

ガス

格子モデルを用いたタンパク質 結合プロセスの熱力学的解析

白井 伸宙

大阪大学大学院理学研究科 物理学専攻



格子モデルを用いたタンパク質 結合プロセスの熱力学的解析

白井 伸宙

大阪大学大学院理学研究科 物理学専攻

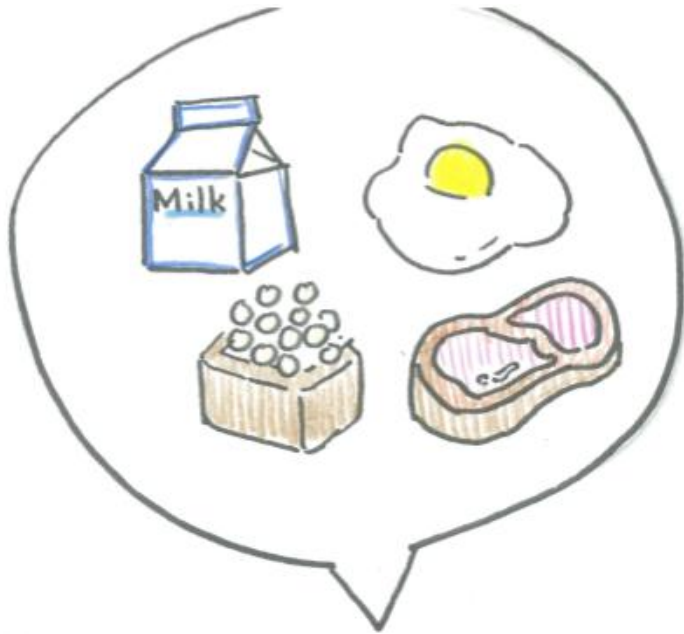


目次

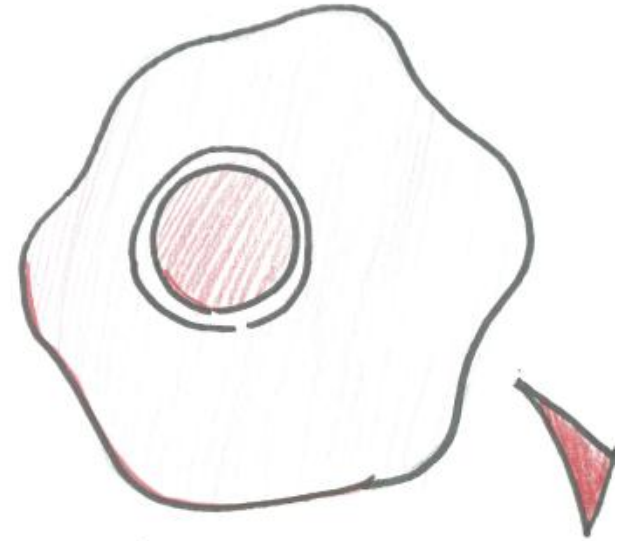
1. タンパク質について
2. 天然変性タンパク質について
3. 天然変性タンパク質の格子モデル

