

配列から機能への蛋白質ダイナミカルモデリング

名古屋大学 大学院情報科学研究科 笹井 理生

Dynamical modeling of proteins; from sequence through structure to function
Masaki Sasai, Graduate School of Information Science, Nagoya University

Abstract:

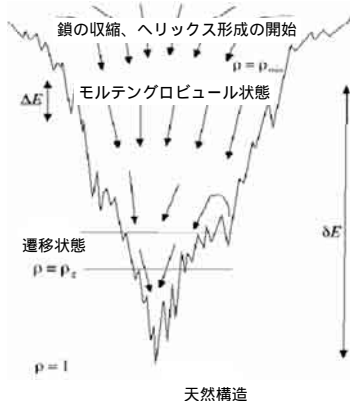
Many important processes in proteins such as folding, protein complex formation, signal transduction or energy transduction take place as large-scale structural changes on ms to s time scales and 10 to 100 nm spatial scales. Development of the method to describe such large-scale movements is essential to understand protein structures and functions. In this project ideas developed in the study of protein folding were exploited to describe these large-scale movements to construct novel computational methods to predict structures and analyze functions. Computational modeling of dynamically moving proteins should give impacts on science and technology of bio-nano machines.

1. はじめに

本研究は、10から100ナノメートルの空間スケール、ミリ秒から秒の時間スケールに及ぶ蛋白質の大規模構造変化ダイナミクスを、エネルギーランドスケープ理論に基づいて記述し、蛋白質の構造予測、機能解析の革新的方法論を得ることを目的とした計算科学技術開発研究である。

フォールディング、複合体形成、シグナル伝達、エネルギー変換など、蛋白質の多くの性質や機能は大規模構造変化として発現することが知られている。特に最近の1分子計測は、この構造変化が強い熱ゆらぎに曝された柔軟な過程であることを明らかにしており、そのダイナミクスを正しく記述することが、構造

予測、機能解析に必須であると考えられる。しかし、通常分子力学計算では10ナノメートルの範囲でナノ秒程度の追跡を行うことが限界であり、こうした大規模構造変化の解析には遠く及ばない。一方、この10数年の間に、大規模構造変化の代表的現象であるフォールディングの研究において進歩が起こり、「新しい描像」と呼ばれるほど急速な展開を見せるに至った。この進歩の核となったのがエネルギーランドスケープ理論である。大規模構造変化に伴うエネルギー変化、すなわち、エネルギーランドスケープを正しく記述するモデルにより、通常分子力学計算では及ばない、豊富で実用的な知識が得られることが明らかにされた。この理論的進歩を発端として新しい様々な実験分野の開拓が促されている。



蛋白質フォールディングのエネルギーランドスケープの模式図。蛋白質は、天然構造に近づけば近づくほどエネルギーが下がる、というファネル型のエネルギー面を持つ。

本研究課題は、このエネルギーランドスケープ理論をフォールディング研究のみならず、構造予測、機能解析に積極的に応用し、蛋白質科学に新しい展望をひらくものである。本研究により、新しい構造予測法の開発、新規蛋白質のデザイン、機能ファネル理論の展開、分子

モータの動作機構解析などに関して具体的な成果が得られた。この成果は生物情報科学の方法論として蛋白質に対する新しい視点を提供し、生物工学、1分子計測など実験、さらにナノ分子技術への指針を与えることができると思われる。

2. 研究開発項目とその成果概要

2.1 ランドスケープ理論に基づくフォールディング模型の開発

蛋白質がフォールドするためには、鎖のとり構造が天然構造に近くなればなるほどエネルギーが下がるという傾向が必要であることが明らかにされており、こうしたバイアスを持つエネルギーランドスケープは、フォールディングの軌跡が収束してゆく「漏斗状の筒」という意味で「フォールディングファネル (Folding Funnel)」と呼ばれている。本研究ではこのフォールディングファネルを分析するため、粗視化ダイナミクスによる新しい動力学計算法が開発された (Chem. Phys. Lett. 投稿中)。この計算法は成果ソフトウェアとして公開準備中である。

