

令和元年6月25日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00396

研究課題名(和文) ベイズ推定水和構造を使った超精密小角X線散乱計算法の高速化

研究課題名(英文) Optimization of a method estimating for small-angle X-ray scattering by using Bayesian inference.

研究代表者

関 安孝 (SEKI, Yasutaka)

高知大学・教育研究部医療学系医学教育部門・教授

研究者番号：30377220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：アポミオグロビンの尿素変性状態と天然変性タンパク質であるシヌクレインの精密小角X線散乱(SAXS)を測定し、高速化プログラムの開発に利用可能な高精度なデータを得た。更に、鎖が解けた状態にあるアポミオグロビンの構造を初期座標とした分子動力学計算を実行し、周りの水分子の座標の時系列データを用いて超精密SAXS計算を実行した。この超精密SAXS計算プロフィールが、前述の測定データと一致することを確認した。この水分子の時系列データを参照として、水和構造のモデリングを実行し、変性状態アポミオグロビンのSAXSプロフィールに対する水和の寄与を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SAXSプロフィールと多次元核磁気共鳴(NMR)の残余双極子結合(RDC)に対する実験再現性を等価に扱い、極めて効率的に高い実験再現性をもつ構造集団を得ることが出来る新たな鎖状分子モデリング法を開発した。この方法を用いて、尿素変性及び酸変性状態アポミオグロビンとシヌクレインの予測構造集団を生成した。これらの構造集団の統計的な特徴を比較し、それぞれの状態の違いを明らかにした。この科研費で開発した、一連の解鎖状態タンパク質の解析方法は、創薬など幅広い分野での利用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We measured high accuracy small-angle X-ray scattering (SAXS) data of both apomyoglobin on an urea-denatured condition and α -synuclein to be an intrinsically disordered protein. And these high accuracy data can be used for developing a new program that estimates for the SAXS data from protein conformation. Furthermore, molecular dynamics simulations were performed with the unfolded conformation of apomyoglobin as the initial state and the SAXS profiles were estimated with high accuracy using the trajectory data of atomic coordinates of the water obtained through this simulation. It was confirmed that the estimated SAXS profiles are consistent with the measured one. Finally, a hydration structure was able to be modeled referring to the trajectory of the water and the hydration effect for the SAXS profile was elucidated.

研究分野：分子生物物理学

キーワード：蛋白質構造 天然変性蛋白質 SAXS NMR

1. 研究開始当初の背景

天然変性タンパク質 (intrinsically disordered protein, IDP) や天然変性領域 (intrinsically disordered region, IDR) を含むマルチドメインタンパク質に、生体機能に重要な役割があることが明らかになった。これらは本質的に膨大な数の異構造の集団であり、その構造特性と機能発現メカニズムの解明のため、小角 X 線散乱 (small angle X-ray scattering, SAXS) 法や多次元核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance, NMR) 法など、異なる構造情報を反映する複数の実験手法を用いた多面的な解析が実施されている。しかし SAXS 法は、鎖が解けたタンパク質構造から実験値を推定する際に、精度と効率を両立した方法がないことが、IDP 構造解析の発展を妨げていた。

2. 研究の目的

本研究は、天然変性タンパク質の構造解析の一翼を担う SAXS 解析に必須な超精密 SAXS 計算法を高速化する。

3. 研究の方法

(1) SPring-8 BL45XU を利用し、天然変性タンパク質であるヒト由来 α シヌクレインと、尿素変性状態にあるウマ由来アポミオグロビンの SAXS 測定を実施する。

(2) 天然球状タンパク質の結晶構造を初期座標とした分子動力学計算を実行し、得られるタンパク質と溶媒水分子の原子座標の時系列データを基に超精密 SAXS 計算を実行する。更に、分子モデリング法を使って α シヌクレインと尿素変性状態アポミオグロビンの予測構造集団を生成する。その中から無作為に選択した 100 個の構造について、周りに付加した溶媒分子の分子動力学計算を行なう。これを基に超精密 SAXS 計算を実行する。

(3) 超精密 SAXS 計算データを参照データとして、SAXS 計算プログラムの高速化を行う。具体的には、申請者らが分子動力学計算から特定したタンパク質周りの水和サイトを参考に、3次元ガウス分布の電子密度を仮定し、ガウス分布のピーク位置とピーク電子密度、および分散をパラメタとした水和モデルを構築する。タンパク質の原子座標と水和モデルを使った SAXS の高速計算プログラムを作成する。ベイズ理論を使ってパラメタ群を推定する。

4. 研究成果

超精密 SAXS 計算のために、球状タンパク質の結晶構造を初期座標とした分子動力学計算を実行した。得られるタンパク質と溶媒水分子の原子座標の時系列データを基に、1つのタンパク質につき100個の超精密 SAXS 計算を実行しその平均をとった。球状タンパク質の超精密 SAXS 計算データは、以前に測定した精密 SAXS 測定データと定量的に比較し、十分な精度で一致することを確認した。