1. タンパク質について

タンパク質



細胞の集まり
約60兆個



真核細胞

約80億個の
タンパク質を
持つ



ヒト

60~70%

水分

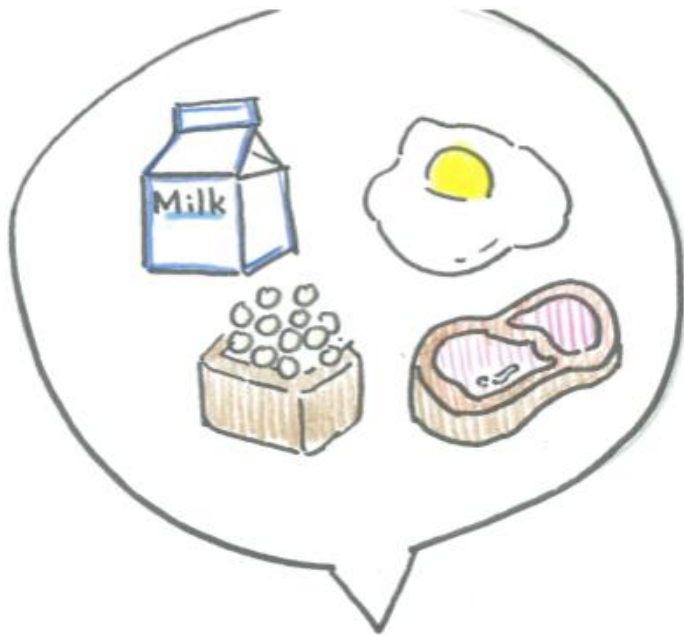
固形成分の

約20%は

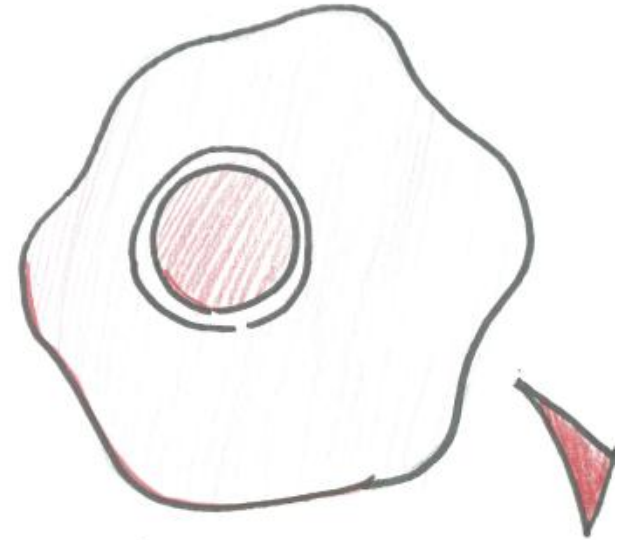
タンパク質

タンパク質

4.8×10^{23} 個
のタンパク質



細胞の集まり
約60兆個



真核細胞

約80億個の
タンパク質を
持つ



ヒト

60~70%

水分

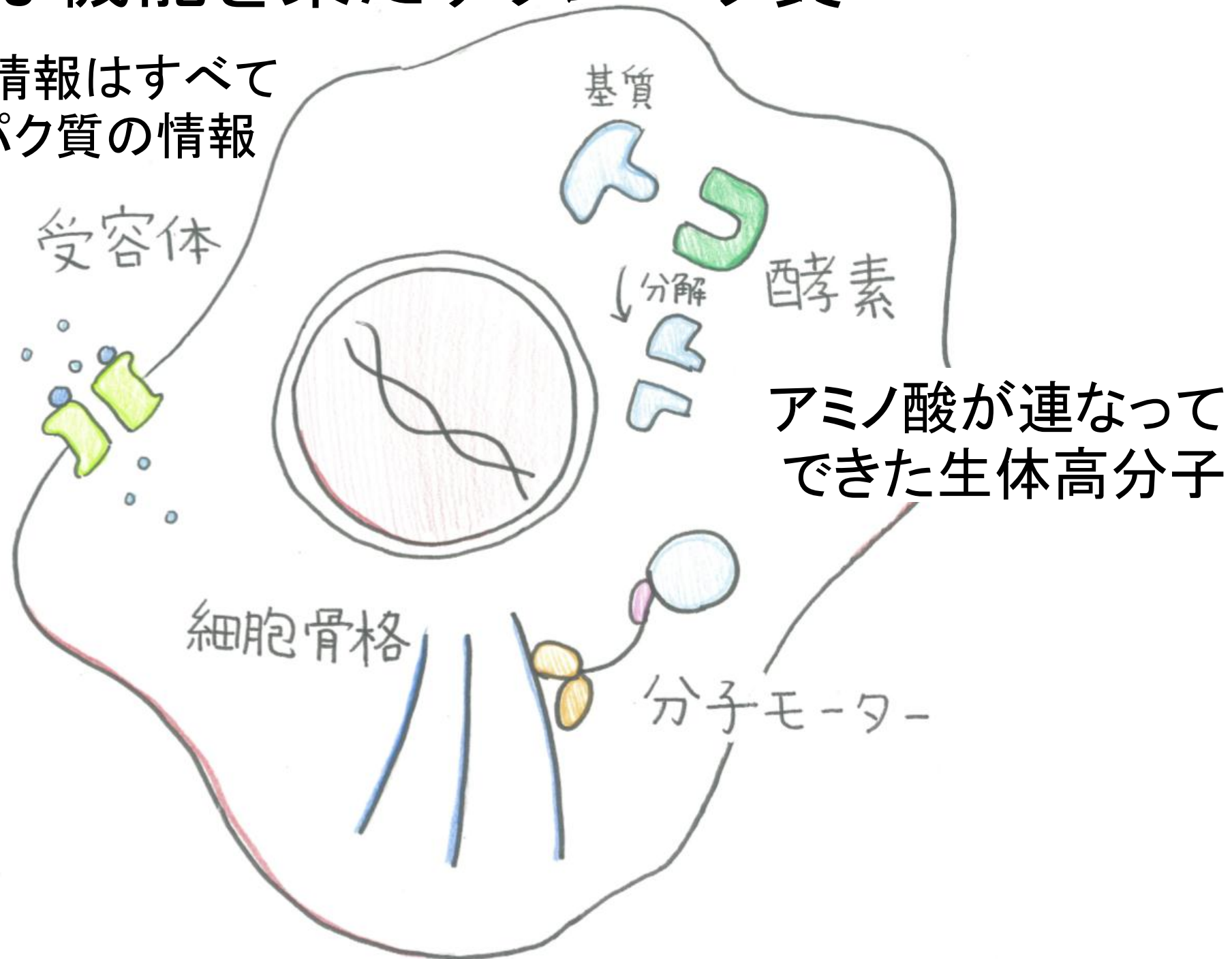
固形成分の

約20%は

タンパク質

様々な機能を果たすタンパク質

遺伝情報はすべて
タンパク質の情報



様々な機能を果たすタンパク質

遺伝情報はすべて
タンパク質の情報

受容体

基質



分解



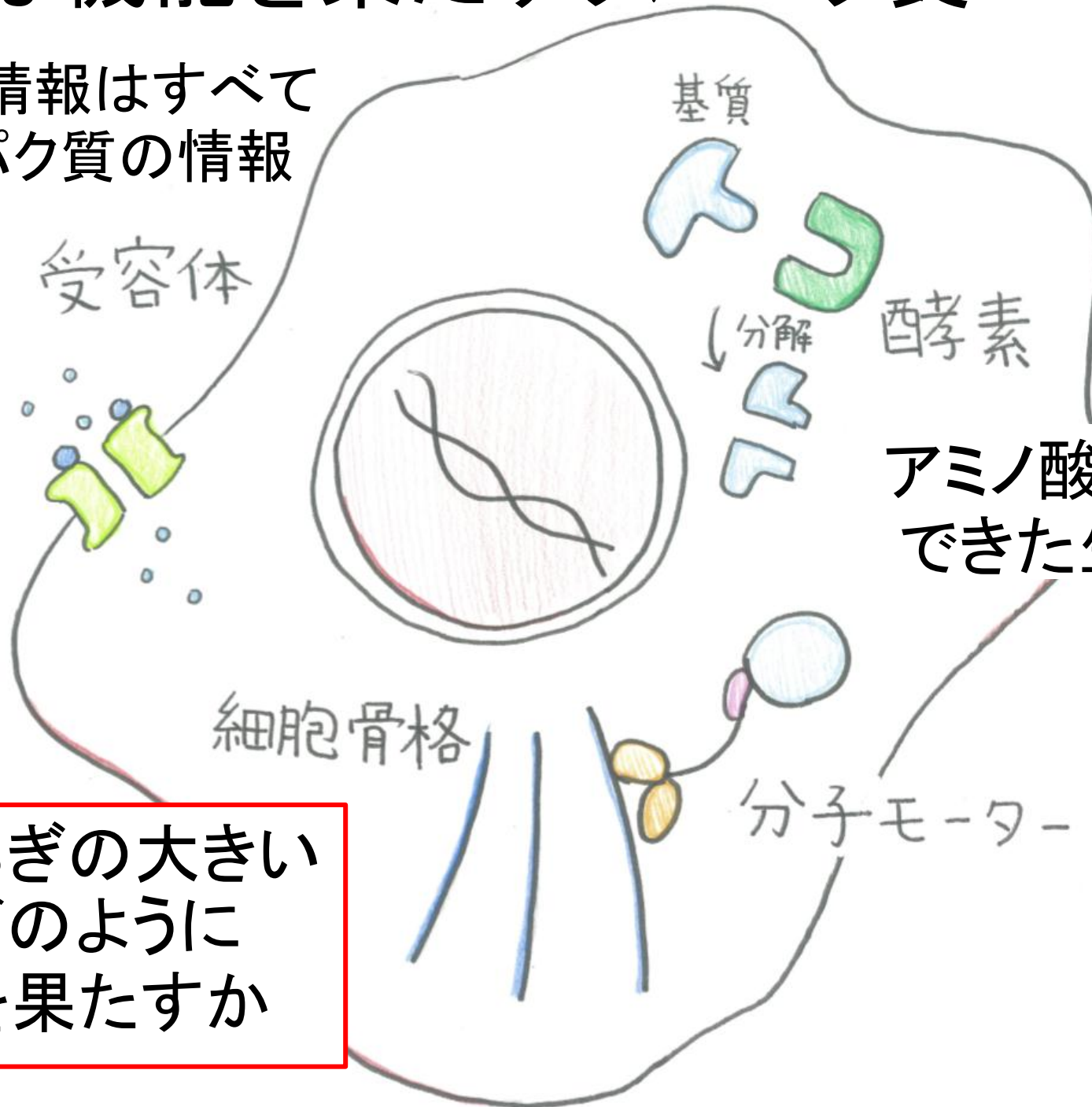
酵素

アミノ酸が連なって
できた生体高分子

細胞骨格

分子モーター

熱ゆらぎの大きい
系でどのように
機能を果たすか



タンパク質の合成

翻訳

タンパク質

転写

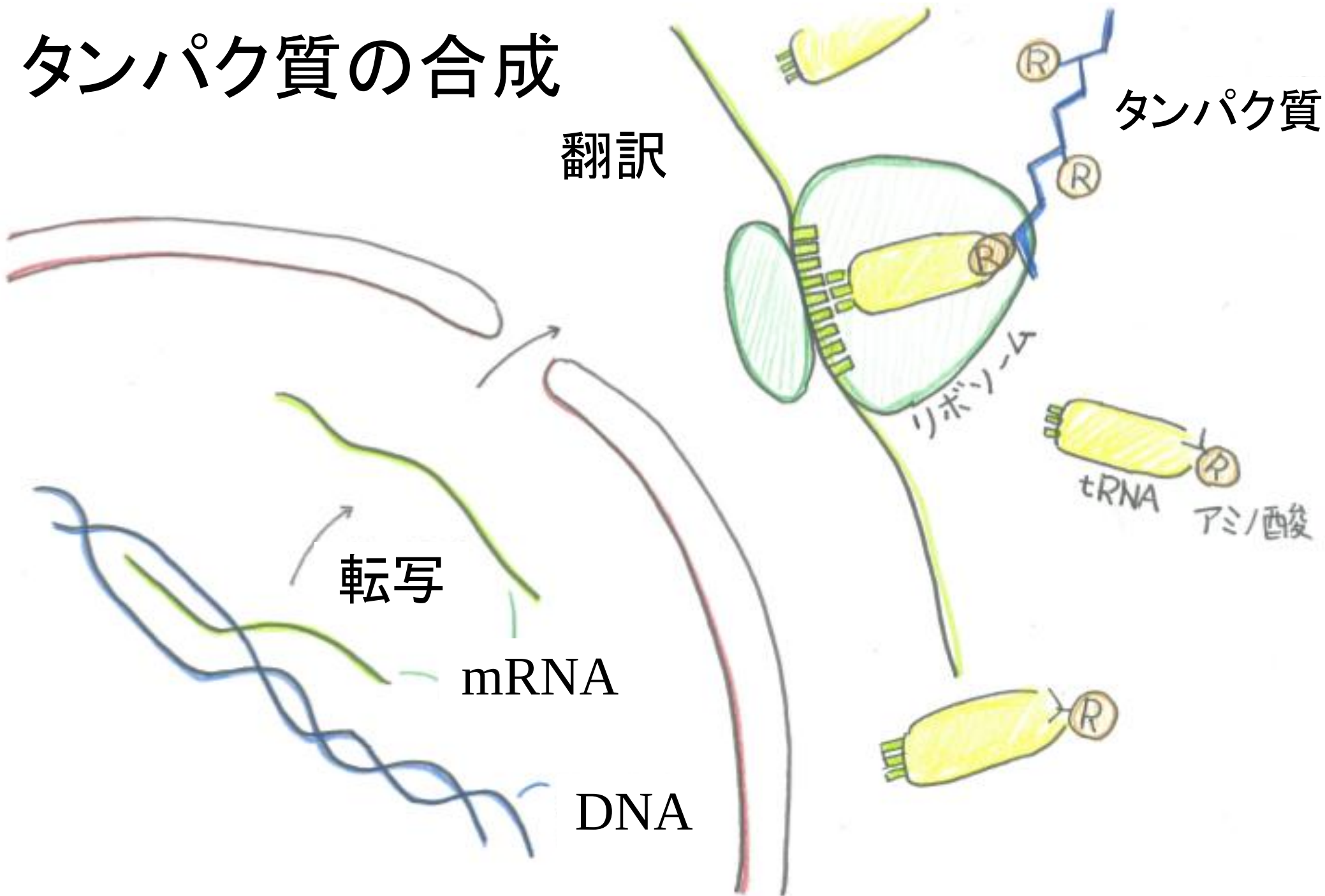
mRNA

DNA

リボソーム

tRNA

アミノ酸



タンパク質の合成

翻訳

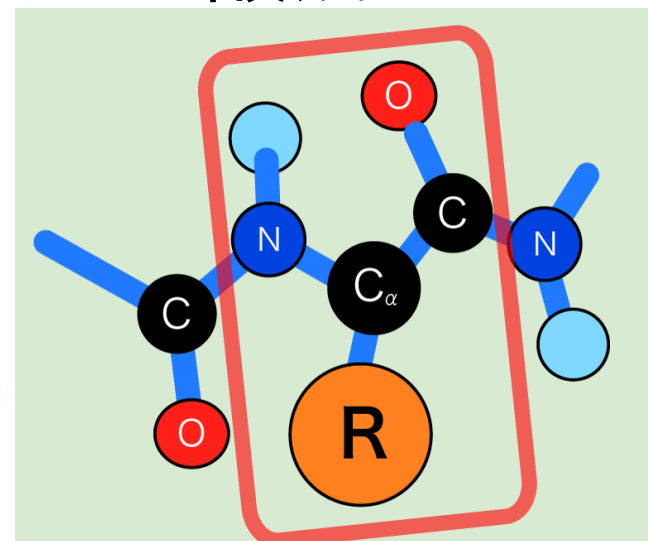
タンパク質

転写

mRNA

DNA

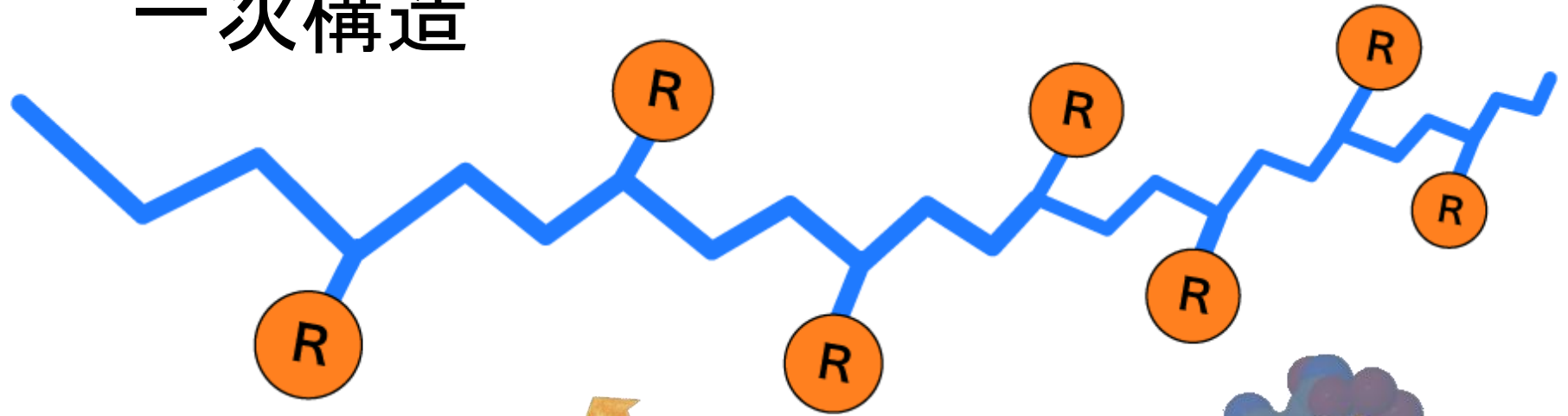
アミノ酸残基



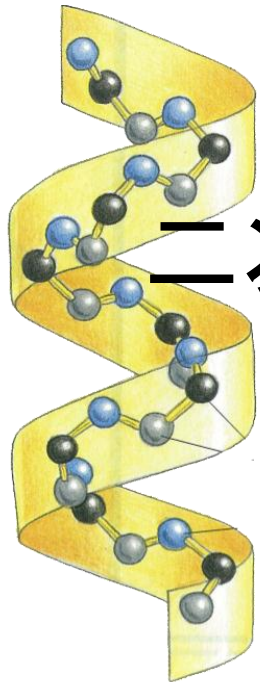
R: 側鎖 (20種類)

