

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2014

課題番号：23651202

研究課題名(和文)水が誘起するタンパク質エネルギーゆらぎのパスウェイ解析

研究課題名(英文)Conversion of Interaction Energies of Protein Induced by Solvent Water

## 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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質の構造ゆらぎに応じて、その分子内構造エネルギーと溶媒和自由エネルギーもゆらぐ。本研究の目的は、エネルギーゆらぎを相互作用成分ごとに分割して相関解析を行うことである。溶媒として純水だけでなく、尿素-水混合溶媒も検討した。その結果、溶媒が純水の場合、構造エネルギーと水和自由エネルギーの間の補償関係から、タンパク質構造のゆらぎが水和によって誘起されることを示し、相互作用成分への分割によって、エネルギーゆらぎは静電相互作用に支配されることを明らかにした。また、純水から尿素-水混合溶媒への移行の場合は、van der Waals相互作用が支配的な寄与をすることが分かった。

研究成果の概要(英文)：The intramolecular energy and the solvation free energy of a protein fluctuate in response to its structure. In the present work, we conduct correlation analyses for a variety of interaction components of protein in explicit solvent; the solvent employed is not only pure water but also a mixed solvent of urea and water and all-atom computation of solvation free energy is carried out using molecular dynamics simulation and the method of energy representation. It is seen in pure-water solvent that the variations of the structural energy and the hydration free energy compensate each other during the course of equilibrium fluctuation and that the hydration free energy varies in strong correlation to the electrostatic component of the solute-solvent interaction energy. In the transfer energetics from pure-water solvent to the urea-water mixed solvent, on the other hand, it is found that the van der Waals component in the solute-solvent energy plays a dominant role.

研究分野：物理化学、理論化学、計算化学

キーワード：溶媒和 エネルギー ゆらぎ 溶液理論 MDシミュレーション

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、溶媒である水との相互作用の下で、機能を発現する。しかし、水とタンパク質の相互作用エネルギーが、どのように、機能に結び付くタンパク質構造ゆらぎに変換するかを明らかにすること無しに、生化学過程における水の役割を理解・制御することはできない。この課題の解決には、全原子レベルの自由エネルギー解析が必須である。水とタンパク質の相互作用には、水素結合などの特異的なものが多く含まれるためである。研究開始までの時点で、本研究の代表者はエネルギー表示の溶液理論を開発することで、従来法では不可能な大規模系の水和効果の定量的解析を可能としつつあり、全原子モデルを用いて、タンパク質と水、さらに、共溶媒の相互作用エネルギーの変換の定量的解析の準備を整えた状況にあった。

### 2. 研究の目的

水溶液中のタンパク質に対する水和効果を熱力学のレベルで規定する水和自由エネルギーを、全原子レベルで解析し、溶質・溶媒相互作用のどの成分が、タンパク質構造のゆらぎに用いられるかを解析する。さらに、水・尿素混合溶媒中でのタンパク質構造についても解析を進め、共溶媒の存在による溶質・溶媒相互作用の変化のどの成分が、タンパク質構造の変化(変性)に用いられるかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

シトクロム *c* および TrpCage を対象タンパク質として、純水溶媒中および水・尿素混合溶媒中での大規模分子動力学シミュレーションを行う。トラジェクトリから、100 個程度のタンパク質構造をサンプルし、各固定構造に対する溶媒和自由エネルギーの計算を行う。溶媒をあらわに考慮したタンパク質の自由エネルギー計算は、通常法では困難である。本研究では、溶液の密度汎関数理論に基づくエネルギー表示法によって、溶媒を全原子レベルで取り入れて溶媒和自由エネルギーを算出する。さらに、溶質・溶媒相互作用、および、その静電成分と van der Waals 成分、また、排除体積成分を、各タンパク質構造に対して計算し、溶媒和自由エネルギーとの相関解析から、タンパク質構造の変換をもたらすエネルギー成分を同定する。

### 4. 研究成果

horse heart cytochrome *c* の平衡分子動力学シミュレーション (MD) を常温で行い配座データを取り出し、各タンパク質構造について、水和自由エネルギーの計算を行った。水和自由エネルギー計算では、水をあらわに取扱い、エネルギー表示法をもちいた。エネルギー表示法の理論自体の改良は行わなかったが、タンパク質の自由エネルギー計算は巨大計算と呼ぶべきものであり、これを高速・効率的

