

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26240045

研究課題名(和文) 共溶媒効果の全原子型自由エネルギー解析に基づくタンパク質構造論の展開

研究課題名(英文) All-Atom Analysis of Cosolvent Effect on Protein Structure through Free-Energy Calculation

研究代表者

松林 伸幸 (Matubayasi, Nobuyuki)

大阪大学・基礎工学研究科・教授

研究者番号：20281107

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 25,100,000円

研究成果の概要(和文)：純水溶媒、および、尿素またはアルキル化尿素の水溶液で、タンパク質構造に対する溶媒和のエネルギー論的解析を行った。溶媒和自由エネルギーを分子動力学シミュレーションとエネルギー表示溶液理論を用いて計算し、タンパク質-溶媒間の静電相互作用、van der Waals 相互作用、および、排除体積効果と溶媒和自由エネルギーの相関を解析した。純水中では構造ゆらぎが静電相互作用に駆動されることが分かった。共溶媒効果については、純水溶媒と共溶媒を含む混合溶媒間の移行自由エネルギーの相関解析を行うことで、尿素やアルキル化尿素の変性作用がvan der Waals 相互作用に由来することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Energetics of protein was analyzed in pure-water solvent and in a set of mixed solvents with urea and its alkylated derivatives. The solvation free energy was computed through all-atom molecular dynamics simulation combined with the solution theory in the energy representation, and its correlations were examined against the electrostatic and van der Waals components in the the protein-solvent interaction and the excluded-volume component. It was observed in pure-water solvent that the solvation free energy varies in parallel to the electrostatic component with minor roles played by the other components. The effect of urea or its alkylated derivative on protein structure was investigated in terms of the free-energy change upon transfer of the protein solute from pure-water solvent to the mixed solvent, and it was found from the correlations of the transfer free energy to the interaction components that the denaturing effect of the cosolvent is due to the van der Waals interaction.

研究分野：物理化学、理論化学、溶液化学、生物物理学

キーワード：溶媒和 共溶媒 構造ゆらぎ 変性 分布関数理論 分子シミュレーション 分子間相互作用 水

### 1. 研究開始当初の背景

尿素やグアニジン塩のような共溶媒を加えると、タンパク質が変性することはよく知られている(変性を引き起こす共溶媒が、変性剤である)。タンパク質と共溶媒の間には、水素結合・分散引力・排除体積効果のような分子間相互作用が働き、また、共溶媒の添加で、タンパク質と水の相互作用も変化する。タンパク質の構造変化・変性は、構造形成・フォールディングの逆過程であり、その機構の知見は、タンパク質の構造形成原理の解明の要となるため、「タンパク質-水-共溶媒の間の相互作用のどの成分が、タンパク質の構造変化や変性を導くか」という問題は古くから注目を集め、計算・分光手法の発達により、原子レベル情報の取得が可能になったため、タンパク質変性の研究が、特に、近年になって活況を呈するに至った。

化学反応が関与しないとき、共溶媒効果は移行自由エネルギーで規定される。移行自由エネルギーとは、純水溶媒中と共溶媒を含む混合溶媒中での溶媒和自由エネルギーの差であり、タンパク質-水-共溶媒の相互作用を敏感に反映する物理量である。そのため、原子レベルの分解能を保った解析が必要となり、特に自由エネルギーとそのタンパク質構造依存性を決定する相互作用因子を直接的に評価することが望まれていた。

### 2. 研究の目的

タンパク質構造に対する共溶媒効果を、全原子モデルで解析する。cytochrome *c* および T4-lysozyme を対象とし、全原子ポテンシャルを用いた分子動力学シミュレーションとエネルギー表示溶液理論を組み合わせ、水和効果と共溶媒効果の自由エネルギー解析を行う。自由エネルギーを構成する相互作用成分(水素結合・分散引力・排除体積効果など)の中からタンパク質構造変化を導く成分を同定する。

