

機関番号：32685

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20540398

研究課題名(和文) 解析的モデルを用いた蛋白質フォールディングの研究

研究課題名(英文) Analytical Model for Protein Folding

研究代表者

鈴木 陽子 (SUZUKI YOKO)

明星大学・理工学部・准教授

研究者番号：70342631

研究成果の概要(和文)：蛋白質フォールディングの機構を解析的モデルを用いて定式化し、蛋白質の天然構造や残基間の相互作用がフォールディングに及ぼす影響について考察した。本研究では、ペプチド鎖をガウス鎖として表し、天然状態(折り畳まれた状態)で互いに近接した距離にあるような残基間に引力相互作用を、全残基対の間(但し隣あう残基対は除く)に斥力相互作用を導入し、蛋白質の構造に基づく幾何学的な因子と構造によらない因子がもたらす影響についての考察を行なった。

研究成果の概要(英文)： In studying protein folding mechanism from analytical point of view, we introduce a model based on a Gaussian filament with an attractive force between a pair of residues forming a contact in the folded state and a repulsive force between any pairs of residues. By using this model, we estimate effects of the geometrical factors caused by a specific interaction based on a native structure and a non-specific interaction upon the folding mechanism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：(分科)物理学 (細目)生物物理・化学物理

キーワード：生物物理、統計力学、物性基礎論、蛋白質

1. 研究開始当初の背景

蛋白質フォールディングの機構は、物理的な観点から、エネルギー・ランドスケープにおけるファネル(じょうご)の概念を用いて、説明されてきた。ファネル理論は、横軸に個々の形状のエネルギーをとったとき、自由エネルギーがファネル状になるというものである。エネルギーが際立って低い状態が蛋白質フォールディング状態(天然状態)に対応しており、蛋白質のまき戻りが進行するにつ

れて経路の数が減少して天然状態へ収斂していく。この理論的な枠組みは実験結果を理解するのに役立っており、また多くの計算機実験によって支持されてきた。

しかし、計算機シミュレーションには、実験と十分に比較できるような自由エネルギー面を構築する際、計算時間や統計サンプルの上から多くの困難を伴うため、シミュレーションで用いられるパラメーターが結果に及ぼす影響を特定しにくいという欠点があ

る。これに対して、解析的モデルは結果を明確な形で定式化できるため、モデル構築の際に導入するパラメーターの物理的な意味を特定することができ、蛋白質フォールディングのメカニズムを明らかにする上で重要な役割を果たす。

解析的モデルの1つとして、高分子理論をもとにした半現象論的なモデルである自由エネルギー汎関数モデル(FEFモデル)がある。このモデルは、ペプチド鎖を、天然状態においてコンタクトしている残基の間のみ相互作用が働いているような鎖と考え、蛋白質フォールディングにおける自由エネルギー曲線を、天然コンタクトに対するコンタクトの割合 Q の関数 $F(Q)$ としてあらわすことによりモデル化したものである。

しかし、FEFモデルは、ヘリックスのような局所的な構造をもたらず効果を十分に取り入れることができないため、ヘリックス構造を含んだ蛋白質については、シミュレーションの結果からのずれが大きいという欠点があった。また、モデルを改良する際、現象論的な項を導入したため、系統的に改良することが困難であった。

そこで、物理的な意味があいまいな現象論的な項を入れることなく、議論をすすめることができるモデルの構築が必要となった。申請者は蛋白質のトポロジカルな情報をなるべく平均化せずに考えられるような新たなモデルとして、天然状態においてコンタクトをしている残基間に相互作用が働いているランダム鎖を用いた定式化を行っていた。また、フォールディングが起こるときの協同的な振舞いを残基間の多体相互作用として導入した。

このモデルをテストするため、簡単なペプチド(18残基、6コンタクト、 β -ヘアピン型)に対して熱力学量(内部エネルギー、エントロピー、比熱)の温度依存性を計算し、Gōモデル(個々の残基の性質を区別せず、天然状態における蛋白質のトポロジカルな情報のみに基づくモデル)・シミュレーションの結果をよく再現していることを確認した。

2. 研究の目的

解析的モデルを用いた結果とシミュレーションの結果を照らし合わせることにより、蛋白質の形状と残基間の相互作用がフォールディングにもたらす影響を定量的に調べることを目的とする。申請時において、申請者は、 β -ヘアピン型のペプチドに関する定式化に成功し、蛋白質フォールディングにおける協同的な振舞いの存在を明らかにしていた。

本研究では、自由エネルギー汎関数理論では、十分に評価することができないヘリックス

を含んだ蛋白質などに対しても、天然状態においてコンタクトをしている残基間に相互作用が働いているランダム鎖のモデルを適用し、考察を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 研究体制: 解析的な計算は研究者である申請者があたる。シミュレーションについては、研究協力者である Onuchic 教授をとおして、Onuchic グループのスタッフに協力を要請する。また、必要に応じて、申請者も数値計算を行う。

(2) 得られた結果について、申請者はなるべく解析的な式を使って結果を導く。しかし、解析的な計算が不可能な場合には、数値計算を部分的に取り入れながら、モデルが導く結果についての考察を、計算機シミュレーションの結果と照らし合わせながら行う。

(3) 得られた結果について、Onuchic 教授と議論することにより方向を決定する。

4. 研究成果

(1) 現象論的な近似を取り入れることなく、蛋白質フォールディングにおけるエネルギーとエントロピーの相関についての考察を解析的モデルを用いた観点から行なうため、天然状態においてコンタクトをしている残基対に引力相互作用が働いているガウス鎖モデルを用いた定式化を行なった。論文[1]では、フォールディングにおける協同的な振舞いを表す因子として、コンタクトに関与している残基間の多体相互作用によるエネルギー的な因子を導入した。しかし、シミュレーションにおいて、多体相互作用は入っていないにも関わらず、協同的な振舞いは見られており、これを説明する直接的な要因として、本研究では剛体球型の斥力相互作用を隣り合う残基対以外の全ての残基間に導入した。剛体球型の斥力相互作用は、幾何学的な因子の役割をなしている。あらかじめガウス鎖に導入されていた引力相互作用、及び、論文[1]において導入した多体相互作用は、蛋白質の天然状態における構造に特化した因子であるが、本研究で導入した斥力相互作用は、蛋白質の天然構造には関係なく入れたものである。蛋白質の構造に対して特化しない形で斥力相互作用を入れたため計算は複雑化した。解析的モデルにおける蛋白質のトポロジカルな因子のもたらす効果を論文[1]より詳しく調べることが出来た。

(2) モデルハミルトニアンをもとに、分配関数や熱力学関数に対する定式化を行なった。剛体球型の斥力相互作用を入れたため、分配関数をエネルギー的な部分とエントロピー

的な部分とに分けることができた。エントロピー的な部分は、コンタクトマップ(天然状態でコンタクトをしている残基対)、及び、斥力相互作用の部分によって決められており、フォールディングのメカニズム(熱力学的にはどの部位がコンタクトをしやすく、どの部位がしにくい)を決めていることを示した。即ち、蛋白質の持つ幾何学的な因子とフォールディングのメカニズムとの関連性について、式により示すことが出来た。

(3) 熱力学関数について得た式を、10 残基前後の α ヘリックスや β シート型のペプチドへ適用し、熱力学関数の温度依存性を数値計算を用いて調べた。またフォールディングのメカニズムを調べるため、天然コンタクトをしている各残基対がコンタクトを形成している確率の温度依存性に対する数値計算を行なった。計算を行なう際、とりうる形状それぞれに対する熱力学的確率の重みを積分によって評価する必要があるが、斥力相互作用が働いていない β シート型のペプチド以外は解析的に積分を行なうことができないため、モンテカルロ積分を用いて近似を入れずに計算を行なった。これにより、フォールディングにおける全ての領域(フォールディングが起り始める領域からフォールディングが完了する領域まで)に対する計算を行なうことができた。本研究では、10 残基前後のペプチドに対して計算を行なっているが、将来はより大きな蛋白質に対して、今回構築したモデルを適用する予定であり、その際、近似を導入する必要がある。しかし、解析的モデルに基づいて行なわれた近似には、フォールディングが起り始める領域、あるいは、完了する付近の領域に対して正しく評価を行なっているのかどうか、あいまいさが残るといふ問題点があり、近似に対する評価基準として、本研究における計算結果は重要なものになると考えられる。

(4) 数値計算の結果、コンタクトマップによっては、フォールディングのメカニズムに対し、斥力の効果が表れかたが違ふことを示した。この際、斥力のコアのサイズとして一般的な G δ モデルシミュレーションで用いられている 4 Å、隣あう残基間の距離を 3.8 Å に設定した。本研究では、7 残基 β ヘアピン型ペプチドのうち、(a) 1,7 残基と 2,6 残基が天然コンタクトをしている場合(非クロス型)と、(b) 1,7 残基、2,6 残基、2,7 残基、1,6 残基が天然コンタクトをしている場合(クロス型)について計算を行なった。このとき、それぞれの残基対が天然コンタクトを形成する確率に対する温度依存性を調べると、非クロス型の場合は、斥力を入れても各残基対のフォールディングを起こしやすさの順序

