

令和元年6月18日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14715

研究課題名（和文）タンパク質の圧電効果：アロステリーの新機構

研究課題名（英文）Piezoelectric effect in proteins: a novel mechanism of allostery

研究代表者

高野 光則 (Takano, Mitsunori)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：40313168

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：私たち生命は、突き詰めるとタンパク質1分子の機能とそれらタンパク質分子や生体分子間の高度に制御された相互作用ネットワークによって支えられている。私たちの運動はATP（エネルギー源となる生体分子）によって制御されたミオシンとアクチン（ともにタンパク質分子）の結合と解離による。本研究では、これらタンパク質1分子がどのように機能するか、分子間相互作用がどのように制御されるかの物理基盤に解明するため、高速コンピューターを用い、分子素子として機能するタンパク質の新規の入出力特性（圧電応答と誘電応答）を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

もしミオシンの正常に機能しなくなったり、あるいはATPによるミオシンとアクチンの結合と解離の制御がうまくいかなることあれば、私たちの運動機能（たとえば心臓の収縮弛緩運動）は大きなダメージを受ける。タンパク質1分子がどのように機能するか、分子間相互作用がどのように制御されるかの物理基盤が明らかになればタンパク質分子物性の基礎科学として学術的意義が大きいのみならず、それらが正常に機能しなくなったときの根本的な原因究明（原因療法）につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The vital activities of living organisms are ultimately based on the functions of protein molecules and the highly-organized intermolecular interaction network among the proteins and other biomolecules. The motility, for example, is based on the association and dissociation dynamics of actin and myosin molecules that is regulated by ATP (energy-supplying biomolecule). In this study, by using high-performance computers, we elucidated the input-output characteristics (particularly piezoelectric and dielectric responses) of the molecular device of protein to advance the physical understanding of how a single protein molecule works and how the intermolecular interactions are regulated.

研究分野：生物物理学

キーワード：アロステリー 分子機械 圧電応答 誘電応答

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質が「分子機械」とよばれるゆえんは、それが分子1個でも高度な機能を有する点にある。その背後にはタンパク質1分子の複雑さ(内部自由度)がある。しかし、この複雑さのため、1分子実験、構造解析、理論計算の各手法をもってしても、タンパク質1分子の働くしくみの完全解明は困難を極める。ヘモグロビンはアロステリー(タンパク質分子中の空間的に離れた部位間での情報伝達機構)を世に広め、タンパク質の構造機能連関の分子機構の理解に大きく貢献したが、そのアロステリーについても、近年、従来と異なる分子描像が注目されている。申請者らはこれまでMD計算によってアクチン系のみならず、力発生機構および分子間の静電相互作用を研究し(Takano et al., PNAS, 2010; Okazaki et al., JACS, 2012)、同時に、この系に深く関与しているアロステリーにも注目して研究を行ってきた。ミオシンのATP結合部位とレバーアーム部位、およびアクチン結合部位との間のアロステリック連関が力発生に不可欠だと広く考えられているが、静電ポテンシャルに注目して研究を進めたところ、従来と異なるアロステリーの新たな物理機構がミオシンに備わっていることが分かってきた。一方、分子間の静電相互作用を左右する水の誘電特性について、タンパク質分子近傍の水の誘電率はバルクの水の誘電率よりも低下している可能性が指摘されてきた。

2. 研究の目的

アロステリーはタンパク質の構造機能連関の基盤だが、近年、その分子描像が変化してきている。申請者らがMD計算で研究してきたアクチン系についてもアロステリーは力発生機構に不可欠と考えられている中、申請者らは従来と異なるアロステリーとして「圧電効果」による新機構をミオシンに見いだしている。本研究では、「圧電アロステリー」、およびそれと密接に関連する「誘電アロステリー」の分子機構を解明し、その普遍性を示すべく、アクチンフィラメントをはじめとしていくつかの系でMD計算を行う。また、タンパク質分子近傍の水の物理特性、特に誘電特性を解析し、圧電・誘電アロステリーの基盤となる水中での分子間静電相互作用の物理的理解に資する。