タンパク質の階層的な構造

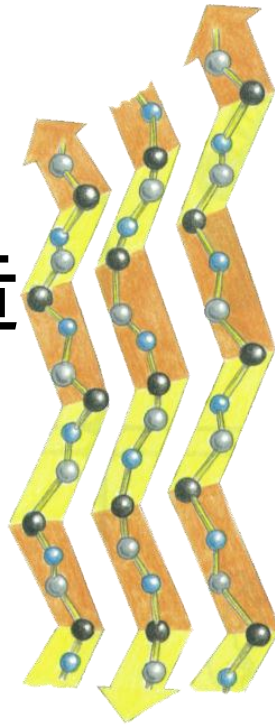
一次構造



二次構造

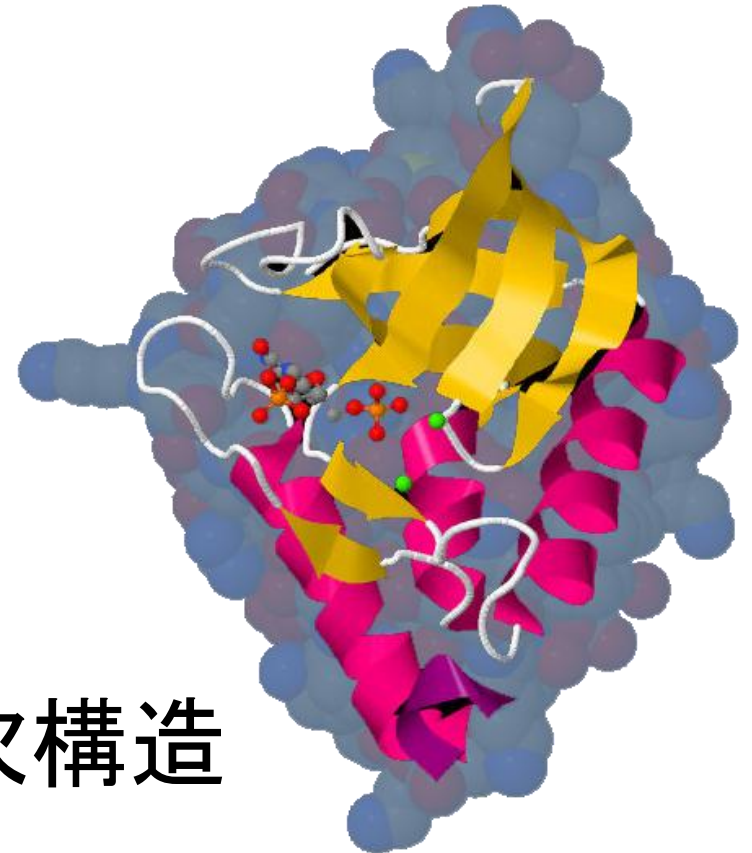


α ヘリックス

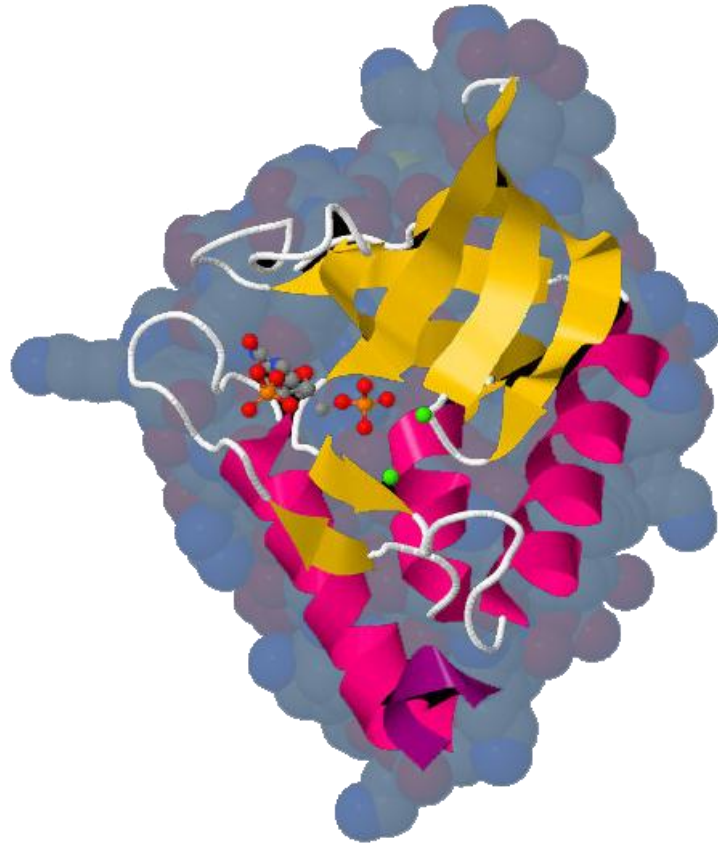


β シート

三次構造

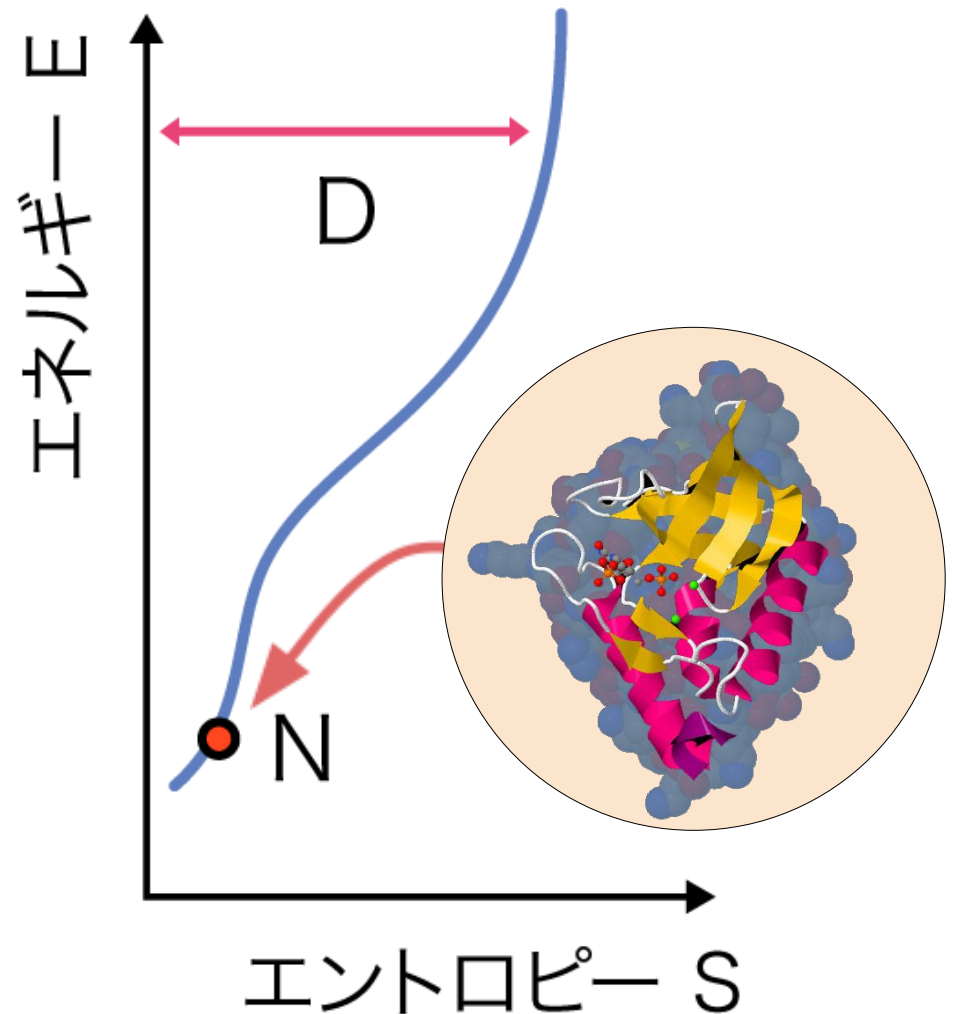


タンパク質の熱力学的性質

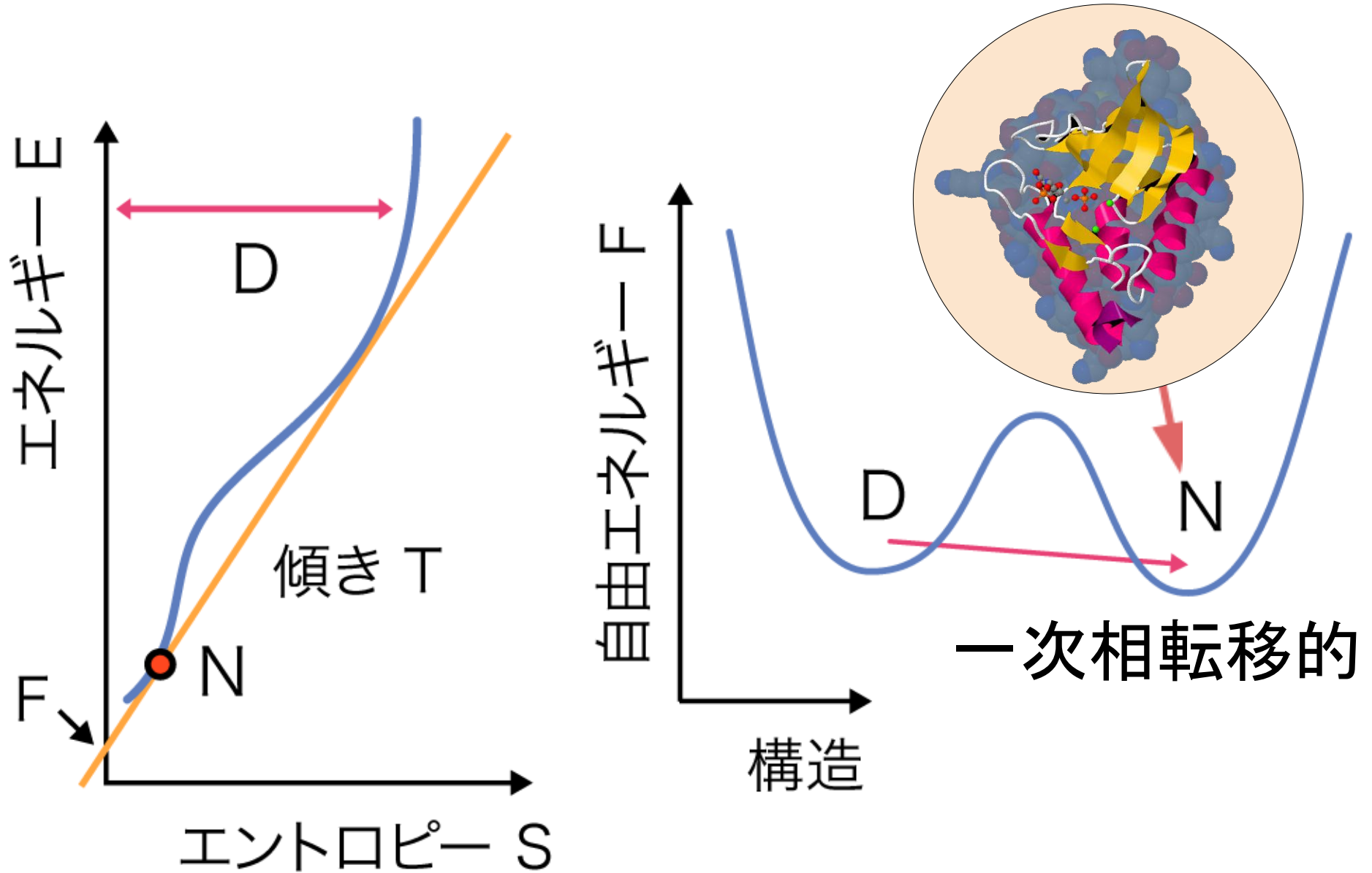


Anfinsenのドグマ
熱平衡状態で
構造が実現している

ファネル型エネルギー
ランドスケープ



自由エネルギーランドスケープ



タンパク質への興味

- 機能を持つ物質の物性はどのような特徴があるのか
- 熱ゆらぎの大きい生体内で複雑な機能を正確に果たす理由
- 熱的なゆらぎを利用して機能するタンパク質はないか？

統計力学を使って熱力学的に解析しよう

2. 天然変性タンパク質について

パラダイムシフト前夜 1

タンパク質に関するコンセンサス

一つアミノ酸配列に対して
一つの立体構造が決まる



立体構造はすなわち
タンパク質の機能を表す

パラダイムシフト前夜 2

・実験分野:

X線結晶解析で構造が定まらない部位の存在は知られていた。

→ **変性状態**にあるのだらうと考えられていた

→ しかし、結晶化を妨げるものとして否定的にしか認識されていなかった。

・情報解析の分野:

低複雑性配列というものが知られていた。

低複雑性配列

同じアミノ酸の連続や

少数のアミノ酸からなる単調な配列

パラダイムシフト前夜 3

・実験手法の進歩

ゲノム解析が進み、遺伝子配列の情報をを用いた系統的な解析が行えるようになっていた。

→機能を抽出し、関連タンパク質を特定する

NMRや**円偏光二色性 (CD)** など、溶液中のタンパク質の構造を観察する実験が行われるようになっていた。

天然変性タンパク質の発見 1

・情報解析 1998年 Dunkerらのグループ

変性部位におけるアミノ酸配列の特徴を学習し、新たな変性部位を予測

→40以上の連続した残基が変性状態と
なっているタンパク質を15,000特定

→変性状態は稀なものではなく一般にありうる
現象であることを示した

[1] E. Garner et al. *Genome. Inform. Ser. Wrokshop Genome Inform*, **10**, 2, 321 (1998).

[2] P. Romero et al. *Pac. Symp. Biocomputing*, **3**,437 (1998).

[3] K. Dunker et al. *Pac. Symp. Biocomputing*, **3**,473 (1998).

天然変性タンパク質の発見 2

・NMR測定まとめ論文 1999年 Wright and Dyson
変性部位が他のタンパク質と相互作用し折れ畳むことにより機能を果たせることを様々な実験事例を引用して示した。

今までの「構造=機能」という考え方の再考を求める挑戦的な論文。

[4] P. E. Wright and H. J. Dyson.

“Intrinsically Unstructured Proteins:
Re-assessing the Protein Structure-Function Paradigm”,
J. Mol. Biol. , **293**, 2, 321 (1999).

