

# 「不安定な」蛋白質の高精度立体構造モデル構築法

首都大学東京大学院理工学研究科 伊藤 隆

## 【序】

理研GSCをはじめとする大規模な構造ゲノム科学プロジェクトによって、蛋白質の立体構造は網羅的に解析され、データベース化される時代になった。また、このようなデータベースの拡充に伴って、分子動力学計算やホモロジーモデリングなどの計算科学の手法の有用性が広く認識されるようになってきている。事実、たとえ新しく発見された蛋白質であっても、今やインターネット上で類似蛋白質が同定され、ドメイン構造が推定され、ホモロジーモデリングまで行なわれて、数分後に研究者の手元に届くといった例も少なくない。

しかし、現在のデータベースを注意深く見てみると、次のような傾向があることがわかる。すなわち、X線結晶解析やNMR等による立体構造解析に適した、安定な高次構造を持つ蛋白質のグループ(例:図1の新規蛋白質Aの場合)は、データベースが充実しており、高い精度でホモロジーモデリングが可能になっている。これに対し、実験条件で不安定であったり、溶解度が低かったりして、立体構造解析に適さない蛋白質のグループ(例:図1の新規蛋白質Bの場合)は、データベースが貧弱なままになっている。残念ながら、立体構造解析に適さない「不安定な」蛋白質が生物学的に非常に重要である例も多い。

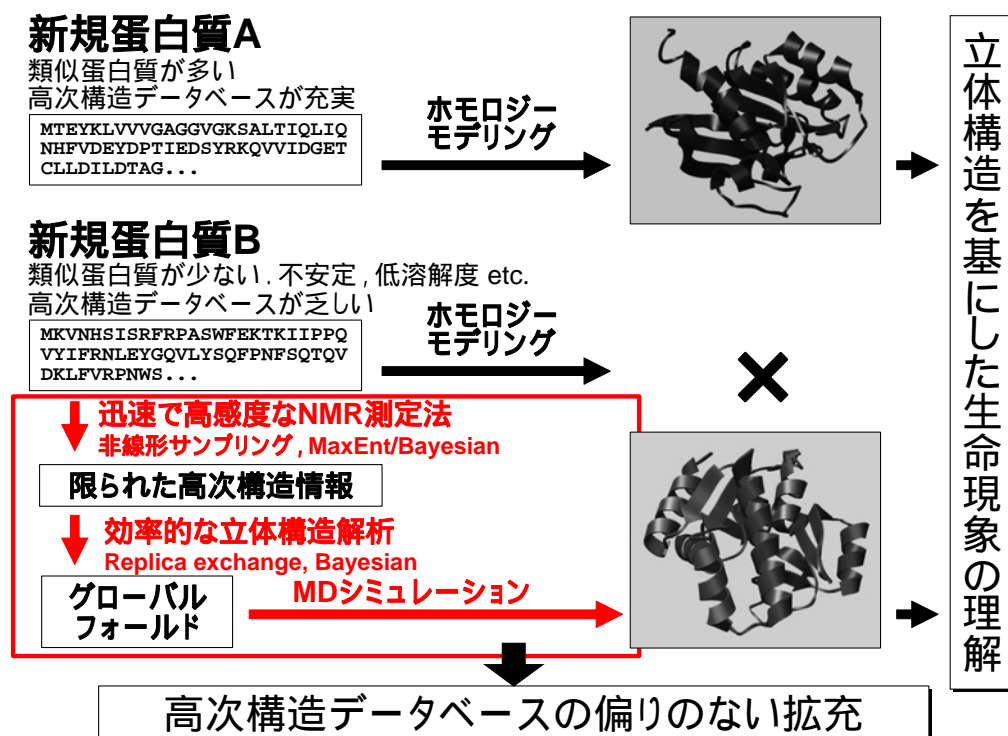


図1. 「不安定な」蛋白質の高精度立体構造モデル構築法

私たちは、このような「不安定な」蛋白質について高精度の高次構造モデルを構築するために、迅速で高感度なNMR測定法、限られた構造情報からの効率的な立体構造解析法、分子動力学シミュレーションを用いた立体構造の精密化という3つの要素技術の開発

を進めている。今回は、これらの要素技術の開発についての国内外の動向を紹介するとともに、私たちの取り組みと今後の展望について報告したい。

### 【迅速で高感度なNMR測定法】

NMRは本質的に感度の低い分光法であり、十分な感度と分解能を持つ多次元NMRスペクトルの測定には数時間～数日の積算が必要である。「不安定な」蛋白質に対して従来法と同様の解析を行うためには、従来法に比べて一桁短い時間での測定が要求される。ここ数年迅速で高感度なNMR測定法の開発が盛んに行われるようになったが、その中でも非線形サンプリングを用いる方法と、projection reconstruction法などが有力である。

従来のフーリエ変換を用いた処理法では、サンプリング定理に基づいて等間隔にサンプリングされたデータが必要であったが、最大エントロピー法などを用いることによって、非線形にサンプリングされたデータであってもスペクトルの再構成が可能になる。サンプリング法を最適化することによって、従来法の10%以下の測定時間で同程度の感度・分解能のスペクトルを得ることが可能になると考えられる。projection reconstruction法はX線トモグラフィの方法をNMRスペクトルに応用したものである。

### 【限られた構造情報からの効率的な立体構造解析法】

限られた構造情報からの効率的な立体構造解析法としては、最近inferential structure determination (ISD)法が注目されている。これはreplica exchange法などを使って広い構造空間を探索することにより、少ない構造情報から確からしい立体構造を導く方法である。また、フラグメントアセンブリ法に基づく*ab initio*蛋白質立体構造予測法を用いることによって、少ない構造情報から立体構造を決定する方法や、少ない構造情報をthreading法におけるfold認識と配列アラインメント精度向上に利用する方法も提案されている。

### 【分子動力学シミュレーションを用いた立体構造の精密化】

計算科学を用いた蛋白質の立体構造の精密化では、立体構造空間を広く探索することで精度を上げることのできる拡張アンサンブル法(replica exchange法, multicanonical法など)を組み合わせた分子動力学法が有望視されている。特に、NMRデータを用いた高次構造計算では計算量を減らすために溶媒効果を見逃していることから、蛋白質の周囲に水分子を配置することで溶媒効果を高い精度で計算できることが予想される。

### 【今後の展望】

「不安定な」蛋白質について、実験データに基づく十分な精度の構造モデルが得られるようになれば、蛋白質高次構造データベースの偏りのない拡充が達成されるようになり、従来よりも幅広い蛋白質試料に対して、より確度の高い情報生物学的解析が可能になる。このことは基礎生物学のみならず医療や創薬科学に対して極めて重要な波及効果を与えることになるはずである。

また、この構造解析システムを継続して改良していくことによって、さらに困難な系に適用できるものにしていきたい。さらに困難な系の例としては、「不安定な」蛋白質複合体の高次構造モデルの構築や、生細胞中の蛋白質の高次構造モデルの構築などが考えられる。特に、後者は、X線結晶解析やクライオ電顕では実現不可能であるため、今回紹介するアプローチを用いてのみ達成可能と考えられる。