### 3. 研究の方法

大量のタンパク質構造を、常温および高温での分子動力学シミュレーションを行うことで生成し、各固定構造について純水溶媒中と共溶媒を含む混合溶媒中の両方で溶媒和自由エネルギーを計算した。タンパク質の溶媒和自由エネルギーの計算では、自由エネルギー摂動法や熱力学積分法を用いると溶媒分子をあらわに扱うためには膨大な計算資源が必要となるため、エネルギー表示溶液理論を使用した。この方法は、自由エネルギーの高速近似計算手法であるが、精度が高く適用範囲も広い。溶媒系と溶液系のシミュレーションのみで、溶質-溶媒エネルギーの分布関数に基づいて近似汎関数を用いて溶媒和自由エネルギーを評価する。本研究の開始前に、溶媒分子をあらわに含んだ系で 200~300 残基程度のタンパク質の全原子自由エネルギー計算の実績があった。移行自由エネルギー

は、純水中と混合溶媒中での溶媒和自由エネルギーの差として計算した。

### 4. 研究成果

まず、純水溶媒中でのタンパク質構造の平衡ゆらぎについて議論する。タンパク質のある構造を  $\mathbf{X}$ 、その構造におけるタンパク質の分子内エネルギー(構造エネルギー)と純水中の溶媒和自由エネルギー(水和自由エネルギー)を、それぞれ、 $E_{\text{intra}}(\mathbf{X})$ 、 $\Delta\mu^{\text{wat}}(\mathbf{X})$  とする。タンパク質の構造と水和効果の関係をみるために、図 1 に 常温常圧下の MD 計算の結果から採取した平衡状態のシトクロム *c* の構造 30 点について計算した  $E_{\text{intra}}(\mathbf{X})$  と  $\Delta\mu^{\text{wat}}(\mathbf{X})$  との間の相関図を示す。これらの量は逆相関の関係にあり、また、回帰直線の傾きがほぼ -1 であることから補償関係にあると言える。タンパク質構造のゆらぎに伴う構造エネルギーの変化が水和自由エネルギーによってもたらされていることを示す結果である。

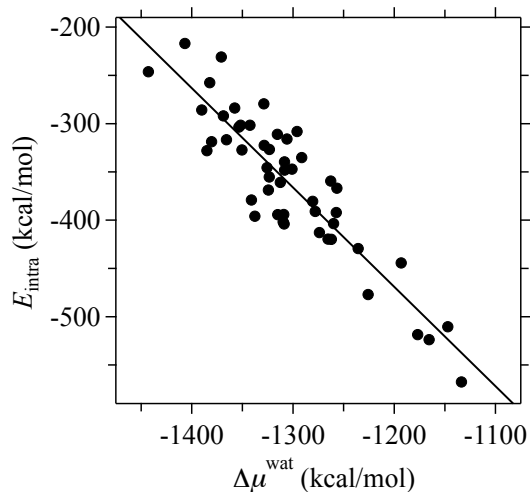


図 1. シトクロム *c* の溶媒和自由エネルギー  $\Delta\mu^{\text{wat}}$  とタンパク質の構造エネルギー  $E_{\text{intra}}$  の相関。一点一点がタンパク質の固定構造に対応する。最小自乗法による回帰直線の傾きは -1.0 で 相関係数は -0.90。

図 2 には、シトクロム *c* における純水溶媒中での溶媒和自由エネルギーとタンパク質-溶媒分子間の相互作用の和の平均値  $\langle v \rangle^{\text{wat}}$ 、その静電相互作用成分  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}}$ 、van der Waals 相互作用成分  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}}$ 、および、排除体積成分  $\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}}$  との相関を示す。排除体積効果は、溶質の挿入によって溶媒分子が除去されることに起因する自由エネルギーのペナルティであり、エネルギー表示溶液理論の枠組みの中では、自由エネルギー汎関数を構成するタンパク質-溶媒分子間の 2 体相互作用エネルギー上の積分を、溶液系では実質的に存在できないような大きな値の領域に制限することで導入できる。大きな負の値を持つ  $\Delta\mu^{\text{wat}}$  に対応する構造は、強い  $\langle v \rangle^{\text{wat}}$  と  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}}$  に対応している。一方、 $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}}$  や