に行うために、エネルギー表示法による自由エネルギー計算のプログラムの大幅改良を行った。この作業は、本研究の技術的側面として重要なステップである。数倍の高速化と、計算そのものの半自動化を行い、大量の配座構造の自動解析を可能とした。配座データの解析の結果、水和自由エネルギーと水和エネルギーの直線関係が見出された。このことから、相関解析は、水和自由エネルギーではなく、水和エネルギーに対して行えば良いことが分った。水和エネルギーは、各残基ごとや溶媒成分ごと、また、静電成分や van der Waals 成分に線形に分割することができるので、相関解析の簡略化をもたらす結果である。

そこで、水和自由エネルギーに対する相関を考察した。相関解析は、タンパク質・水間の相互作用エネルギーの静電成分や van der Waals 成分、および、排除体積成分に対して行った。排除体積成分の定義には、溶媒和モデルの援用が必要である。本研究では、エネルギー表示溶液理論における溶媒和自由エネルギーの汎関数に基づいて、排除体積成分を導入した。エネルギー表示溶液理論では、溶媒和自由エネルギーは溶質・溶媒 2 体相互作用エネルギーの上の積分として表される。そこで、積分の領域を、溶媒のアクセスが不可能となるような高エネルギー領域に制限することで、排除体積成分を決定した。相関解析の結果、水和自由エネルギーは、水和エネルギーの中の静電成分と強く相関することが見出されたが、van der Waals 成分や排除体積成分とは無相関であることが分った。タンパク質の構造ゆらぎを誘起するのは水和であるが、その中の静電成分の変換によってタンパク質の構造が変化することが分った。

同様の解析を TrpCage に対しても行った。TrpCage の場合は、常温での解析のみならず、タンパク質が変性する高温での解析にも進んだ。静電成分、van der Waals 成分、排除体積成分の役割については、常温条件、高温条件のそれぞれの中では同様であることが見出された。特に、静電成分との相関は非常に強く、熱力学状態をまたいで、同一の回帰直線によって、水和自由エネルギーと溶質・溶媒相互作用の静電成分がフィットできることを見た。これは、線形応答の描像を支持するものである。常温条件で生成した天然配座と高温条件で生成した変性配座を比べると、重要な相互作用成分が変わり、van der Waals 成分と排除体積成分が鍵を握ることが示した。排除体積成分の重要性は、これまでにもモデル計算によって指摘されてきたが、初めて、全原子レベルでの計算をよって妥当性を示した。また、天然配座と変性配座の相対安定性を定量化するには、鎖エントロピーが重要であることが分った。

さらに、horse heart cytochrome *c* を対象として、水 尿素混合溶媒中での計算を行った。計算の手法は、純水溶媒の場合と同様である。相関解析は、純水溶媒から水 尿素混合溶媒への移行に関わる自由エネルギーとエネルギーについて行い、静電成分、van der Waals 成分、排除体積成分への分割だけではなく、溶媒(水と尿素)ごとの寄与への分割も行った。その結果、移行自由エネルギーと強く関連するのは、移行に伴う溶質 溶媒相互作用の中の van der Waals 成分であり、純水中でのタンパク質の構造ゆらぎを誘起する静電成分の役割はマイナーであることが分かった。タンパク質が、純水溶媒から水 尿素混合溶媒に移行すると、van der Waals エネルギーの変化がタンパク質構造の変化(変性)に用いられることを示す。

