、本研究に適していると判断された。同時に、蛋白質-脂質間の排除体積と疎水性相互作用の項もチューニングを行った。

実際系への適用研究では、平面状脂質二重層の自発的形成、ベシクルの自発的形成、ベシクル融合、膜への膜タンパク質の挿入、2成分膜ベシクルの相分離、2成分膜ベシクルからの出芽（図2下）などの過程をシミュレーションすることに成功した。

特に脂質2成分膜系について以下に報告する。2成分脂質では、同じ成分同士の疎水性相互作用を（相対的に）強く、異なる成分間の疎水性相互作用を（相対的に）弱く設定し、その差を変化させることによりさまざまな場合を繰返しシミュレーションした。このモ

デルを用いることにより、分離度の違いに応じて、ラフト形成や出芽のシミュレーションを行うことが可能となった。

脂質2成分間の分離度がある程度以上強いときには、二成分脂質のみでラフトが自発的に形成することを見出した。一方、分離度が弱いために二成分脂質のみではラフトが形成しなかった。この場合に、一種類の脂質分子とだけ特異的に疎水性相互作用をもつ膜貫通蛋白質を加えると、膜蛋白質-脂質間の疎水性相互作用によってラフトを形成し得ることがわかった（図2右上）。膜貫通型でない（二重層の一方にだけ挿入される）膜蛋白質の場合はその効果は弱かった。

脂質2成分間の分離度が非常に強いときには、2成分脂質ベシクルは速やかにラフトを形成した後、自発的に出芽した（図2下）。膜融合の際に指摘されているのと同様に、出芽が起こる際にも細胞膜が破れる現象(lysis)が観測された。これはlysisを伴った出芽経路が存在する可能性を示唆している。

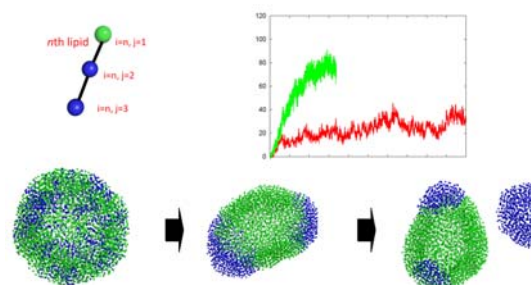


図2 生体膜シミュレーション 野口モデルの概念図(左上)、膜蛋白質有(緑)と無(赤)のときのラフト形成(右上)、および2成分生体膜のラフト形成と発芽(下)

5. 主な発表論文等

(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 7 件)

1. Nobuyasu Koga, Tomoshi Kameda, Kei-ichi Okazaki, Shoji Takada, Paddling mechanism for the substrate translocation by AAA+ motor revealed by multiscale molecular simulations, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 査読有、Vol.106, 2009、

- 18237-18242
2. Naoto Hori, George Chikenji, R. Stephen Berry, Shoji Takada, Folding energy landscape and network dynamics of small globular proteins, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 査読有, Vol.106, 2009, 73-78
 3. Kei-ichi Okazaki, Shoji Takada, Dynamic energy landscape view of coupled binding and protein conformational change: Induced-fit versus population-shift mechanisms, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 査読有, Vol.105, 2008, 11182-11187
 4. Wenzhen Jin, Shoji Takada, Asymmetry in membrane protein sequence and structure: Glycine outside rule, Journal of Molecular Biology, 査読有, Vol.377, 2008, 74-82

[学会発表] (計 49 件)

