

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 25 年 6 月 3 日現在

機関番号: 34315

研究種目: 新学術領域

研究期間: 2008 ~ 2012

課題番号: 20107008

研究課題名(和文) 生体分子および溶媒の構造揺らぎと共役した機能発現過程の理論的解明

研究課題名(英文) Theoretical Study on Conjugated Dynamics of Protein and Solvent

研究代表者

平田 文男(HIRATA FUMIO)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号: 90218785

研究成果の概要 (和文):

本研究では蛋白質の構造揺らぎと共役した分子認識過程を記述する理論を構築することを目的として、以下に列記する4つのサブ課題に関して研究を遂行し、当初の研究計画を成功裏に達成した。1. 分子認識の統計力学理論(平衡論)の構築、2. 分子認識の統計力学理論(平衡論)の「知的創薬」への応用、3. 3D-RISM/RISM 理論と分子動力学シミュレーションの結合による自由エネルギー曲面上での蛋白質構造ダイナミクス理論の構築。4. 3D-RISM/RISM理論と一般化ランジェヴァン理論の結合に基づく、「蛋白質構造揺らぎ」理論の提案。

研究成果の概要 (英文):

The research program which aims to construct a theory to describe the molecular recognition process correlated with the structural fluctuation of protein was carried out along the four subjects listed below, and the goal of the research program was successfully achieved.

1. Statistical mechanics theory of molecular recognition (Equilibrium theory)
2. Application of the statistical mechanics of molecular recognition to "drug design"
3. Quasi dynamics of protein in solution based on the 3D-RISM and the molecular dynamics simulation
4. A new theory for structural fluctuation of protein, created by combining the 3D-RISM/RISM with the generalized Langevin theories

交付決定額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2009 年度	11,200,000	3,336,000	14,560,000
2010 年度	12,300,000	3,690,000	15,990,000
2011 年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
2012 年度	12,700,000	3,810,000	16,510,000
総計	55,400,000	16,620,000	72,020,000

研究分野: 理論化学物理

科研費の分科・細目: 生物学・生物物理学

キーワード: 3D-RISM/RISM, 蛋白質構造揺らぎ, 分子認識, 自由エネルギー, 一般化ランジェヴァン理論, 分散・共分散行列, 知的創薬, 化合物スクリーニング

1. 研究開始当初の背景

酵素反応やイオンチャネルなど蛋白質の機能発現や「知的創薬」において、基質分子（あるいは薬剤化合物）を蛋白内に取り込む過程（分子認識）が重要であるが、このプロセスは単に「鍵と鍵孔」のような機械的な適合過程ではない。分認識過程に蛋白質の平衡構造周りの時間的・空間的揺らぎが関わっていることは共通認識になりつつある。さらに、蛋白質の構造揺らぎはその周りの溶液の濃度（密度）揺らぎと密接な相関をもっていることも自明である。

このように、蛋白質の構造揺らぎと共役した分子認識は生命科学や創薬において極めて重要な問題であるにも関わらず、本研究の開始時まで、このプロセスを記述する理論は提案されていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は「蛋白質の構造揺らぎと共役した分子認識過程を記述する理論」を構築することにある。

3. 研究の方法

本研究では、理論化学物理分野3つの方法を組み合わせることにより新しい理論・方法論を構築してきた。その第一は、代表者自身が開発してきた3D-RISM/RISM理論である。この理論により蛋白質の周りの水分子やイオンの分布を求めることができ、また、その情報から蛋白質の溶媒和自由エネルギーを評価することができる。第二の方法は、これも代表者自身が開発してきた相互作用点モデルに基づく溶液の一般化ランジェヴァン理論である。この方法により、溶液内の蛋白質構造や溶液密度の時間発展を求めることができる。第三の方法は分子動力学法である。

