

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06597

研究課題名(和文)大域的ランドスケープ計算によるタンパク質の構造転移の確率的描像

研究課題名(英文)A stochastic description of protein conformational transition by global landscape calculation

研究代表者

寺田 智樹(Terada, Tomoki)

名古屋大学・工学研究科・准教授

研究者番号：20420367

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年の実験技術の発達により、タンパク質が単一の天然構造を持つだけでなく複数の構造の間を構造転移することにより機能を果たしていることが明らかになってきた。本研究では、タンパク質の構造転移を記述するとともに、構造転移を可能にする分子レベルの相互作用の設計原理を明らかにする粗視化モデルとしてカメレオンモデルを構築し、さまざまな形で構造転移する複数のタンパク質に適用した。特にアデニル酸キナーゼについては、自由エネルギーランドスケープ計算から得られる構造転移速度の温度依存性が酵素反応速度の温度依存性をよく説明することが示され、妥当なモデルの構築に成功したことが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質は天然条件下では決まった構造をとるが、機能を果たすさいには複数の構造のあいだで構造転移を起こす。例えばタンパク質を人工的に改変して、酵素反応の速度を上げようとするさいには、この反応の途中で起こる構造転移の速度を制御する必要がある場合がある。このような場合に、タンパク質のどの部分をどのように改変すべきかを知るためには、構造転移の経路を計算機上で多数生成して、それらを確率的に扱う必要がある。本研究ではそのような用途で用いられるカメレオンモデルを構築し、実験事実との比較からモデルの妥当性を示した。

研究成果の概要(英文)：Recent developments in experimental techniques have revealed that proteins not only have a unique native structure but also serve their functions through conformational transitions between multiple structures. In this study, we constructed the chameleon model as a coarse-grained model to describe protein conformational transitions and to clarify the design principles of molecular-level interactions that enable conformational transitions, and applied it to multiple proteins that undergo conformational transitions in various ways. In particular, for adenylate kinase, the temperature dependence of the conformational transition rate obtained from free energy landscape calculations well explains the temperature dependence of the enzymatic reaction rate, confirming that we have successfully constructed a valid model.

研究分野：生物物理学

キーワード：タンパク質の構造転移 アロステリック転移 粗視化モデル 分子動力学計算

1. 研究開始当初の背景

NMR など近年の実験技術の発達により、タンパク質が単一の天然構造を持つだけでなく複数の構造の分布を持ち、それらの構造の間を構造転移することにより機能を果たしていることが明らかになってきた。特に、タンパク質の構造転移が生化学反応の反応速度を決定している例が多く見出されている。このことは、タンパク質の構造転移が生化学反応のメカニズムを決定する重要な役割を持つことを強く示唆している。

もう一つの背景として、タンパク質フォールディングに対する描像が「少数の経路に沿って決定論的に進行する」というものから「多様な経路が確率的に選ばれる」というものへと変わってきた経緯がある。ここで重要な役割を果たしたのが、アミノ酸残基を一つの粒子として表現する計算機上のモデルである粗視化モデルと、「天然構造のどの部分においても、原子レベルの相互作用が互いに矛盾なく同時に安定化されている」とする「無矛盾性原理」である。この原理を表現したアミノ酸残基間の相互作用である「郷モデル」を用いて粗視化モデル分子動力学計算をおこなうと、天然構造に近づけば近づくほどエネルギーが下がるファネル(漏斗)状の大域的なランドスケープが得られ、その形状からフォールディング経路の遷移状態の構造多様性を示す実験(φ 値解析)の結果を説明できる。

タンパク質の構造転移を理解する手段として、現在とられているアプローチは、構造転移前後の立体構造を実験的に決定し、それらの間を全原子分子動力学計算でつなぎ合わせるというものである。しかし、計算量の制約から、この方法で得られる構造転移の経路は、既知の構造どうしを直線的に結ぶ経路の近傍に限定されている。このような方法にもとづく構造転移に対する現在の描像は、フォールディングとのアナロジーで考えれば「少数の経路に沿って決定論的に進行する」というものであり、これに対して、構造転移でも「多様な経路が確率的に選ばれる」という可能性が考えられる。

この可能性の検証が十分におこなわれていない大きな理由は、単一の天然構造へのフォールディングを説明する無矛盾性原理や郷モデルでは複数構造のあいだの構造転移を記述するためには不十分であり、このために構造転移に対しては大域的なランドスケープ計算が実行できないことである。そこで本研究では「タンパク質の構造転移を可能にするタンパク質分子内・分子間の相互作用の構築原理とは何か?」という問題について考える。これを具体的にアプローチできる形に言い換えれば、「進化により構造転移が起こるように選ばれたアミノ酸配列どうしの相互作用の特徴は、アミノ酸残基間相互作用としてどのように近似的に表現されるだろうか?」という問題になる。

2. 研究の目的

申請者は過去に、相互作用部位のあいだの協同的な局所構造変化を表現したカメレオンモデルを提唱した (Terada et al., J. Phys. Chem. B 117, 12864-12877 (2013))。このモデルは、タンパク質の構造転移前後の二つの立体構造に基づいて、大域的なランドスケープを生成できる粗視化モデルであり、例として DHFR の構造転移メカニズムの解析がおこなわれた。しかし、一般のタンパク質について構造転移経路を正確に記述するために、協同的な局所構造変化をどのようにモデル化すればよいのかについては、十分な検討がおこなわれていない。

そこで本研究は、より多くのタンパク質に関する実験事実にもとづくカメレオンモデルの適用範囲の拡大と四次構造変化への拡張により、多様なタンパク質の構造転移メカニズムをアミノ酸残基レベルの分解能で予測できる統一的なモデルを構築し、大域的ランドスケープを計算することにより構造転移の確率的描像を確立することを目的とする。

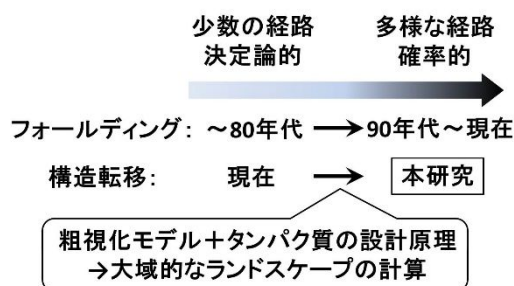


図1: フォールディングと構造転移をめぐる描像の変遷。

3. 研究の方法

本研究では、タンパク質をアミノ酸残基レベルの粗視化モデルで表現する。すなわち、X線結晶解析またはNMRによる立体構造を用いて、アミノ酸残基1個を一つの質点として粗視化する。そして、粗視化粒子間の相互作用として、2つの立体構造を安定にする2種類の相互作用のあいだで連続的に切り替わるカメレオンモデルを採用する。カメレオンモデルは具体的には、結合角ポテンシャル・二面角ポテンシャル・コンタクトポテンシャルの3種類のポテンシャルの合計で表されるが、そのそれぞれが、その相互作用の周囲の環境が2つの環境のどちらにより近いかを表す環境変数に変化に応じて、2つの立体構造のうちのいずれか一方の中での値で最安定となるような2種類の関数形のあいだで、連続的に変化するように定義されている。カメレオンモデルの最初の論文(Terada et al., J. Phys. Chem. B 117, 12864-12877 (2013))のあと、このモデルの様々な部分に対して改良を行ってきているが、まだ検討の余地が多く残されている。

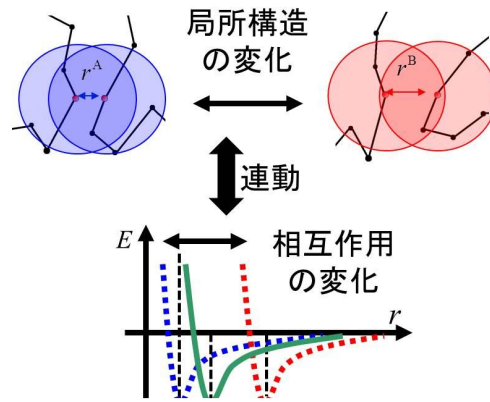


図2：カメレオンモデルの概念図。局所構造変化に連動して相互作用の安定配置が変化する。

本研究では、このモデルを用いて自由エネルギーランドスケープ解析を行うために、基本的にはランジュバン動力学法を用いている。また、一部の自由エネルギー障壁が高い場合については、マルチカノニカル法を用いているが、ランジュバン動力学法とうまく組み合わせることが難しく、モンテカルル法のムーヴセットの生成方法としてごく短い分子動力学計算を行うハイブリッドモンテカルル法を実装し使用している。

