

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (エネルギー科学)	氏名	天野 健一
論文題目	Roles of Water Entropy in Functioning of ATP-Driven Proteins: Theoretical Analysis (ATP駆動タンパク質の機能発現における水の役割：統計力学理論解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、ATP駆動蛋白質の機能発現において、水がいかに重要な役割を果たしているのか、さらには、水の役割がATP加水分解サイクルとどのようにカップルしているのかを論じた結果をまとめたもので、全5章からなっている。</p> <p>第1章は序論で、これまで生体系の研究で十分に考慮されていなかった水分子の並進移動に起因するエントロピー的排除容積効果が、生体分子の自己組織化や秩序構造形成を論じる上で鍵因子になること、ATP駆動蛋白質の機能発現においても極めて重要な役割を果たしているはずであることなどを独自の見地から論じている。</p> <p>第2章では、柳田らによる一分子計測の実験事実と3次元積分方程式論に基づくモデル解析の結果に基づき、アクチンフィラメント上におけるミオシンS1の一方向性移動のメカニズムに対する物理描像を導いている。水分子の並進移動に起因して、フィラメント近傍のS1にエントロピーポテンシャル場が形成され、S1はフィラメントと接触した狭い空間内に強く拘束される。また、S1とフィラメント間に強結合サイトが現れる。S1は、ATPまたはADP+Piと結合していないS1に対して形成されるフィラメントに沿ったポテンシャル場と、ATPまたはADP+Piとの結合によって幾何学的形状が変化したS1に対して形成されるそれを行き来することによって、一方向への移動を実現することを論じている。</p> <p>第3章では、シャペロニンが扱われている。実験的に知られている情報は以下の通りである。まず、変性蛋白質はシャペロニンの筒のキャビティー内に挿入される。その後、ATPがシャペロニンに結合するとシャペロニンの立体構造が変化し、その内表面が弱い疎水性から親水性に変化すると共に、コシャペロニンがフタとしてキャビティーをふさぐ。挿入された蛋白質はキャビティー内に拘束されたまま、その中で正常に折り畳まる。ATPの加水分解によって生成したPiとADPが解離するとシャペロニンの立体構造は元に戻り、フタがとれ、折り畳みを終えた蛋白質は放出される。3次元積分方程式論に基づくモデル解析により、上述した一連の流れ全体を一貫して説明できる物理モデルを提案している。挿入は水和エントロピーの効果によって、放出は水和エネルギーの効果によって実現する。「ナノメートルスケールの空間内における蛋白質の水和特性」、「折り畳みに伴う蛋白質の特性の変化」、「ATPの結合・加水分解・生成物の解離によって調節されるシャペロニンの立体構造および内表面の性質の変化」、これら3つのファクターを巧みに利用して、シャペロニンは機能することを明確にしている。</p> <p>以上の研究は、「複数の素過程から成るサイクルの全体像を眺めることができる、単純ではあるが物理的本質を捉えたモデル」と精密な統計熱力学理論を組み合わせ、</p>			

ATP駆動蛋白質の機能発現に対する横断的描像を得ることを主目的としている。そのため、理論解析は、蛋白質およびその複合体のオーバーオールな幾何学的形状に特化して行われた。今後は、複雑な多原子構造を考慮したモデルへと研究を進展させ、描像の精密化・詳細化が必要である。しかし、蛋白質およびその複合体の原子レベルでの立体構造の実験的決定は容易ではない。得られたモデル構造には、通常判明しなかった部分や不確定な部分が存在する。それらの部分を理論的に補充することが必要である。あるいは、全体の立体構造を一から推定する必要も生じる。第4章では、これらの問題の解決に光明を投じる有力な方法の提案が行われている。この方法は、モンテカルロ法と統計熱力学理論（積分方程式論と形態熱力学の統合型）によって構築されている。モンテカルロ法は蛋白質の立体構造サンプリングにのみ使用し、蛋白質の各立体構造と平衡状態にある溶媒（無限個の溶媒分子の集団）構造のアンサンブル平均および溶媒和自由エネルギーを統計熱力学理論に基づいて超高速で計算する。この方法の利点は、溶媒効果を理論的に取り込むことによって、系の自由度を大幅に低下させている点にある。結果として、蛋白質と溶媒を同時に扱う通常法と比べると、はるかに効率的に立体構造空間の探索を行うことができる。第一段階として、剛体球溶媒中の単純な一本鎖ポリマーの立体構造特性の解析にこの方法を例証している。この方法で得られた計算結果が、溶媒とポリマーを同時に扱う通常の計算負荷の大きいシミュレーションで得られた結果と良好に一致することを確認している。また、この方法が蛋白質の立体構造予測や熱変性・低温変性・圧力変性構造の特定、さらにはATP駆動蛋白質の研究などにも応用できることを論じている。