#### 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 38 件)

- 1 Exploring the reorientation of benzene in an ionic liquid via molecular dynamics: Effect of temperature and solvent effective charge on the slow dynamics, Y. Yasaka, M. L. Klein, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **134**, 191101 (4 pages) (2011). DOI: 10.1063/1.3592530
- 2 NMR-NOE and MD Simulation Study on Phospholipid Membranes: Dependence on Membrane Diameter and Multiple Time Scale Dynamics, M. Shintani, K. Yoshida, S. Sakuraba, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **115**, 9106–9115 (2011). DOI: 10.1021/jp204051f
- 3 Distribution-function approach to free energy computation, S. Sakuraba and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **135**, 114108 (11 pages) (2011). DOI: 10.1063/1.3637036
- 4 Frequency-Domain Investigation of the Ionic Mobility of Triflate Salts in Tetrahydrofuran, T. Yamaguchi, Y. Yamada, T. Matsuoka, S. Koda, Y. Yasaka, and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **115**, 12558–12565 (2011). DOI: 10.1021/jp208317f
- 5 In Situ Kinetic Study on Hydrothermal Transformation of D-Glucose into 5-Hydroxymethylfurfural through D-Fructose with <sup>13</sup>C NMR, H. Kimura, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. A* **115**, 14013–14021 (2011). DOI: 10.1021/jp206355e
- 6 Free-energy analysis of the electron-density fluctuation in the quantum-mechanical/molecular-mechanical simulation combined with the theory of energy representation, N. Matubayasi and H. Takahashi, *J. Chem. Phys.*, **136**, 044505 (10 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.3677184
- 7 Rotational dynamics of benzene and water in an ionic liquid explored via molecular dynamics simulations and NMR *T*<sub>1</sub> measurements, Y. Yasaka, M. L. Klein, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **136**, 074508 (12 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.3685100
- 8 The effect of pressure on halothane binding to hydrated DMPC bilayers, P.-L. Chau, K. M. Tu, K. K. Liang, I. T. Todorov, S. J. Roser, R. Barker, and N. Matubayasi, *Mol. Phys.*, **110**, 1461-1467 (2012). DOI: 10.1080/00268976.2012.659682
- 9 Free-Energy and Structural Analysis of Ion Solvation and Contact Ion-Pair Formation of Li<sup>+</sup> with BF<sub>4</sub><sup>-</sup> and PF<sub>6</sub><sup>-</sup> in Water and Carbonate Solvents, M. Takeuchi, N. Matubayasi, Y. Kameda, B. Minofar, S. Ishiguro, and Y. Umebayashi, *J. Phys. Chem. B* **116**, 6476–6487 (2012). DOI: 10.1021/jp3011487
- 10 Simple and exact approach to the electronic polarization effect on the solvation free energy: Formulation for quantum-mechanical/molecular-mechanical system and its applications to aqueous solutions, H. Takahashi, A. Omi, A. Morita, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **136**, 214503 (12 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4722347
- 11 A possible molecular mechanism for the pressure reversal of general anaesthetics: aggregation of halothane in POPC bilayers at high pressure, K. M. Tu, N. Matubayasi, K. K. Liang, I. T. Todorov, S. L. Chan, and P.-L. Chau, *Chem. Phys. Lett.*, **543**, 148-154 (2012). DOI: 10.1016/j.cplett.2012.06.044
- 12 Interaction of naphthalene derivatives with lipid in membrane studied by <sup>1</sup>H-nuclear Overhauser effect and molecular dynamics simulation, M. Shintani, Y. Matsuo, S. Sakuraba, and N. Matubayasi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **14**, 14049-14060 (2012). DOI: 10.1039/c2cp41984j
- 13 Structural characteristics of yeast F<sub>1</sub>-ATPase before and after 16-degree rotation of the  $\alpha$  subunit: Theoretical analysis focused on the water-entropy effect, T. Yoshidome, Y. Ito, N. Matubayasi, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, *J. Chem. Phys.*, **137**, 035102 (8 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4734298
- 14 Noncatalytic Hydrothermal Elimination of the Terminal D-Glucose Unit from Malto- and Cello-Oligosaccharides through Transformation to D-Fructose, H. Kimura, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. A* **116**, 10039–10049 (2012). DOI: 10.1021/jp3034165
- 15 Nuclear magnetic resonance study on