4. 研究成果

(1) ドメイン運動をともなうアロステリック転移を起こすマルチサブユニットタンパク質であるアデニル酸キナーゼを対象にした計算では、カメレオンモデルがリガンドなしでLIDドメインとCOREドメインの2つが同時に開いた状態と同時に閉じた状態の2状態のあいだでの構造転移を起こすことが確認できた。このときの自由エネルギー変化をエネルギーの寄与とエントロピーの寄与に分解すると、開いた状態から閉じた状態に向かってエネルギーが単調に低下するとともにエントロピーが減少する様子が観察され、これら二つの量の微妙なバランスから自由エネルギー障壁が生じていることが示唆された。これはタンパク質フォールディングと同様の関係であり、興味深い結果である。

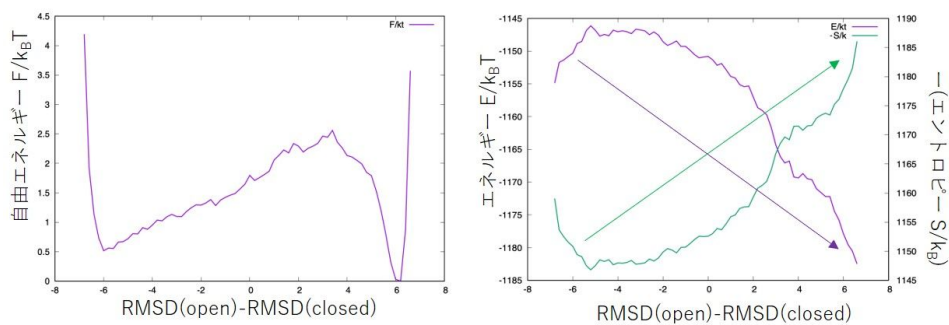


図3：アデニル酸キナーゼの1次元自由エネルギーランドスケープと、それに対するエネルギーとエントロピーの寄与。横軸は2つの構造への類似度の差であり、左側の極小が開いた状態、右側の極小が閉じた状態に対応している。

さらに、リガンドありの条件で計算された自由エネルギーランドスケープにおける自由エネルギー障壁の高さの温度変化から、閉じた状態から開いた状態へ向かう構造転移の速度の温度変化を計算し、それが実験的に観測されている反応速度の温度変化(Wolf-Watz et al., Nature Structural and Molecular Biology, 11, 945-949 (2004))とよく相関することを確認した。この結果はカメレオンモデルが構造転移の自由エネルギーランドスケープとその温度変化をよく記述できていることを示唆している。

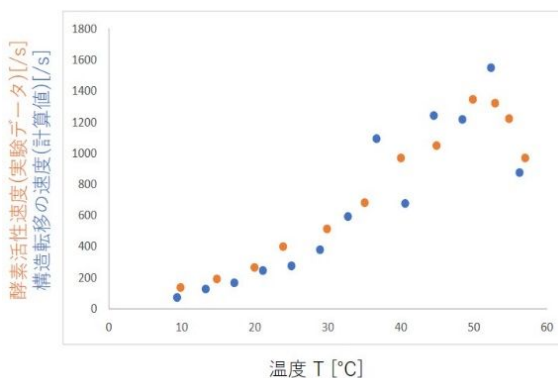


図4：カメレオンモデルから予想される構造転移速度の温度変化と実験的に観測された反応速度の温度変化の比較。

(2) 二次構造の移動をとまなうアロステリック転移を起こすシングルドメインタンパク質である NtrC を対象にした計算では、二次構造の変化にともなって二面角が大きく変わることが予想されるため、二面角ポテンシャルの関数形が相互作用部位周辺の環境変化に応じてどのように変化するかについて、複数の可能性を考えて比較検討を行った。その結果、周囲環境の定義のしかたやポテンシャルの関数形によらずに、構造転移の自由エネルギー障壁が高くなることがわかったため、マルチカノニカルサンプリング手法を実装することにした。当初はランジュバン分子動力学法とマルチカノニカル法を組み合わせた方法の実装を試みたが、うまく安定に動かすことができなかったため、代わりにモンテカルル口法による構造サンプリングを行うこととし、1ステップごとにごく短い分子動力学法を行って構造候補を生成するハイブリッドモンテカルル口法(Mukuta and Miura, Biophys. Physicobiol. 17, 14-24 (2020))を実装した。その結果、自由エネルギー障壁の高さがおよそ 10kT になり、一定温度のランジュバン分子動力学法の結果と比較して高くなるとともに、不活性構造付近の状態が 2 つに分かれていることが明らかとなった。さらに、この二つの状態の違いを比較するために、これらの状態における各残基の周囲環境の不活性構造への近さを計算したところ、二つの状態で違いの大きい領域はリン酸化する残基である 54 番の残基に空間的に接している領域に集中していることがわかった。