$\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}}$  は変化の幅も小さく、 $\Delta\mu^{\text{wat}}$  との相関も弱い。純水溶媒中のタンパク質の平衡ゆらぎがタンパク質-水間の静電相互作用に駆動されることを意味する。 $\Delta\mu^{\text{wat}}$  と  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}}$  のプロットの傾きが2であることを考慮すると、タンパク質内部の水素結合とタンパク質-水間の水素結合の交換が起きているために成り立つ関係であることが分かる。

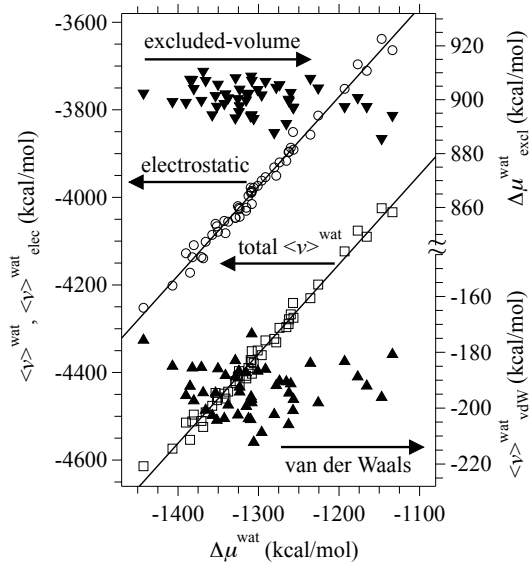


図2. シトクロム *c* の純水溶媒中での溶媒和自由エネルギー  $\Delta\mu^{\text{wat}}$  とタンパク質-水の相互作用エネルギーの和の平均値  $\langle v \rangle^{\text{wat}}$ 、その静電相互作用成分  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}}$ 、van der Waals 相互作用成分  $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}}$ 、および、排除体積成分  $\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}}$  との相関。一点一点がタンパク質の固定構造に対応する。最小自乗法による  $\Delta\mu^{\text{wat}}$  への回帰直線の傾きは、 $\langle v \rangle^{\text{wat}}$  について 2.05、 $\langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}}$  について 2.04 であり、相関係数は共に 0.99。

次に、尿素またはアルキル化尿素を共溶媒として添加した場合の効果について議論する。 $\Delta\mu^{\text{mix}}$  を共溶媒-水混合溶媒中での溶媒和自由エネルギーとすると、移行自由エネルギーは、 $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  で与えられる。この量は、タンパク質の各固定構造について定義され、 $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  がより負になる構造ほど共溶媒添加によって出現確率がより大きくなる。天然構造から部分的にアンフォールドした変性構造までを分子動力学シミュレーションによって用意して、溶媒接触表面積 (SASA) との相関を取ると、 $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  がより負であるほど、SASA は大きく溶媒に対して露出した構造を持つことが分かった。

移行自由エネルギーを共溶媒からの寄与と水からの寄与に分割することで、共溶媒の直接効果および間接効果についての知見を得ることができる。移行自由エネルギー  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  と各溶媒種からの寄与との相関を取ること、尿素またはアルキル化尿素を共溶媒とするとき  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  は共溶媒から

の寄与と正に相関することが分かった。尿素やアルキル化尿素の寄与が変性構造の安定化に主たる寄与をしていることを意味しており、より変性した構造は、水からの寄与による部分的な補償を受けつつ共溶媒の寄与によって安定化される。この結果は直接メカニズムを支持するものである。