一方、多くの蛋白質の機能はフォールディングに匹敵する大規模構造変化を伴って発現する。本研究の主要な成果の一つは、この機能発現ダイナミクスを設計されたエネルギーランドスケープ上の運動と考えることの重要性を指摘したことである。機能を制御するエネルギーランドスケープのことを「機能ファネル (Functional Funnel)」と呼ぶことができるであろう。PYP, HPPK, RASといった具体的な蛋白質の例を通して、シグナル伝達、アロステリック変化におけるダイナミクスを機能ファネル上の運動として系統的に解析する方法を開発した (Chem. Phys. 印刷中、PNAS 投稿中)。

フォールディングファネル上の軌跡は多様ではあるが、天然構造のトポロジーに応じた特徴を持っており、軌跡の統計的分析によって折りたたみの経路や順番を議論することができる。同様に、機能ファネル上の軌跡も鎖のトポロジーに応じた特徴を持ち、これが分子モーターなどで予想されている蛋白質の精妙な動きと対応している可能性がある。蛋白質のデザインされた精妙な動作を機能ファネル上の軌跡の特徴として説明する仮説を提案し、1分子計測を始めとする分子モーターの動作に関する実験結果を無理なく説明するモデルを構築した (PNAS, 99, 9202 (2002))。

さらに、通常分子動力学の範囲を何桁も超える時間範囲を追跡するための長時間分子動力学計算法を開発し、構造生物学的な解析を進めている (国内学会発表)。分子モーターの動作機構は、論争が続く長年の懸案課題であるが、機能ファネル理論と長時間分子動力学計算法はその解決に向けて大きな貢献をすると期待される。長時間分子動力学計算による蛋白質-蛋白質相互作用ダイナミクスの解析手法は成果ソフトウェアとして公開準備中である。

2.2 生体高分子の機能と非定常ダイナミクスの関係性の解明

蛋白質ダイナミクスを調べるために、分子の電子状態計算と分子動力学をカップルさせた新しい計算方法が開発された (J. Chem. Phys. 119, 7972 (2003))。さらに、エクトインが加えられたときの蛋白質周辺の

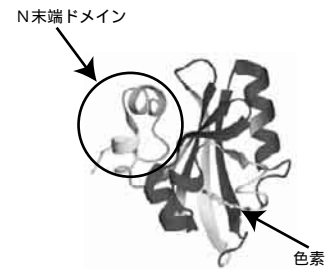


図1 光シグナル伝達を担う蛋白質PYPの構造。色素が光励起されると色素から遠く離れたN末端ドメインがアンフォールドし、ミリ秒以上かかってリフォールドする。



図2 長時間分子動力学法を用いたシミュレーションによる、アクトミオシン系のスナップショット。

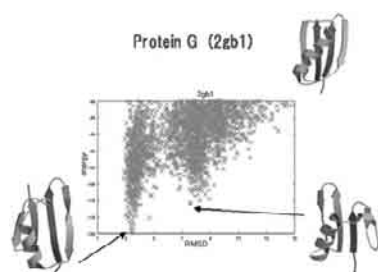


図3 ProteinGの構造予測の例。生成された構造と標的構造の接近度（RMSD、横軸）とエネルギー（縦軸）の間に相関があるため、エネルギーを構造選択の指標に用いることができる。

ル状の特徴を持つように設計されていなければならない。この方針に従って予測モデルのエネルギー関数を改良することにより、高い予測効率を示す方法が開発された（J. Chem. Phys. 116, 9058 (2002)）。また、ランドスケープがファネル状になるためには、標的構造は、その局所構造と全体構造の間に矛盾がないコンシステントな構造でなくてはならない。このコンシステンシー原理に着目し、既知の局所構造を収集・統合して未知の全体構造をコンシステントに得る予測アルゴリズムを開発した。この方法によって、数10アミノ酸残基