1. Xin-Qiu Yao, Hiroo Kenzaki, Shoji Takada, FUNCTIONALLY ROTATING MECHANISM OF A MULTIDRUG TRANSPORTER STUDIED BY COARSE-GRAINED SIMULATION, Biophysical Society 54th Annual Meeting, 2010年2月20日~24日, San Francisco (USA)
2. Hiroo Kenzaki, Nobuyasu Koga, Shinji Fujiwara, Shoji Takada, BIOMOLECULAR COARSE-GRAINED SIMULATION PROGRAM CAFEMOL, Biophysical Society 54th Annual Meeting, 2010年2月20日~24日, San Francisco (USA)
3. 藤原慎司, 高田彰二, Membrane morphology dynamics induced by proteins: Coarse-grained molecular simulations タンパク質によって誘起される膜形態ダイナミクス: 粗視化分子シミュレーション, 第47回日本生物物理学会年会, 2009年10月30日~11月1日, アスティとくしま (徳島市)
4. Xin-Qiu Yao, Hiroo Kenzaki, Shoji Takada, Functionally rotating mechanism of a multidrug transporter studied by coarse-grained simulation, 第47回日本生物物理学会年会, 2009年10月30日~11月1日, アスティとくしま (徳島市)
5. 高田彰二, 蛋白質の大振幅ゆらぎと機能の分子シミュレーション研究, 第47回日本生物物理学会年会, 2009年10月30日~11月1日, アスティとくしま (徳島市)
6. Shoji Takada, Working principle of biomolecular motors revealed by molecular dynamics simulations, The 238th American Chemical Society National Meeting, 2009年8月16日~20日, Washington D.C. (USA)
7. Xin-Qiu Yao, Hiroo Kenzaki, Shoji Takada, Functionally rotating mechanism of a multidrug transporter studied by coarse-grained simulation, 次世代生命体統合 PJ 分子スケールワークショップ「ペタフロップスコンピューティングに向けた生体高分子シミュレーションの最前線」, 2009年8月10日~11日, 東京大学生産技術研究所 (東京都)
8. 検崎博生, 古賀信康, 藤原慎司, 堀直人, 金田亮, 岡崎圭一, 姚新秋, 高田彰二, CafeMol: 生体分子粗視化シミュレーションプログラム, 次世代生命体統合 PJ 分子スケールワークショップ「ペタフロップスコンピューティングに向けた生体高分子シミュレーションの最前線」, 2009年8月10日~11日, 東京大学生産技術研究所 (東京都)
9. Hiroo Kenzaki, Nobuyasu Koga, Shinji Fujiwara, Naoto Hori, Ryo Kanada, Kei-ichi Okazaki, Xin-Qiu Yao, and Shoji Takada, CafeMol: Biomolecular Coarse-Grained Simulation Program, RIKEN Joint Computational Science Workshop 2009, 2009年7月9日~10日, 理化学研究所 (横浜市)
10. Xin-Qiu Yao, Hiroo Kenzaki, Shoji Takada, Functionally rotating mechanism of a multidrug transporter studied by coarse-grained simulation, International Symposium on "Reaction Dynamics of Many-Body Chemical Systems", 2009年6月22日~24日, 京都ガーデンプレス (京都市)
11. Shoji Takada, Working Principle of Biomolecular Motors Revealed by Molecular Dynamics Simulations, International Symposium on "Reaction Dynamics of Many-Body Chemical Systems", 2009年6月22日~24日, 京都ガーデンプレス (京都市)
12. 高田彰二, 計算機実験による生体分子モーターの作動原理探求, 自然科学研究機構スーパーコンピューターワークショップ2009, 2009年1月20-21日, 自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター
13. 高田彰二, 巨大生体分子複合系のマルチ

- スケールシミュレーションに向けて、バイオスーパーコンピューティング・シンポジウム (BSCS)、2008年12月25-26日、理化学研究所
14. 藤原慎司、高田彰二、膜融合を引き起こすウイルスタンパク質の大規模構造変化のシミュレーション研究、第46回日本生物物理学会年会、2008年12月3-5日、福岡国際会議場
 15. 岡崎圭一、高田彰二、結合による構造変化と生体分子システムの作動原理、第46回日本生物物理学会年会、2008年12月3-5日、福岡国際会議場
 16. 岡崎圭一、高田彰二、構造変化とリガンド結合の共役メカニズム: induced-fit vs population-shift、第22回分子シミュレーション討論会、2008年11月17-19日、岡山大学
 17. 高田彰二、計算機実験による生体分子モーターの作動原理探求、産業総合研究所生命情報工学研究センター研究報告シンポジウム、2008/11/7、産業総合研究所生命情報工学研究センター
 18. Shoji Takada、Working principle of biomolecular motors revealed by multi-scale simulations、The 235th American Chemical Society National Meeting、Apr 8-11, 2008、New Orleans
 19. 高田彰二、構造変化シミュレーションからの生体分子機械の作動原理探求、大阪大学蛋白質研究所セミナー「蛋白質の構造変化の仕組みを探る」、Mar.3, 2008、大阪大学蛋白質研究所 (吹田)
 20. 岡崎圭一、高田彰二、粗視化モデルによるタンパク質の構造変化とリガンド結合の共役メカニズムの解明: 分子モーターへの応用、第45回日本生物物理学会年会、Dec.21-23, 2007、横浜パシフィコ
 21. Wenzhen Jin、Shoji Takada、Asymmetry in membrane protein sequence and structure: Glycine outside rule、第45回日本生物物理学会年会、Dec.21-23, 2007、横浜パシフィコ
 22. 高田彰二、計算機実験による生体分子システムの作動原理探求、第1回論理薬研究会、Dec.5-6, 2007、岐阜大学
 23. Shoji Takada、Working principle of molecular motors revealed by molecular simulations、WORKSHOP ON COMPUTATIONAL BIOPHYSICS、Nov. 20-21, 2007、Nagoya University
 24. Shoji Takada、The working principle of biomolecular machines revealed by molecular simulations、The 10th Asia Pacific Physical Conference、Aug. 21-24, 2007、Pohang, Korea
 25. 岡崎圭一、高田彰二、タンパク質の構造

- 変化と ligand 結合との共役の仕方: ligand 結合の効果を取り入れた Multiple-basin energy landscape model によるシミュレーション、第7回日本蛋白質科学会年会、May 24-26, 2007、仙台国際センター
26. 金文珍、高田彰二、膜蛋白質のアミノ酸分布の非対称性について、第7回日本蛋白質科学会年会、May 24-26, 2007、仙台国際センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 彰二 (TAKADA SHOJI)
京都大学・大学院理学研究科・准教授
研究者番号: 60304086

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: