

平成 22 年 5 月 26 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19750004
 研究課題名（和文） 生体高分子とコソルベントが操る水分子ネットワークの分子情報論的解明
 研究課題名（英文） Molecular Informatical Breakthrough on the Water Molecule Network Controlled by Biomacromolecules and Cosolvents
 研究代表者
 優 乙石（YU ISSEKI）
 青山学院大学・理工学部・助教
 研究者番号：90402544

研究成果の概要（和文）：極限環境に生息する生物の細胞内には、アミノ酸や糖など、様々な有機低分子（コソルベント）が高濃度で共存している。本研究は、コソルベントが水分子の性質や、生体高分子の機能に及ぼす効果を分子レベルで解明することを目的としている。分子動力学シミュレーション法と液体統計力学を組み合わせ用い、コソルベントが高温などの環境ストレスからタンパク質の立体構造を保護する微視的機構の一部を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In the cells of organisms living in the extreme environments, organic cosolvents, such as amino acids or sugars, are accumulated in high concentrations. This study aims to understand the influence of cosolvent additions on the property of water molecules and on the function of biomacromolecules. Using the molecular dynamic simulation combined with the statistical mechanical theory of liquid, some of the microscopic mechanisms of cosolvent protecting the protein structure against the high temperature were elucidated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	0	2,300,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
2009 年度	200,000	60,000	260,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	330,000	3,730,000

研究分野：物理化学

科研費の分科・細目：理論化学

キーワード：分子動力学 タンパク質 エクトイン 溶媒効果 選択的水和

Kirkwood-Buff 理論 計算化学

1. 研究開始当初の背景

生体高分子近傍の水分子の物理化学的性質は、均一層におけるそれとは大きく異なっている。生体高分子の自己組織化や分子認識機構において、溶質近傍の水分子のダイナミクスや、その水素結合ネットワークの協同的な振る舞いが、反応を推進するための重要な因子である事が指摘されている。すなわち生

命現象をより微視的に解明するには、これらの水分子までを生体高分子の構成要素と考え、溶質と水分子との連携を分子レベルで考察する必要がある。

生体高分子近傍の水分子特異性そのものについては分光学的手法や計算機シミュレーションによって解明が進みつつあるが、これらの水分子が生体高分子の構造やダイナ

ミクスおよび反応性などにどのように関わっているかは未だ不明な点が多く、解明すべき重要な点である。

一方で、細胞内の溶液には、生体高分子と水分子以外に、アミノ酸や糖など、様々な有機低分子（ソルベント）が共存している。特に、熱水や深海などの極限環境に生息する生物の細胞内には、このようなソルベントが高濃度に存在し、環境ストレスから生体高分子の構造や機能を保護している。これらの分子は、水分子のダイナミクスや水素結合ネットワークなどを変化させることで、間接的に生体高分子の構造安定性やプロトン移動等の反応性を調節していると考えられているが、その分子レベルの作用機構は不明な点が多い。

2. 研究の目的

ソルベントの作用機構を分子レベルで調査し、現実の細胞内溶液環境の特長を明らかにする。生体分子の反応性を、ソルベントによって化学的に制御するために必要な微視的知見を収集する。

3. 研究の方法

分子動力学シミュレーション法（原子間に働く力を計算し、運動方程式を差分法によって繰り返し解くことで、分子運動をシミュレーションする計算化学的方法）によって、生体分子周囲の水分子やソルベント分子の動的挙動を、原子レベルで追跡した。得られた原子位置の時系列情報を、統計力学的に処理することで、ソルベントの添加効果を定量化した。分子動力学シミュレーションは、複数のワークステーションに搭載された数十個のCPUコアをネットワーク機器によって並列化させた計算機を用いた。分子内および分子間相互作用は、AMBER 力場を用いて計算した。

