

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： バイオナノマシンの動的構造から機能発現への階層的理論モデリング
2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

### 研究代表者

高田 彰二 (京都大学大学院理学研究科 准教授)

### 主たる共同研究者

笹井 理生 (名古屋大学大学院工学研究科 教授)

北尾 彰朗 (東京大学分子細胞生物学研究所 准教授)

池口 満徳 (横浜市立大学大学院総合理学研究科 准教授)

### 3. 研究内容及び成果

#### 3 - 1. 研究課題全体の研究内容

最適な動作をするソフトナノマシンの創製のためには、手本として、バイオナノマシンの作動原理を総合的に理解することが重要であり、その為の理論モデルが必要である。本研究は、分子モーターの多様な機能発現の機構を動的な構造情報に立脚して、理論的に解明しようと試みた。バイオナノマシンの階層性に着目して、対象に応じ、粗視化レベルの大域的なエネルギーランドスケープ論による機能発現の統計力学的モデリングに基づいたシミュレーション、及び原子レベルの機能発現分子動力学シミュレーションを行った。

#### 3 - 2. 各グループの研究成果

##### 動的構造機能グループ

ヌクレオチド状態の異なる幾つかの構造情報を使った粗視化かつ経験的シミュレーションによって、 $F_1$ -ATPase, ミオシンV, および AAA+などの分子モーターの動きを詳しく調べた。本研究で開発利用された構造依拠型の粗視化モデルは、状態間の連立微分方程式(マスター方程式)によるアプローチと伝統的な原子レベルの分子動力学シミュレーションとの中間に位置し、新しい階層の研究手段である。本研究者らは、フォールディング研究に使われていたこの階層の手段を発展させ、分子モーターなどの生体分子機械への適用を開拓した。この新しいアプローチは、まだ荒削りではあるが、大規模システムの長時間にわたる“時空間構造機能情報”を追うことができる現時点で唯一のアプローチである。構造生物学で得られる(主に)静止した構造情報と、一分子実験などで得られる(高分解な)構造情報を伴わない機能情報とを結びつけることに成功している。結果は実験で得られたものと相補的であり、幾つかの実験結果を再現するとともに、まだ実験的に観測されていないメカニズムの発見、および検証可能な予測などを行った。

##### 統計力学グループ

当初の計画どおり、アクチンモーターの動作機構を解明、キネシンの運動、Ras の反応機構についてシミュレーションを行った。さらに本研究では、当初計画の研究の基礎となる粗視化モデルの構築原理を探るため、構造予測、疎水的水和における揺らぎの研究を行った。また、当初計画にとって重要な蛋白質のエネルギーランドスケープ理論を発展させるため、フォールディングの原理、蛋白質の進化シミュレーションについても興味深い結果を得てレベルの高い論文を発表している。仲でもキネシン頭部のまとまった複数の領域が、アンフォールディング/フォールディングの構造ゆらぎの単位となっていることをシミュレーションで示したのは興味深い。キネシンの運動のシミュレーションが成功すれば、この発見の意義がより明確になるであろう。

##### 分子動力学シミュレーショングループ

細菌べん毛の繊維とフックに関しては、それぞれ構造多型が知られているが実験的には特殊な例である直線型しか構造が解かれていなかった。大規模なシミュレーションによって超らせん構造のモデルを原子レベルで構築したことによって、30年以上前に提唱された朝倉の2状態モデルによってよく説明される多型性の詳細なメカニズムを原子レベルの立体構造に基づいて説明することができた。また、既知の実験データをよく説明し、実験へフィードバックできる情報を与えることができた。しかし、シミュレーションから得られた結果を検証するためにはより網羅的な変異体の解析が必要である。新しい変異体のデータと比較する試みは、群馬大の大沢グループが現在行っており、詳細な検証は今後の結果を待たねばならない状態である。また、フックに関してはインナーコアのD0ドメインを含まないモデル構造に関するシミュレーションが完了したが、D0部分のモデリングに関してはより高度なモデリングが必要となったためまだ完了していない。

### ゆらぎと構造変化グループ

このグループは、原子レベルの分子シミュレーションに基づき、蛋白質の機能発現に重要な「ゆらぎと構造変化」について解析し、以下の研究成果を得ている。

1. タンパク質の構造ゆらぎと立体構造変化の関係を記述する線形応答理論
2. 分子シミュレーションに基づくタンパク質の構造ゆらぎの新たな検出法の開発
3. 分子動力学シミュレーションとX線小角散乱による構造ゆらぎ解析法の開発
4. ATP合成酵素F1部分 サブユニットの分子動力学シミュレーション
5. ATP合成酵素Fo部分 cリングの分子動力学シミュレーション

成果1は、構造ゆらぎと、機能に重要な立体構造変化との関係を記述する基礎理論である。従来、構造ゆらぎと構造変化の関係は指摘されていたが、この理論により、明確にその関係を定式化できた。成果2は、分子シミュレーションの結果から構造ゆらぎの情報を抽出する新しい方法の開発である。この方法により、分子シミュレーションで計算される構造ゆらぎから、ドメイン運動のように協同的に運動している動的部分構造を取り出すことが可能になった。成果3は、分子シミュレーション結果を実験により検証する方法の開発である。X線小角散乱法は、低解像度ではあるが溶液状態のタンパク質の構造情報を得ることのできる方法であり、分子シミュレーションの結果の妥当性を評価するうえで効果を発揮する。成果4,5は、応用面での成果である。水溶性部分のF1と、膜貫通部分のFoに分けて、全原子モデルの分子シミュレーションを行っている。その結果、分子の構造ゆらぎとFoF1ATP合成酵素の機能に重要な構造変化との関係を見出すことができた。

これらの分子動力学シミュレーションは、すべて池口自作のソフトウェアシステムを用いて行われており、並列計算機を十分に活用して行われている。

## 4. 事後評価結果

### 4-1. 外部発表、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

#### 外部発表件数

論文発表		著作物		招待講演		口頭発表		ポスター発表		特許	
国内	国際	国内	国際	国内	海外	国内	海外	国内	国際	国内	国際
0	49	15	2	24	23	30	7	79	70	0	0

4グループとも重要な学術誌にしっかりした論文を発表している。発表論文の質、国際学会での招待講演等のレベルから見て、国際的にも高いレベルの研究が達成されたと判断される。ただ、成果のうち未発表のもの、発表の段階にないものが多くあるが、この課題の研究期間が3年であったことから已むを得ない面がある。特許出願に関してはこの研究分野の性質上現時点で期待できるものではないがハードウェア技術の発達を視野に入れると、この分野の研究は将来のバイオ技術に必要不可欠となるものである。

当初の研究計画は、「バイオナノマシンの多様な機能発現の機構を、動的な構造情報に立脚して、理論的に解明する」ことを目的としていた。そのためには、いろいろな粗視化レベルのシミュレーション手法の開発、そのためのソフトの実装、適切なシミュレーション手法による興味ある生命現象の解明という段階がある。

シミュレーション手法に関しては、高田、笹井グループが粗視化モデルの開発に積極的に取り組んだ。これはシミュレーション手法の適用範囲を拡大するために試みるべき研究方法であるが、対象の本質がどの程度の粗視化モデルで捕らえられるかについての真摯な判断が研究者に要求される。将来のハードウェア技術の進歩も考慮した時、その点でこの手法が世界的に受け入れられていくことを期待する。ソフトウェア技術に関しては、池口グループのシミュレーションソフトが生体膜に埋め込まれた生体分子を扱えるようにしたのは、特筆すべきである。これができているのは、世界的にも、ごく少ない研究室のみである。適切なシミュレーション手法を用いた興味ある生命現象の理解という点では、各チームとも興味ある結果を得ている。ただ結果は実験家が既に感じていることを確認したに止まった感もある。この中では北尾グループのフラジェラ構造転移の仕組みの解析は優れた研究である。

#### 4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

生体高分子系のシミュレーション技法は、着実に進歩を遂げており、その成果は既に創薬研究において実用化されている。進歩に伴い、適用範囲は著しく拡大しつつある。本研究には、この分野におけるわが国を代表する研究者が参加しており、この分野のレベル向上への寄与は顕著である。

#### 4 - 3 . その他の特記事項

このシミュレーションの分野は成熟してきて、生物分野の研究者にとっても役に立つ技術になりつつある。この研究の参加者が積極的に実験的生物の研究者との交流の中で研究を進めようとした態度は評価できる。今後ともその方向が発展することを期待する。