図5 Structure誌の表紙に掲載された人工蛋白質デザインに関する本研究の報告。エネルギーランドスケープの方法が蛋白質デザインに使われたことを示す。

水分子ダイナミクスを分子動力学計算によって分析し、エクトインは静的な水和構造を変えないが、水分子の動きを遅くし、アミノ酸残基の揺らぎを抑える効果をもたらすことを明らかにした（Chem. Phys. Lett. 388, 316 (2004)）。

2.3 構造ゲノムデータに基づく蛋白質立体構造の第一原理的予測法の開発

蛋白質の立体構造予測は分子生物学の長年の夢であるが、エネルギーランドスケープ理論の応用によってその実現に近づく成果を得ることができた。構造予測を行うためには、予測モデルのエネルギーランドスケープがファネル



図4 構造予測のためのROKKYシステムのトップページ

状のエネルギーランドスケープ理論に基づく構造予測法を組み合わせ、インターネットを通過しての配列入力に対し、自動的に予測構造を返答する「ROKKYシステム」を開発した。ROKKYシステムを用いて構造予測コンテストCASP6に参加している。

構造予測は、与えられた配列から未知の構造を予測する研究であるが、その逆も重要である。つまり、構造予測アルゴリズムを逆に使って、想定された構造から適切な配列を予測する配列デザインも大きな実用的価値を持つと考えられる。本研究では「標的構造がファネル状のエネルギーランドスケープを持つように配列を選ぶ」という方法を用いて、天然にない全く新しい配列をデザインした。こうしてデザインされた配列を持つペプチド鎖が、実際にフォールド可能な人工蛋白質であることが実験研究者によって実証される、という著しい成果を得ることができた（Structure, 11, 581 (2003)）。

2.4 蛋白質長時間ゆらぎの分子動力学計算法の開発

蛋白質フォールディングシミュレーションにより、フォールディング速度過程の分析を行って、従来考えられていなかった短縮指数型の速度過程が実験で検出される可能性を示した（Proteins, 55, 99 (2004)、Chem. Phys. 印刷中）。また、天然構造のまわりの長時間ゆらぎを計算する粗視化された分子動力学計算

法を開発し、ゆらぎのモード解析によってゆらぎと機能の関係を解析した (J. Nat. Comp. 印刷中)。この粗視化された分子動力学計算法は成果ソフトウェアとして公開するための準備をしている。



図6 粗視化された分子動力学計算法によって計算されたアクチンの低エネルギー振動モードの振幅を球の大きさで表示

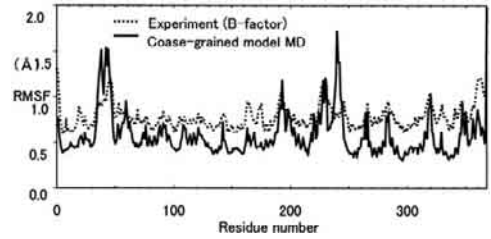


図7 粗視化された分子動力学計算法によって計算されたゆらぎの振幅 (実線) と実験データ (点線)

3. ネットワークの活用について

名古屋、東京、神戸の3ヶ所でデータ交換、遠隔サーバーによるグラフィクスの表示を行い、共同研究が推進された。また、神戸のグループは構造予測システムROKKYを開発し、ネットワークを通して構造予測コンテストCASP6への参加を行っている。将来、さらに広い範囲からこのシステムを利用できるよう準備している。

