

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：13901  
研究種目：基盤研究(A)  
研究期間：2008～2011  
課題番号：20244068  
研究課題名（和文）  
分子モーターの機能ファネル理論  
研究課題名（英文）  
Functional Funnel of Molecular Motors  
研究代表者  
笹井 理生（SASAI MASAKI）  
名古屋大学・工学研究科・教授  
研究者番号：30178628

研究成果の概要（和文）：ミオシンなどの分子モーターは、人間のつくるエンジンを超えた能力を持つ優れたシステムであり、負荷の強弱に柔軟に応答して常温で効率よく動作する。本研究では、分子モーターの物理的原理を明らかにするため、タンパク質の構造と運動を理論的に解析して次の成果を得た。(1)タンパク質が大きく柔らかく動く姿を捉える新しい粗視化モデルを開発し、タンパク質の運動およびアロステリック変形の基礎理論を展開した。(2)生理的に重要なミリ秒以上の過程に焦点をあてたタンパク質の計算機シミュレーションを実行した。(3)分子モーターの動作を説明する機能ファネル仮説を提唱して、これを批判的に検証した。

研究成果の概要（英文）：Protein motors show the superior abilities in working efficiently at the mild temperature by responding flexibly to the applied load. In this research project, protein machines were studied theoretically to reveal their physical principles: (1) Coarse-grained models were constructed to analyze the large structural fluctuation of myosins and other proteins, and the theoretical framework to understand allosteric transitions is developed, (2) the millisecond time-scale trajectories of moving proteins were simulated, and (3) the functional funnel hypothesis of molecular motors was proposed and critically examined.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2009年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2010年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
2011年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
総計	33,800,000	10,140,000	43,940,000

研究分野：理論生物物理学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：分子モーター、粗視化モデル、アロステリック変形

## 1. 研究開始当初の背景

これまで多くの教科書では、分子モーターの動作は異なる条件で作られた異なる結晶構造の間を、蛋白質が逐次的に遷移する過程として説明されてきた。これは、人間がつくる日常サイズの、揺らぎのない機械のアナロジ

ーからは当然の発想であろう。しかし分子サイズの世界では、入出力エネルギーと同じオーダーの熱エネルギーが存在し、蛋白質の動作は熱揺らぎに埋もれた確率的な動作を示して、このアナロジーには限界があると予想される。近年の1分子計測は、まさに、大き

く揺らぐ蛋白質の特性を浮き彫りにしており、日常サイズの機械とは異なった、ナノメートル世界のデザイン原理を明らかにする必要を迫っている。なぜ、強い熱揺らぎの中で、効率の高い優れた機能が発揮されるのか？その物理的原理は何か？こうした問題の解明のためには、実験とともに、理論とシミュレーションの展開が不可欠である。

## 2. 研究の目的

(1) 蛋白質が大きく柔らかく動く姿を捉える新しい粗視化モデル、およびアロステリック変形の基礎理論を展開して、強い熱揺らぎに曝されているにもかかわらず高機能を発揮する、分子モーターの物理的原理を明らかにする。

(2) 生理的に重要なミリ秒以上にわたる過程に焦点をあてた計算機シミュレーションを実行する。

(3) 分子モーターの動作を説明する機能ファネル仮説を提唱して、これを批判的に検証する。

## 3. 研究の方法

(1) アクチン、ミオシンの弾性体モデルを開発し、ミオシンがアクチンと相互作用しながらアクチンフィラメント上で運動する様子をシミュレートする。とりわけ、筋肉の力発生の機構として、ミオシン II はアクチンに結合して移動しなくなってから力を出すと考えられる仮説（レバーアーム仮説）とミオシン II はアクチンフィラメント上をブラウン運動しながら移動すると考える仮説（ブラウン運動仮説）の2つを比較、検討し、一方向に偏りのある非対称なブラウン運動が構造的、物理化学的に妥当なモデルで実現可能であるか？もし実現可能であるとすれば、その機構は何か？という問題に挑戦する。

(2) アロステリック変形を記述する統計力学的モデルを構築し、アロステリック変形に伴う自由エネルギー面を計算する方法を開発して、分子モーター研究の基礎となる方法として整備する。

(3) アロステリック変形を記述する粗視化動力学モデルを構築し、タンパク質の運動を記述する方法を開発して、分子モーター研究の基礎となる方法として整備する。

(4) 粗視化モデルによるシミュレーション、統計力学モデルの計算結果を総合して、分子モーターの機能をコントロールする自由エネルギー面、すなわち機能ファネルを分析し、機能ファネルが分子モーターの動作制御の