第5章は論文の総括である。同時に、アクトミオシン、シャペロニン、トランスポーターの作動原理を対象として、ATP駆動蛋白質の機能発現の横断的描像を提案している。水が、ミオシン-アクチンフィラメント、蛋白質-シャペロニン、溶質-トランスポーターの各ペア間にポテンシャル場を作る。ポテンシャル場は、ペアの立体構造と性質に強く依存して変化する。ATPとそのレセプターの親和性がADPとそのレセプターの親和性よりも高く、ATP濃度が十分に高くADP濃度が十分に低い条件下では、ATPの結合・加水分解・生成物の解離のどれかがシステムの自由エネルギー低下につながる。それらが起ると、ペアの立体構造と性質がパーターブされ、ポテンシャル場も変化する。このメカニズムを通して、ミオシンの一方向移動、蛋白質や溶質の挿入/放出なる機能が発現する。1サイクルでアクトミオシン、シャペロニン、トランスポーターは元の状態に戻り、系の自由エネルギーは、主としてATPの加水分解自由エネルギー分だけ低下する。このサイクルは繰り返される。

本論文は、(1)水分子の並進移動に起因したエントロピー効果に主として注目した点；(2)ある素過程のみを対象にするのではなく、複数の素過程からなるサイクル全体を統括的に捉えた点；(3)液体の統計力学理論を駆使しつつ、実験結果の多くを定性的に説明できる描像を構築した点などに独創性を有している。本論文によって、ATP駆動蛋白質の機能発現機構に対する基本的な骨格・全体像が見えてきた。その機能は水とATPの共同効果によって発現するが、実行部隊は水であり、「水を主役とした斬新な描像」が構築されている。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、ATP駆動蛋白質の機能発現における水の役割、およびそれとATP加水分解サイクルとの関わりを統計力学理論を用いて研究した結果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

1. アクチンフィラメント上におけるミオシンS1の一方向性移動のメカニズムに対して、3次元積分方程式論に基づくモデル解析の結果に基づき、一分子計測の実験事実に整合した物理描像を提案した。従来の研究では注目されたことが無い水分子の並進移動に起因したエントロピー効果が、一方向性移動を生み出す鍵因子になることを示した。

2. 会合を起こし易い変性蛋白質をキャビティー内に孤立させ、正しく折り畳ませた後、それを開放するシャペロニンの一連の機能の全体をコンシステントに説明できる物理モデルを構築した。「ナノメートルスケールの空間内における蛋白質の水和特性」、「折り畳みに伴う蛋白質の特性の変化」、「ATPの結合・加水分解・生成物の解離によって調節されるシャペロニンの立体構造および内表面特性の変化」、これら3つのファクターを巧みに利用して、シャペロニンは機能することを明確にした。

3. ATP駆動蛋白質の機能発現機構の横断的描像を提案した。水が、ミオシン-アクチンフィラメント、蛋白質-シャペロニン、溶質-トランスポーターの各ペア間にポテンシャル場を作る。ポテンシャル場は、ペアの立体構造と性質に強く依存して変化する。ATPの結合・加水分解・生成物の解離がペアの立体構造と性質をパートナーブシ、ポテンシャル場を変化させる。このメカニズムを通して、ミオシンの一方向移動、蛋白質や溶質の挿入/放出なる機能が発現する。

4. 蛋白質の立体構造予測や熱変性・低温変性・圧力変性構造の特定、さらにはATP駆動蛋白質の複雑な多原子構造を考慮した研究などにも応用できる方法を開発した。溶媒効果を理論的に取り込むことによって系の自由度を大幅に低下させ、蛋白質と溶媒を同時に扱う通常法と比べると、はるかに効率的に立体構造空間の探索を行うことができる。

ATP駆動蛋白質の機能発現機構に対し、複数の素過程から成るサイクルの全体像を眺め、かつ、各素過程における主要物理因子を明らかにしつつ、「水を主役とした斬新な物理描像」が構築されており、この分野の研究において多くのブレイクスルーを与える成果が得られている。

よって、本論文は博士(エネルギー科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成23年10月28日に実施した論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降