4. まとめ

多くの生物種のゲノム配列が解読された現在、配列から構造および機能が効果的に予測できれば、その社会・経済上のインパクトは測りしれない。しかし、配列-構造-機能の関係は1対1対応ではなく、これを統計的に対応づけるだけでは効果的な予測は不可能である。配列は蛋白質の構造を指定するのみならず、構造形成過程、構造変化過程をも指定していることを考えれば、構造形成、機能発現のダイナミクスを理解することが、構造予測、機能解析のために最も有利なアプローチであると考えられる。本研究では、エネルギーランドスケープ理論を基盤として大規模構造変化過程の計算法を開発し、構造予測、機能解析の新局面を切り開いた。特に強調されるのは以下の5つの成果である。

(1) 構造予測理論の開発:

構造予測アルゴリズムの開発にエネルギーランドスケープ理論を適用する試みを行った。本研究では数10残基の大きさの蛋白質の予測で一定の成功を示しており、この分野で国際的なリーダーシップをとっている。フォールディング過程計算法の成果ソフトウェアを公開準備中。統合構造予測システムROKKYをweb上で提供するための準備中。J. Chem. Phys. 116, 9058 (2002)、J. Chem. Phys., 119, 6895 (2003)。

(2) 新規蛋白質のデザインとその実証:

自然に存在しない人工蛋白質を合成する試みは、蛋白質がどのように進化したかを問う基礎研究にとっても、高効率の触媒や医薬品の開発にも、重要な課題である。本研究ではエネルギーランドスケープ理論によるデザインを実行し、そのデザインが実験的に実証される、という成果を得た。J. Biol. Phys. 28, 483 (2002)、Structure, 11, 581 (2003)。

(3) 機能解析理論の開発1: 機能発現と局所的なアンフォールディング/フォールディング:

機能発現において、部分的なフォールディング・アンフォールディングを含むような大規模構造変化が本質的であることを示す研究は、今まさに本事業によって始められたばかりであり、我々の提言に対してすでに強い国際的反響がある。我々は機能ファネル理論により、シグナル伝達、アロステリック変形の具体例を解析し、機能発現を解析する指標を示したが、さらにこの成果は機能ファネル理論に基づく、新しいデザインと制御の方法論の開発へとつながると予想される。Chem. Phys.印刷中、

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 投稿中

(4) 機能解析理論の開発2：分子モーターの動作機構解明：

分子モーターの機構については長年の論争がある。この強くゆらぐ分子機械の運動を説明する物理学的にも構造生物学的にも満足すべき理論は、未だ登場していない。我々は本研究において、機能ファネル理論が物理的に合理的な説明を与えることを示したが、さらに構造生物学的に妥当な説明を行うために、長時間分子動力学計算法を開発している。この問題の解決は、常温で動作する超高効率ナノマシンの原理の解明として、応用上の期待が大きい。長時間分子動力学計算法は成果ソフトとして公開準備中。Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99, 9202 (2002).

(5) フォールディング機構の解明

エネルギーランドスケープ理論に基づく計算法開発の土台として、蛋白質フォールディングが分析されフォールディングモデルを構築した。Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100, 11367 (2003)、Proteins, 55, 99 (2004)

5. 研究開発実施体制

代表研究者 名古屋大学 大学院情報科学研究科 笹井 理生

研究分担

研究開発題目：ランドスケープ理論に基づくフォールディングモデルの開発

名古屋大学 大学院情報科学研究科 笹井研究室

笹井 理生、寺田 智樹(H13-H14)、磯部 雅晴(H14)、伊藤 一仁(H15-H16)、

西村 信一郎(H15-H16)

研究開発題目：生体高分子の機能と非定常ダイナミクスの関係性の解明

名古屋大学 大学院情報科学研究科 長岡研究室

長岡 正隆、平田吉博(H14)、優 乙石(H15-H16)

研究開発題目：構造ゲノムデータに基づく蛋白質立体構造の第一原理的予測法の開発

神戸大学 理学部

高田 彰二、淵上壮太郎(H14-H15)、金 文珍(H16)

研究開発題目：蛋白質長時間ゆらぎの分子動力学計算法の開発

早稲田大学 理工学部

高野 光則、中村 寛則(H14-H16)