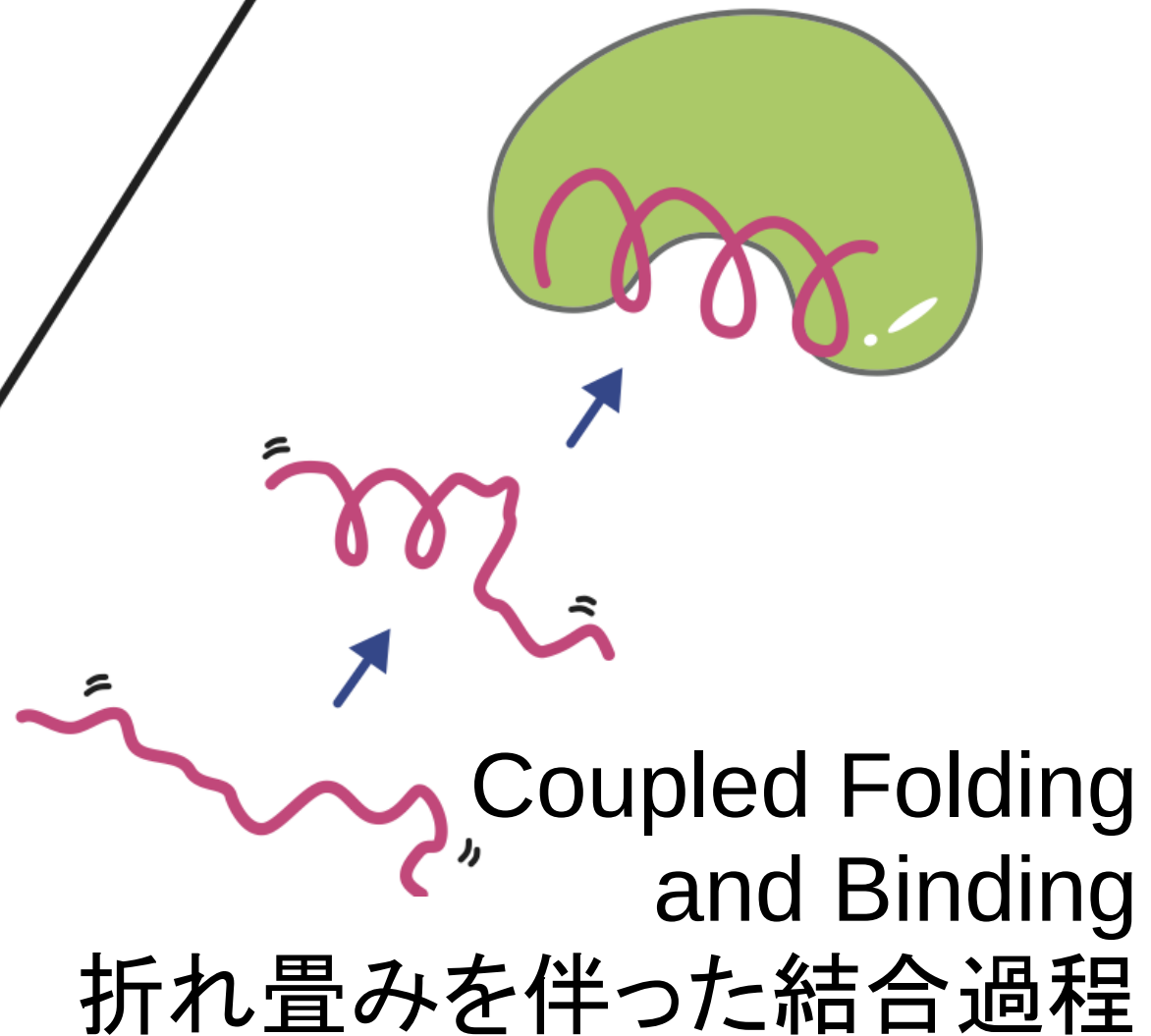
[5] H. J. Dyson and P. E. Wright. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**,197 (2005).

天然変性タンパク質の発見 2 つづき

天然変性タンパク質

ターゲット

天然状態では
立体構造を
持たない



天然変性タンパク質について

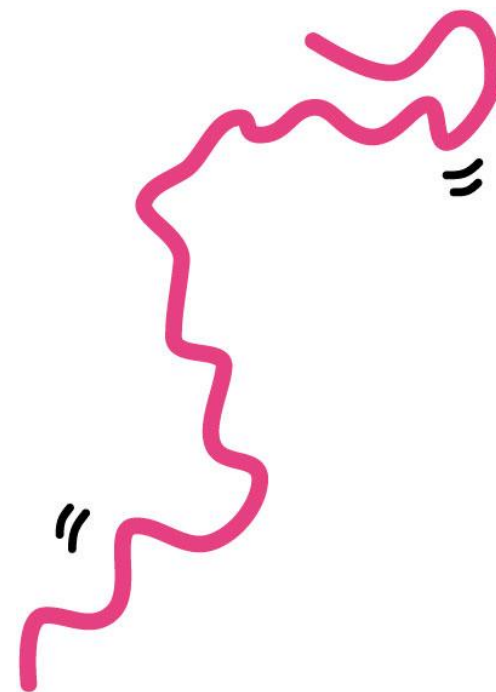
- 天然変性タンパク質
(Intrinsically Disordered Protein, 略して IDP)
 - タンパク質全体が完全に変性状態のもの
 - マルチドメインのタンパク質の長いリンカー部分に長い変性領域を持つもの (ID Regions, IDR)
- 機能
 - 転写・翻訳の調節
 - シグナル伝達
 - 細胞周期の調節

IDPの特徴

- 親水残基が多く、疎水性残基が少ない
- 高い特異性 / 低い親和性
 - 正確に情報を伝え、伝え終えたらすぐに分解される
- 複数のターゲットに結合することができ、生体内の相互作用ネットワークのハブとなっている
- 真核生物の核内に多く存在する
 - DNAと相互作用し、DNAの複製や転写に絡んでいる
- 生物学的コスト
 - 異常な振る舞いをするタンパク質が残留すると重大な疾患へつながる

IDPへの興味

- どのように複数のタンパク質/リガンドを認識して立体構造を形成するか
- 動きの伴った生体分子の機能発現



研究の動機と目的

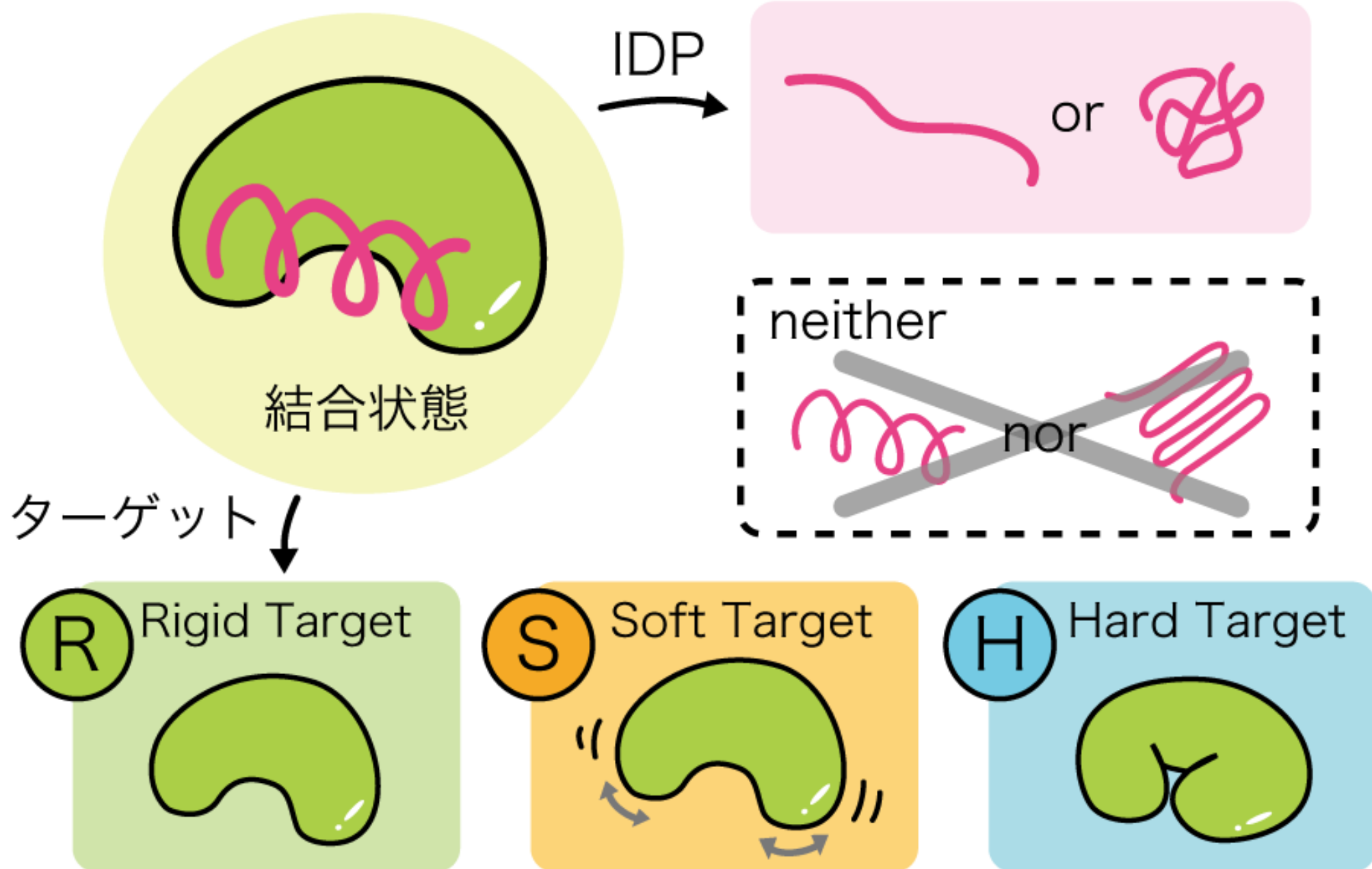
- 機能に対する柔らかさの寄与
- 結合過程の特徴付け
→どんなバリエーションがあるのか
- ターゲット側のゆらぎがどう影響するのか
- ターゲットの違いによる結合過程の変化

格子モデルを構築し
熱力学量の解析を行った

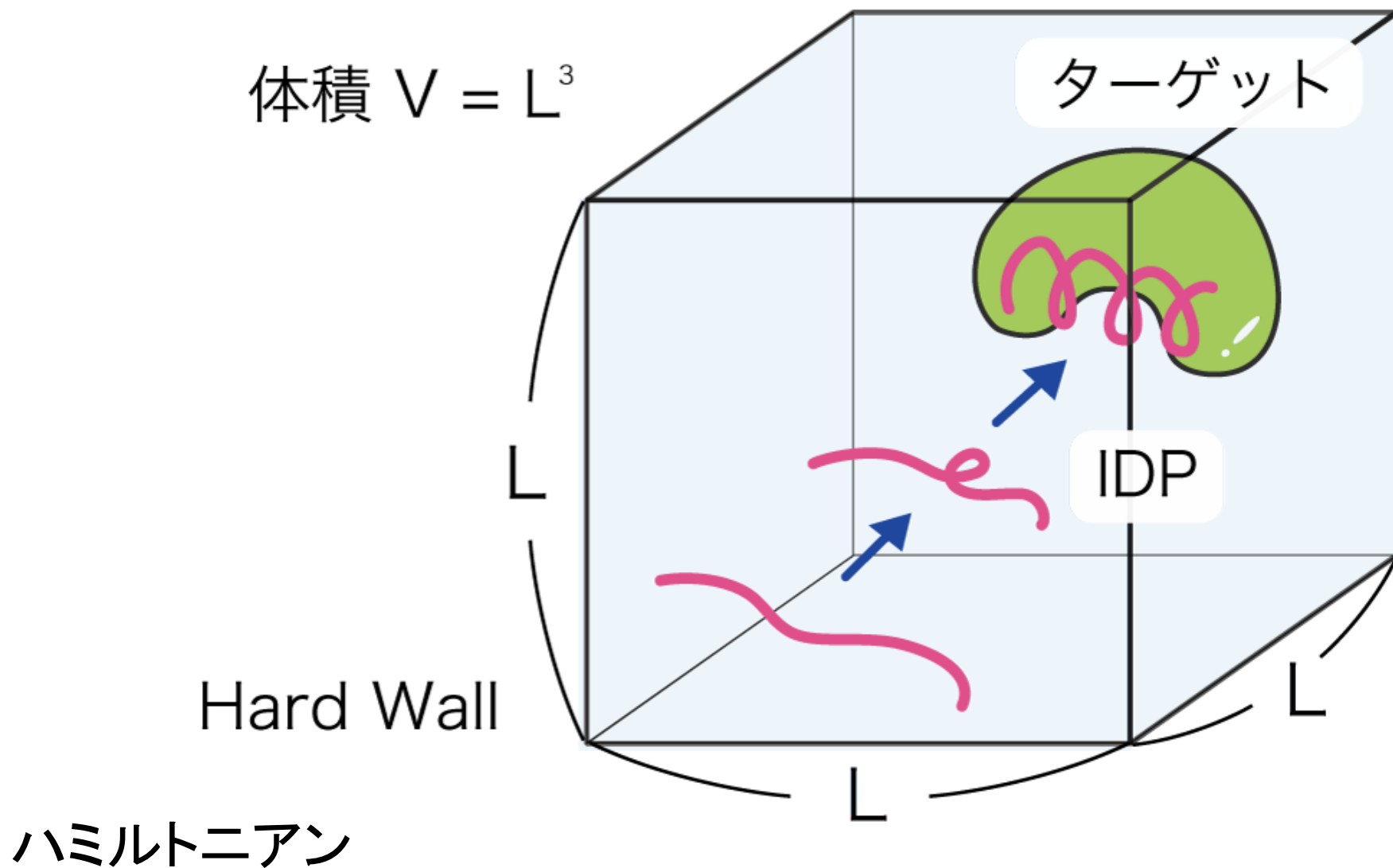
3. 天然変性タンパク質の 格子モデル

モデル

モデルの構想 1



モデルの構想 2



$$\mathcal{H} = \mathcal{H}_{\text{IDP}} + \mathcal{H}_{\text{IDP-TM}} + \mathcal{H}_{\text{TM}}$$

IDPの格子モデル (HH'Pモデル)

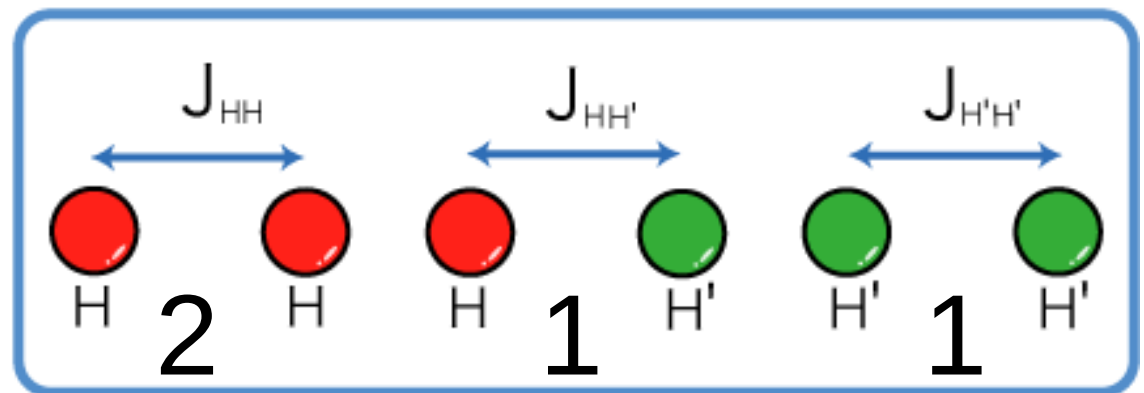
IDP内相互作用

$$\mathcal{H}_{\text{IDP}} = - \underbrace{J_{\text{HH}}}_2 n_{\text{HH}} - \underbrace{J_{\text{HH}'}}_1 n_{\text{HH}'} - \underbrace{J_{\text{H}'\text{H}'}}_1 n_{\text{H}'\text{H}'}$$

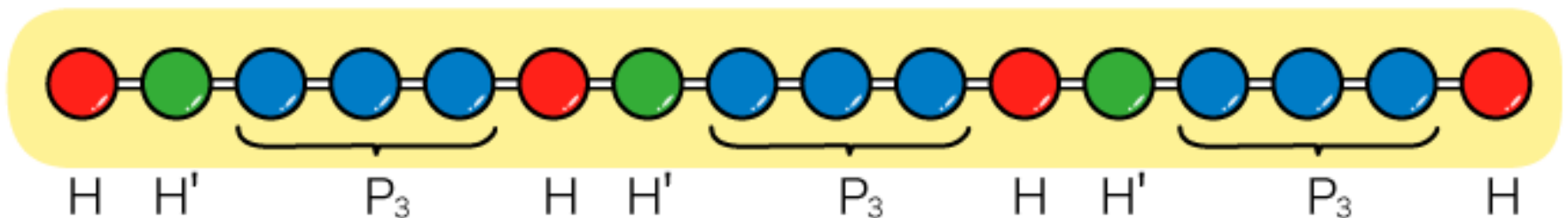
残基の種類

- ... H 残基
- ... H' 残基
- ... P 残基

相互作用定数

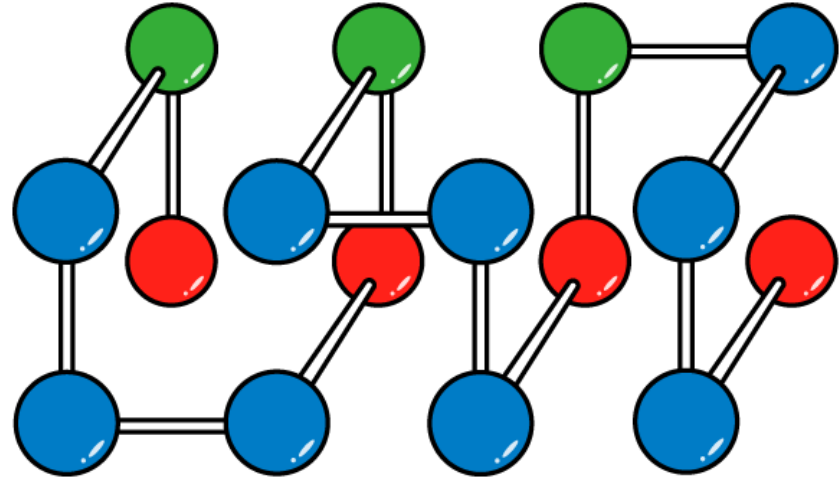


IDPの残基配列 長さ16

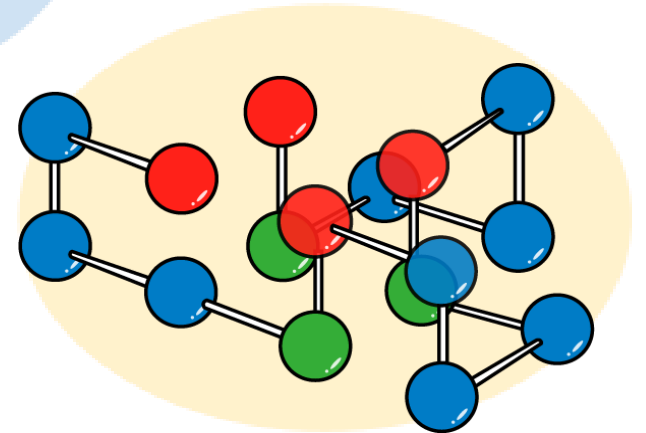
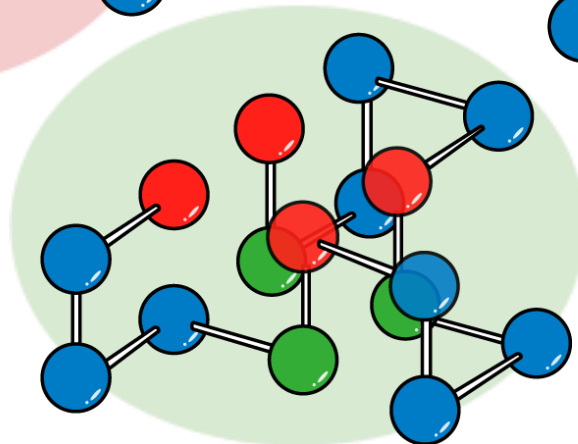
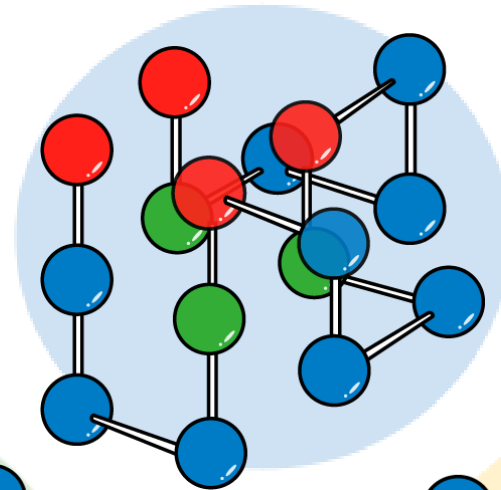
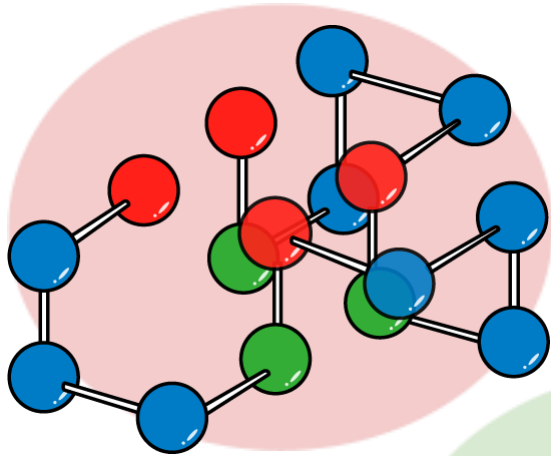


IDPの状態

α ヘリックス

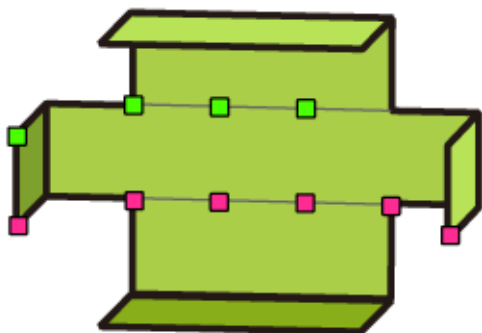


IDP単体での基底状態

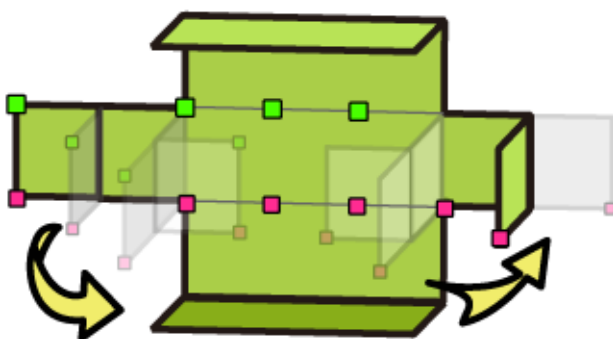


ターゲットの格子モデル

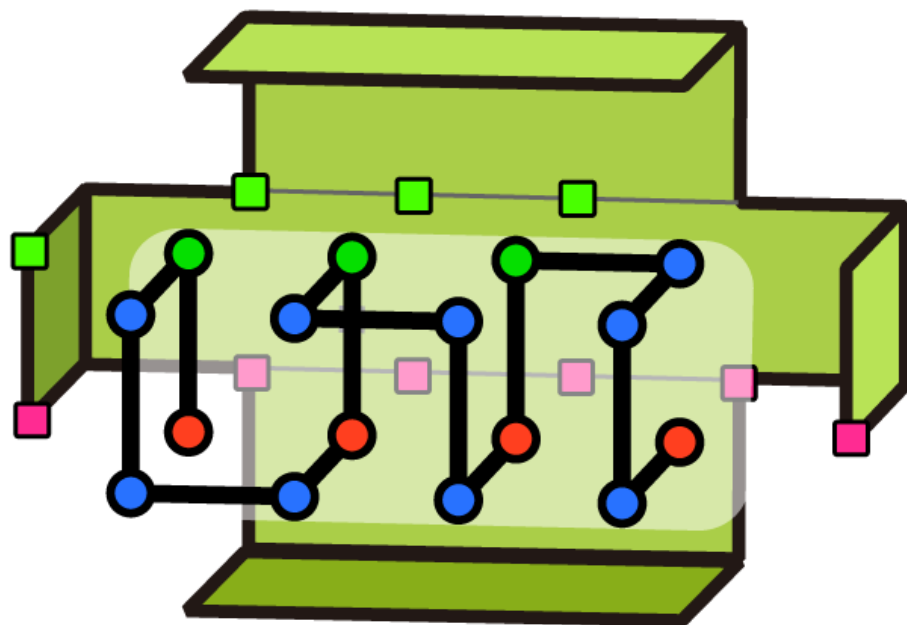
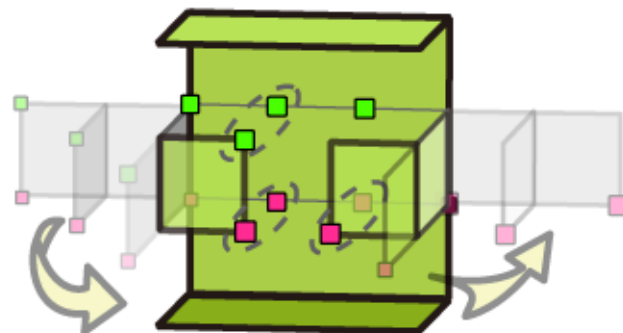
(R) Rigid Target



