

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25291035

研究課題名(和文) 蛋白質水和理論の新機軸：自己組織化および秩序化過程の統一的解明

研究課題名(英文) New Paradigm for Theory of Protein Hydration: Elucidation of Biological Self-Assembly Processes in a Unified Manner

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：生体分子の自己組織化によって形成された構造は、高圧をかけると崩れる(例：蛋白質の圧力変性、アクチンフィラメントのモノマーへの解離、アミロイド繊維の崩壊)。また、低温では構造形成力が弱まる(例：蛋白質の低温変性、ミオシンとアクチンの結合力の低下)。これらの実験事実を支配するのが、水の並進配置エントロピー効果の生体分子-水分子間多体相関成分であることを示した。蛋白質の折り畳み・種々の変性・共溶媒の添加効果を同じ理論的枠組みで説明できた。種々のタイプの分子認識を統一的に理解可能とした。ABCトランスポーターによる多剤排出の物理を明確にした。ATP駆動蛋白質の機能発現機構に対し、斬新な考え方を示した。

研究成果の概要(英文)：The structures formed by the self-assembly of biomolecules are collapsed by applying high pressures (e.g., pressure denaturation of a protein, dissociation of filamentous actin (F-actin) into monomers, and destruction of amyloid fibril). The power of the formation becomes weaker at low temperatures (e.g., cold denaturation of a protein and weakened binding of myosin to F-actin). We have shown the following: These experimental facts are governed by the biomolecule-water many-body correlation component of the effect of configurational entropy of water; protein folding, various types of denaturation, and cosolvent effects on protein stability can be elucidated in a unified manner within the same theoretical framework; the diverse molecular recognitions share the same mechanism; physics of the multidrug efflux by ABC transporter is explainable; and a novel concept can be conferred upon the mechanism of functional expression of ATP-driven proteins.

研究分野：理論生物物理学

キーワード：自己組織化 構造形成 フォールディング 分子認識 ATP駆動タンパク質 水和 エントロピー 積分方程式論

1. 研究開始当初の背景

(1) 生体分子の自己組織化によって形成された構造は、高圧をかけると崩れる(例: 蛋白質の圧力変性, アクチンフィラメント(F-actin)のモノマーへの解離, アミロイド繊維の崩壊)。また、低温では構造形成力が弱まる(例: 蛋白質の低温変性, ミオシンとF-actinの結合力の低下)。これらの実験事実は、種々の過程の横断的共通性の存在を物語っており、「ある特定の因子」が支配的に働くことを示唆する。しかし、それが何であるかは未だ明確にはなっていない。

(2) 生体分子の自己組織化において、一般に、生体分子内や生体分子間の水素結合形成によるエネルギー低下が強調される。しかし、これらは、水中では生体分子-水分子間の水素結合の切断によるエネルギー上昇を伴う。これらの低下と上昇が互いにキャンセルされてしまうことが多い。荷電部位間の静電引力相互作用も頻繁に強調される。それらは、真空中では極めて強くかつ長距離性であるが、塩(生体内では0.15M-NaCl)水溶液中では水分子およびカウンターイオン(特に後者)による遮蔽効果により、桁違いに弱くかつ短距離性になってしまう。以上の因子は、(1)で述べた「ある特定の因子」にはなり難い。

2. 研究の目的

(1) 生体系における種々の自己組織化(蛋白質の折り畳み, 蛋白質の高次構造形成など)や秩序化過程(分子認識, ATP駆動蛋白質の機能発現の基本となる一方向移動や一方向回転などをこう呼ぶことにする)に対し、種々の過程に共通して見られる温度・圧力・共溶媒(糖や尿素など)の効果に着目し、それらを横断的に説明できる新しい理論体系を構築する。水の並進配置エントロピーの効果、なかでも生体分子-水分子間の多体相関からの寄与(自己組織化に伴う水分子間の混み合いの変化)を軸として、生命現象発現における水の役割を統計熱力学的に新しい切り口で明らかにする。

(2) 「研究開始当初の背景」の(1)で述べた「ある特定の因子」が「自己組織化に伴う水分子間の混み合いの緩和」であるという独自の考えに基づき、以下の例題と取り組む: 蛋白質の折り畳みと変性のメカニズムの統一的解明; 種々のタイプの分子認識機構の統一的理解; ABCトランスポーターやTolCによる多剤排出(種々の特性および大きさを持つ溶質を排出できる)機構の解明; AcrBの機能的構造回転のメカニズム; ATP駆動蛋白質の機能発現機構。これらの例題を横断的に捉え、生体系における種々の自己組織化・秩序化過程を統一的に説明可能とし、生物物理学における新機軸を確立する。