4. 研究成果

Kirkwood-Buff（カークウッド-バッフ）理論（溶質周囲の液体分子の分布状態から、溶質の熱力学量を計算する液体の統計力学）を巨大分子系に適した形式に改良し、分子動力学シミュレーション法と組み合わせた研究手法を開発した。これにより、実験的には長時間平均量として観測されるタンパク質の巨視的熱力学量（部分モル体積、移相自由エネルギー、ソルベントの選択的排除/結合量など）の3次元分布や時間依存性を、水分子やソルベントの原子配置情報のみから再構成することが可能になった。この手法を適用して得られた具体的成果を以下にあげる。

- (1) 塩湖などに生息する好塩性細菌が細胞内に蓄積するソルベント「エクトイン」

によるタンパク質構造安定化作用について、実験的に示唆されていた選択的排除機構（タンパク質表面からソルベント分子が、水分子と比較して、選択的に排除される現象）を理論的に実証し、その空間分布を明らかにした。また選択的排除が発現する微視的要因として、タンパク質表面の幾何学的形状と水和層における水素結合ネットワークの影響を調査した。

左図：蛋白質（黄）周囲の水和層水分子（青）とエクトイン分子（赤）のスナップショット。エクトイン分子の多くは、蛋白質表面から選択的に排除され、水和層の外側に分布している。

- (2) タンパク質の天然構造を安定化する効果を持つ（安定剤）エクトインと、それとは逆の性質を示す（変性剤）尿素の作用メカニズムについて理論的な比較調査を行った。

表面 Kirkwood-Buff 積分法（球状分子で構成される単純液体を対象とした従来の Kirkwood-Buff 理論を、生体高分子系に対して適用しやすい形式に改良したもの）によって、選択的排除量の空間分布をタンパク質表面からの距離の関数として比較した結果、明確に選択的排除を発現するエクトインとは対照的に、尿素分子はタンパク質表面に強く「選択的結合」することが示され、構造安定化および変性作用の直接的かつ詳細な描像が得られた。

- (3) 部分モル体積（PMV）は、タンパク質立体構造の圧力依存性を決定する熱力学量であり、深海生物が持つ耐圧性の微視的起源などを調査するうえで、最も重要な指標である。Kirkwood-Buff 理論と分子動力学シミュレーションを連携させ、変性過程におけるタンパク質の PMV を水分子の配置情報のみから再構成した。これにより、実験的には長時間平均量として観測される PMV の、ダイナミクスや空間分布を調査した。

解析の結果、タンパク質の立体構造のみならず、水和層の揺らぎも反映した PMV の動的挙動を明らかにした。さらに、PMV

の空間分布をタンパク質の天然状態と変性状態とで比較することによって、タンパク質体積パラドックス（タンパク質変性が、予想よりも小さな PMV 変化を伴う現象）について、分子レベルの解釈を与えた。

- (4) 分子動力学シミュレーションは、計算結果として、系を構成する各原子の3次元座標を時系列に従い出力する。このような多変量データから、溶液中において複雑に構造を変化させる生体高分子立体構造の特徴を、効果的に抽出、分類、可視化する手法の開発を進めた。

例として、メチオニンエンケファリン（鎮痛作用を持つペプチドホルモンの一種）を複数の平面で近似し、各平面間の相対傾きを四元数（超複素数の一つ）によって表現することで、立体構造の特徴を数値化した。

さらに、この形式で出力された膨大な立体配座データを、自己組織化マップ (SOM) 法 (教師なし学習によるクラスタリングの手法の一つ) を用いて分類し、平面および球面上に分類配置することで、コソルベント水溶液中において、激しく変化するペプチドの立体構造や運動状態の特徴を視覚的に理解することを可能にした。

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 5 件)

- ① Isseki Yu, Masayoshi Takayanagi, Masataka Nagaoka
Intrinsic Alterations in the Partial Molar Volume on the Protein Denaturation: Surficial Kirkwood-Buff Approach
Journal of Physical Chemistry B, **113**, 3543-3547, (2009). 査読有
- ② Masataka Nagaoka, Isseki Yu and Masayoshi Takayanagi
Energy Flow Analysis in Proteins via Ensemble Molecular Dynamics Simulations: Time-Resolved Vibrational Analysis and Surficial Kirkwood-Buff Theory
D.M. Leitner and J.E. Straub, Eds.,
“*Proteins: Energy, Heat and Signal Flow*”, CRC, Boca Raton, 169-196, (2009). 査読有
- ③ Isseki Yu and Masataka Nagaoka
Surficial Kirkwood-Buff Approach on the