4. 研究成果

(1) 分子認識の統計力学理論（平衡論）の構築

我々は本領域に先行して実施された特定領域「水と生体分子」において、リゾチーム活性部位（空孔）内に結合した水分子を、3D-RISM/RISM理論に基づいて、理論的に「検出」することに成功した。これは統計力学の歴史に新しい一歩を切り開く画期的な成果であった。本サブ課題ではこの方法をイオンやその他のリガンドを含む水溶液系に拡張し、酵素や分子チャネルを含む様々なターゲット蛋白質に対するリガンドの結合親和力を解析し、そのことにより、3D-RISM/RISM理論を分子認識の統計力学（平衡論）として確立した。（実際、この理論はAMBERなどスタンダードな分子計算科学アプリケーションパッケージに組み込まれ、蛋白質機能の研究に貢献しつつある。）

(1-A)蛋白質（リゾチーム）とその変異体による選択的イオン結合の解析、(1-B)蛋白質（リゾチーム）による希ガス分子の選択的結合の解析、(1-C)蛋白質（ユビキチン）の圧力変成の前期過程における水分子の侵入機構の解明、(1-D)水チャネル（アクアポリン）の水、プロトン、イオン、小分子の透過機構の解明、(1-E)ミオグロビンからの一酸化炭素分子の解離経路の解明、(1-F)酵素反応（加水分解）における反応中間体としての水分子の同定、(1-G)DNAのB-Z転移に対する塩効果の解析、(1-H)テロメアの構造安定性に対する塩効果の解析。

(2) 分子認識の統計力学理論（平衡論）の「創薬」への応用

本サブ課題では、上で確立した分子認識の統計力学理論を、“化合物スクリーニング”に応用し、“in-silico分子設計”における新しい方法論を発信した。

(2-A)鳥インフルエンザウイルスのターゲット蛋白質であるM2チャネルのプロトン透過機構の解明、(2-B)「リガンドのフラグメント化に基づく分子設計」への3D-RISM/RISM理論の適用、(2-C)新規の3D-RISM方程式(uu-3D-RISM)によるアスピリンのスクリーニング。本研究では3D-RISM理論がアスピリンの構造異性体（プロトン解離状態、幾何形状）を識別する能力をもつことを証明した。

(3) 3D-RISM/RISM理論と分子動力学シミュレーションの結合による自由エネルギー曲面上での蛋白質構造ダイナミクス理論の構築

本サブ課題では、3D-RISM/RISM理論と分子動力学法を結合し、自由エネルギー曲面上での蛋白質の構造ダイナミクスを解析する新しい方法論を開発した。この方法は蛋白質の構造ダイナミクスを駆動する力として、溶媒和自由エネルギーの蛋白質原子座標に関する微分を含んでいる。その意味で、古典的なGinzberg-Landauの理論と等価の物理的意味をもっており、その分子論と看做することができる。（この理論はすでにAMBERに組み込まれている。）

(4) 3D-RISM/RISM理論と一般化ランジェヴァン理論の結合に基づく、「蛋白質構造揺らぎ」理論の構築

本サブ課題において、3D-RISM/RISM理論を一般化ランジェヴァン理論と結合することにより、蛋白質の構造揺らぎに対する新しい理論を提案した。本理論は形式的には蛋白質の構造と溶媒（溶液）の密度（濃度）の時間発展を記述する二本の一般化ランジェヴァン方程式から構成されており、それらの

方程式は互いに相関をもっている。この理論はその蛋白質の構造ダイナミクスの式に平衡構造からの変位に比例する復元力を表す項を含んでいるが、その係数（「力の定数」）は構造揺らぎの「分散・共分散行列（揺らぎの相関）」の形式をもつ。我々は、この「分散・共分散行列」を3D-RISM/RISM理論から得られる自由エネルギーの蛋白質原子座標に関する2階微分として求める道筋を示した。本理論はこの分野を過去1世紀の間支配してきたランジェヴァン方程式に基づく描像を一般化ランジェヴァン理論に基づく分子論で置き換えるものであり、「生体高分子のダイナミクスと揺らぎ」に関する基礎理論としての意義を有する。

