

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：63903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25288011

研究課題名(和文) 生体分子の構造遍歴ダイナミクスと機能発現の分子機構の理論的解明

研究課題名(英文) Theoretical studies of conformation transition dynamics and functions of biomolecules

研究代表者

斉藤 真司 (SAITO, Shinji)

分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域・教授

研究者番号：70262847

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、動的情報をもつ物理量から時間スケールの遅い運動モードを抽出する解析手法を開発した。このように動的情報に基づいて決定した反応座標から自由エネルギー面を描き、タンパク質の折れ畳み機構を解析した。また、構造変化に関する三時間相関関数およびそれに対応する二次元寿命スペクトルの時間発展から、異なる時間スケールを持つ構造変化動力学がどのように時間変化するかを解明するための新規手法も開発した。さらに、機能に関する研究として、概日リズムを示すシアノバクテリアの時計タンパク質KaiCの局所的構造を解析し、秋山教授(分子研)らとともにATP加水分解反応の始状態に水が到達し難いこと等を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we have developed two new analytical methods to reveal conformational fluctuations and changes of biomolecular systems. One is the method to extract slow modes in a dynamic quantity, for example a time-correlation matrix, calculated from the trajectories of molecular dynamics simulations. We applied the present method to examine the folding/unfolding processes of Fip35 WW domain and villin headpiece subdomain. The other is a development of time-dependent two-dimensional lifetime spectra to reveal the time evolution of coupling of motions between different time scales. We applied the method to the structural fluctuations of Adenylate kinase calculated with a coarse grained model. In addition to the development of the above methods, we have investigated the local structure of KaiC, which is the main protein of circadian rhythm of cyanobacteria.

研究分野：物理化学、理論化学

 キーワード：階層的動力学 構造変化 概日リズム 時計タンパク質KaiC 二次元寿命スペクトル 三時間相関関数
分子動力学

1. 研究開始当初の背景

シグナル伝達、酵素活性などには、生体分子のコンフォメーションの変化が関わっている。近年、NMR とくに緩和分散法や一分子蛍光共鳴エネルギー移動により、従来の手法で解析できなかった低存在比の状態（励起状態と呼ばれる）、天然状態や励起状態にある生体分子の構造および動的情報、状態間の連結性を解析できるようになった。しかし、タンパク質をはじめとする生体分子系の理論・計算科学研究においては、いまだに自由エネルギー面のように静的かつ平均的構造に基づく解析、もしくは短いトラジェクトリ計算をもとにしたマルコフ近似による解析が行われているにすぎず、タンパク質のダイナミクスに基づく構造揺らぎ・変化に関する研究はほとんど行われていない。しかも、生体分子系は、一般的に、不均一構造および非指数関数で表される遅い時間スケールを持つことで特徴付けられることが知られており、現在広く用いられている平均的構造やマルコフ近似の妥当性すら実は明らかではない。

さらに、シグナル伝達、酵素活性など構造変化による機能発現に関する実験研究も進展している。しかし、機能発現に関する理論・計算科学研究においても、数ピコ秒で進行する高速な状態変化（例えば、電子状態変化に伴う構造変化）については解析されているものの、いくつもの状態や構造変化により引き起こされる遅い構造変化、すなわち、生体分子系においてより重要となる機能発現に関する解析についてはほとんど研究が進展していない状況である。

我々はこれまで液体のダイナミクスの解析を行ってきた。とくに、多時間相関関数で表される高次非線形分光法が位相空間の変形に敏感であることを示し、分子シミュレーションに基づく多次元分光法の計算手法を世界に先駆けて開発し、水の回転運動における不均一性の時間変化やエネルギー緩和過程など水の分子間ダイナミクスに関する分子論的知見を深化させてきた。さらに、過冷却液体における遅いダイナミクスについても様々な解析を進めてきた。とくに、我々は多時間相関関数により不均一ダイナミクスやその寿命を解析し、均一的な密度揺らぎよりも遅い不均一ダイナミクスの存在やその温度依存性を明らかにしてきた。以上のダイナミクスに関する解析に加えて、生体分子系についても多様な構造変化の観点から、タンパク質の構造揺らぎ・変化の解析を行ってきた。

2. 研究の目的

これまで、生体分子系などにおいてダイナミクスに基づいた理論解析がほとんど進展していない理由は、ANTON のような専用マシンを用いなければサブミリ秒に及ぶ長時間のトラジェクトリ計算を実行できないた

めである。現状においては、一般に ANTON を自由自在に利用することはできないが、タンパク質によっては ANTON で生成されたトラジェクトリを自由に利用することが可能である。また、ANTON のような計算機環境が利用可能になる近い将来に向けて、長時間のトラジェクトリが得られた場合にどのような解析を行うべきであるかについては今から考えておくべき課題である。