3. 研究の方法

(1) 研究対象や解析の目的に応じて種々の

モデルおよび解析手法を使い分ける。ただし、溶媒は常に大きさを持つ粒子の集団として扱う。そうしないと溶媒の並進配置エントロピーの効果を考慮できない。蛋白質やその複合体に対しては、全体的な形状(円筒状など)のみを問題にする場合と複雑な多原子構造を原子レベルで考慮する場合とがある。いずれの課題においても、流体用の精密な統計力学理論である積分方程式論を主軸とする。

(2) 溶媒の並進配置エントロピーの効果のみでどこまで説明できるかを問題にする場合、溶媒は単成分または多成分の剛体球系、生体分子を剛体あるいは剛体球の結合体としてモデル化する。(i) 蛋白質立体構造安定性に及ぼす共溶媒の効果, (ii) TolCやABCトランスポーターに見られる多剤排出の物理などの課題が該当する。(i)では形態計測学(複雑な物の形を定量的に扱う学問)的アプローチ(R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, Phys. Rev. Lett. **97**, 078101 (2006); R. Kodama, R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, J. Chem. Phys. **135**, 045103 (2011))と積分方程式論の統合型を用いて蛋白質の溶媒和エントロピーを計算する。(ii)では3次元積分方程式論(M. Kinoshita, J. Chem. Phys. **116**, 3493 (2002))を用いることにより、溶質と蛋白質複合体のペア間に溶媒の効果によって形成されるエントロピーポテンシャルの空間分布を計算する。

(3) 水和エントロピーの効果と他の因子(水和エネルギーや生体分子間の相互作用エネルギー)の効果とを定量的に比較する場合、水および生体分子の両方に対して全原子モデルを採用する。生体分子同士の間・分子認識の統一的理解なる課題が該当する。水和エントロピーは形態計測学的アプローチと分子性流体用積分方程式論(M. Kinoshita, J. Chem. Phys. **128**, 024507 (2008))の統合型を用いて計算する。分子性流体用積分方程式論では、水分子には多極子モデルを適用する。水和エネルギーは3次元RISM理論(A. Kovalenko and F. Hirata, J. Chem. Phys. **110**, 10095 (1999))を用いて計算する。

(4) 分子性流体用積分方程式論では、水分子間の相互作用と相関が2つの分子の中心間距離および各々の分子の方向の多変数関数としてまともに扱われる。疎水性水和および親水性水和の基本特性を的確に再現できる貴重な理論である。その反面、数学的複雑さのため、原子レベルで扱った蛋白質や蛋白質複合体に直接適用することが難しいという問題が生じる。木下らは、形態計測学的アプローチと組み合わせることにより、蛋白質や蛋白質複合体の水和エントロピーの計算を可能にした。残念ながら水和エネルギーの計算は困難であるため、3次元RISM理論を用いる。

(5) 形態計測学的アプローチでは、蛋白質の立体構造を4個の形態指標(排除容積, 露出表面積, 平均曲率およびガウス曲率の積分値)で代表させる。このアプローチには2つ

大きな利点がある。1 つ目は、水に対して分子モデルを用いる場合でさえ、複雑な多原子構造を有する大きな蛋白質の水和エントロピー（蛋白質を剛体球の結合体としてモデル化した場合には水和エネルギーおよび水和自由エネルギー）を超高速で計算できること。2 つ目は、水和エントロピーを種々の成分に分解し、水のエントロピー効果に対して物理的に意味のある議論が可能になること。