Preferential Interaction of Urea and Ectoine with Protein

Proceedings of International Symposium on Frontiers of Computational Science, 9-14, (2008). 査読有

- ④ Eckhard Hitzer, Kanta Tachibana, Sven Buchholz and Isseki Yu
Carrier Method for the General Evaluation and Control of Pose, Molecular Conformation, Tracking, etc.
Advances in Applied Clifford Algebras, **19**, 339-364, (2008). 査読有

- ⑤ Isseki Yu, Masataka Nagaoka
Microscopic Understanding of Preferential Exclusion of Compatible Solute Ectoine: Direct Interaction and Hydration Alteration
Journal of Physical Chemistry B, **111**, 10231-10238, (2007). 査読有

[学会発表] (計 10 件)

国際学会発表

- ① 発表者: Isseki Yu, Masataka Nagaoka
演題: Molecular Picture of Protein Volume Paradox: A Study by Surficial Kirkwood-Buff Integral Method
学会名: The fourth Asian Pacific Conference on Theoretical & Computational Chemistry
場所、年月日: クアラルンプール、2009年12月22日
- ② 発表者: Isseki Yu, Masataka Nagaoka,
演題: Surficial Kirkwood-Buff Approach on the Preferential Interaction of Urea and Ectoine with Protein
学会名: International Symposium on Frontiers of Computational Science
場所、年月日: 名古屋、2008年11月29日
- ③ 発表者: Isseki Yu, Masataka Nagaoka,
演題: Microscopic Understanding of Preferential Exclusion of Compatible Solute Ectoine: Surficial Kirkwood-Buff Approach
学会名: The 3rd Asian Pacific Conference on Theoretical & Computational Chemistry
場所、年月日: 北京、2007年9月23日

国内学会発表

- ① 発表者: 優 乙石 長岡正隆
演題: Protein Volume Paradox and its Molecular Picture: A Study by Surficial

Kirkwood-Buff Integral Method

学会名：第 47 回生物物理学会年会

場所、年月日：徳島、2009 年 11 月 1 日

- ② 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：部分モル体積の空間分布から見たタンパク質変性：カークウッド-バフ積分法による考察
学会名：第 3 回分子科学討論会
場所、年月日：名古屋、2009 年 9 月 22 日
- ③ 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：表面カークウッド-バフ積分法によるタンパク質部分モル体積不変性の微視的理解
学会名：理論化学討論会
場所、年月日：東京、2009 年 5 月 30 日
- ④ 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：表面 Kirkwood-Buff 法による補償溶質エクトイン選択的排除の分子論的理解
学会名：日本化学会第 88 回春季会
場所、年月日：東京、2008 年 3 月 28 日
- ⑤ 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：Molecular Mechanism of the Preferential Exclusion of Compatible Solute Ectoine on the Protein Surface
学会名：第 45 回生物物理学会年会
場所、年月日：東京、2007 年 12 月 23 日
- ⑥ 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：エクトイン水溶液中のタンパク質および小ペプチド表面における選択的水和
学会名：第 1 回分子科学討論会
場所、年月日：仙台、2007 年 9 月 19 日
- ⑦ 発表者：優乙石、長岡正隆
演題：エクトイン水溶液中のタンパク質表面における選択的水和発現機構の分子論的考察
学会名：第 10 回理論化学討論会
場所、年月日：名古屋、2007 年 5 月 15 日

[図書] (計 1 件)

長岡正隆 編・著 優乙石 他 7 名著
すぐできる分子シミュレーションビギナーズマニュアル
講談社サイエンティフィク (2008).
総ページ数：291
(担当ページ：p. 67-75, 111-113, 195-198,

257-258, 262-265, 269-278)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

優乙石 (YU ISSKEI)

青山学院大学・理工学部・助教

研究者番号：90402544