我々は、生体分子における遅い構造変化への展開を意識し過冷却液体などの研究を進めてきた。本課題では、これまでに開発してきた多次元相関関数のアイデアを二次元蛍光スペクトルなどへと展開し、構造変化に対する新しい解析手法を開発し、生体分子が多様な状態をいかに揺らぎ・遍歴し、高次構造を形成しているのかを明らかにすることを目的とする。

また、シグナル伝達、酵素活性など構造変化による機能発現に関する研究として、KaiC における ATP 加水分解反応やリン酸化状態の変化に誘起される構造変化等を調べ、概日リズムの分子機構についても解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

長時間のトラジェクトリデータに基づく動的な情報から、構造変化（タンパク質の折れたたみ）に関わる時間スケールに基づく反応座標を決定し、構造変化過程をそれらの座標上に射影することにより構造変化過程の理解を図る。

また、原子間相互作用に基づく粗視化モデルを用いたシミュレーションにより、細胞中の ATP と ADP の均衡維持に重要な Adenylate kinase を例に、その構造揺らぎや多様な状態間の構造遍歴ダイナミクスを解析する。とくに、多時間相関関数に基づく新しい解析手法を開発し、構造遍歴の様相などを明らかにする。

さらに、QM/MM 計算と全原子シミュレーションを駆使し、シアノバクテリアの生物時計タンパク質 KaiC の概日リズムの分子機構の解析を行う。とくに、KaiC の ATP 加水分解やリン酸化反応により、KaiC の各ドメインにどのような構造変化が引き起こされ、概日リズムとしての機能発現に至るのかななどを明らかにする。

4. 研究成果

既に述べたように、本課題では、多次元分光法・多時間相関関数のアイデアを一分子分光法に応用し、自由エネルギーなどの静的な解析では解明不可能かつ従来の実験結果の裏に隠された多様な構造揺らぎおよび変化を抽出する解析手法の確立を目指した。

まず、構造揺らぎ・変化に関して、遅い変数を抽出する解析手法の開発を行った。今回開発した遅い変数、さらにその座標に沿って大きく変化・カップルする変数を反応座標と

し自由エネルギー面を描き、タンパク質の折れたたみ機構の解析を行った[1,2]。

また、構造変化に関する三時間相関関数を求め、その二次元逆ラプラス変換により二次元寿命スペクトルを求めることにより、異なる時間スケールを持つ構造変化のカップリングがどのように時間変化するかを解析するための新しい手法の開発に成功した。この解析手法をリン酸転移酵素反応におけるドメインの構造変化に応用した[3]。この方法は理論計算に対する方法ではなく、時系列データがあれば実験データに対しても用いることができるものであり、イスラエルの実験研究者により実験データの解析に応用されている。

以上の構造揺らぎ・構造変化に関する新規解析手法の開発と応用展開に加え、機能発現に関する研究として、概日リズムを示すシアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC の局所的構造変化の解析として、実験研究を行っている秋山教授(分子研)らとともに ATP 加水分解反応の始状態に水が到達し難いこと等を明らかにした[4]。

以上に述べた構造揺らぎ・変化の解析および機能発現に関する研究の展開として、平成28年度から、「構造揺らぎ・構造変化に基づく生体分子の機能発現の理論的解明」を推進している。

さらに、光合成における高効率なエネルギー移動の解明に向けた解析も進めた。我々は、Fenna-Matthews-Olson (FMO) タンパク質を例として、各色素のエネルギー準位およびその揺らぎを解析するため方法論の開発を進め[5]、FMO タンパク中の色素のエネルギー準位を第一原理的に求めることに成功し、各色素の構造やタンパク質や水など色素周辺の環境により励起エネルギーが如何に揺らいでいるのかを明らかにした[6]。また、生体分子系の構造安定性・構造形成において水は非常に重要な役割を示すことが知られている。そこで、我々は、水のダイナミクスや熱力学的性質の特異性に関する解析も進めた。

<引用文献>

- [1] T. Mori and S. Saito, J. Chem. Phys., 142, 135101 (7 pages) (2015).
- [2] T. Mori and S. Saito, J. Phys. Chem. B, 120, 11683-11691 (2016).
- [3] J. Ono, S. Takada, and S. Saito, J. Chem. Phys. Special Topic on Multidimensional Spectroscopy, 142, 212404 (13 pages) (2015).
- [4] Abe et al., Science, 349, 319-322 (2015).
- [5] M. Higashi et al., J. Phys. Chem. B, 118, 10906-10918 (2014).
- [6] M. Higashi and S. Saito, J. Chem. Theor. Comput., 12, 4128-4137 (2016).