3. 研究の方法

高速演算ボード(GPGPU)を投入してMD計算の高速化を図り、それぞれの系について合計100マイクロ秒のMDデータを得ることを目指す。得られたMDデータ(全スナップショット構造)に対し、電荷および静電ポテンシャルの空間分布をもとめ、張力付加、ATP結合、ATP加水分解、および電子授受などの「入力」による電荷分布と静電ポテンシャル分布の変化(「出力」)を抽出する。この際、熱ゆらぎとの区別が必要で、空間各点での分布変化の平均値がその点での統計的不確かさよりも大きいもののみを圧電・誘電応答とみなす。圧電・誘電アロステリーが観測できれば、分子内・分子間のクーロン結合の組み換えネットワークを抽出し、ネットワークの特徴を解析する。

4. 研究成果

(1) ミオシンで見出された圧電アロステリーの普遍性を示すため、アクチンフィラメントに張力を負荷した分子動力学シミュレーションを実行し、表面静電ポテンシャルの変化から圧電アロステリーの解析を行った。その結果、アクチンフィラメントにも圧電アロステリーが見られることが分かった。さらにアクチンフィラメントの圧電アロステリーがコフィリン等のアクチン結合タンパク質との相互作用に与えることが分かった。

(2) 「圧電アロステリー」と密接な関係にある「誘電アロステリー」の研究も進めた。これまでの研究でミオシンのアクチン結合領域にATP結合によって駆動される誘電アロステリーが見出されていたが、これと同じATP結合駆動の誘電アロステリーがミオシンのコンバータードメインにも見られることを明らかにした。さらにこの誘電アロステリーによってレバーアーム部位のリカバリーストロークが駆動されることが分かった。また、分子機能が全く異なる蛋白質(電子伝達タンパク質)においても誘電アロステリーが分子機能(電子伝達の制御)に関与していることが分かってきた。アクチンについてもATP加水分解によって誘電アロステリーが見られ、これによってフィラメント内のサブユニット間の静電相互作用、アクチン-コフィリン間の静電相互作用が影響を受けることが分かった。

(3) 圧電・誘電アロステリーを可能にする分子内の物理的特性をクーロン結合ネットワークの観点から解析した。これまで我々が明らかにした臨界パーコレーション性(Morita and Takano, Phys Rev E, 2009)がクーロン結合ネットワークにも見られることを分かった。

(4) タンパク質の圧電・誘電アロステリーは分子間のクーロン相互作用に変化をもたらすものであるため、分子間クーロン相互作用に影響をおよぼすタンパク質周囲の水の物性(特に誘電率と圧縮率)を解析した。Weeks-Chandler-Andersenポテンシャルを導入して疎水粒子および疎水平板近傍の水の物性を解析した。疎水表面近傍では水の水素結合ネットワークが強化されice-likeになっているという描像がある。そこで、MDシミュレーションとOnsager-Kirkwood-Fröhlich理論によって水の局所誘電率を算出した。その結果、疎水表面近傍では水の誘電率が低下し、圧縮率は増大することが示された。これらの結果から疎水表面近傍の水はice-likeではなくvapor-likeであることが分かった。また、この疎水表面近傍の誘電率低下により、疎水残基に囲まれた荷電残基間の静電引力が増強されることが示された。

(5) 静電相互作用の高速計算を可能にする Generalized Born モデルにおいて、分子間結合にともなう静電自己エネルギー変化（脱水和ペナルティー）の過大評価の問題が明らかになったので、その原因を物理的に究明し、結合にともなう自己エネルギー変化の過大評価を是正する方法を提唱した。この Generalized Born モデルをアクチン重合のリエントラント性（非単調な塩濃度依存性）の解明のために用いてフィラメント内の静電相互作用を解析した。その結果、隣接サブユニット間の大域的静電斥力と局所的静電引力の間の競合がアクチン重合にリエントラント性をもたらすことが分かった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