(S) Soft Target



(H) Hard Target

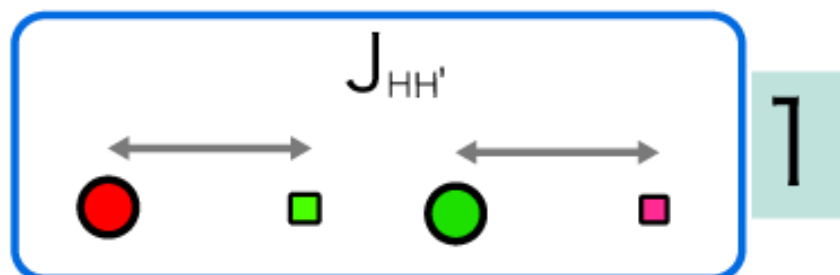
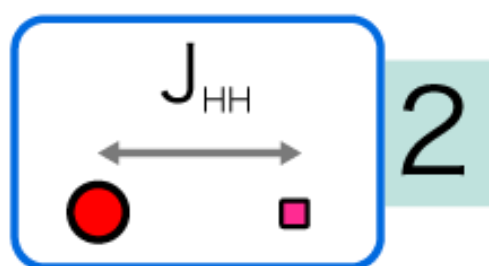


Bound State

$$\mathcal{H}_{\text{IDP-TM}} = -J_{\text{HH}} m_{\text{HH}} - J_{\text{HH}'} m_{\text{HH}} - J_{\text{H'H}'} m_{\text{H'H}'}$$

$$\mathcal{H}_{\text{TM}} = -\gamma J_{\text{HH}} m'_{\text{HH}} - \gamma J_{\text{HH}'} m'_{\text{HH}} - \gamma J_{\text{H'H}'} m'_{\text{H'H}'}$$

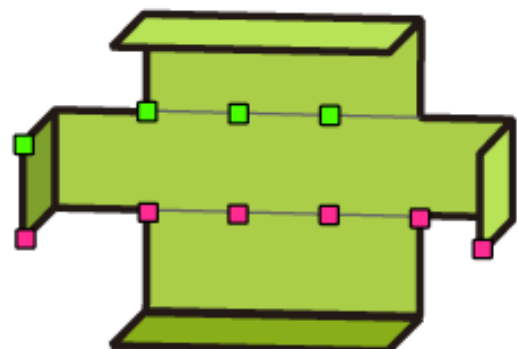
$$+ \frac{R}{1-R} (1 - \delta(\boldsymbol{\eta}, \boldsymbol{\eta}_{\text{R}}))$$



(R) Rigid Target

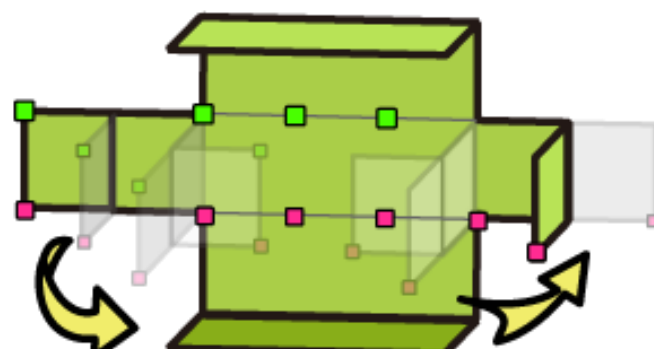
(S) Soft Target

(H) Hard Target



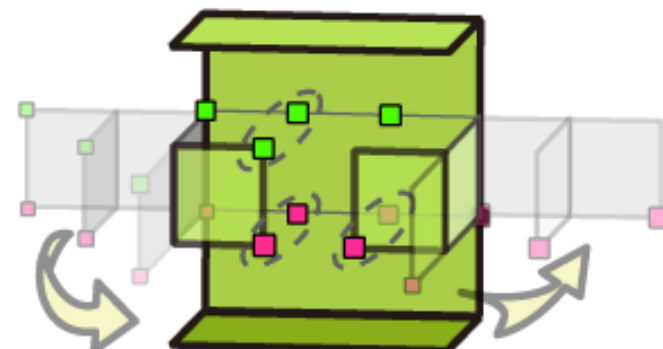
$r=0$

$R=1$



$r=0$

$R=0$



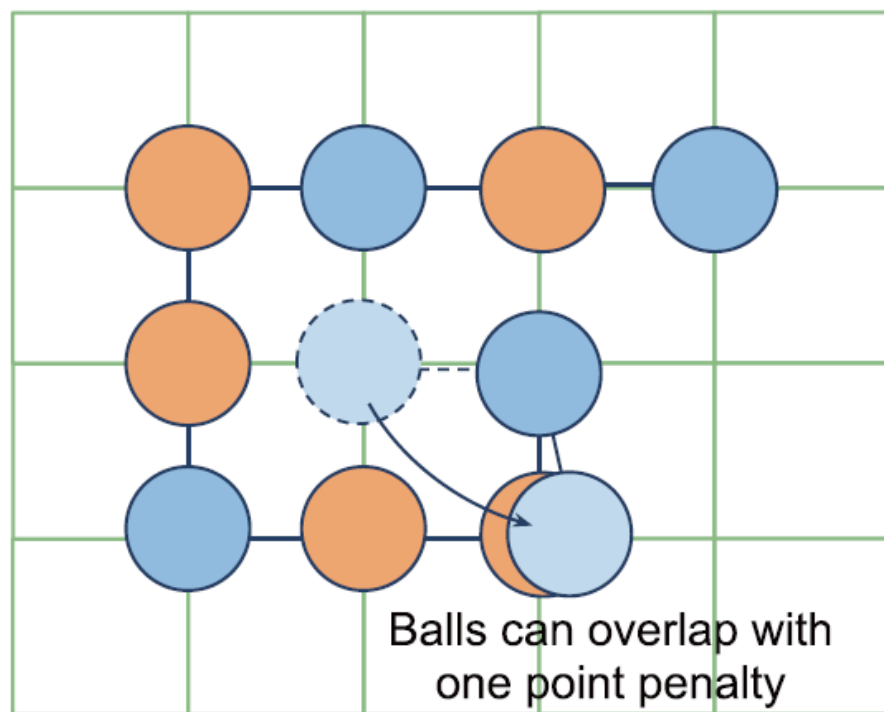
$r=1$

$R=0$



計算手法 MSOE (Multi-Self Overlap Ensemble)

- 拡張アンサンブル法の一つ
- 重なり V 方向にもヒストグラムを平らにする
マルチカノニカル



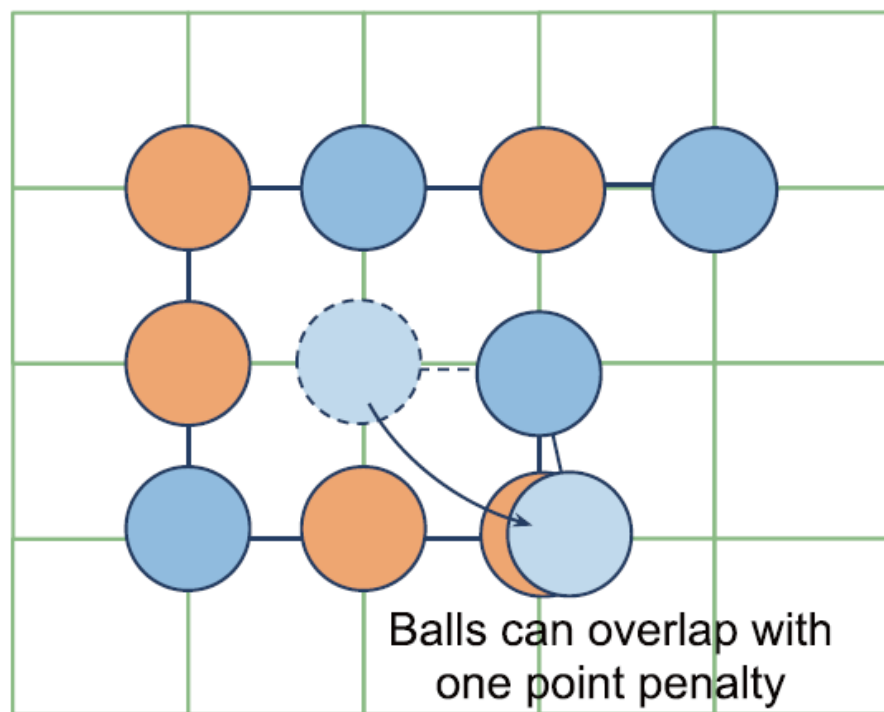
Multi-Self Overlap Ensemble

[6] Y. Iba, G. Chikenji, and M. Kikuchi, *J. Phys. Soc. Jan* **67**, 3327 (1998).

[7] G. Chikenji, M. Kikuchi, and Y. Iba, *Phys. Rev. Lett.* **83**, 1886 (1999).

計算手法 MSOE (Multi-Self Overlap Ensemble)

- 拡張アンサンブル法的一种
- 重なり V 方向にもヒストグラムを平らにする
マルチカノニカル



Multi-Self Overlap Ensemble

比熱・自由エネルギー
ランドスケープを求めた

[6] Y. Iba, G. Chikenji, and M. Kikuchi, *J. Phys. Soc. Jan* **67**, 3327 (1998).

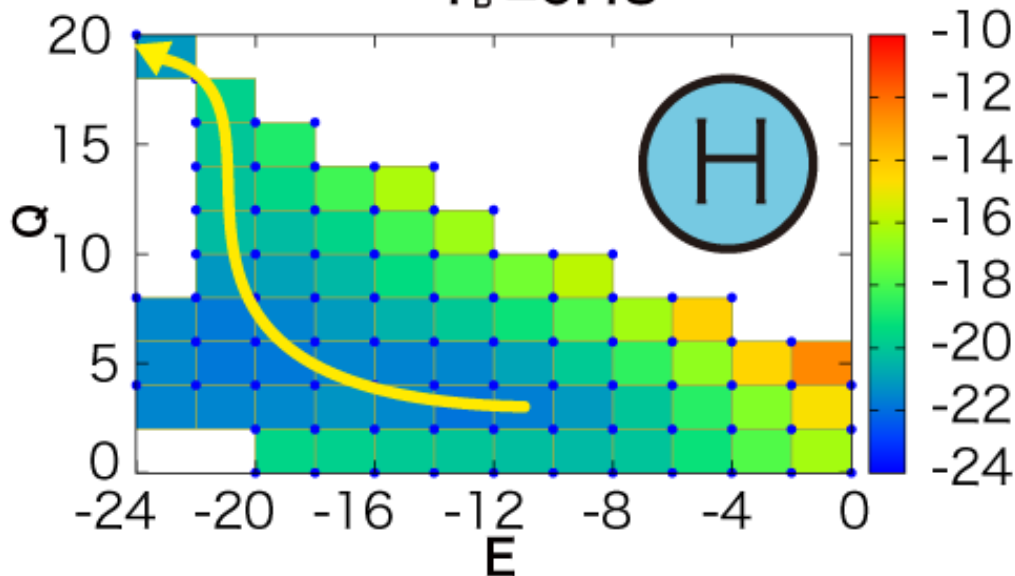
[7] G. Chikenji, M. Kikuchi, and Y. Iba, *Phys. Rev. Lett.* **83**, 1886 (1999).