は変わらないが、クロス型の場合、斥力により順序が入れ替わり、斥力のないときに 2,6 残基対のコンタクトが最も安定していたが、斥力を入れると 1,6 残基対と 2,7 残基対が最も安定になった(図 1)。また、熱力学関数を調べたところ、斥力を入れたことにより、非クロス型の場合はエントロピーが低温側で急激に減り、比熱のピークが低温側へ移動したが、クロス型の場合は低温側におけるエントロピーに対する斥力の効果は次第に緩やかになり、比熱のピークが高温側へ移動した(図 2)。これは、非クロス型の場合、フォールディングが進むにつれて蛋白質の取りうる構造が斥力によって強く制限され、構造が不安定になってしまったためであり、クロス型の場合は、フォールディングが進むにつれ、蛋白質の取りうる構造が天然状態をベースにした引力相互作用により強く限定され、斥力コアの影響が少なくなることで、いったん 2,6 残基対のコンタクトがはずれると 1,6 残基対と 2,7 残基対のコンタクトが安定化し、崩れにくくなるためである。なお、フォールディングのメカニズムに対する斥力コアの影響がコンタクトマップに依存することは、CI2 に対する G δ モデルシミュレーションに対しても見られており [2]、本研究では簡単な解析的モデルを用いた定式化によってこれを説明している。

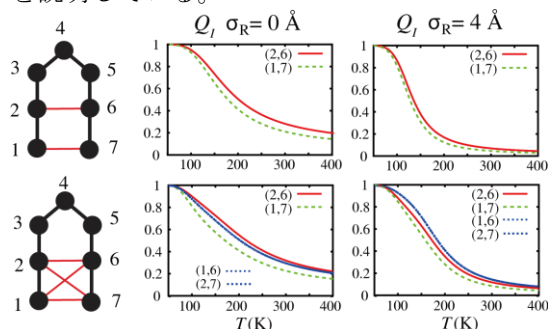


図 1. 非クロス型(上段)とクロス型(下段)における斥力相互作用のフォールディングメカニズムに対する影響

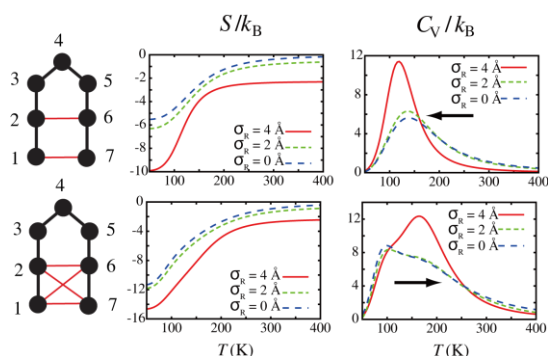


図 2. 非クロス型(上段)とクロス型(下段)に対するエントロピー及び比熱の温度依存性

(5) α ヘリックスの場合と β シートの場合について同様に数値計算を行なった。比熱はどちらの場合も、斥力コアを導入すると低温側へ移動しピークは鋭くなった。これは、斥力コアにより、構造が不安定化したことを意味している。また、斥力コアにより β シートのほうが α ヘリックスよりも比熱が鋭くなった。更に、各残基対がコンタクトを形成する確率についての温度依存性を調べると、 β ヘアピンについては、コンタクトの安定性の順序は変化しないが、コンタクトそれぞれが斥力コアの影響を受けて不安定化していることが分かる。このため、一番外側のコンタクトが外れると、一気に内側までジブロックのようにコンタクトが外れやすくなり、ペプチド鎖の協同的な振る舞いが強くなることを表している。一方 α ヘリックスの場合、コンタクトをしている残基対が形成するループの長さが全て同じであるため、構造が均一でありコンタクトはほぼ一斉に形成される一方、コンタクト間の相関が β シートに比べると弱いため、ペプチド鎖の協同的な振る舞いに対する影響は β ヘアピンに比べて小さくなり、ピーク幅に対する影響も β ヘアピンに比べて小さくなっている。

(7) フォールディングにおける協同的な振る舞いが、比熱曲線の幅に反映するものとし、多体相互作用による影響と、斥力相互作用による影響とを、12残基の β ヘアピン型ペプチド鎖の場合について比較した。斥力コアを取り入れたことによっておこる比熱曲線の幅の減少と同じぐらいの幅の減少を引き起こすためには、多体相互作用は結合エネルギーのうちの50パーセント以上を占めなければならないことがわかった。論文[1]において多体相互作用を取り入れたとき、シミュレーションのデータに合わせて引力相互作用のポテンシャルの幅を小さくし転移が起きやすくしたため、多体相互作用の影響は安定化エネルギーのうち10パーセントと比較的小さかった。しかし、相互作用パラメータが蛋白質の形状をもとに設定されているシミュレーションで使われている値と同じものにするると、多体相互作用を大きくいれなければならないことがわかった。