- rotational dynamics of water and benzene in a series of ionic liquids: Anion and cation effects, H. Kimura, Y. Yasaka, M. Nakahara, and N. Matubayasi *J. Chem. Phys.*, **137**, 194503 (10 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4766258
- 16 Density effect on infrared spectrum for supercritical water in the low- and medium-density region studied by molecular dynamics simulation, K. Yoshida, N. Matubayasi, Y. Uosaki, and M. Nakahara *J. Chem. Phys.*, **137**, 194506 (10 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4767352
  - 17 Evaluation of protein-protein docking model structures using all-atom molecular dynamics simulations combined with the solution theory in the energy representation, K. Takemura, H. Guo, S. Sakuraba, N. Matubayasi, and A. Kitao, *J. Chem. Phys.*, **137**, 215105 (10 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4768901
  - 18 Molecular dynamics study of fast dielectric relaxation of water around a molecular-sized ion, Y. Kubota, A. Yoshimori, N. Matubayasi, M. Suzuki, and R. Akiyama, *J. Chem. Phys.*, **137**, 224502 (4 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4769972
  - 19 Free-energy analysis of water affinity in polymer studied by atomistic molecular simulation combined with the theory of solutions in the energy representation, T. Kawakami, I. Shigemoto, and N. Matubayasi *J. Chem. Phys.*, **137**, 234903 (9 pages) (2012). DOI: 10.1063/1.4770334, *J. Chem. Phys.* **140**, 169903 (2 pages) (2014) (erratum). DOI: 10.1063/1.4873166
  - 20 Free-energy analysis of lysozyme-triNAG binding modes with all-atom molecular dynamics simulation combined with the solution theory in the energy representation, K. Takemura, R. R. Burri, T. Ishikawa, T. Ishikura, S. Sakuraba, N. Matubayasi, K. Kuwata, and A. Kitao, *Chem. Phys. Lett.*, **559**, 94-98 (2013). DOI: 10.1016/j.cplett.2012.12.063
  - 21 A theoretical study of the two binding modes between lysozyme and tri-NAG with an explicit solvent model based on the fragment molecular orbital method, T. Ishikawa, R. R. Burri, Y. O. Kamatari, S. Sakuraba, N. Matubayasi, A. Kitao, and K. Kuwata, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **15**, 3646–3654 (2013). DOI: 10.1039/c3cp42761g
  - 22 Interaction-component analysis of the urea effect on amino acid analogs, Y. Karino and N. Matubayasi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **15**, 4377-4391 (2013). DOI: 10.1039/c3cp43346c
  - 23 Solvent Effect on Pathways and Mechanisms for D-Fructose Conversion to 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde: In Situ <sup>13</sup>C NMR Study, H. Kimura, M. Nakahara, and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. A* **117**, 2102–2113 (2013). DOI: 10.1021/jp312002h
  - 24 Molecular Dynamics Simulations of Yeast F<sub>1</sub>-ATPase before and after 16° Rotation of the  $\alpha$  Subunit, Y. Ito, T. Yoshidome, N. Matubayasi, M. Kinoshita, and M. Ikeguchi, *J. Phys. Chem. B* **117**, 3298–3307 (2013). DOI: 10.1021/jp312499u
  - 25 Effect of heavy hydrogen isotopes on the vibrational line shape for supercritical water through rotational couplings, K. Yoshida, N. Matubayasi, Y. Uosaki, and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.*, **138**, 134508 (12 pages) (2013). DOI: 10.1063/1.4798933
  - 26 Anion-Dependence of Fast Relaxation Component in Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> Halide Solutions at Low Concentrations Measured by High-Resolution Microwave Dielectric Spectroscopy, G. Mogami, T. Miyazaki, T. Wazawa, N. Matubayasi, and M. Suzuki, *J. Phys. Chem. A* **117**, 4851-4862 (2013). DOI: 10.1021/jp4012119
  - 27 Preferential Solvation: Dividing Surface vs Excess Numbers, S. Shimizu and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **118**, 3922-3930 (2014). DOI: 10.1021/jp410567c
  - 28 Comparative Study on the Properties of Hydration Water of Na- and K-Halide Ions by Raman OH/OD-stretching Spectroscopy and Dielectric Relaxation Data, Y. Okazaki, T. Taniuchi, G. Mogami, N. Matubayasi, and M. Suzuki, *J. Phys. Chem. A* **118**, 2922-2930 (2014). DOI: 10.1021/jp412804d
  - 29 ERmod: Fast and Versatile Computation Software for Solvation Free Energy with Approximate Theory of Solutions, S. Sakuraba and N. Matubayasi, *J. Comput. Chem.* **35**, 1592-1608 (2014). DOI: 10.1002/jcc.23651
  - 30 Spatial-decomposition analysis of electrical conductivity in concentrated electrolyte solution, K.-M. Tu, R. Ishizuka, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **141**, 044126 (9 pages) (2014). DOI: 10.1063/1.4890741
  - 31 Hydrotropy: Monomer-Micelle Equilibrium and Minimum Hydrotrope Concentration, S. Shimizu and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **118**, 10515-10524 (2014). DOI: 10.1021/jp505869m
  - 32 Effect of Rotational Couplings on Vibrational Spectrum Line Shape of the Bending Mode in Low-Density Supercritical Water: Density and Hydrogen Isotopes Dependencies, K. Yoshida, N. Matubayasi, Y. Uosaki, and M. Nakahara, *J. Solution Chem.*, **43**, 1499-1508 (2014). DOI: 10.1007/s10953-014-0220-1
  - 33 Gelation: The Role of Sugars and Polyols on Gelatin and Agarose, S. Shimizu and N. Matubayasi, *J. Phys. Chem. B* **118**,