4. 研究成果

(1) 蛋白質の折り畳みと変性のメカニズムの統一的理解（「5. 主な発表論文等〔雑誌論文〕」の および ）

定容過程で溶媒中に溶質を挿入すると、溶媒分子の中心が入れない空間（排除空間）が生成し、溶媒分子の並進移動に利用可能な空間（配位空間）の容積が減少する。同時に、溶質近傍において溶媒の微視的構造形成が起こる。個々の溶媒分子の存在も、他の溶媒分子に対する排除空間を生成しており、この意味で溶媒分子間に相関（溶媒分子間の混み合い）が存在する。溶質の挿入に伴う溶媒和エントロピーは、積分方程式論を用いて、溶質 - 溶媒間の 2 体相関成分と多体相関成分に分けて考えることができる。2 体相関成分は個々の溶媒分子が受ける影響を表し、多体相関成分は溶媒分子間の相関が受ける影響を表す。両成分は、形態計測学的アプローチを用いて、排除容積項（項 1）と露出表面積項（項 2）に分割することができる。項 2 には溶質近傍の溶媒分子が寄与するが、項 1 にはそれ以外の系内のあらゆる溶媒分子が寄与する。項 1 は排除容積に、項 2 は露出表面積にほぼ比例する。2 体相関成分および多体相関成分の項 1 と項 2 の物理的意味は以下の通りである：「 2 体相関成分の項 1... 配位空間の減少が系内の個々の溶媒分子に及ぼす影響； 2 体相関成分の項 2... 溶質近傍における個々の溶媒分子が受ける配位・配向の変化； 多体相関成分の項 1... 配位空間の減少に起因する系内溶媒分子間の混み合いの深刻化； 多体相関成分の項 2... 溶質近傍における溶媒分子間の構造形成 + 「溶質近傍における個々の溶媒分子が受ける配位・配向の変化や溶媒分子間の構造形成」に起因する系内溶媒分子の混み合いの緩和。溶媒が水の場合、溶質の挿入は水分子の回転の自由度を低下させるが、低下を被るのは溶質近傍の水分子のみであり、水和エントロピーの回転成分（回転エントロピーの低下）は項 1 を持たない。また、水和エントロピーの並進成分（並進エントロピーの低下）よりも遥かに小さい。～ は負であるが、 が正であることは注目に値する。無論、～ の総和は負である。朝倉 - 大沢理論は のみを考慮している。

蛋白質の折り畳みに伴う、 ΔS 、 ΔH 、 ΔG の変化を各々 ΔS 、 ΔH 、 ΔG で表す。 ΔS 、 ΔH 、 ΔG の絶対値や符号および温度・圧力依存性を詳細に調べることにより、蛋白

質の折り畳みと変性のメカニズムを統一的に解明することができる（ただし、低温変性に対しては、疎水性水和のエネルギーをも同様に分解して議論に含めなければならない）。まず、2 体相関成分よりも多体相関成分の方が遥かに大きい。折り畳みによって水のエントロピーが大幅に増加するが、 ΔS がその増加に最も大きく寄与する。すなわち、折り畳みによって系内水分子間の混み合いが緩和されることが折り畳みの推進力になる。低温になるとこの推進力が弱まり、折り畳みを妨げる他の因子に屈することになり、蛋白質は変性する。ところで、蛋白質は水分子に対して排除空間を生成している。個々の水分子も他の水分子に対する排除空間を生成している。蛋白質に水分子が接触すると、両者の排除空間に重なりが生じ、重なり部分だけ他の水分子に対する排除空間が減少する。高圧下では、系内水分子の混み合いが深刻であり、排除容積を小さく保ちつつ、できる限り数多くの水分子を蛋白質に接触させるために露出表面積を大きくする必要が生じる。蛋白質に接触している水分子のエントロピーは低下するが、他の水分子のエントロピーは増加する。高圧下では後者が重要となり、天然構造と比べて排除容積がやや大きいだけで露出表面積が遥かに大きい Swelling 構造に転移する。高圧下ではその方が水のエントロピー的に有利になるのである。「疎水性」の本当の物理起源は、溶質 - 水間の多体相関成分の排除容積依存項である。溶質近傍における水の構造化が物理起源とする従来の概念では、低温では構造化が強くなるために疎水性は強まるはずであり、多くの実験結果を説明できない。

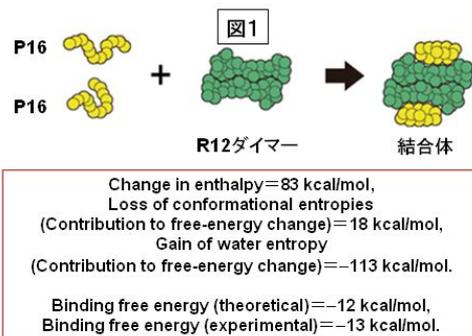
(2) 蛋白質立体構造安定性に及ぼす共溶媒の効果（「5. 主な発表論文等〔雑誌論文〕」の および ）

アミノ酸置換や、種々の糖・種々の 1 価および多価アルコール・尿素などの共溶媒を添加した場合に生じる熱変性温度 T_m の上昇あるいは低下の度合いを予測できる統計熱力学理論を構築し、実験データとの比較によってその有効性を検証した。蛋白質熱安定性の指標 ΔS を提案した。同じモル濃度で比較すると、糖では T_m は上昇し、その度合いはグルコースよりもスクロースの方が大きい。1 価アルコールでは T_m は低下し、その度合いはアルコール分子中の疎水基が大きいほど大きい。多価アルコールでは T_m は上昇し、その度合いはアルコール分子中の OH 基の数が多ほど大きい。これらの実験事実を水と共溶媒の並進配置エントロピーに特化した理論によってすべて説明できた。理論的に計算した ΔS と実験で得られた ΔT_m (Δ は共溶媒の添加による変化を表す) は定量的に良好な相関関係にあった。やはり、蛋白質 - 水分子・共溶媒分子間の多体相関成分の排除容積依存項が最も重要であることが分かった。

一方、尿素や塩酸 Guanidinium による T_m の

低下は、上記の理論では説明できない。これらの共溶媒（蛋白質の近傍に濃縮される）に対しては、共溶媒 - 蛋白質間のファン・デル・ワールス引力相互作用エネルギーが重要な役割を果たしていることを論じた。糖・種々の1価および多価アルコールと尿素・塩酸グアニジンの違いは、後者が蛋白質近傍に高濃縮されるのに対し、前者はされないという点である。水と共溶媒の並進配置エントロピーと共溶媒 - 蛋白質間のファン・デル・ワールス引力相互作用エネルギーの2つの因子を考慮することにより、あらゆる共溶媒の添加効果を統一的に説明できると考えられる。（3）生体分子同士の結合・分子認識の統一的理解（「5．主な発表論文等〔雑誌論文〕」の、および）

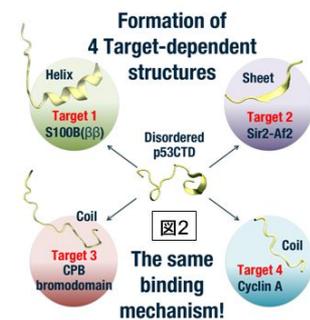
分子認識には、大きく分けて2通りのタイプがある。1つ目は、最初から両者の形に相補性がある鍵と鍵穴モデルや、互いに形を多少変化させることによって形の相補性を獲得する適合融合モデルで記述できる、両者の立体構造があまり変化しないタイプである。2つ目は、変性蛋白質が標的蛋白質の立体構造に合わせて立体構造を形成しつつそれと結合する場合のように、一方の立体構造が大きく変化するタイプである。一般に、これらのメカニズムは異なるとされているが、実は本質的に同じであることを示した。例題として扱ったのは、RNA-アプタマーとプリオン蛋白質の部分ペプチド P16、p53CTD と4通りの異なる標的分子、ミオシンとアクチンの強結合である。



R12 と呼ばれる RNA-アプタマーと P16 の結合に伴う熱力学量変化の計算結果を図1に纏める。p53CTD は、数多くの標的分子と結合する。しかも、標的分子に合わせて種々の異なる立体構造を取り得る。標的分子によって、結合のメカニズムは異なると思われている。我々は、図2に示す4通りの結合に対して熱力学量の変化を計算し、すべてが水のエンタロピー利得で駆動される同じメカニズムを有することを示した。

天然変性蛋白質は単独では変性状態にあるが、標的分子に合わせて特定の立体構造を形成しつつそれと結合する。天然変性蛋白質のこのような分子認識機構は一般に特別扱いされているが、実は鍵と鍵穴モデルや適合融合モデルで記述できる分子認識機構と基本的に同じメカニズムを共有することを示

した。2つの生体分子が結合すると、(a)生体分子間の静電引力相互作用の獲得によるエネルギー低下、(b)生体分子間のファン・デル・ワールス引力相互作用の獲得によるエネルギー低下、(c)生体分子 - 水分子間の静電引力相互作用の喪失によるエネルギー上昇、(d)生体分子 - 水分子間のファン・デル・ワールス引力相互作用の喪失によるエネルギー上昇、(e)水のエンタロピー利得、(f)生体分子の構造エントロピー損失が生じる。(c)と(d)には水構造の再構成に起因するエネルギー変化も含まれる。2つの生体分子が結合できる場合、(a)と(c)、(b)と(d)は互いに相殺し合う傾向にあるが、(c)は(a)よりもやや大きく、(b)は(d)よりもやや大きい。結果として、全エネルギー変化(a)+(b)+(c)+(d)はほとんどゼロとなる。一方、(e)は(f)を凌駕し、結合の駆動力となる。(e)が駆動力となる場合、2つの生体分子の「形の相補性」が極めて重要になる。2つの生体分子が結合できないのは、(e)を十分に大きくしようと



すると(a)+(c)が大きな正の値になってしまう場合にみられる。すなわち、2つの生体分子の結合部位の「電荷の相補性」も重要となる。これら2つの相補性がうまく実現できる場合にのみ、2つの生体分子は結合できる。「水のエンタロピー利得」をもたらす主要因子は、結合に伴って水分子の並進移動に利用可能な空間の体積が増加し、水分子間の混み合いが緩和されることである。

(4) TolC や ABC トランスポーターに見られる多剤排出の物理（「5．主な発表論文等〔雑誌論文〕」の）

次に、ABC トランスポーターによる細胞からの毒性溶質の排斥について考える。挿入と放出という一見正反対のプロセスが同じシステム内で引き続いて起こる。挿入の後、ATP が結合して立体構造を変化させていることがポイントと思われる。既に得られている、単純化モデルに基づく興味深い解析結果を紹介しておく。上の部分は膜中にある。膜中においても、脂質二重層を形成するリン脂質の炭化水素鎖は激しく熱運動をしている。細胞膜を構成する炭化水素基の並進移動に起因するエンタロピー効果が確かに存在する。

円筒状の容器と球状の溶質を考え、両者の間に誘起されるエンタロピーポテンシャルの空間分布を計算した結果の例が図3（断面図）に示されている。バルクの水中ではポテンシャル場は形成されないが、ナノメートルスケールの空間内の水中では、水分子直径 d_s を周期として大きな正・負の値をとって変化するポテンシャル場が形成される。図で、色

が赤くなるほどポテンシャルは正の大きな値をとり、青くなるほどポテンシャルは負の大きな値をとる。溶質は、例えば白破線で示した経路を通して吸い込まれるように容器内に挿入され、容器表面に接触することなくキャビティー内で安定化される。

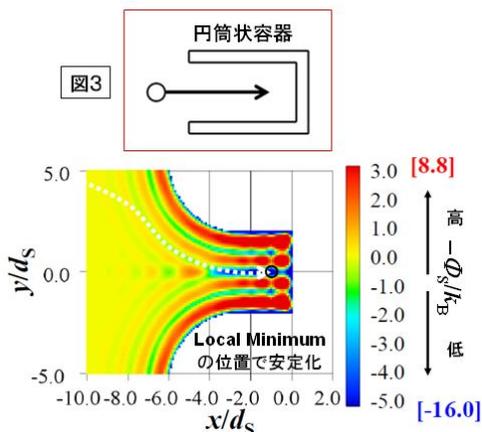
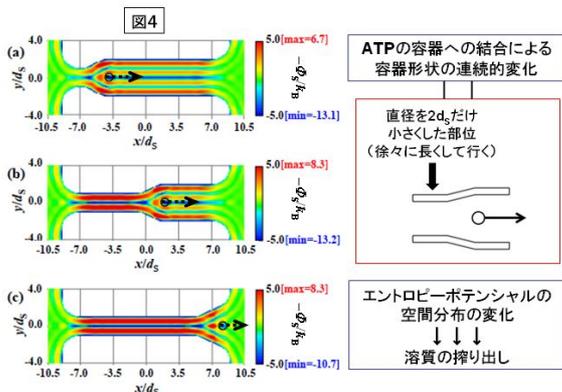


図4に説明するように、溶質が容器内に挿入された後、ATPの容器への結合によって容器形状を連続的に変化させ（この例では、出口側を開き、入り口側に直径を $2d_s$ だけ小さくした部位を作りその長さを徐々に長くして行くことにより）、エントロピーポテンシャルの空間分布を変化させて溶質を搾り出すことができる。この容器形状の連続的な変化は、ABCトランスポーターのInward FacingからOutward Facingへの連続的な変化を模擬している。さらに、エントロピーポテンシャル場を利用すれば、様々な大きさや性質を持つ溶質の出し入れが出来る「多剤性」が確保できること、逆にエンタルピー的な因子が支配的であれば溶質の性質に依存して出し入れが出来たり出来なかつたりすることも分かった。



(5) AcrBの機能的構造回転のメカニズム (「5. 主な発表論文等〔雑誌論文〕」の)

AcrBの研究においては、以下を示すことができた：プロトマー単独で薬剤排出を行うための構造変化を行うことは、途中で $300k_B T$ (k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度)もの水の自由エネルギー上昇が要求されるため事実上不可能である；しかし、トリマーでは、あるプロトマーの構造変化が水の自由エネルギー上昇を伴うとき、他の2つのプロトマ

ーがそれを打ち消すように構造変化をすることにより、水の自由エネルギーをほぼ一定に保つことができる；その結果、1サイクルでたった1個のプロトンを高濃度側から低濃度側に移行させることにより(僅か $8k_B T$ の自由エネルギー低下で)、薬剤排出のための構造変化が可能となる。この成果は、生物の高効率なエネルギー利用システムの理解を深めるものである。

(6) ATP駆動蛋白質の機能発現機構の統一的理解 (「5. 主な発表論文等〔図書〕」の)

蛋白質の折り畳みは、折り畳みの前後で蛋白質の立体構造が明確に異なるので、自由エネルギーの低下を伴う自然変化として容易に理解できる。しかし、AcrBや F_1 -ATPaseでは、回転の前後で蛋白質複合体の立体構造は全く同じである。それなのに何故一方向の回転が起こるのか。我々の考えでは、回転が「水溶液中におけるATPの加水分解」や「プロトンの高濃度側から低濃度側への移行」という不可逆過程とカップルしているからである。前者では、分解反応が起こるためには触媒である F_1 -ATPaseの β -サブユニットが必要である。ATPが β -サブユニットに結合し、加水分解を受け、分解生成物であるADPと P_i が β -サブユニットから解離する。後者では、高濃度側と低濃度側は接触しておらず(AcrBが介在しており)、プロトンのAcrBへの結合とそれからの解離を通してのみプロトンの移行が実現する。一方、水溶液中においてATP、ADP、 P_i の濃度が平衡に達しているときやプロトン濃度が両側で同じである場合には、システム全体が平衡状態にあるため、一方向回転は起こり得ない。両方向に回転が起こって基準位置からゆらぐだけになるものと考えられる。

(7) 膜蛋白質の立体構造安定性を向上させるアミノ酸置換の予測 (「5. 主な発表論文等〔雑誌論文〕」の)

G蛋白質共役型受容体(GPCR)は非常に重要な創薬のターゲットであるが、立体構造が崩れ易いため、X線結晶解析によって立体構造を決定することや薬剤との結合特性を調べることが困難である。GPCRの立体構造形成に伴う自由エネルギー低下 ΔG の理論計算を構築し、その立体構造安定性が向上する(すなわち、 $|\Delta G|$ が大きくなる)アミノ酸置換を予測する有効な方法を開発した。

5. 主な発表論文等
(研究代表者には下線)

〔雑誌論文〕(計22件)

H. Oshima, T. Hayashi, and M. Kinoshita, "Statistical Thermodynamics for Actin-Myosin Binding: The Crucial Importance of Hydration Effects", *Biophys. J.*, in press. 査読有り.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2016.05.006>

S. Yasuda, Y. Kajiwara, Y. Takamuku, N. Suzuki, T. Murata, and M. Kinoshita,

“Identification of Thermostabilizing Mutations for Membrane Proteins: Rapid Method Based on Statistical Thermodynamics”, *J. Phys. Chem. B*, **120**, 3833-3843 (2016). 査読有り .

DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b01405

S. Murakami and M. Kinoshita, “Effects of Monohydric Alcohols and Polyols on the Thermal Stability of a Protein”, *J. Chem. Phys.* **144**, 125105(1-10) (2016). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4944680

T. Hayashi, H. Oshima, S. Yasuda, and M. Kinoshita, “Mechanism of One-to-Many Molecular Recognition Accompanying Target-Dependent Structure Formation: For the Tumor Suppressor p53 Protein as an Example”, *J. Phys. Chem. B*, **119**, 14120-14129 (2015). 査読有り .

DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b08513

S. Murakami, H. Oshima, T. Hayashi, and M. Kinoshita, “On the Physics of Thermal-Stability Changes upon Mutations of a Protein”, *J. Chem. Phys.* **143**, 125102(1-13) (2015). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4931814

H. Oshima and M. Kinoshita, “Essential Roles of Protein-Solvent Many-Body Correlation in Solvent-Entropy Effect on Protein Folding and Denaturation: Comparison between Hard-Sphere Solvent and Water”, *J. Chem. Phys.* **142**, 145103(1-15) (2015). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4917075

H. Mishima, H. Oshima, S. Yasuda, and M. Kinoshita, “Statistical Thermodynamics for Functionally Rotating Mechanism of the Multidrug Efflux Transporter AcrB”, *J. Phys. Chem. B*, **119**, 3423-3433 (2015). 査読有り .

DOI: 10.1021/jp5120724

S. Yasuda, T. Hayashi, and M. Kinoshita, “Physical Origins of the High Structural Stability of CLN025 with Only Ten Residues”, *J. Chem. Phys.* **141**, 105103(1-14) (2014). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4894753

T. Hayashi, H. Oshima, T. Mashima, T. Nagata, M. Katahira, and M. Kinoshita, “Binding of an RNA Aptamer and a Partial Peptide of a Prion Protein: Crucial Importance of Water Entropy in Molecular Recognition”, *Nucleic Acids Res.* **42**, 6861-6875 (2014). 査読有り .

DOI: 10.1093/nar/gku382

M. Kinoshita, “A New Theoretical Approach to Biological Self-Assembly”, *Biophys. Rev.* **5**, 283-293 (2013). 査読有り .

DOI: 10.1007/s12551-012-0072-0

H. Mishima, H. Oshima, S. Yasuda, K. Amano, and M. Kinoshita, “On the Physics of Multidrug Efflux through a Biomolecular Complex”, *J. Chem. Phys.* **139**, 205102(1-13) (2013). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4832896

H. Oshima and M. Kinoshita, “Effects of Sugars on the Thermal Stability of a Protein”, *J.*

Chem. Phys. **138**, 245101(1-12) (2013). 査読有り .

DOI: 10.1063/1.4811287

〔学会発表〕(計57件)

木下正弘, 「水溶液中における生体分子自己組織化過程の統計熱力学」, Plasma Conference 2014, シンポジウム3: 「物質間境界層に於ける環境適応機能の発現」, 招待講演, 朱鷺メッセ, 2014年11月18-20日 .

M. Kinoshita, “Crucial Importance of Translational Displacement of Water Molecules in Biological Self-Assembly”, Nagoya Symposium on Depletion Forces: Celebrating the 60th Anniversary of the Asakura-Oosawa Theory, Invited Talk, Nagoya University, March 14-15, 2014.

M. Kinoshita, “Structural Stability of Proteins in Aqueous and Nonpolar Environments”, The 13th KIAS Conference on Protein Structure and Function, Korea Institute for Advanced Study, Invited Talk, Korea, October 25-28, 2013.

木下正弘, 「疎水性の本当の物理起源について」, 第62回高分子討論会, 特定テーマ「大気・水・土壌等の改質と浄化に活躍する高分子・水・界面の科学」, 依頼講演, 金沢大学, 2013年9月11-13日 .

木下正弘, 「生体系における自己組織化およびATP駆動蛋白質機能発現の統一的理解」, 新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」終了公開シンポジウム, 招待講演, KKRホテル東京, 2013年5月22日 .

〔図書〕(計1件)

M. Kinoshita, “Mechanism of Functional Expression of the Molecular Machine”, Springer, in press.

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称: 膜タンパク質の熱安定化変異体予測装置, 熱安定化変異体予測方法, および, プログラム

発明者: 村田武士, 木下正弘, 安田賢司, 高橋勇樹, 水谷健二, 鈴木七緒, 梶原佑太

権利者: 同上

種類: 国際特許

番号: PCT/JP2015/068277

出願年月日: 平成27年6月24日

国内外の別: 国外

〔その他〕ホームページ:

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

6. 研究組織

(1) 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