更に、変性状態アポミオグロビンと天然変性タンパク質 α シヌクレインの精密小角 X 線散乱 (SAXS) 測定を高輝度光科学研究センターにある SAXS 測定専用ビームライン (SPring-8 BL45XU) にて実施した。 α シヌクレインは野生型と変異型を測定し、超精密 SAXS 計算と

の比較や、その高速化プログラムの開発に利用可能な高精度なデータを得ることができた。また、鎖が解けた状態にある変性状態アポミオグロビンの構造を初期座標とした分子動力学計算を実行し、その座標（タンパク質分子と周りの水分子）の時系列データを用いて超精密SAXS計算を実行した。得られた超精密SAXSプロフィールを参照として、水和構造のモデリングを行った。その結果、変性状態アポミオグロビンのSAXSプロフィールに対する水和の寄与を明らかにした。

一方、新たな鎖状分子モデリング法を開発した。この方法は、上記SAXSプロフィールと多次元NMRの残余双極子結合（residual dipolar coupling, RDC）に対する実験再現性を等価に扱うことが可能である。またこの方法は、実験再現性の高い構造集団を得る過程で部分集団を選択する必要がなく、極めて効率的に高い実験再現性をもつ構造集団を得ることが出来る。この方法を用いて、尿素変性及び酸変性状態アポミオグロビンと α シヌクレインの予測構造集団を生成した。尿素変性アポミオグロビンのSAXSプロフィールの実測値と推定値を下図に示す。これらの構造集団の統計的な特徴を比較し、それぞれの状態の違いを明らかにした。この科研費で開発した、解鎖状態タンパク質の解析方法は、創薬など幅広い分野での利用が期待される。

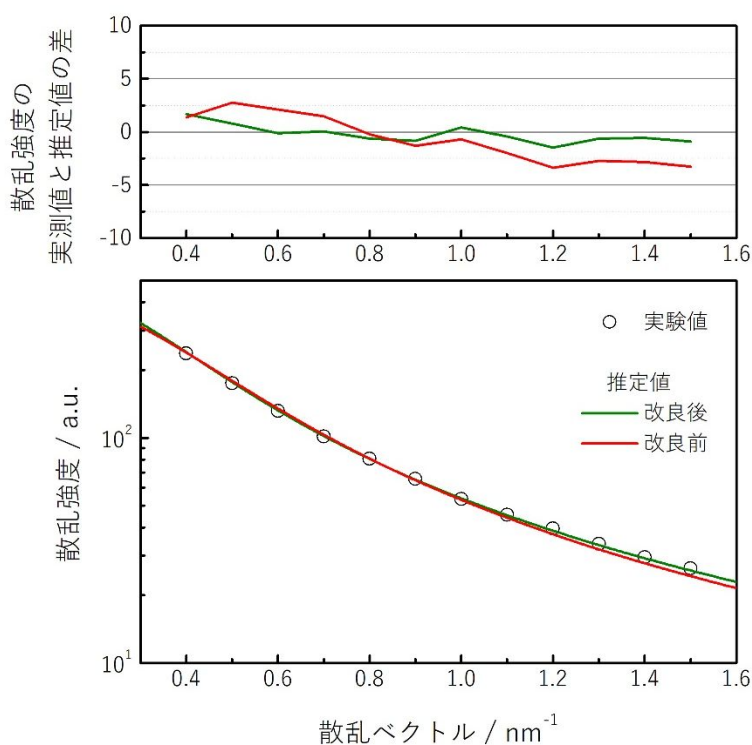


図 尿素変性アポミオグロビンの SAXS プロフィール

上は実測値と推定値の差を実験誤差で割った値を示す。赤線は改良前、緑線は改良後である。下は実験値（○）、改良前の推定値（赤線）、改良後の推定値（緑線）を示す。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計6件)

Seki Y, Method for deriving information of the structural distribution of amino acid residues of unfolded proteins from their chemical shifts., The 56th Annual Meeting of the Biophysical Society

of Japan (2018, Okayama Japan, 国際学会)

関 安孝, 中村 成芳, アポミオグロビンの酸変性状態と尿素変性状態の構造的な差異, 第18回日本蛋白質科学会(2018, 新潟市, 国内学会)

Seki Y, Structural features of the urea denatured apomyoglobin using molecular modeling and experimental data., The 55th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (2017, Kumamoto Japan, 招待講演, 国際学会)

関 安孝, 分子モデリングと実験値による尿素変性アポミオグロビンの構造特性, 第17回日本蛋白質科学会(2017, 仙台市, 国内学会)

Seki Y, Nakamura S, A novel framework for developing the evaluation method of SAXS profile of IDP., The 54th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2016, Tsukuba Japan, 国際学会)

関 安孝, IDP 構造集団推定のための高速アルゴリズム, 第16回日本蛋白質科学会(2016, 福岡市, 国内学会)

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/sekiyasu>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 中村 成芳

ローマ字氏名: NAKAMURA, Shigeyoshi

所属研究機関名: 宇部工業高等専門学校

部局名: 一般科

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 20623995

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 河田 康志

ローマ字氏名: KAWATA, Yasushi

研究協力者氏名: 毛塚 雄一郎

ローマ字氏名: KEZUKA, Yuichiro

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。