さらに、静電相互作用、van der Waals 相互作用、排除体積効果といった溶質-溶媒相互作用因子に関する解析を行った。移行自由エネルギー  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  と溶質-溶媒相互作用エネルギーの和の平均値  $(\langle v \rangle^{\text{mix}} - \langle v \rangle^{\text{wat}})$ 、その静電相互作用成分  $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{elec}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}})$ 、van der Waals 相互作用成分  $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ 、および、排除体積成分  $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{excl}} - \Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}})$  との相関プロットを、シトクロム *c* について図3に示す。 $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  は  $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$  とよく相関している。一方で、 $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{elec}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}})$  や  $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{excl}} - \Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}})$  との相関は弱く、変化の幅も小さい。よって、3者の中では、van der Waals 成分が移行自由エネルギー  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  の支配的な因子である。SASA と  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  の関係を併せて考えると、尿素またはアルキル化尿素の添加によって溶媒との van der Waals 相互作用の大きい構造が安定化することが分かる。つまり、尿素やアルキル化尿素の変性作用は、直接的な van der Waals 相互作用に由来することが明らかになった。

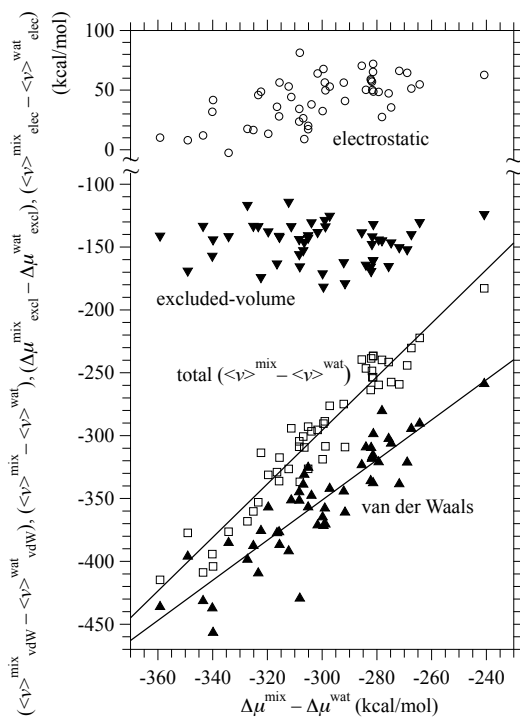


図3. 尿素を添加した場合のシトクロム *c* の移行自由エネルギー  $(\Delta\mu^{\text{mix}} - \Delta\mu^{\text{wat}})$  と移行に伴うタンパク質-溶媒相互作用エネルギーの和の平均値の変化  $(\langle v \rangle^{\text{mix}} - \langle v \rangle^{\text{wat}})$ 、その静電相互作用成分  $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{elec}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}})$ 、van der Waals 相互作用成分  $(\langle v \rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}} - \langle v \rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ 、および、排除体積成分  $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{excl}} - \Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}})$  との相関。一

点一点がタンパク質の固定構造に対応する。最小自乗法による $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ への回帰直線の傾きは、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}})$ で 2.1、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ で 1.6。相関係数は、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}})$ について 0.96、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ について 0.89。

移行に伴うタンパク質-溶媒分子間の相互作用成分の変化についても、タンパク質-共溶媒分子間相互作用とタンパク質-水分子間相互作用に分割して解析した。尿素を共溶媒とすると、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{elec}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}})$ については共溶媒との相互作用と水との相互作用の変動が補償し、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{elec}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{elec}})$ 全体は小さな値となる。これは、尿素の添加に伴って失ったタンパク質-水間静電相互作用がタンパク質-尿素間静電相互作用によってほぼ補償されていることを意味する。 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{excl}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{excl}})$ についても同様の挙動が確認でき補償関係が見出された。一方、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ では尿素からの寄与と水からの寄与が部分的に補償するものの、 $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ 全体は尿素からの寄与と正の相関をもつ。 $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ と $(\langle\nu\rangle^{\text{mix}}_{\text{vdw}}-\langle\nu\rangle^{\text{wat}}_{\text{vdw}})$ の相関および SASA との相関から、尿素-水混合溶媒中では溶媒に表面を大きく露出した変性構造が尿素分子との van der Waals 相互作用の増大によって安定化するという描象が得られた。アルキル化尿素が共溶媒のときも、静電相互作用が変性を阻止する方向に働く場合があるが、van der Waals 相互作用が支配的な役割を果たすことに変わりはない。