- 13210-13216 (2014). DOI: 10.1021/jp509099h
- 34 Spatial-decomposition analysis of electrical conductivity in ionic liquid, K.-M. Tu, R. Ishizuka, and N. Matubayasi, *J. Chem. Phys.*, **141**, 244507 (11 pages) (2014). DOI: 10.1063/1.4904382
- 35 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). DOI: 10.1021/ct5008394
- 36 Energetic Contributions from the Cation and Anion to the Stability of Carbon Dioxide Dissolved in Imidazolium-Based Ionic Liquids, R. Ishizuka, N. Matubayasi, K.-M. Tu, and Y. Umebayashi, *J. Phys. Chem. B* **119**, 1579-1587 (2015). DOI: 10.1021/jp5101957
- 37 Effect of diffuseness of micelle boundary on the solute distribution upon solubilization, T. Mizuguchi, R. Ishizuka, and N. Matubayasi, *Chem. Phys. Lett.*, **624**, 19-23 (2015). DOI: 10.1016/j.cplett.2015.02.001
- 38 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). DOI: 10.1063/1.4919636

〔学会発表〕(計 150 件)

- 1 N. Matubayasi, “Free-energy Analysis of urea effect on amino-acid analogs and proteins”, Telluride Science Research Center workshop “The Physics, Chemistry, and Biology of Ions and Osmolytes in Solution”, 2011 年 7 月 11 日 ~ 15 日, Telluride (USA)
- 2 N. Matubayasi, “Extended Concept of Solvation toward Unified Understandings of Molecular Binding in Weakly Ordered Systems”, JST International Symposium on Multi-scale Simulation of Condensed-phase Reacting Systems, 2012 年 5 月 10 日 ~ 12 日, 名古屋大学 (名古屋市千種区)
- 3 N. Matubayasi, “Effects of water and cosolvents on functional molecules in solution”, MLG/JMLG Annual Meeting 2012 “Molecular association in fluid phases and at fluid interfaces”, 2012 年 9 月 5 日 ~ 9 日, Eger (Hungary)
- 4 N. Matubayasi, “Free-Energy Analysis of Solvation and Membrane Effects on Protein Configurations”, 3rd International Conference on Molecular Simulation, 2013 年 11 月 18 日 ~ 20 日, Kobe International Conference Center (神戸市中央区)
- 5 N. Matubayasi, “Interaction-Component Analysis on Protein Structure in Explicit Solvent”, 第 52 回日本生物物理学会, 2014 年 9 月 25 日 ~ 27 日, 札幌コンベンション

センター (札幌)

〔図書〕(計 2 件)

- 1 巨大分子系の計算化学 超大型計算機時代の理論化学の新展開, 11 章 超臨界水と脂質膜, 松林 伸幸, page 123-128, 日本化学会編, CSJ カレントレビュー, 化学同人 (2012); ISBN 978-4-7598-1368-5
- 2 溶媒和概念の拡張に基づくソフト分子集合系の物質分配機能の解析, 松林 伸幸, 分析化学 (ISSN 0525-1931), **64**, No. 3, 185-188 (2015).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

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: 2014-202658  
 出願年月日: 2014 年 9 月 30 日  
 国内外の別: 国内

取得状況 (計 0 件)

名称:  
 発明者:  
 権利者:  
 種類:  
 番号:  
 出願年月日:  
 取得年月日:  
 国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

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: 23651202

(2) 研究分担者  
 ( )

研究者番号:

(3) 連携研究者  
 ( )

研究者番号: