

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月13日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20700267

研究課題名（和文） 溶液の物理化学に基づくタンパク質立体構造予測法の開発

研究課題名（英文） Developing a method for predicting protein structure based on physical chemistry of liquid

研究代表者

原野雄一（HARANO YUICHI）

大阪大学・蛋白質研究所・特任准教授

研究者番号：60456259

研究成果の概要（和文）： 近年我々の研究グループで開発した自由エネルギー関数は水和に着目している。その関数を用いて、従来から一般によく用いられている構造サンプリング法と組み合わせ、蛋白質の立体構造予測を実施した。11種類の蛋白質に対して、フラグメントアッセムブリ法（FA法）およびモデル比較法（CM法）を用いて、試験的に計算を実行した。挑戦した蛋白質に関する限り、主鎖炭素（ $C\alpha$ ）のRMSDで、約2.0Å程度の範囲内で構造予測に成功した。さらに粗視化モデルによる天然構造近傍（RMSD < 3Å）の局所的な構造サンプリングを実施したところ、直線的な正の相関が得られたので、更なる予測精度の向上には、サンプリング方法に改善の余地が残されている結果となった。

研究成果の概要（英文）： We predicted protein structure using our recently developed free energy function for describing protein stability, which was focused on solvation thermodynamics. The function is combined with the current most reliable sampling methods, i.e., fragment assembly (FA) and comparative modeling (CM). The prediction was tested using 11 small proteins for which high-resolution crystal structures were available. Fairly accurate models with average $C\alpha$ root mean square deviation (RMSD) ~ 2.0 Å were successfully obtained for all cases. The exhaustive sampling by coarse-grained normal mode analysis around the native structures reveals that our function has a linear correlation with RMSDs < 3.0 Å. These results suggest that the function is quite reliable for the protein structure prediction while the sampling method remains one of its major limiting factors in it.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成20年度	900,000	270,000	1,170,000
平成21年度	800,000	240,000	1,040,000
平成22年度	800,000	240,000	1,040,000
平成23年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生体生命情報学

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：タンパク質、立体構造予測、溶液化学、溶媒和エントロピー

1. 研究開始当初の背景

タンパク質は生体内において様々な機能を有し、生命現象を維持するために必要不可欠であり、分子レベルで非常に重要な役割を果たしている。しかしながら、その機能を発揮するためには、特定の立体構造（天然構造）を形成することが必要であるので、タンパク質の機能といってもその立体構造の問題に帰着する。しかもその立体構造は、遺伝情報としてコードされた DNA の塩基配列から引き継がれた、タンパク質を構成するアミノ酸配列の情報によってあらかじめ決められている。したがって、アミノ酸の1次配列の仕方から立体構造を予測が可能になり、機能と結びつける事ができれば、機能や物性を自由に制御したタンパク質を合成するが可能になる。このことは理学的な研究対象としてのみならず、薬学や医学等への応用も期待されることから、様々な分野から切望されている。

2. 研究の目的

ポストゲノム計画の中心課題は、タンパク質の立体構造と機能との相関を明らかにし、タンパク質を主役とする生命現象発現の分子機構を解明することである。その際、克服すべき課題は大きく2つ存在する。膨大にある蛋白質立体構造を検索できる効率的な方法と、構造に対する何らかの精密なエネルギー関数の開発である。我々のスコア関数は、系の自由エネルギーを正確に記述できれば、蛋白質の天然構造の予測が可能になるとの立場から、溶媒である水に積分方程式理論を用い統計力学的に系の熱力学量を計算しており、蛋白質を粗視化することなく水の分子描像を密度分布関数という形で残したまま、熱力学量を厳密に得ることができるという利点がある。研究代表者は、タンパク質が存在する環境である水に着目することによって、タンパク質立体構造形成における主要な物理化学的因子を理論的に見出しており、本研究は、その物理化学的因子に基づき、タンパク質の立体構造をそのアミノ酸の一次配列から決定する計算化学的な方法論を確立することを目的としている。

3. 研究の方法

蛋白質の1次構造、すなわちアミノ酸配列のみから立体構造を予測する計算科学的手法を開発することが本プロジェクトにおけるテーマである。200〜300残基に及ぶより大きな蛋白質、膜蛋白質など水溶媒以外に存在する蛋白質に対して立体構造予測に挑戦し実用性を高める必要がある。そのために克服すべき課題は、溶媒環境の変化に対応した自由エネルギー関数の最適化と立

体構造検索の効率化である。それぞれの課題に対して、以下のアプローチを試みた。

開発したエネルギー関数は、溶質分子（蛋白質）の水和エントロピーと脱水とエネルギーのペナルティーからなる。熱力学量の計算には形態熱力学を用いるが、溶質の溶媒和の熱力学量は溶質分子の4つの幾何学的指標（排除体積、露出表面積、平均曲率、ガウス曲率）と、それぞれに対する溶媒和の係数により与えられる。幾何学的指標は原子パラメータが決まれば一義的に決まるが、係数は溶媒のモデルや条件によって変化しうる。また、その計算にはいかなる溶媒分子モデルおよび理論を用いても良い。現在は、多極子モデルの水に分子性流体用積分方程式論を適用して計算している。また、我々のエネルギー関数のもう1つの重要なパラメータとして脱水とエネルギーがある。現在の所、低分子の水とシミュレーションから得られた値を用いている。水和自由エネルギーはバルク水の熱力学的条件により非常に敏感に変化するので、実験データを利用する、もしくは異なった条件で独自の分子シミュレーションから計算する等の改良を試みた。

構造検索の効率化を水和自由エネルギー関数の立場からも試みた。形態熱力学の表式から理解されるように、蛋白質の形状は排除体積や露出表面積などによって表されるが、それぞれタンパク質を構成する各原子位置に対して微分量が定義できるので、蛋白質-水間の平均力を考慮した動力学への応用が可能になる。これまでのところ定式化までを終了しており、この手法を分子動力学法に組み入れる事で構造検索法に対しての効率化が期待され、また予測構造の精密化にも使用できることから、課題克服に大きく貢献できると思われる。

4. 研究成果

従来のデータベースに基づく構造検索方法に、我々の自由エネルギー関数を組み込み、立体構造予測を実際に行った。ただし、デコイセットを用いたテスト結果に基づいてターゲット蛋白質の選択に対して制限を課している。その結果、適応される蛋白質の種類に制限があるものの、100残基程度の蛋白質に対してRMSDレベルで $\sim 2\text{\AA}$ までの予測が可能になった。さらに粗視化モデルによる天然構造近傍（RMSD $< 3\text{\AA}$ ）の局所的な構造サンプリングを実施したところ、直線的な正の相関が得られたので、更なる予測精度の向上には、サンプリング方法に改善の余地が残されている結果となった。

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 5 件)

- ① Yasuda S, Yoshidome T, Harano Y, Roth R, Oshima H, Oda K, Sugita Y, Ikeguchi M, Kinoshita M, “Free-energy function for discriminating the native fold of a protein from misfolded decoys” . Proteins, 79, pp2161-2171 (2011). (査読有)
- ② Yasuda S, Yoshidome T, Oshima H, Kodama R, Harano Y, Kinoshita M, “Effects of side-chain packing on the formation of secondary structures in protein folding” . J. Chem. Phys., 132, #065105 (2010). (査読有)
- ③ Yoshidome T, Oda K, Harano Y, Roth R, Sugita Y, Ikeguchi M, Kinoshita M, “Free-energy function based on an all-atom model for proteins” . Proteins, 77, pp950-961 (2009). (査読有)
- ④ Amano K, Yoshidome T, Harano Y, Oda K, Kinoshita M, “Theoretical analysis on thermal stability of a protein focused on the water entropy” . Chem. Phys. Lett., 474, pp190-194 (2009). (査読有)
- ⑤ Yoshidome T, Harano Y, Kinoshita M, “Pressure effects on structures formed by entropically driven self-assembly: Illustration for denaturation of proteins” . Phys. Rev. E., 79, #011912 (2009). (査読有)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 原野雄一、“Development of predicting the native structure of a protein focusing on water entropy” , The 4th Mini-Symposium on Liquid, 2010年6月26日、於:九州大学
- ② 原野雄一、“Theoretical studies for biomolecular behavior in a liquid state from the viewpoint of molecular crowding” , 第48回生物物理学会、2010年9月20日、於:東北大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原野雄一 (HARANO YUICHI)

大阪大学・蛋白質研究所・特任准教授

研究者番号 : 6 0 4 5 6 2 5 9