結果

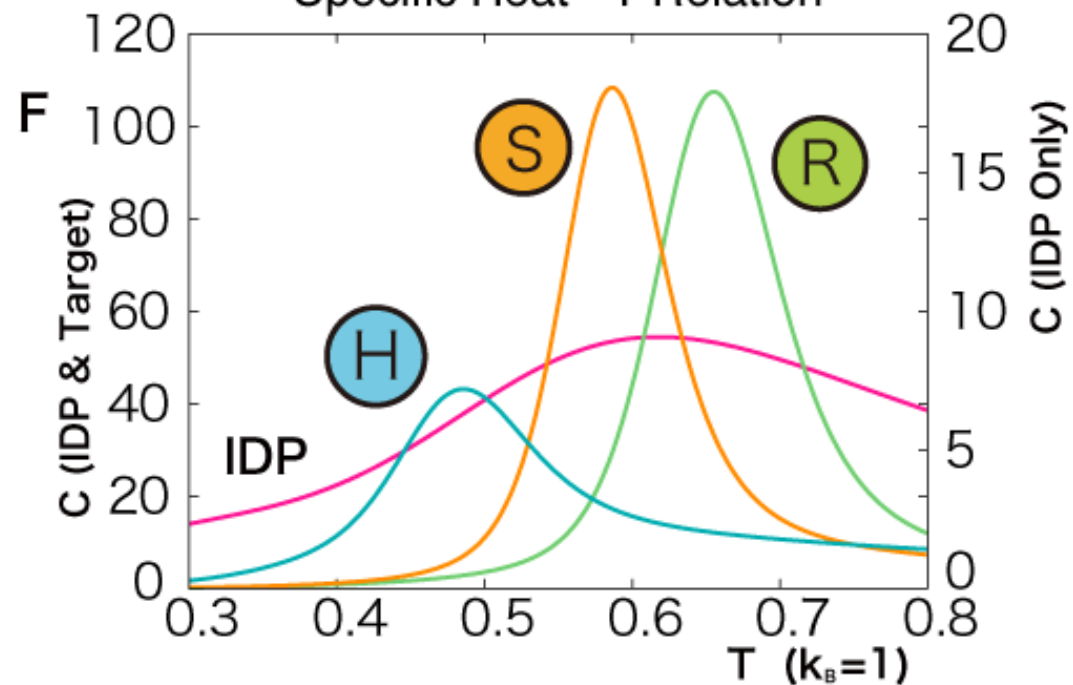
体積 32^3 の系

Free Energy Landscape
(Q = Number of Native Contact)

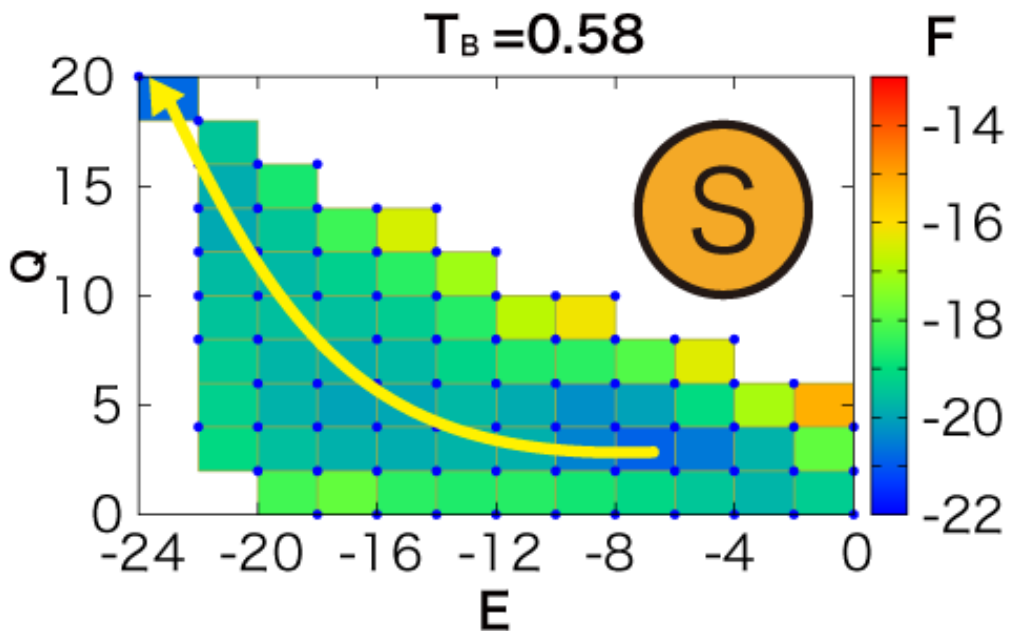
$T_B = 0.48$



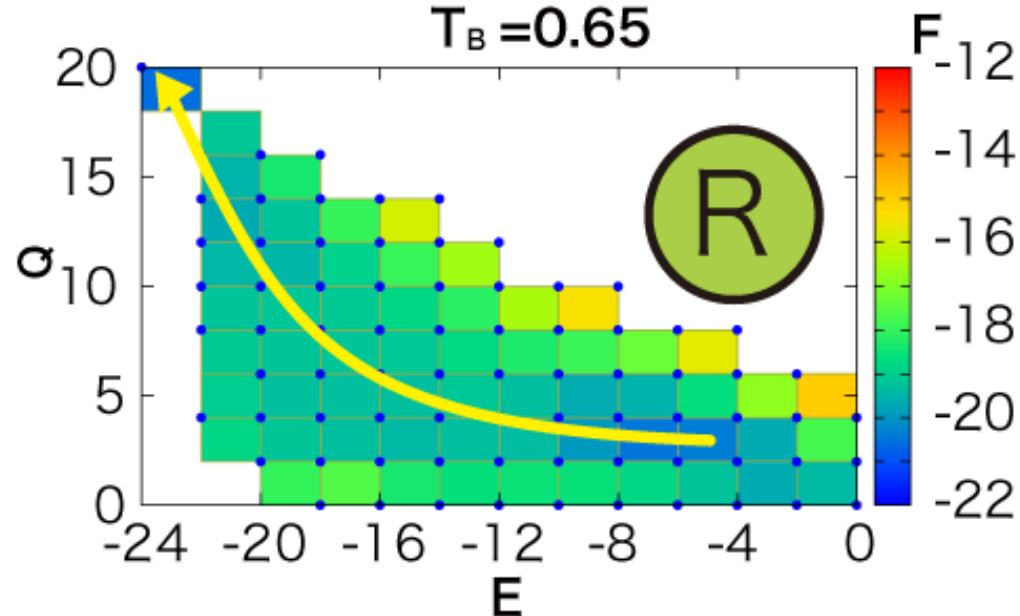
Specific Heat - T Relation



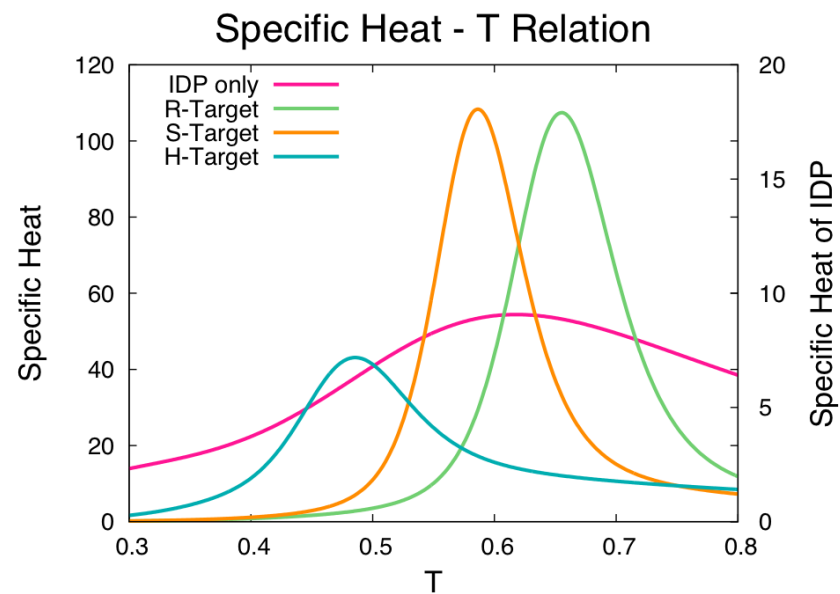
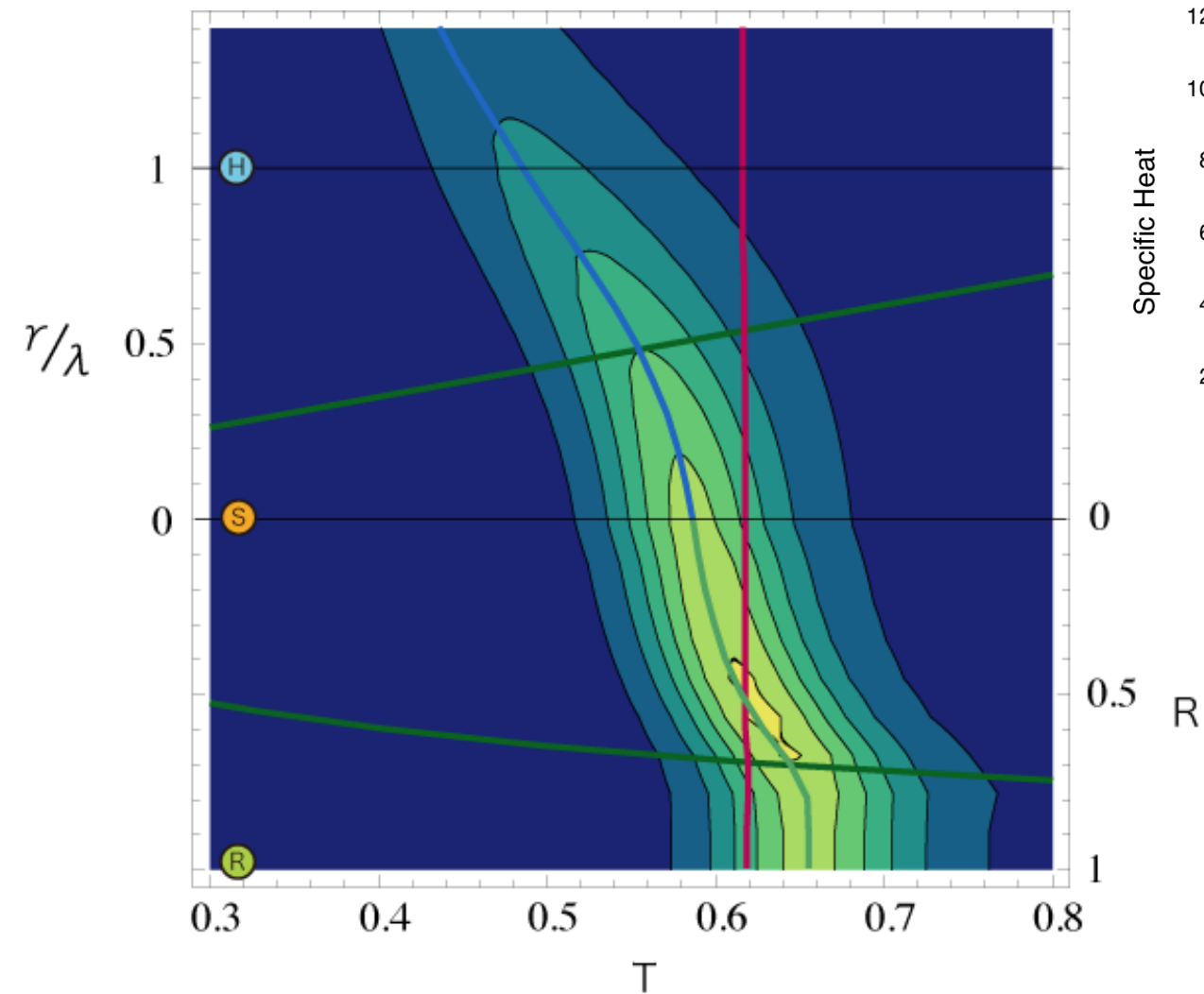
$T_B = 0.58$