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 29 件）

1. Bongsoo Kim and Fumio Hirata, *J. Chem. Phys.* (査読あり) 138, (2012) 054108-1 ~ 054108-11.

2. Maruyama, Yutaka; Hirata, Fumio*, *J. Chem. Theory Comput* (査読あり), 8, (2012) 3015 - 3021.

3. Hong, Jooyeon; Yoshida, Norio; Chong, Song-Ho; Lee, Chewook; Ham, Sihyun; Hirata, Fumio*; *J. Chem. Theory Comput.* (査読あり) 8, 2239-2246 (2012).

4. Sindhikara, Daniel; Yoshida, Norio; Hirata, Fumio*; *J. Comp. Chem.*, (査読あり) 33, (2012) 1536 – 1543.

5. Y. Kiyota, N. Yoshida, and F. Hirata, *J. Chem. Theor. Comp.*, (査読あり) 7, (2011) 3803-3815.

6. Danniell J. Sindhikara, Norio Yoshida, Mikio Kataoka, Fumio Hirata, *J. Mol. Liq.* (査読あり) 164, (2011) 120 – 122.

7. Y. Kiyota, N. Yoshida, and F. Hirata, *J. Chem. Theor. Comp.* (査読あり) 7, (2011) 3803-3815.

8. Imai, Takashi; Miyashita, Naoyuki; Sugita, Yuji; Kovalenko, Andriy; Hirata, Fumio; Kidera, Akinori, *J. Phys. Chem.B* (査読あり), 115, (2011) 8288 – 8295.

9. Tatsuhiko Miyata, Yasuhiro Ikuta, and Fumio Hirata, *J. Chem. Phys.* (査読あり), 134, (2011) 44127-44144.

10. Yutaka Maruyama, Taku Matsushita, Ryuichi Ueoka, and Fumio Hirata, *J. Phys. Chem.B* (査読あり), 115, (2011) 2408 – 2416.

11. Tatsuhiko Miyata, Yasuhiro Ikuta, and Fumio Hirata, *J. Chem. Phys.* (査読あり), 113, (2010) 044114.

12. Saree Phongphonphanee, Thanyada Rungromongkol, Norio Yoshida, Supot Hannongbua, and Fumio Hirata, *J. Am. Chem. Soc.* (査読あり), 132, (2010) 9782 – 9788.

13. Saree Phongphonphanee, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, *J. Phys. Chem. B* (査読あり), 114, (2010) 7967.

14. Yutaka Maruyama, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, *J. Phys. Chem. B* (査読あり), 114, (2010) 6464-6471.

15. Yui, Toshifumi; Shiiba, Hirohide; Tsutsumi, Yuya; Hayashi, Sachio; Miyata, Tatsuhiko; Hirata, Fumio, *J. Phys. Chem.B* (査読あり), 114, (2009) 49-58.

16. Takashi Imai, Koji Oda, Andriy Kovalenko, Fumio Hirata, and Akinori Kidera, *J. Am. Chem. Soc.*, (査読あり), 131, (2009) 12430 – 12440.

17. Takashi Imai, Andriy Kovalenko, Fumio Hirata, and Akinori Kidera, *Interdiscip. Sci. Comput. Life Sic.* (査読あり), 1, (2009) 156-160.

18. Yasuomi Kiyota, Ryusuke Hiraoka, Norio Yoshida, Yutaka Maruyama, Takashi Imai, and Fumio Hirata, *J. Am. Chem. Soc.* (査読あり) 131, (2009) 3852-3853.

19. Norio Yoshida, Takashi Imai, Saree Phongphanphanee, Andriy Kovalenko, and Fumio Hirata, *J. Phys. Chem.B* (査読あり), 113, (2009) 873-886.