相関解析は、変性構造の安定化における主鎖と側鎖の役割を明らかにするにも有用である。そこでは、相互作用ポテンシャルの加成性に基づいてタンパク質-溶媒分子間の相互作用を主鎖との相互作用 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ と側鎖との相互作用 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ に分割し、移行自由エネルギー $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ との相関を解析することになる。図 4 に、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ と $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ および $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ との相関を示す。値そのものを見たときに $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ が $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ より大きいことは、側鎖の方が主鎖より大きく溶媒に露出していることに対応している。しかし、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ と $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ はともに $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ と強い相関を持ち傾きもほぼ同程度である。どちらか一方が支配的な相関因子ではないことを示している。

以上から、純水溶媒中のタンパク質構造の平衡ゆらぎは、タンパク質-水間の静電相互作用によって駆動されていることが分かった。さらに、尿素またはアルキル化尿素の添加がタンパク質構造に及ぼす影響を調べるために、純水中から混合溶媒中への溶媒和自由エネルギーの変化を計算した。相関解析の結果、尿素やアルキル化尿素による変性構造の安定化は、van der Waals 相互作用を通じた

直接メカニズムに基づき、主鎖との相互作用も側鎖との相互作用も同程度に重要であることが示された。

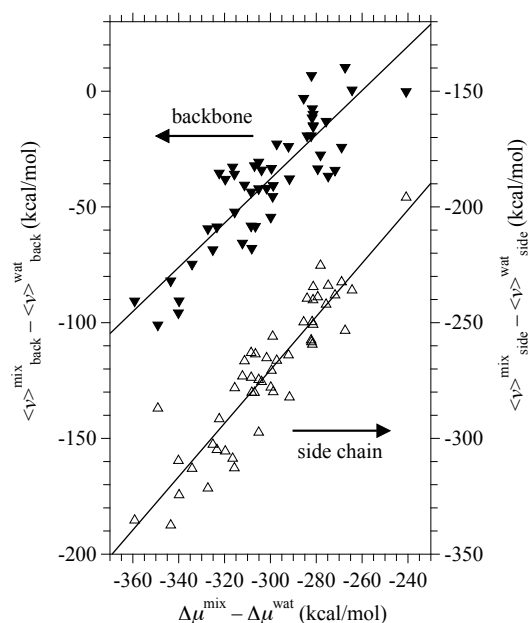


図4. 移行自由エネルギー $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ と移行に伴う溶質-溶媒相互作用エネルギーの変化への主鎖の寄与 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ と側鎖の寄与 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ との相関。一点一点がタンパク質の固定構造に対応する。最小自乗法でフィットしたとき、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}-\Delta\mu^{\text{wat}})$ への回帰直線の傾きは、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ について 2.1、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ について 1.2。相関係数は、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{back}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{back}})$ に対して 0.87、 $(\Delta\mu^{\text{mix}}_{\text{side}}-\Delta\mu^{\text{wat}}_{\text{side}})$ で 0.91。

## 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 54 件)

- ① Free-Energy Analysis of Peptide Binding in Lipid Membrane Using All-Atom Molecular Dynamics Simulation Combined with Theory of Solutions, T. Mizuguchi and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **122**, 3219-3229 (2018)
- ② Probabilistic analysis for identifying the driving force of protein folding, Y. Tokunaga, Y. Yamamori, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **148**, 125101 (9 pages) (2018)
- ③ Binding free energy analysis of protein-protein docking model structures by evERdock, K. Takemura, N. Matubayasi, and A. Kitao, *J. Chem. Phys.*, **148**, 105101 (10 pages) (2018)
- ④ The Role of Interfacial Water in Protein-Ligand Binding: Insights from the Indirect Solvent Mediated Potential of Mean Force, D. Cui, B. W. Zhang, N. Matubayasi,