中核にあるという機能ファネル仮説を提案し、検討する。

## 4. 研究成果

(1) アクチンフィラメント上のミオシン II の運動シミュレーションを行った。アクチンとミオシン間の静電相互作用と立体的な斥力効果が組み合わさって、ミオシンはアクチンフィラメント上を一方向へ滑ることができることをシミュレーションで示すことに成功し、機能ファネル理論の概念を提唱した。また、アミノ酸の置換による運動の様子の変化など、1 分子計測によって確認できると思われる現象についての検証可能な予測を行った。

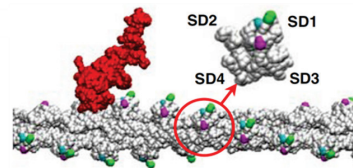


図1 アクチンフィラメントの上を動くミオシン II のシミュレーション。アクチンとミオシン間の静電相互作用のため、1 方向に偏ったブラウン運動が可能となる。

(2) アロステリック変形を解析する計算科学的方法を開発し、部分構造のアミノ酸残基間の多体相互作用を考慮した新しい粗視化モデルを開発した。アデニレートキナーゼを対象にして、アロステリック変形における協同性の起源、クラッキング機構の果たす役割など、アロステリック変形についての多くの新しい知見を得た。

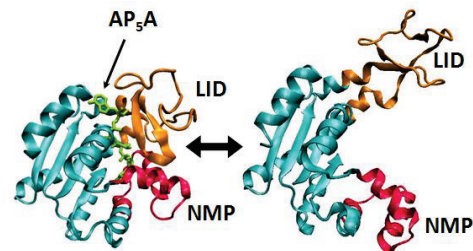


図2 アデニレートキナーゼのアロステリック構造転移。リガンドとしてヌクレオチド(図中では AP<sub>5</sub>A)が結合すると、アデニレートキナーゼはリガンドを包み込むように大きく構造変形する。

(3) アロステリック変形を解析する統計力学理論の開発を行い、NtrC, Ras, カルモジュリンなどの複数の蛋白質に適用し、構造の大きな特徴的な揺らぎの存在を示して、機能ファネル理論の有効性を確認した。

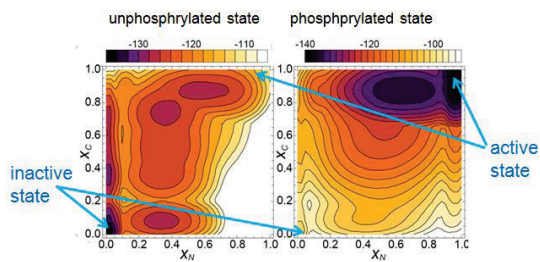


図3 NtrC タンパク質の構造変形の自由エネルギー面の計算結果。リン酸化されていない場合(左)、リン酸化されている場合(右)。横軸はアロステリック変形の度合い、縦軸はフォールディングの度合い。リン酸化されていないときでも、リン酸化後の構造が揺らぎとして現れる。

(4) 分子モーターの構造変形を分析するための立体構造予測理論を開発し、その予測能力を批判的に検証した。

(5) 蛋白質複合体の一連の構造変化が、ATP加水分解を伴った非平衡の駆動力により、一方方向へ進む過程を分析した。

(6) アクチンの重合による分子モーターとしての動作とその制御のモデルを構築し、細胞運動のダイナミクスにおけるアクチンダイナミクスを分析した。

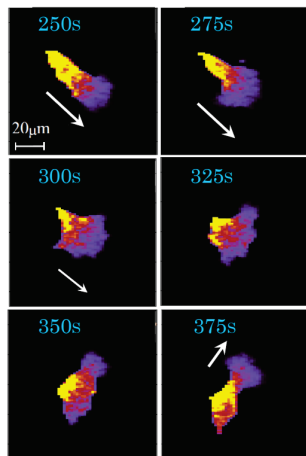


図4 細胞運動のシミュレーション

(7) 複数ドメインを持つ蛋白質の大規模変形について統計力学理論を展開し、構造変形における協同性の効果を明らかにして、機能ファンネル理論の基礎を検討した。

## 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14件)

① N. Tokuda, T. P. Terada, and M. Sasai,

Dynamical modeling of 3D genome organization in interphase budding yeast, *Biophys. J.* 査読有, Vol.102, No.2, 2012, pp.296-304, DOI: 10.1016/j.bpj.2011.12.005.

② H. Cetin, T. N. Sasaki, and M. Sasai, The fragment-based consistency score in model quality assessment for de novo prediction of protein structures, *Chem-Bio Informatics Journal*, 査読有, Vol.11, 2011, pp. 63-81.