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8件)

- T. Mori and S. Saito, Molecular Mechanism behind the Fast Folding/Unfolding Transitions of Villin Headpiece Subdomain: Hierarchy and Heterogeneity, J. Phys. Chem. B, 120, 11683-11691 (2016), DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b08066, 査読有.
- M. Higashi and S. Saito, Quantitative Evaluation of Site Energies and Their Fluctuations of Pigments in the Fenna-Matthews-Olson Complex with an Efficient Method for Generating a Potential Energy Surface, J. Chem. Theor. Comput., 12, 4128-4137 (2016), DOI: 10.1021/acs.jctc.6b00516, 査読有.
- J. Abe, T. Hiyama, A. Mukaiyama, S. Son, T. Mori, S. Saito, M. Osako, J. Wolanin, E. Yamashita, T. Kondo, and S. Akiyama, Atomic-Scale Origins of Slowness in the Cyanobacterial Circadian Clock, Science, 349, 312 (2015), DOI: 10.1126/science.1261040, 査読有.
- S. Imoto, S. S. Xantheas, and S. Saito, Ultrafast Dynamics of Liquid Water: Energy Relaxation and Transfer Processes of the OH Stretch and the HOH Bend, J. Phys. Chem. B, 119, 11068-11078 (2015), DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b02589, 査読有.
- J. Ono, S. Takada, and S. Saito, Couplings between hierarchical conformational dynamics from multi-time correlation functions and two-dimensional lifetime spectra: Application to adenylate kinase, J. Chem. Phys., Special Topic on Multidimensional Spectroscopy, 142, 212404 (13 pages) (2015), DOI: 10.1063/1.4914328, 査読有.
- T. Mori and S. Saito, Dynamic heterogeneity in the folding/unfolding transitions of FiP35, J. Chem. Phys., 142, 135101 (7 pages) (2015), DOI: 10.1063/1.4916641, 査読有.
- M. Higashi, T. Kosugi, S. Hayashi, and S. Saito, Theoretical Study on Excited States of Bacteriochlorophyll a in Solutions with Density Functional Assessment, J. Phys. Chem. B, 118, 10906-10918 (2014), DOI: 10.1021/jp507259g, 査読有.
- T. Sumikama, S. Saito, and I. Ohmine, Mechanism of ion permeation through a model channel: Roles of energetic and entropic contributions, J. Chem. Phys., 139, 165106 (8 pages) (2013), DOI: 10.1063/1.4827088, 査読有.

[学会発表](計11件)

- S. Saito, Structure and dynamics of supercooled water, Indo-Japan bilateral seminar, Nov. 13-16 (2016), Kanpur (India).
斉藤真司、揺らぎから物性・機能機構の解

明へ、第3回電子状態シンポジウム、Nov. 5 (2016), 早稲田大学(東京都・新宿区)。
S. Saito, Structure and dynamics of supercooled water, 4th International Conference on Molecular Simulation, Oct. 23-26 (2016), Shanghai (China).
S. Saito, Structure and dynamics of supercooled water, 2016 annual meeting EMLG-JMLG, Sept. 11-16 (2016), Chania, (Greece).
斉藤真司、水の構造とダイナミクス：特異的性質の起源、化学系講演会、July 19 (2016), 琉球大学(沖縄県・中頭郡)。
S. Saito, Dynamics of water and proteins, 8th International Kasetsart University Science and Technology Annual Research Symposium, June 2-4 (2016), Bangkok (Thailand).
S. Saito, Simulations of proton transfer and energy transfer in excited states, 9th International Meeting on Photodynamics and Related Aspects, May 9-13 (2016), Mendoza (Argentina).
S. Saito, Hydrogen Bond Network Dynamics in Supercooled Water, International 6th THz-Bio Workshop 2015, April 9-10 (2015), Seoul (Korea).
S. Saito, Dynamics of Water and Biomolecules, Japan-Indo Bilateral Collaborative Seminar, Nov. 25-27 (2014), 東大寺(奈良県・奈良市)。
斉藤真司、凝縮系における時空間不均一動力学、分子科学討論会、Sept. 21-24 (2014), 広島大学(広島県・東広島市)。
S. Saito, Dynamics of water: From ultrafast dynamics to anomalous thermodynamic properties, Department Seminar, Chungbuk National University, Nov. 19 (2013), Cheongju (Korea).

[その他]

ホームページ等

http://dyna.ims.ac.jp/NewHP_Group/

<http://dyna.ims.ac.jp/shinji/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

斉藤 真司 (SAITO, Shinji)

分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域・教授

研究者番号： 7 0 2 6 2 8 4 7

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

高田 彰二 (TAKADA, Shoji)

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号： 6 0 3 0 4 0 8 6

秋山 修志 (AKIYAMA, Shuji)

分子科学研究所・協奏分子システム研究センター・教授

研究者番号： 5 0 3 9 1 8 4 2

(4) 研究協力者

小野 純一 (ONO, Jun-ichi)

森 俊文 (MORI, Toshifumi)

甲田 信一 (KODA, Shin-ichi)