

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K05519

研究課題名(和文)水とイオンが駆動するタンパク質高次構造形成の統計力学

研究課題名(英文)Statistical mechanics study on higher-order structure formation of proteins driven by water and ions

研究代表者

吉田 紀生(Yoshida, Norio)

九州大学・理学研究院・准教授

研究者番号：10390650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ウマシトクロムc(cyt c)のドメインスワッピングをターゲットとして、この過程における溶媒の役割の解明をめざした。まずモノマーおよびダイマーの平衡状態での安定性についての研究を行い、アミノ酸残基ごとの構造エネルギー、構造エントロピー、水和自由エネルギー等のダイマー安定化への寄与から、二つのcyt cに挟まれた解離性残基の静電反発が大きな役割を果たすことが分かった。さらに、ダイマー形成によるcyt cの不活性化の原因となるヘム周辺の構造変化を原子レベルで明らかにした。続いて、陰イオンがダイマー形成に及ぼす影響についても検討し、タンパク質-イオンの相互作用のイオン種ごとの違いを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究計画では、3D-RISM理論を基幹として理論構築を行うことに一つの特色がある。本研究で用いた手法を用いることで、これまで困難であったイオンを含む溶液が駆動する生体分子の大域的構造変化・高次構造形成に対し、知見を得ることができる。この手法により、ドメインスワッピングのみならず生体分子の高次構造形成の分子論的解析が可能となり、生体高分子の高次構造デザインによる、生体分子機能性材料設計、オリゴマー形成疾患治療法開発などへの展開が期待できる。

研究成果の概要(英文)：We targeted domain swapping of Uma cytochrome c (cyt c) and sought to elucidate the role of solvents in this process. The contribution of structural energy, structural entropy, and hydration free energy of each amino acid residue to dimer stabilization was analyzed, and it was found that the electrostatic repulsion of dissociative residues between the two cyt c's played a major role. Furthermore, the structural changes around heme, which are responsible for the inactivation of cyt c by dimer formation, are revealed at the atomic level. The effects of anions on dimer formation were then examined, and the differences in protein-ion interactions between different ion species were clarified.

研究分野：理論化学

キーワード：理論化学 統計力学 液体の積分方程式理論 ドメインスワッピング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

さまざまなタンパク質が複合体や多量体(オリゴマー)を形成し、独特の形状を取ることで機能を発揮している。また、オリゴマー形成はミスフォールディングや変性との関連からも注目を集めている。一部の天然タンパク質に見られるオリゴマー形成機構にドメインスワッピングと呼ばれるものがある。ドメインスワッピングとは、タンパク質同士が同じ領域を分子間で交換し、オリゴマーを形成する機構である。ドメインスワッピングにより機能を失うものや、逆に活性があがるタンパク質があることが知られている。このような、ドメインスワッピングの性質を利用することで、新規生体分子機能性材料の構築が期待できることから、ドメインスワッピング機構の分子論的な理解が望まれている。

2. 研究の目的

ドメインスワッピングを含むタンパク質の折れたたみ過程は、系全体の自由エネルギー変化を駆動力とする確率論的、統計的過程である。その過程で水やイオンと言った溶媒分子と生体分子の相互作用は本質的であり、溶媒和エントロピーや溶媒和自由エネルギーを適切に考慮しなければならない。本申請研究課題では、ウマ cyt c のドメインスワッピングを主なターゲットとして、ドメインスワッピング過程における溶媒の役割の解明をめざす。

さらに、高精度な解析のための統計力学理論の構築も行う。

3. 研究の方法

本研究では、ドメインスワッピングにおける溶媒の役割に着目するために、液体の積分方程式理論の一つである 3D-RISM 理論を用いた解析を行う。3D-RISM 理論は、生体分子の水やイオンを含む“溶媒和”を統計力学に基づき記述する理論である。本研究では、タンパク質構造を分子シミュレーションにより求め、得られた構造に対して、3D-RISM 理論を適用することで、溶媒和熱力学を統計力学から解析する。

4. 研究成果

まず、モノマーおよびダイマーの平衡状態での安定性についての研究を行った。この研究では、分子シミュレーションによりモノマーおよびダイマーの構造サンプリングを行い、得られた構造に対して 3D-RISM 理論を適用し、構造エネルギー、構造エントロピー、水和自由エネルギーおよび水和構造を決定した。

