

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目： 基盤研究 (C)  
 研究期間： 2007 年度 ～ 2008 年度  
 課題番号： 19500252  
 研究課題名 (和文) 蛋白質の柔構造の分子メカニズム：分子内部の空隙と加圧による構造変化の解析  
 研究課題名 (英文) Molecular mechanism of the soft structure of proteins: Analysis of interior cavities and structural changes under pressure  
 研究代表者： 曾田 邦嗣  
 長岡技術科学大・工学部・教授)  
 研究者番号： 10111686

## 研究成果の概要：

PDB (蛋白質立体構造データベース) に登録されている 869 種の蛋白質分子立体構造の網羅的解析により、球状蛋白質は、これ迄広く認められていたよりも有意に低い原子充填密度を持つこと、及び蛋白質分子水溶液への分子動力学模擬計算法の適用により、球状蛋白質は THz 域に、所謂 Boson Peak に相当する振動モードを示すことを見出すと共に、その生成の分子機構を明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 蛋白分子情報学，蛋白質物理学

科研費の分科・細目： 情報学・生体生命情報学

キーワード： 柔構造，分子動力学，原子充填密度，分子内空隙，圧力効果

## 1. 研究開始当初の背景

多くの天然蛋白質は、自発的に折り畳まれて塊状構造をとることにより、特異的な機能を発現できるようになる「ナノ機能粒子」である。それは、室温の溶媒水の熱擾乱に対抗して、機能発現に必要な固体構造を維持するだけの凝集力を確保するように、進化の結果として設計されている。その一方で機能発現には、折り畳まれた構造が適度の柔軟性を持つことも、重要な設計条件の1つと考えられている。一見対立するかに見える上の2つの要請が、どのような分子的詳細によって充足されているかは、未だ明らかにされておら

ず、この点の解明が待たれている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) 天然状態にある球状(塊状)蛋白質分子内部の、残基や原子などの構成要素は、分子内部でどれ位密に充填されているのかを、低分子と蛋白質に関する最新の構造データを用いて再評価すること、及び(2) 蛋白質分子内部の構造は、どのように、どれ位の速さと振幅で時間的に揺動しているのかを調べることにより、蛋白質の動力学的特性とその生成機構を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

上の (1) については、最新の原子半径値を用い、X線結晶解析により高精度で平衡構造が決定されている多数の蛋白質分子について、内部の原子充填状態を解析する。また、(2) については、数種の蛋白質分子水溶液に分子動力学模擬計算法 (MDS) を適用し、各蛋白質分子の構成要素の占有体積の揺らぎを解析して、その動力学特性を明らかにする。

以上の結果に基づいて、蛋白質の「柔構造」の分子メカニズムに関する知見を得る。

### 4. 研究成果

#### (4.1) 蛋白質分子の原子充填密度 $\eta$ の解析 :

PDB (Protein Data Bank) に登録されている 869 種の非同族蛋白質における立体構造構成要素の占有体積の網羅的解析により、蛋白質分子内部の  $\eta$  を再評価した結果、以下の事実が明らかにされた :

(1) 天然蛋白質を構成する原子の  $\eta$  の平均値は 0.68 なる値を持つ。この値は、非極性有機液体のそれより約 0.2 も大きく、蛋白質分子が分子内原子間に作用する凝集力の集積により固体構造を保持していることを、明確に示している。然しその一方で、

(2) 上の値は最密充填構造の値 0.74 よりも、また 30 年以上も前に報告され、確立された値として広く受け入れられてきた 0.75 よりも有意に低い。更に、

(3) 蛋白質内部を最も良く特徴づける残基の  $\eta$  の平均値は 0.65 と評価され、従来値より約 0.1 低い。また、

(4) 側鎖の  $\eta$  の平均値(0.62) は、主鎖のそれ(0.72) より 0.1 低く、分子内部の原子充填は、明らかに一様でないことが分かる。そして、

(5) 分子内部の隣接する残基の原子間には、平均 85 pm の空隙があることが分かった。

以上の結果として、蛋白質分子内部は、従来の描像よりは緩く充填されていると考えるべきであり、これが蛋白質の「構造的実体」であることが明らかになった。

(本研究の成果は、論文投稿中である)

#### (4.2) 蛋白質の占有体積揺らぎの動的解析

myoglobin (Mgn),  $\beta$ -lacto-globulin ( $\beta$ Lgn), lysozyme (Lzm), cytochrome c (Cytc), ribonuclease A (RnsA) の 5 種の蛋白質水溶液について MDS を実行し、占有体積の時系列データの解析から、以下の結果を得た :

(1) 分子体積の揺らぎの自乗平均値から求められる、蛋白質分子の固有圧縮率の値より、Mgn,  $\beta$ Lgn が最も柔らかく、RnsA が最も固い。この結果は、加圧 MDS の結果と符合する。

(この結果の前半部は、既報している)

(2) 占有体積揺らぎのパワー・スペクトル  $S(f)$  は、 $f < 0.03$  THz の低周波域では  $1/f$  に、 $f > 5$  THz の高周波域では  $1/f^2$  に近似的に

比例する。

(3)  $S(f)$  は、中間の THz ( $10^{12}$  Hz) 周波数域に、所謂 Boson peak に相当する振動的な揺らぎを示すことが見出された。その解析から、この振動モード生成の分子機構と動力学的特性、及び水和効果を明らかにした。

(この結果については、論文執筆中である)

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

(1) Seki, Y., Tomizawa T, Hiragi Y & Soda, K. Global Structure Analysis of Acid-Unfolded Myoglobin with Consideration to Effects of Intermolecular Coulomb Repulsion on Solution X-ray Scattering. *Biochemistry*, **46**: 234-244 (2007). (査読あり)

[学会発表] (計 3 件)

(1) Soda, K., Seki, Y., Mori, K, Shimbo, Y, Matsumoto, H and Fujii, J. Soft Structure of Proteins Analyzed by Atomic Packing Density and Volume Fluctuation Dynamics. *International Conference on Protein Science and Human Proteome Organization, (PRICPS - AOHUPO 2008)*, (June 22-26, 2008. Cairns, Australia).

(2) Soda, K. Dynamics of Structural Fluctuations of Proteins and Hydration Effects. *Third International Workshop on Proteins under Pressure* (Santa Fe, New Mexico, U.S.A., January 21-25, 2008).

(3) Shimbo, Y & Soda, K. Solvent-Reorganization Effects on Hydration Thermodynamic Quantities of Nonpolar Molecules by Molecular Dynamics Simulation. *Third International Workshop on Proteins under Pressure* (Santa Fe, New Mexico, U.S.A., January 21-25, 2008).

[図書] (計 2 件)

(1) 曾田 邦嗣: 疎水効果, 水, 溶液 X 線散乱. *タンパク質の事典* (猪飼篤, 伏見讓, 卜部 格, 上野川修一, 中村春木, 浜窪隆雄編) (朝倉書店, 2008) pp.511-515, pp.795-800, pp.816-818.

(2) 曾田 邦嗣: 水と水和. *生物物理学ハンドブック* (石渡信一, 桂勲, 桐野豊, 美宅成樹編) (朝倉書店, 2007) pp. 12-15.

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)  
なし

○取得状況 (計 件)  
なし

[その他]  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

曾田 邦嗣 (SODA KUNITSUGU)  
長岡技術科学大・工学部・教授  
研究者番号： 10111686

### (2) 研究分担者

関 安孝 (SEKI YASUTAKA)  
長岡技術科学大・工学部・助教  
研究者番号： 30377220

### (3) 連携研究者

なし