20. Katusra Nishiyama, Tsuyoshi Yamaguchi, and Fumio Hirata, *J. Phys. Chem. B* (査読あり), 113, (2009) 2800 – 2804.

21. Yoshiteru Yonetani, Yutaka Maruyama, Fumio Hirata, and Hidetoshi Kono, *J. Chem. Phys.* (査読あり), 128, (2008)185102-1 –

185102-9.

22. Y. Ikuta, S. Karita, Y. Kitago, N. Watanabe, and F. Hirata, *Chem. Phys. Lett.* (査読あり), 465, (2008) 279 – 284.

23. N. Yoshida, T. Ishida, and F. Hirata, *J. Phys. Chem.*, (査読あり), 112, 433-440 (2008).

24. R. Ishizuka, S.-H. Chong, and F. Hirata, *J. Chem. Phys.* (査読あり), 128, (2008) 34504—34513.

[学会発表] (計 66 件)

1. Fumio Hirata, "Structural Fluctuation of Proetin in Water around Its Native State: A New Statistical Mechanics Formulation," "Fifth Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences - Experiments and Simulations," February 26, 2013 Gohan, Korea

2. 平田文男, "Ligand Binding by Protein Probed with the 3D-RISM Microscope," 「次世代の物質科学・ナノサイエンスを探る」研究会、2013年1月11日、北海道大学百年記念会館、北海道

3. Fumio Hirata, "Ligand Binding by Protein Probed with the 3D-RISM Microscope," "The ACS Symposium on "Continuum Solvation Modeling in Biological Systems," Aug. 20, 2012, Philadelphia, USA.

4. Fumio Hirata, "Ligand Binding by Protein Probed with 3D-RISM Microscope," "Foundation of Molecular Modeling and Simulation(FOMMS)," July 25, 2012, Mt. Hood, Oregon, USA.

5. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Theory Featuring Chemical Specificity and Physical Universality," "International Conference on Pure and Applied Chemistry: The key for our Future," July 4, 2012, Flic-en-Flac, Mauritius.

6. 平田文男, 「分子認識の統計力学 (3D-RISM/RISM) と構造生物学」、第12回蛋白質科学シンポジウム「YouTube時代の構造生物学」、2012年6月22日、名古屋国際会議場(愛知県)

7. Fumio Hirata, "Theory of Molecular Recognition and Its Application to Pharmaceutical Design," "12th Eurasia Conference on Chemical Sciences

EuAsC2S-12," April 20, 2012, Corfu, Greece.

8. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Statistical Mechanics of Molecular Solution," Asian Core symposium on "The 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences: Experiment and Simulation," 2012年1月9~11日、国際会議場(奈良県)

9. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Statistical Mechanics of Molecular Solution," "The 71st Okazaki International Conference: New perspectives on molecular science of glycoconjugate," 2012年10月12~14日、岡崎コンファレンスセンター(愛知県)

10. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a theory featuring chemical 'specificity' and physical 'universality'," "Israel -Japan Joint Symposium on Biophysics: Protein Dynamics: From single molecules to whole cell" in Biophysics Society meeting in Japan, 2012年9月16日、兵庫県立大学(兵庫県)

11. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Statistical Mechanics of Molecular Solution," "32th International Conference on Solution Chemistry," August 28, 2011, La Grande Motte, France.

12. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics Theory of Molecular Recognition and its Application to Pharmaceutical Design," "Telluride Wrokshop on Free Energy Simulation," July 3, 2011, Telluride, Colorado, USA,.

13. Fumio Hirata, "Collaboration between computer and computational scientists make high performance computing on the K-computer a reality," "ISC'11 HPC in Asia Workshop," June 18, 2011, Hamburg, Germany.

14. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a theory featuring chemical 'specificity' and physical 'universality'," "Statistical Mechanics Approaches to Biomolecular Applications," June 13, 2011, Seoul, Korea,.

15. Fumio Hirata, "Theory of Molecular Recognition and its Application to Drug Design," "International Conference on Computer Science (ICCS) 2011," June 2, 2011, Singapore.

16. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics of Molecular Liquids Reveals Elementary Processes in Life Phenomena," "Third Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences: - Experiments and Simulations," Feb. 26 ~ Mar. 1, 2011, Jeju, Korea.
17. 平田文男, "分子認識の統計力学と生体機能", 自然科学研究機構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」, 2011年2月12日, 岡崎コンファレンスセンター(愛知県)
18. Fumio Hirata, "Ligand binding and escaping pathway in myoglobin studied by the 3D-RISM theory," Dynamics and Mechanisms of Photochemical Reactions of Biological Proteins, Pacificchem 2010, Dec. 15, 2010 - Dec. 20, 2010, Honolulu, USA.
19. Fumio Hirata, "Molecular Recognition in Biological Functions Revealed by Statistical mechanics of Molecular Liquids," 4th International symposium on "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Dec. 1, 2010, ピアザ淡海(滋賀県)
20. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics of Molecular Liquids Reveals Elementary Processes in Life Phenomena" EMLG-JMLG joint meeting 2010, Sep. 7, 2010, Lviv, Ukraine.
21. Fumio Hirata, "On the origin of energy produced by the hydrolysis reaction of ATP:3D-RISM-SCF study" ICPOC-20: 20th International Conference on Physical Organic Chemistry, Aug. 25, 2010, Busan, Republic of Korea.
22. Fumio Hirata, "A Statistical Mechanics Study of Molecular Recognition and Drug Design," 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Science - Experiments and Simulations, Dec. 23, 2009, 名古屋大学(愛知県)
23. Fumio Hirata, "A Statistical Mechanics Study of Molecular Recognition and Anesthesia," 第47回生物物理学会シンポジウム "麻酔作用の分子機構: 生物物理から明らかにされる生体分子と麻酔薬の相互作用", 11月1日, 文理大学(徳島県)
24. Hirata, "Biomolecules in water and water in biomolecules," "the Fourth Annual Conference on the Physics, Chemistry, and Biology of Water 2009," Oct. 22, 2009, Snow Mountain, USA.
25. Fumio Hirata, "Model Free "Solvent Modeling" in Chemistry and Biochemistry Based on the Statistical Mechanics of Liquids," International Workshop on "Continuum Modeling of Biomolecules," September 14, 2009, Beijing, China.
26. Fumio Hirata, "Molecular Recognition, Fluctuation, and Function of Protein Studied by a Statistical Mechanics of Liquids," EMLG/JMLG Annual Meeting "Intermolecular Interactions and Liquid Structure," Sep. 11, 2009, Salzburg, Austria
27. Fumio Hirata, "Molecular Recognition, Fluctuation, and Function of Protein Studied by a Statistical Mechanics of Liquids," 6th International Discussion Meeting on Relaxations in Complex Systems, September 3rd 2009, Roma, Italy.
28. Fumio Hirata, "Statistical mechanics reached at the point where it can explain elementary processes in life phenomena," Statistical Physics: Modern Trends and Applications dedicated to the 100-th anniversary of Prof. M.M. Bogolyubov June 24, 2009, Lviv, Ukraine.
29. Fumio Hirata, "An attempt toward the generalized Langevin dynamics simulation," KIAS meeting on "Recent Progress in Computer Simulations in Molecular Sciences," June 15, Seoul, Korea.
30. Fumio Hirata, "Molecular Recognition, Fluctuation, and Function of Protein Studied by a Statistical Mechanics of Liquids," The 6th Open Workshop on "Water and Biomolecules," and The 2nd Open Workshop on "Fluctuation and Function," March 16, 2009, 岡崎コンファレンスセンター(愛知県)
31. Fumio Hirata, "Molecular Recognition, Fluctuation, and Function of Protein Studied by a Statistical Mechanics of Liquids," Asian Core symposium "First Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences - Experiments and Simulations", Feb. 28, 2009, Seoul, Korea.
32. 平田文男, 「生体分子および溶媒の構造

揺らぎと共役した機能発現過程の理論的解明」、新学術領域「揺らぎと生体機能」第一回公開シンポジウム、2009年1月6日、京都テルサ(京都府)

33. F. Hirata, "Molecular Recognition in Life Phenomena Probed with the Statistical Mechanics of Liquids," IMA Annual Program Tear Workshop "Solvation," December 10, 2008, Minneapolis, USA.

34. F. Hirata, "Statistical-mechanics theory of molecular recognition: water and other molecules recognized by protein," Water in Biological System, A French-Japanese Workshop, November 26, 2008, 京都大学(京都府)

35. F. Hirata, "Molecular Recognition in Life Phenomena Probed with the Statistical Mechanics of Liquids," The 8th KIAS-Yonsei Conference on Protein Structure and Function," October 10, 2008, Seoul, Korea

36. F. Hirata, "Molecular Recognition Realized by the Statistical Mechanics Theory of Liquids," Theory and Applications of Computational Chemistry (TACC), September 25, 2008, Shanghai, China.

37. F. Hirata, "Theory of molecular recognition and its application to the enzymatic reaction," The grand challenge to Next Generation Integrated Nano-science, June 4, 2008, 未来科学館(東京都)

38. F. Hirata, "Statistical theory of molecular recognition, and its application to aquaporin," The 5th Open Workshop on "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules," 2008年1月24日、能楽堂(奈良県)

[図書] (計5件)

1. 吉田紀生、丸山豊、清田泰臣、平田文男、今井隆志、「水と生体分子のハーモニー」。日本化学会編「巨大分子系の計算科学」第15章、化学同人(2012年3月発行) pp. 147~pp. 158.

2. 平田文男、「新しい分子統計力学・統計的動力学記述法」、日本化学会編「巨大分子系の計算科学」第7章、化学同人(2012年3月発行) pp. 88~pp. 99

3. Norio Yoshida, Yasuomi Kiyota, Saree Phongphanphanee, Takashi Imai and Fumio Hirata, Statistical-mechanics theory of molecular recognition: water and other

molecules recognized by protein, in Bihan and Fukuyama(Ed.): "Water, the forgotten biological molecule." (Pan Stanford Publishing, Singapore, 2010)

4. N. Yoshida, Y. Kiyota, Y. Ikuta, T. Imai, and F. Hirata, "Model-Free "Solvent Modeling" in Chemistry and Biochemistry Based on the Statistical Mechanics of Liquids," in "Modeling Solvent Environment," Ed. M. Feig, Wiley-VCH, 2009.

5. T. Imai, N. Yoshida, A. Kovalenko, and F. Hirata, "A Statistical Mechanics Theory of Molecular Recognition," in "Water and Biomolecules," Eds. K. Kuwajima, Y. Goto, F. Hirata, M. Kataoka, and M. Terazima, Springer, 2009.

[産業財産権]

○出願状況(計2件)

名称: 溶液中の生体高分子の構造揺らぎとダイナミクスを記述する方程式

発明者: 平田文男; Kim, Bongsoo

権利者: 平田文男; Kim Bongsoo

種類: 特許

番号: PCT/JP2013/051940

出願年月日: 2013年01月23日

国内外の別: 外国

名称: Analysis of Biomolecular Solvation site by the 3D-RISM Theory

発明者: Hirata, Fumio; Sindhikara, Daniel, Jon

権利者: Hirata, Fumio; Sindhikara, Daniel, Jon

種類: 特許

番号: PCT/JP2013/060996

出願年月日: 2013年04月5日

国内外の別: 外国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平田文男 (HIRATA FUMIO)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号: 90218785

(2) 研究分担者

吉田紀生 (YOSHIDA NORIO)

九州大学・理学(系)研究科(院)・准教授

研究者番号: 10390650