自由エネルギー成分解析の結果、構造・相互作用エネルギーの変化と、並進・回転エントロピーの変化が二量体を不安定化させ、水和とアミノ酸残基の振動エントロピーは二量体を安定化させることが明らかになった。また、それぞれ成分を残基ごとの寄与に分解した解析を行った。その結果、正電荷をもつ残基の静電相互作用が二量体を不安定化させる一方、負電荷をもつ残基は二量体を安定化させることがわかった。水和効果の観点からは、周囲の水分子による強い遮蔽効果により、残基間の静電相互作用とは逆の挙動を示すことがわかった。各残基の振動エントロピー変化の影響は、静電効果や水和効果に比べて小さいと考えられる。また、ヒンジループに位置する残基の中には特徴的な挙動を示すものがあり、これらをさらに解析したところ、二量体化にともなう構造変化や相互作用変化の分子レベルでの詳細が明らかになった。特に、MET80 はその位置が劇的に変化しており、二量体化によって MET80 とヘム Fe の配置が変化し、水分子を収容できる空洞を形成する。また、MET80-ヘム Fe 配位結合の切断は、MET80 のエントロピー特性にも影響を与えていることがわかった。[1]

続いて、陰イオンがダイマー形成に及ぼす影響について研究を行った。実験研究から、陰イオンの種類よりダイマー生成量が変化することが知られているが、溶媒和自由エネルギーにおよぼすイオンの影響を各残基ごとに分割することで、タンパク質構造とイオンの相互作用のイオン種ごとの違いを明らかにした。[2]

さらに以上の研究の過程で、3D-RISM 理論による溶媒和自由エネルギーの評価精度をさらに向上させる必要があることが示された。そこで、3D-RISM 理論による溶媒和自由エネルギーの高精度評価法の開発を行った。[3] 3D-RISM 理論では溶媒の記述に相互作用点モデルを用いていることから、溶媒の分子配向が近似的に扱われており、これが溶媒和自由エネルギー精度に与える影響が示唆されてきた。そこで、分子配向が与える影響を考慮可能な手法(部分波展開(PW)法および repulsive bridge 補正(RBC)法)について検討した。同時に、部分波展開法の 3D-RISM 理論への新規適用を行った。

500 種類程度の分子種に対し、これらの補正法による溶媒和自由エネルギーを計算した。明らかに、RBC と PW は、補正なしと比較して、正確な溶媒和自由エネルギーを求めることができることがわかった。これらの結果は、分子配向を組み込むことが溶媒和自由エネルギーの精度向上に大きく寄与していることを示している。また、溶媒和自由エネルギー成分解析の結果、非極性成分の補正が主に全体的な補正に寄与していることが示され、分子配向の組み込みが主にこの成分に影響を与えていることが示された。

一方、RBC と PW の結果は、3D-RISM と 1D-RISM では異なる傾向を示した。3D-RISM では RBC の方が PW よりも精度が高いが、1D-RISM では PW の方が RBC よりも精度が高いことがわかった。また、3D-HNC+RBC, 3D-KH+RBC, 3D-PW では、溶質サイト数の増加に伴い溶媒和自由エネルギーの誤差が増加したが、1D-RISM では溶媒和自由エネルギー表現の有意な増加は見られなかった。こ

のことから、3D-RISM の場合には補正が不十分であり、より洗練された補正・改良が必要であると考えられる。

また、分子配向に関する相関がバルク溶媒圧力に与える影響と溶媒和自由エネルギーとの関係についても検討した。その結果、PW 膨張は圧力表現の改善に寄与し、サイト数依存性に関連した非物理的挙動を除去することがわかった。

この補正手法を基盤としたさらなる改良法の開発が望まれるとともに、これらを用いたタンパク質多量体形成過程の解析を今後も継続する予定である。

[1] Yoshida* et al., J. Chem. Phys., 148, 025102, 2018

[2] Motoki, Yoshida, Hirota, Higashi, Abstracts of papers of ACS, 255, 65, 2018

[3] Tanimoto, Yoshida*, Yamaguchi, Ten-no, Nakano, J. Chem. Info. Model (2019) 59, 3770-3781

