

4Pp137 タンパク質の折れ畳み能力と機能の共進化： 亜鉛結合タンパク質のシミュレーション

(ACT-JST¹, 神戸大院自然², 神戸大理³)

○ 瀧上 壮太郎¹, 藤埴 佳見², 千見寺 浄慈³, 高田 彰二^{1, 2, 3}

【序】タンパク質は 20 種類のアミノ酸が繋がってできた直鎖状高分子であり、アミノ酸の並べ方の数だけ異なるものが存在し得る。例えば、30 個のアミノ酸からなるタンパク質の場合、その種類は $20^{30} \approx 10^{39}$ 個という膨大な数になる。しかし、これら全てのアミノ酸配列が生体中で何らかの生理的機能を果たせるタンパク質であるとは限らない。むしろ、そのようなものはごく少数である。なぜなら、タンパク質が高い機能を発揮するためには、配列によって決まる特定の立体構造へと一意的に折れ畳むことが必要であり、そのためにはアミノ酸配列が適切にデザインされていなくてはならないと考えられているからである。

では、生物が生きていく上で必要不可欠な機能を提供しているタンパク質は、莫大な種類のアミノ酸配列の中からどのようにして選び出されてきたのだろうか？長年に渡る分子進化の末に現在あるようなタンパク質が選択されてきたわけだが、その過程においていかなる進化戦略が存在したかは明らかでない。ランダム配列を突然変異によって変化させていき、タンパク質らしい配列を選び出すためにはどのような選択ルールを採用すればよいのだろうか？「そのルールは1つだけでよいのか、複数必要なのか？」「複数ならばどのように組み合わせればよいのか？」「ルールはタンパク質の機能によらずすべて同じなのか、それとも大きく異なるのか？」等々疑問は絶えない。

本研究の目的は、タンパク質の進化過程において折れ畳み能力の獲得と機能の発現がどのように関連し合っているかを調べ、タンパク質の採ったであろう、または採り得るであろう進化戦略を探ることである。本研究では、多くの生体内反応において重要な役割を果たしているタンパク質の亜鉛結合能に着目し、分子進化シミュレーションによって新たな知見を得ることを試みる。

【方法】図1に分子進化シミュレーションの流れを示す。まず、用意した初期配列の突然変異体を作成する。続いて、初期配列、および、突然変異体の構造アンサンブルを求め、配列の亜鉛結合能を評価する。評価が最大となる配列を選んで初期配列とし、同様の操作を繰り返す。本研究では、アミノ酸の数を 29 とし、アミノ酸組成を亜鉛結合タンパク質の1つである Zn フィンガー・モチーフ(1sp1)のものに固定した。これにより、突然変異は2つのアミノ酸を入れ換えることによって実現される。

立体構造予測法 与えられたアミノ酸配列の立体構造を予測するには、構造の良否を判定するためのエネルギー関数が必要である。本研究では、藤埴らによって開発されたエネルギー関数 (**SimFold**) [1] を用いた。また、構造空間の探索にはリバーシブル・フラグメント・アセンブリ法 [2] を用い、アニーリングによって立体構造アンサンブルを作成した。得られた構造アンサンブルに対して、 C_α RMSD を距離とし、閾値を 3 Å とした最短距離法によってクラスター分析を行い、最大クラスターが占める割合をタンパク質の折れ

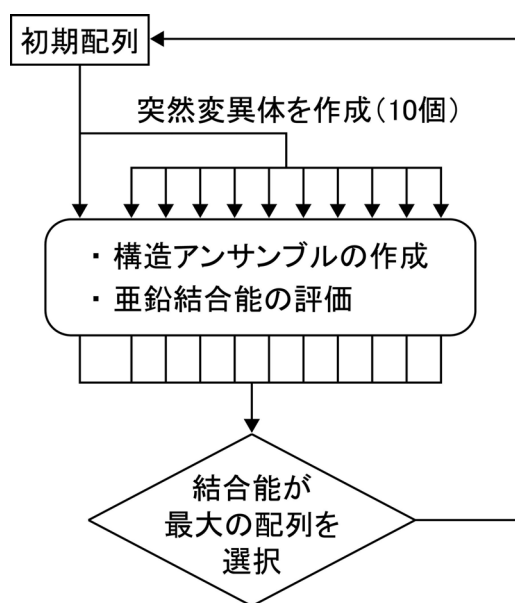


図1: 進化シミュレーションの流れ図。

畳み能力の指標とした。また最大クラスターのクラスター中心が予測構造となる。図2b に Zn フィンガー・モチーフ(1sp1)の予測構造を示す。実験で決定された構造(図2a)のトポロジーを再現していることがわかる。