- (1) M. Iijima, J. Ohnuki, T. Sato, M. Sugishima, M. Takano, “Coupling of Redox and Structural States in Cytochrome P450 Reductase Studied by Molecular Dynamics Simulation”, *Sci Rep*, in press, 2019, 10.1038/s41598-019-45690-2, 査読有
- (2) T. Sato, T. Sasaki, J. Ohnuki, K. Umezawa, M. Takano, “Hydrophobic Surface Enhances Electrostatic Interaction in Water”, *Phys Rev Lett*, **121**, 206002, 2018, 10.1103/PhysRevLett.121.206002, 査読有
- (3) T. Sato, J. Ohnuki, M. Takano, “Long-range coupling between ATP-binding and lever-arm regions in myosin via dielectric allostery”, *J Chem Phys*, **147**, 215101, 2017, 10.1063/1.5004809, 査読有
- (4) J. Ohnuki, A. Yodogawa, M. Takano, “Electrostatic balance between global repulsion and local attraction in reentrant polymerization of actin”, *Cytoskeleton*, **74**, 504-511, 2017, 10.1002/cm.21391, 査読有
- (5) J. Ohnuki, T. Sato, M. Takano, “Piezoelectric allostery of proteins”, *Phys Rev E*, **94**, 12406, 2016, 10.1103/PhysRevE.94.012406, 査読有
- (6) T. Sato, J. Ohnuki, M. Takano, “Dielectric allostery of proteins: Response of myosin to ATP binding”, *J Phys Chem B*, **120**, 13047-13055, 2016, 10.1021/acs.jpcc.6b10003, 査読有
- (7) K. Umezawa, J. Ohnuki, J. Higo, M. Takano, “Intrinsic disorder accelerates dissociation rather than association”, *Proteins*, **84**, 1124-1133, 2016, 10.1002/prot.25057, 査読有
- (8) Y. Mizuhara, D. Parkin, K. Umezawa, J. Ohnuki, M. Takano, “Over-destabilization of protein-protein interaction in Generalized Born model and utility of energy density integration cutoff”, *J Phys Chem B*, **121**, 4669-4677, 2017, 10.1021/acs.jpcc.7b01438, 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- (1) M. Takano, “Coulombic interaction network and novel allostery in molecular machines”, 56th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan, 2018
- (2) J. Ohnuki, M. Takano, “Depolymerization mechanism of actin due to dielectric allostery”, Biophysical Society 63rd Annual Meeting, 2019
- (3) J. Ohnuki, A. Yodogawa, T. Sato, M. Takano, “Piezoelectric and dielectric allostery of an actin filament and its effect on binding preference of cofilin”, 56th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan, 2018
- (4) M. Iijima, J. Ohnuki, T. Sato, M. Sugishima, M. Takano, “Coupling of the Redox and Structural States in Cytochrome P450 Reductase Studied by Molecular Dynamics Simulation”, The Protein Society 32nd Annual Symposium, 2018
- (5) J. Ohnuki, M. Takano, “Mechano-electrical communications in actin filament”, 55th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan, 2017
- (6) 大貫隼、高野光則, “分子機械の圧電アロステリー：アクチンフィラメントのメカノセンシングの物理機構”, 生体運動研究合同班会議, 2018
- (7) J. Ohnuki, T. Sato, H. Okamura, T.Q.P. Uyeda, M. Takano, “Piezoelectric Allostery of an Actin Filament”, IGER International Symposium on "Now in actin", 2016
- (8) J. Ohnuki, T. Sato, M. Takano, “Piezoelectric Allostery of Protein”, Protein Electrostatics Berlin, 2016
- (9) (10) Y. Mizuhara, D. Parkin, M. Takano, “Critical Role of Cutoff Parameter to Calculate Effective Born Radii in Simulating Protein-Protein Interaction”, Protein Electrostatics Berlin, 2016
- (10) J. Ohnuki, T. Sato, H. Okamura, T.Q.P. Uyeda, M. Takano, “Piezoelectric property of an actin filament III”, 54th Annual Meeting of Biophysical Society of Japan, 2016

〔図書〕（計 2 件）

- (1) M. Takano, “Orchestrated Electrostatic Interactions Among Myosin, Actin, ATP, and Water” in *The Role of Water in ATP Hydrolysis Energy Transduction by Protein Machinery* (M. Suzuki ed.), 113-122, 2018, Springer, 10.1007/978-981-10-8459-1_8
- (2) 高野光則, “分子機械のブラウニアン・ラチェットとアロステリック機構”, 『分子マシンの科学』日本化学会編、pp. 97-103、化学同人、2017

〔産業財産権〕

該当無し

〔その他〕

該当無し

6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当無し

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：佐藤昂人

ローマ字氏名： Takato Sato

研究協力者氏名：大貫隼

ローマ字氏名： Jun Ohnuki

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。