- and R. M. Levy, *J. Chem. Theory Comput.*, **14**, 512–526 (2018)
- ⑤ Interaction-component analysis of the effects of urea and its alkylated derivatives on the structure of T4-lysozyme, Y. Yamamori and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **146**, 225103 (13 pages) (2017)
- ⑥ *Pseudomonas aeruginosa* cytochrome *c*<sub>551</sub> denaturation by five systematic urea derivatives that differ in the alkyl chain length, S. Kobayashi, S. Fujii, A. Koga, S. Wakai, N. Matubayasi, and Y. Sambongi, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **81**, 1274-1278 (2017)
- ⑦ Computing Conformational Free Energy Differences in Explicit Solvent: An Efficient Thermodynamic Cycle Using an Auxiliary Potential and a Free Energy Functional Constructed from the End Points, R. C. Harris, N. Deng, R. M. Levy, R. Ishizuka, and N. Matubayasi, *J. Comput. Chem.*, **38**, 1198-1208 (2017)
- ⑧ Interaction-component analysis of the hydration and urea effects on cytochrome *c*, Y. Yamamori, R. Ishizuka, Y. Karino, S. Sakuraba, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **144**, 085102 (14 pages) (2016)
- ⑨ Correlation analysis for heat denaturation of Trp-cage miniprotein with explicit solvent, F. Kamo, R. Ishizuka, and N. Matubayasi, *Protein Sci.*, **25**, 56-66 (2016)
- ⑩ An accurate and efficient computation method of the hydration free energy of a large, complex molecule, T. Yoshidome, T. Ekimoto, N. Matubayasi, Y. Harano, M. Kinoshita, and M. Ikeguchi, *J. Chem. Phys.*, **142**, 175101 (11 pages) (2015)
- ⑪ Finite-Size Effect on the Charging Free Energy of Protein in Explicit Solvent, T. Ekimoto, N. Matubayasi, and M. Ikeguchi, *J. Chem. Theory Comput.*, **11**, 215-223 (2015)

[学会発表] (計 220 件)

- ① N. Matubayasi, Mixed-solvent effect on protein configuration studied by all-atom computation of free energy, Annual Meeting of Biophysical Society of Japan, Kumamoto, September 2017
- ② N. Matubayasi, Mixed-solvent effect on protein configuration studied by all-atom computation of free energy, Frontiers in Computational Biophysics and Biochemistry, Kobe, February 2017
- ③ N. Matubayasi, Energy-correlation analysis of solvation effect through combination of MD simulation and solution theory, The 4th International Conference on Molecular Simulation, Crete, September 2016
- ④ N. Matubayasi, Energy-correlation analysis of solvation effect through combination of MD simulation and solution theory, The 4th

International Conference on Molecular Simulation, Shanghai, October 2016

- ⑤ N. Matubayasi, Free-energy calculation with the method of energy representation with application to the binding of small molecules into polymers, Pacificchem 2015, Honolulu, December 2015

[産業財産権]

○出願状況 (計 3 件)

名称: 輸送係数の解析プログラムおよび輸送係数の解析方法

発明者: 森 穂高、泉 龍介、松林 伸幸

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許出願 2018-031932

出願年月日: 2018 年 3 月 26 日

国内外の別: 国内

名称: 樹脂金属接合体及び圧力センサ

発明者: 森 穂高、山川 裕之、今井 博和、吉田 典史、泉 龍介、石川 素美、松林 伸幸

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許出願 2016-220674

出願年月日: 2016 年 11 月 18 日

国内外の別: 国内

名称: 自由エネルギー計算装置、方法、プログラム、並びに該プログラムを記録した記録媒体

発明者: 松林 伸幸、増田 友秀、谷村 隆次

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特許出願 2016-552145

国際特許公開 WO2016/052662

出願年月日: 2014 年 9 月 30 日

国内外の別: 国内、国外

[その他]

ホームページ等

<http://www.cheng.es.osaka-u.ac.jp/matubayasi/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松林 伸幸 (MATUBAYASI, Nobuyuki)

大阪大学・大学院基礎工学研究科・教授

研究者番号: 20281107

### (2) 研究分担者

三本木 至宏 (SAMBONGI, Yoshihiro)

広島大学・生物圏科学研究科・教授

研究者番号: 10222027

石塚 良介 (ISHIZUKA, Ryosuke)

大阪大学・大学院基礎工学研究科・助教

研究者番号: 30462196