③ J. Lee, J. Lee, T. N. Sasaki, M. Sasai, C. Seok, and J. Lee, *De novo* protein structure prediction by dynamic fragment assembly and conformational space annealing, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 査読有, Vol.79, No.8, 2011, pp.2403-2417, DOI: 10.1002/prot.23059.

④ K. Itoh and M. Sasai, Statistical mechanics of protein allostery: Roles of backbone and side-chain structural fluctuations, *J. Chem. Phys.* 査読有, Vol.134, No.12, 2011, pp.125102:1-18, DOI: 10.1063/1.3565025.

⑤ N. Tokuda, M. Sasai, and G. Chikenji, Roles of DNA looping in enhancer-blocking activity, *Biophys. J.* 査読有, Vol.100, No.1, 2011, pp.126-134, DOI: 10.1016/j.bpj.2010.11.016.

⑥ T. Nagai, T. P. Terada, and M. Sasai, Synchronization of circadian oscillation of phosphorylation level of KaiC *in vitro*, *Biophys. J.* 査読有, Vol.98, No.11, 2010, pp.2469-2477, DOI: 10.1016/j.bpj.2010.02.036.

⑦ K. Itoh and M. Sasai, Entropic mechanism of large fluctuation in allosteric transition, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, Vol.107, No.17, 2010, pp. 7775-7780, DOI: 10.1073/pnas.0912978107.

⑧ M. Takano, T. P. Terada, and M. Sasai, Unidirectional Brownian motion observed in an *in silico* single molecule experiment of an actomyosin motor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, Vol.107, No.17, 2010, pp.7769-7774, DOI: 10.1073/pnas.0911830107.

⑨ K. Itoh and M. Sasai, Multi-dimensional theory of protein folding, *J. Chem. Phys.* 査読有, Vol.130, No.14, 2009, pp.145104\_1-21, DOI: 10.1063/1.3097018.

⑩ S. I. Nishimura, M. Ueda, and M. Sasai, Cortical factor feedback model for cellular locomotion and cytofission, *PLoS Comp. Biol.* 査読有, Vol.5, No.3, 2009, pp.e1000310\_1-11, DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000310.

⑪ K. Eguchi, M. Yoda, T. P. Terada, and M. Sasai, Mechanism of robust circadian oscillation of KaiC phosphorylation *in vitro*, *Biophys. J.* 査読有, Vol.95, No.4, 2008,