亜鉛結合能の評価関数 立体構造が既知である亜鉛結合タンパク質の構造を解析した結果、亜鉛と結合するアミノ酸は Asp・Glu・Cys・His の4種類が主であることがわかった。これらのアミノ酸と亜鉛との距離の分布をもとに亜鉛結合能を評価する関数を作成した。この評価関数はタンパク質の立体構造に対して評価値を返す。したがって、アミノ酸配列の亜鉛結合能は構造アンサンブルによる単純平均で見積もることにした。

【結果】 ランダム配列から進化シミュレーションを開始すると、亜鉛結合能の向上が容易に実現される。野生型(1sp1)から出発した場合でも同様に機能の向上が見られる。ところが、進化過程におけるタンパク質の折れ畳み能力の変化は2つのシミュレーションで異なる挙動を示した(図3参照)。ランダム配列からはじめた場合、タンパク質の折れ畳み易さは系統的な変化を示していないのに対し、野生型からはじめた場合では折れ畳み能力が有意に向上していることが見て取れる。したがって、ある程度の折れ畳み能力を獲得した配列を機能が向上するように進化させると、同時に折れ畳み能力も増強されることが示唆される。当日は、折れ畳み能力の増強と機能向上の依存関係が進化の段階に応じてどのように変化するのかについても報告する。

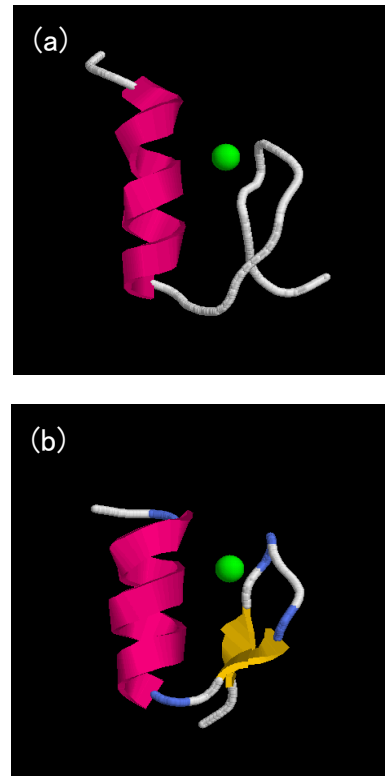


図2: Zn フィンガー・モチーフの (a)天然構造と(b)予測構造。緑色の球は亜鉛。

【参考文献】 [1] Y. Fujitsuka et al., *Proteins*, in press. [2] G. Chikenji et al., *J. Chem. Phys.*, in press.

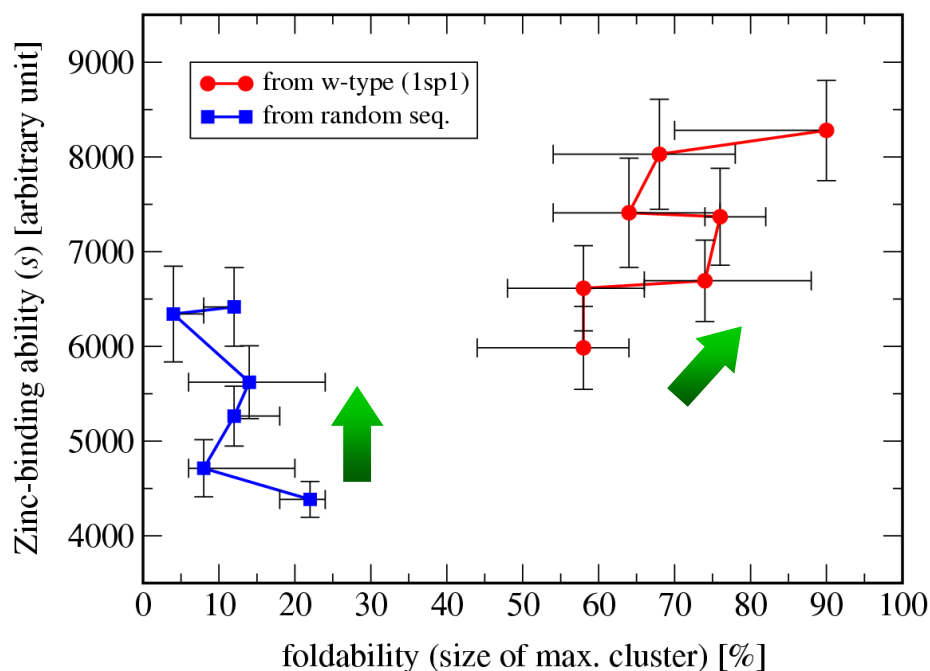


図3: 亜鉛結合能の向上と折れ畳み能力の変化。