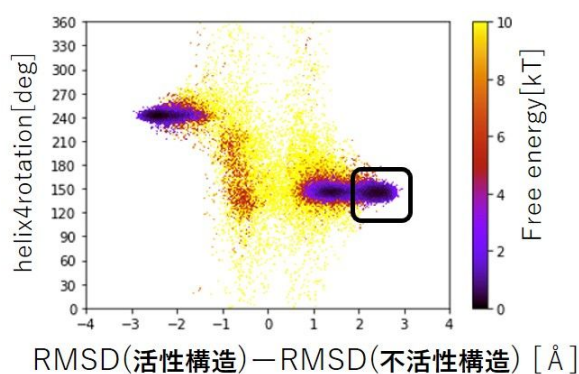


図5：ハイブリッドモンテカルル口法によって計算された NtrC の構造転移の自由エネルギーランドスケープ。黒い四角で囲まれているのが不活性構造付近に新たに見出された状態。

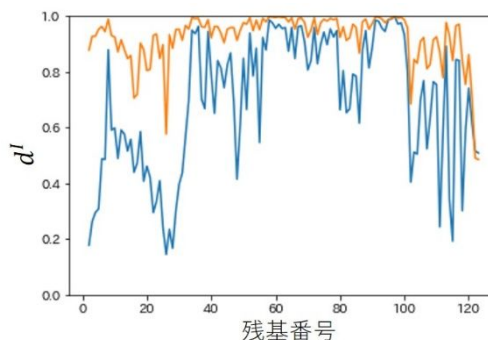


図6：各残基の周囲環境の不活性構造への近さ。オレンジは図4で右側、水色は図4で左側の不活性状態における値。

(3) 四次構造変化をともなうアロステリック転移を起こすマルチサブユニットタンパク質であるヘモグロビンを対象にした計算では、ヘモグロビンが酸素濃度の上昇に伴って四次構造転移を起こす様子をカメレオンモデルで再現できるかどうかを検討した。このための必要条件として、酸素結合部位の鉄原子周辺の局所的な環境の変化と四量体全体の四次構造の変化のあいだに相関があるかどうかを検証し、モデルの改良の結果、これらが相関を強くなるような条件を得ることができた。この結果を踏まえて、シミュレーション温度、酸素の結合・解離に関連したパラメータの検討を行っている。

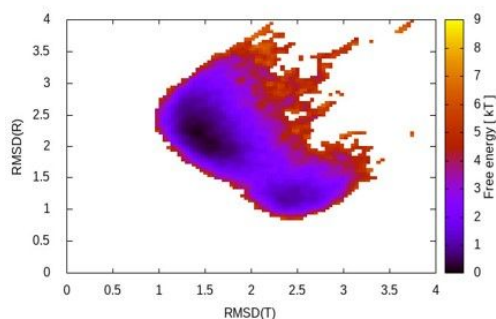


図7：ヘモグロビンの構造転移の2次元自由エネルギーランドスケープ。左上の極小がT状態、右下の極小がR状態に対応する。

(4) トポロジーの大きな変化をともなうアロステリック転移を起こすメタモルフィックタンパク質であるXCL1についても計算を開始したが、自由エネルギー障壁が非常に高く、一定温度のランジュバン動力学法では構造転移が全く見られなかった。そこで、NtrCに対して使用したハイブリッドモンテカルロ法をXCL1に対しても適用したものの、安定な計算を実現するところまでは到達できなかった。この原因は現在調査中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Taisei Nagata, Masaki Sasai, Tomoki P. Terada
2. 発表標題 Free energy landscape analysis of conformational transition of NtrC by chameleon model
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 樹生, 笹井 理生, 寺田 智樹
2. 発表標題 カメレオンモデルによるアデニル酸キナーゼの構造転移の研究
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taisei Nagata, Masaki Sasai, Tomoki P. Terada
2. 発表標題 Conformational transition of NtrC elucidated by the improvement of dihedral angle potential in chameleon model
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryota Mori, Masaki Sasai, Tomoki P. Terada
2. 発表標題 Conformational transition of adenylate kinase studied with the improved chameleon model
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------