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tanimoto Shoichi, Yoshida Norio, Yamaguchi Tsuyoshi, Ten-no Seiichiro L., Nakano Haruyuki	4. 巻 59
2. 論文標題 Effect of Molecular Orientational Correlations on Solvation Free Energy Computed by Reference Interaction Site Model Theory	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Information and Modeling	6. 最初と最後の頁 3770 ~ 3781
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jcim.9b00330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chen Yang, Yoshihiro Watanabe, Norio Yoshida, Haruyuki Nakano	4. 巻 123
2. 論文標題 Three-Dimensional Reference Interaction Site Model Self-Consistent-Field Study on the Coordination Structure and Excitation Spectra of Cu(II)-Water Complexes in Aqueous Solution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physical Chemistry A	6. 最初と最後の頁 3344-3354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.9b01364	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ryo Fujiki, Yukako Kasai, Yuki Seno, Toru Matsui, Yasuteru Shigeta, Norio Yoshida, Haruyuki Nakano	4. 巻 20
2. 論文標題 A computational scheme of pKa values based on the three-dimensional reference interaction site model self-consistent field theory coupled with the linear fitting correction scheme	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physical Chemistry Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 27272-27279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C8CP04354J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Itaru Onishi, Shunya Sunaba, Norio Yoshida, Fumio Hirata, Masayuki Iriisa	4. 巻 122
2. 論文標題 Role of Mg ²⁺ ions in DNA hydrolysis by EcoRV, Studied by 3D-Reference interaction site model and molecular dynamics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 9061-9075
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.7b12555	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cheng Cheng, Motoshi Kamiya, Mizuki Takemoto, Ryuichiro Ishitani, Osamu Nureki, Norio Yoshida, Shigehiko Hayashi	4. 巻 115
2. 論文標題 An Atomistic Model of a Precursor State of Light-Induced Channel Opening of Channelrhodopsin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 1281-1291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2018.08.024	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Norio Yoshida	4. 巻 699
2. 論文標題 A new method for finding the minimum free energy pathway of ions and small molecule transportation through protein based on 3D-RISM theory and the string method	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letter	6. 最初と最後の頁 22-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cpllett.2018.03.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Norio Yoshida, Masahiro Higashi, Hideyoshi Motoki, Shun Hirota	4. 巻 148
2. 論文標題 Theoretical Analysis of the domain-swapped dimerization of cytochrome c: An MD and 3D-RISM approach	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 25102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5009785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 根木秀佳, 吉田紀生, 廣田俊, 東雅大	4. 巻 17
2. 論文標題 シトクロムcの多量体形成に関する理論的研究	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry, Japan	6. 最初と最後の頁 8-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2477/jccj.2018-0006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nirun Ruankaew, Norio Yoshida, Yoshihiro Watanabe, Haruyuki Nakano, Saree Phongphananee	4. 巻 684
2. 論文標題 Size-dependent adsorption sites in a Prussian blue nanoparticle: A 3D-RISM study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 117-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2017.06.053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yuichi Tanaka, Yukio Kawashima, Norio Yoshida, Haruyuki Nakano	4. 巻 38
2. 論文標題 Solvatochromism and Preferential Solvation of Brooker's Merocyanine in Water-Methanol Mixtures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry	6. 最初と最後の頁 2411-2419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.24902	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Norio Yoshida, Masahiro Higashi, Hideyoshi Motoki, Shun Hirota	4. 巻 148
2. 論文標題 Theoretical Analysis of the domain-swapped dimerization of cytochrome c: An MD and 3D-RISM approach	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 25102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5009785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Norio Yoshida	4. 巻 699
2. 論文標題 A new method for finding the minimum free energy pathway of ions and small molecule transportation through protein based on 3D-RISM theory and the string method	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 22-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2018.03.034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 根木秀佳, 吉田紀生, 廣田俊, 東雅大	4. 巻 17
2. 論文標題 シトクロムcの多量体形成に関する理論的研究	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry Japan	6. 最初と最後の頁 8-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2477/jccj.2018-0006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Norio Yoshida	4. 巻 57
2. 論文標題 Role of Solvation in Drug Design as Revealed by the Statistical Mechanics Integral Equation Theory of Liquids	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Information and Modeling	6. 最初と最後の頁 2646-2656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jcim.7b00389	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shoichi Tanimoto, Masahiro Higashi, Norio Yoshida, Haruyuki Nakano	4. 巻 28
2. 論文標題 The ion-dependence of carbohydrate binding of CBM36: An MD and 3D-RISM study	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Condensed Matter	6. 最初と最後の頁 344005(8pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI:10.1088/0953-8984/28/34/344005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 16件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 pKa prediction of titratable residues in protein
3. 学会等名 Telluride science research center workshop "The Role of Fluctuation and Dynamics in Biomolecular Function" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Development of Multiscale Method for Nano-Bio Materials Based on Statistical Mechanics Theory of Molecular Liquids
3. 学会等名 International Conference on Materials Research and Innovation (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Multiscale modeling of solvated molecule based on the statistical mechanics integral equation theory and its applications
3. 学会等名 Computer aided drug design 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Theoretical study of biological processes employing statistical mechanics of molecular liquids
3. 学会等名 The 22th international annual symposium on computational science and engineering (ANSCSE22) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 pKa Prediction in Biological Systems Based on the Statistical Mechanics Theory of Liquids combined with the electronic structure theory
3. 学会等名 PACCON2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 液体の統計力学理論を基盤としたマルチスケール理論の開発と応用
3. 学会等名 松山道後・分子論セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 液体の統計力学理論と量子化学による定量的pKa予測
3. 学会等名 九重分子科学セミナー2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 液体の統計力学理論でみる生体高分子の機能と構造
3. 学会等名 平成30年度九州地区高分子若手研究会・夏の講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 3D-RISM-SCF法によるpKa予測手法の開発
3. 学会等名 水和とATP研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Norio Yoshida, Cheng Cheng, Shigehiko Hayashi
2. 発表標題 An MD and 3D-RISM Approach to the Ion Transport of Channel Rhodopsin
3. 学会等名 American Chemical Society meeting 2018 spring (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hideyoshi Motoki, Norio Yoshida, Shun Hirota, Masahiro Higashi
2. 発表標題 Anion effects on oligomer formation of cytochrome c with MD simulation and 3D-RISM theory
3. 学会等名 American Chemical Society meeting 2018 spring (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 pKa Prediction in Biological Systems Based on the Statistical Mechanics Theory of Liquids combined with the electronic structure theory
3. 学会等名 PACCON2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 pKa Prediction in Biological Systems Based on the Statistical Mechanics Theory of Liquids combined with the electronic structure theory
3. 学会等名 Computer aided drug design 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Statistical mechanics theory of solvation of biomolecules
3. 学会等名 The 9th Conference of the Asian Consortium on Computational Materials Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 pKa Prediction in Biological Systems Based on the Statistical Mechanics Theory of Liquids
3. 学会等名 The 21th international annual symposium on computational science and engineering (ANSCSE20) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Theoretical study of ion transportation of light-driven channel
3. 学会等名 Joint EMLG/JMLG Annual Meeting 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 Theoretical study of biological processes based on integral equation of molecular liquids
3. 学会等名 International conference on computation for science and technology 2016 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Norio Yoshida
2. 発表標題 "Theoretical study of biological processes by molecular theory of solvation "
3. 学会等名 The 20th international annual symposium on computational science and engineering (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 水とイオンが駆動するタンパク質高次構造形成の統計力学
3. 学会等名 研究会「革新的酵素設計を志向したタンパク質の高次構造形成と機能デザインの最前線」(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉田紀生
2. 発表標題 FMO法と3D-RISM法の連成による 生体分子の溶媒和理論
3. 学会等名 第12回FMO研究会(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Shoichi Tanimoto, Masahiro Higashi, Norio Yoshida, Haruyuki Nakano
2. 発表標題 "Role of calcium ion in molecular recognition process of calcium-dependent carbohydrate-binding module "
3. 学会等名 Joint EMLG/JMLG Annual Meeting 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Norio Yoshida, Katsura Nishiyama	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Springer Science	5. 総ページ数 17
3. 書名 Molecular Aspects of Solvation Investigated using Statistical Mechanics, in Leszczynski (Ed.): "Handbook of Computational Chemistry", 2nd edn	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Research Topics -Norio Yoshida https://sites.google.com/site/noriyoshida1973/research-topics?authuser=0 Research topics https://sites.google.com/site/noriyoshida1973/research-topics Research topics -Norio Yoshida- https://sites.google.com/site/noriyoshida1973/research-topics

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	中野 晴之 (Nakano Haruyuki) (90251363)	九州大学・理学研究院・教授 (17102)	
連携研究者	渡邊 祥弘 (Watanabe Yoshihiro) (20315055)	九州大学・理学研究院・助教 (17102)	
連携研究者	東 雅大 (Higashi Masahiro) (20611479)	琉球大学・理学部・助教 (18001)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	重田 育照 (Shigeta Yasuteru) (80376483)	筑波大学・数理物質科学研究科・教授 (12102)	
連携研究者	廣田 俊 (Hirota Shun) (90283457)	奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・教授 (14603)	
連携研究者	山中 優 (Yamanaka Masaru) (60632825)	奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・助教 (14603)	