$T_B = 0.65$

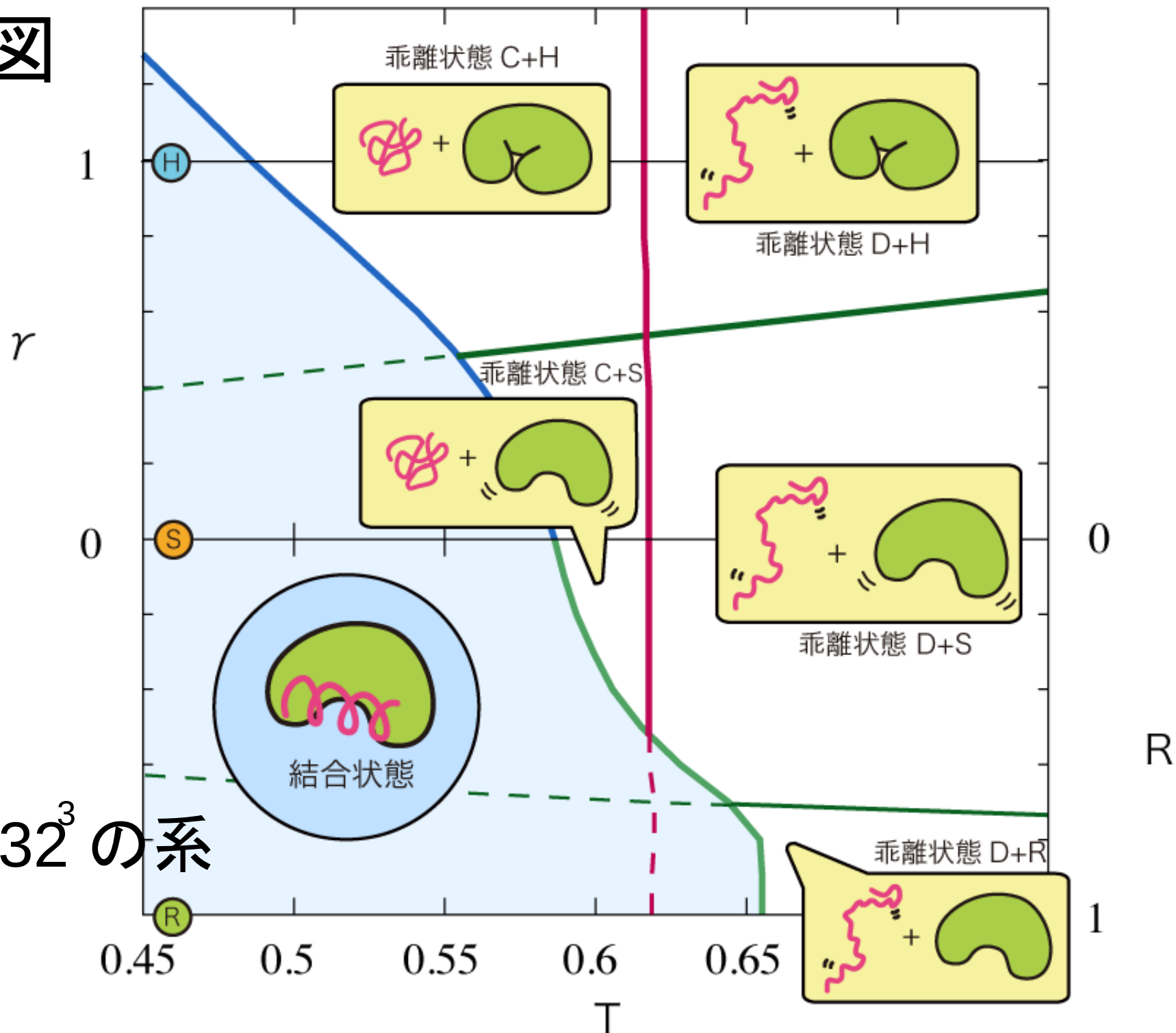


体積 32^3 の系



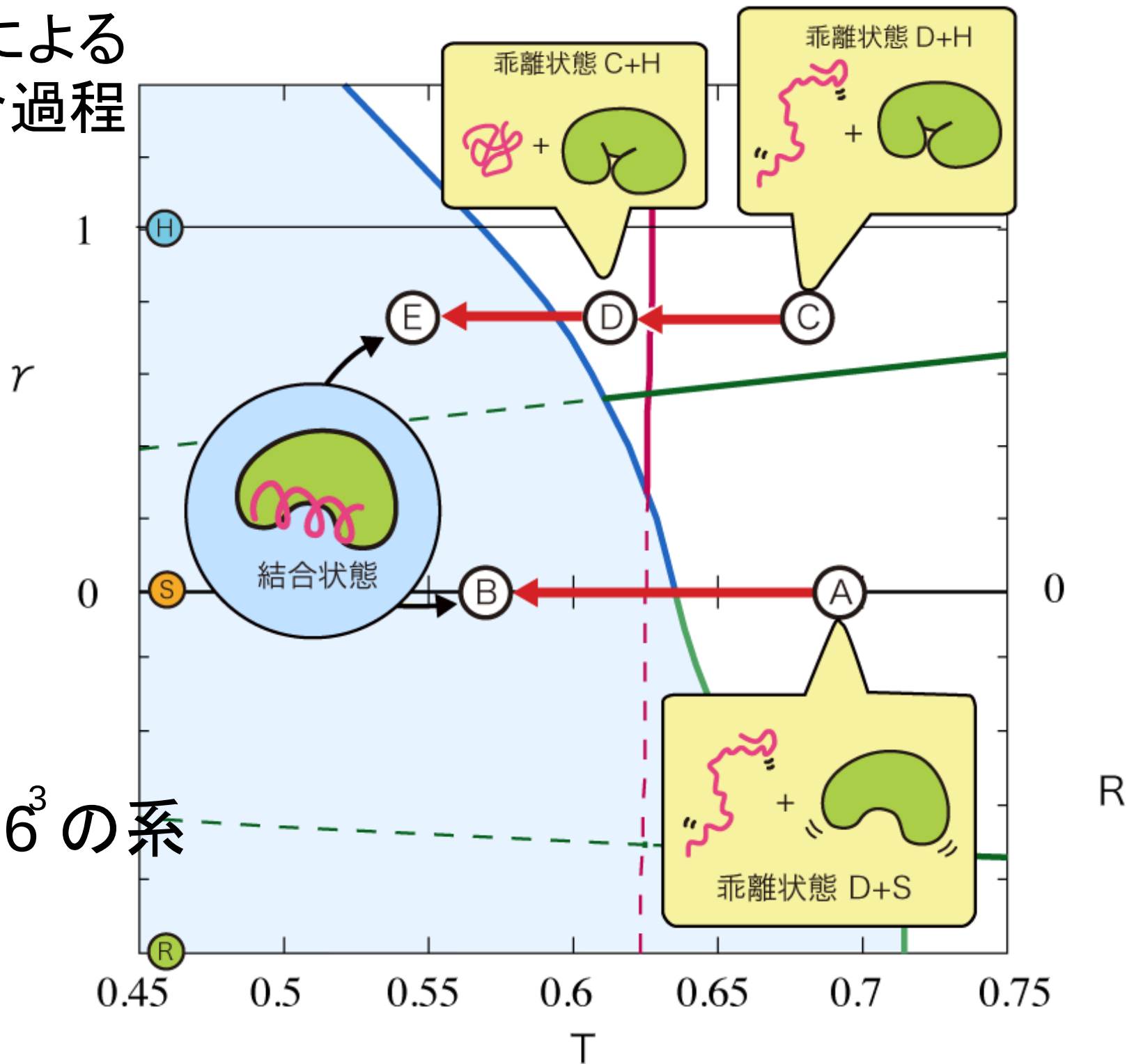
状態図

体積 32^3 の系

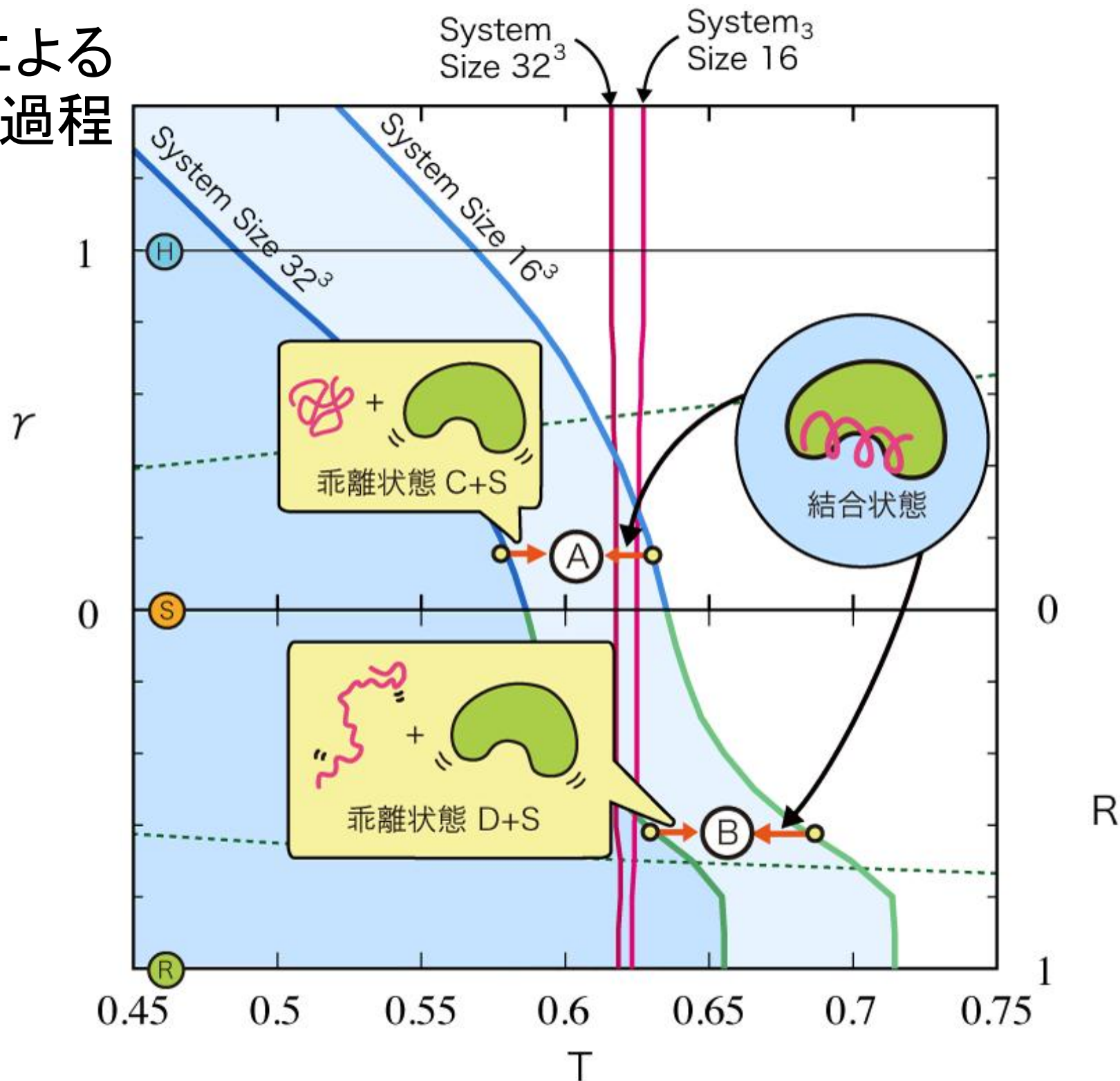


温度変化による 結合過程

体積 16^3 の系



密度変化による 結合過程



まとめ

- IDPの性質を満たしたモデルを構築した
- 結合前後でのエントロピーの変化が重要
 - 柔らかいタンパク質に特有の性質
 - 結合プロセスを変化させる
- ターゲットのゆらいでいる効果を見た
 - 比熱の変化
 - 自由エネルギーランドスケープに違いが現れた
- 系の状態を分類し状態図を描いた
- 複数の結合プロセスを表現できた
 - 温度変化・密度変化