- pp.1773-1784, DOI: 10.1529/biophysj.107.127555.
- ⑫ K. Itoh and M. Sasai, Cooperativity, connectivity, and folding pathways of multidomain proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, Vol.105, No.37, 2008, pp.13865-13870, DOI: 10.1073/pnas.0804512105.
- ⑬ T. N. Sasaki, H. Cetin, and M. Sasai, A coarse-grained Langevin molecular dynamics approach to de novo protein structure prediction, *Biochem. Biophys. Research Comm.* 査読有, Vol.369, No.2, 2008, pp.500-506, DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.02.048.
- ⑭ 笹井理生、ゆらぎと柔らかさの物理としての生物物理、日本物理学会誌、査読有、Vol.63, No.10, pp.810-811.
- [学会発表] (計 23 件)
- ① M. Sasai, Epigenetic switches and network transitions, 2012 March Meeting of the American Physical Society, Boston, 2012 年 2 月 28 日.
- ② 池尾真人、笹井理生、佐々木尚、寺田智樹、ミオシンVIのアクチンフィラメント上の運動の粗視化モデルによる自由エネルギー解析、2012 年生体運動研究合同班会議、筑波大学、2012 年 1 月 6 日.
- ③ K. Itoh and M. Sasai, Cooperativity and flexibility in protein allostery, The 11th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Seoul, Korea, 2011 年 10 月 6 日.
- ④ M. Sasai Biological networks: multiple scales and heterogeneities in switching dynamics, 第 49 回日本生物物理学会 兵庫県立大学, 2011 年 9 月 16 日.
- ⑤ M. Sasai, Statistical mechanical perspective of allosteric transition of proteins, The 1st KIAS Conference on Subcellular Dynamics, Seoul, Korea, 2011 年 7 月 25 日.
- ⑥ Tomoki P. Terada, Takahiro Yamashita, Shogo Yokota, Toru Kimura, Masaki Sasai, The chameleon model: a novel approach to conformational transitions of proteins, The 1st KIAS Conference on Subcellular Dynamics, Seoul, Korea, 2011 年 7 月 25 日.
- ⑦ M. Sasai, Biological networks: oscillations and transitions, International Workshop on "Multiscale Characterizations of Biological Systems: From Molecules to Networks", Nanjing Dongjiao State Guesthouse, China, 2011 年 6 月 2 日.
- ⑧ K. Itoh, M. Sasai, Intrinsic Disorder in Allosteric Transition of Proteins, 第 11 回日本蛋白質科学会 大阪 2011 年 6 月 6 日.
- ⑨ 笹井理生 計算生物学：分子から細胞そして個体へ 岡崎統合バイオサイエンスセンター10周年記念シンポジウム 岡崎コンファレンスセンター、2011 年 2 月 10 日.
- ⑩ K. Itoh and M. Sasai, Statistical mechanics of protein allostery: roles of back-bone and side-chain fluctuations, The 10th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Korea Institute for Advanced Study, Seoul, Korea, 2010 年 10 月 1 日.
- ⑪ M. Sasai, Anomalous Dynamics of Eukaryotic Cell Locomotion, Emergent behaviour of biomolecular ensembles and networks, Kavli Institute for Theoretical Physics China, Beijing, China, 2010 年 8 月 4 日.
- ⑫ M. Sasai, Synchronization and Noise in a Protein-Based Circadian Oscillator, Biological Networks – Principles and Dynamics, Kavli Institute for Theoretical Physics China, Beijing, China, 2010 年 7 月 27 日.
- ⑬ M. Sasai, Anomalous Dynamics of Eukaryotic Cell Locomotion, Dynamic Days Asia Pacific 6, University of New South Wales, Sydney, Australia, 2010 年 7 月 13 日.
- ⑭ M. Sasai, Molecular Mechanism of A Protein-Based Circadian Clock, Fifty Years of Biophysics Research at Nagoya University, Nagoya University, 2010 年 3 月 13 日.
- ⑮ 笹井理生, 熱揺らぎのなかで働く分子マシンとしての蛋白質 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋市吹上ホール, 2009 年 11 月 30 日.
- ⑯ M. Sasai, Harnessing the thermal noise with molecular machines, The 9th KIAS-SNU Conference on Protein Structure and Function, Seoul National University, Seoul, Korea, 2009 年 10 月 9 日.
- ⑰ M. Sasai, Unidirectional Brownian motion observed in an in silico single molecule experiment of an actomyosin motor, Single molecule experiments and theories, International Workshop on Single Molecule Dynamics and Spectroscopy, Chung-Ang University Seoul, Korea, 2009 年 10 月 7 日.
- ⑱ M. Sasai, A coarse-grained MD approach for de novo prediction of protein structure, Asian Workshop for Protein Structure Prediction Methodology, Korea Institute for Advanced Study, Seoul, Korea, 2009 年 9 月 19 日.
- ⑲ M. Sasai, Stochastic gene expression in developing embryos, International Symposium on Reaction Dynamics of Many-body Chemical Systems, Kyoto, 2009 年 6 月 22 日.
- ⑳ M. Sasai, Energy landscape theory of protein allostery, Korea-Japan seminars on

biomolecular sciences - Experiments and simulations, Seoul, Korea, 2009年2月27日.

- ⑳ 笹井理生, タンパク質のダイナミックな構造と機能に果たす水の役割, 日本生物物理学会年会, 福岡国際会議場, 2008年12月3日.
- ㉑ M. Sasai, Noise and coherent dynamics in biomolecular networks, Noise in complex systems: From molecular dynamics to stochastic modeling WORKSHOP 2008, in KAIST Daejeon, Korea, 2008年10月7日.
- ㉒ M. Sasai, Consistency among local and global structures in protein folding and structure prediction, The 8th KIAS-Yonsei Conference on Protein Structure and Function, Yonsei University, Seoul, Korea, 2008年10月10日.

[図書] (計5件)

- ① 笹井理生, 論文にみる最重要概念と革新実験データ, 巨大分子系の計算化学, 日本化学会編 (CSJ カレントレビュー第8巻) (化学同人 2012) pp.38-41.
- ② 笹井理生, 伊藤一仁, 佐々木尚, タンパク質の論理, 超多自由度系の新しい科学, 笹井理生編, (計算科学講座第10巻) (共立出版 2010) pp.181-216.
- ③ 笹井理生, 計算科学の考え方, 超多自由度系の新しい科学, 笹井理生編, (計算科学講座第10巻) (共立出版 2010) pp.9-18.
- ④ 笹井理生, 蛋白質の柔らかなダイナミクス (培風館 2008) pp.1-192.
- ⑤ ロブ・フィリップス他著, 笹井理生, 伊藤一仁, 千見寺浄慈, 寺田智樹訳, 細胞の物理生物学 (共立出版, 2011) pp.1-957.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

笹井 理生 (SASAI MASAKI)  
名古屋大学・工学研究科・教授  
研究者番号: 30178628

### (2) 研究分担者なし

### (3) 連携研究者なし