(8) 天然コンタクトのうち、いくつかを取り去った構造を基にしたモデルで計算をしたとき、協同性は減るが、斥力相互作用をいれると協同性は回復することを示した。これより、コンタクトの情報をある程度取り除く一方で、蛋白質の構造に対して特定性をもたない斥力相互作用を入れたとき、フォールディングメカニズムを崩すことなく、協同性を取り入れることができることを示した。この結果は、蛋白質の構造に基づいた因子と構造に

基づかない因子が、フォールディングの機構においてどのように影響を及ぼしあうのかについて考察を行なう手掛かりになるものと期待される。

(9) ルジャンドル変換を使い、熱力学関数を天然コンタクトが形成されている割合 Q の関数として計算を行なった。これは、自由エネルギー汎関数モデルとのつながりを調べる上で重要である。この定式化を用いて、(4)にて用いた2種類の7残基ペプチド鎖のフォールディングの過程において、斥力効果が形状のエントロピーに対し与える効果を調べた(図3)。非クロス型の場合、斥力効果がエントロピーに与える影響は Q に対する単調増加関数として表されたが、クロス型の場合は、エントロピーに与える影響は $Q=0.7$ 付近で最大値をもつ上に凸な関数となった。これは、非クロス型の場合、フォールディングに進むにつれ、蛋白質のとりうる形状が斥力によって大きく影響を受け一方で、クロス型の場合は天然状態に近づくにつれて天然コンタクトをベースにした引力相互作用が形状を強く制約し、斥力による制約はそれに比べると小さいことを示している。このように熱力学関数を Q の関数として計算することにより、幾何学的因子がフォールディングに与える影響を考察することができる。

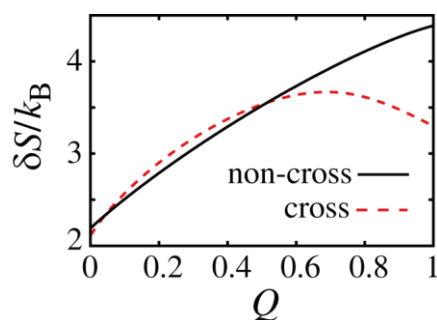


図3. 非クロス型とクロス型に対するフォールディングのメカニズムに対する斥力の効果。 $Q=1$ 付近で違いが表れる。

(参考文献)

- [1] Y. Suzuki, J. K. Noel, and J. N. Onuchic, *J. Chem. Phys.* 128, 205104 (2008).
- [2] J. K. Noel, P. C. Whitford, K. Y. Sanbonmatsu, and J. N. Onuchic, *Nucleic Acid Res.* 38, 657 (2010).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

(1) Yoko Suzuki, Jeffery K. Noel, and José N. Onuchic, An semi-analytical description of protein folding that incorporates detailed geometrical information、査読有、J. Chem. Phys., 134 (2011) 245101.

(2) Yoko Suzuki, Jeffery K. Noel, and José N. Onuchic, An analytical Model for Protein folding, Proc. Of the International Symposium on Frontiers of Computational Science 2009 (FCS2009), ed. By Y. Kaneda, M. Sasai, and K Tachibana、査読無、CD-ROM(ISBN:978-4-9904336-0-4)、2008年、pp.95-101

〔学会発表〕(計6件)

(1) 鈴木陽子、解析的モデルを用いた蛋白質フォールディング、日本物理学会、2010年9月23日、大阪府立大学

(2) 鈴木陽子、Analytical Model for Protein Folding improved by introducing topological factors、日本生物物理学会、2010年9月21日、東北大学

(3) 鈴木陽子、トポロジカルな情報を考慮した蛋白質フォールディングの解析的モデルの構築、日本物理学会、2010年3月21日、岡山大学

(4) 鈴木陽子、トポロジカルな情報を考慮した蛋白質フォールディングの解析的モデルの構築 IV、日本物理学会、2009年9月27日、熊本大学

(5) 鈴木陽子、トポロジカルな情報を考慮した蛋白質フォールディングの解析的モデルの構築 III、日本物理学会、2009年3月28日、立教大学

(6) 鈴木陽子、An analytical Model for Protein folding、International Symposium on Frontiers Computational Science 2008 (Nagoya University)、2008年11月28日、29日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hino.meisei-u.ac.jp/phys/youko/faculty/ysuzuki/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木陽子 (SUZUKI YOKO)

明星大学・理工学部・准教授

研究者番号：70342631