

氏 名 木 下 賢 吾
 学位(専攻分野) 博 士 (理 学)
 学 位 記 番 号 理 博 第 2064 号
 学位授与の日付 平 成 11 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
 研 究 科 ・ 専 攻 理 学 研 究 科 化 学 専 攻
 学 位 論 文 題 目 Comparative Studies on the Relationship between Protein Three Dimensional Structure and Function

(タンパク質立体構造の比較分類による構造－機能相関の解析)

(主査)

論文調査委員 教授 郷 信 広 教授 三 木 邦 夫 助教授 木 寺 詔 紀

論 文 内 容 の 要 旨

近年X線結晶解析やNMRの技術的な進歩により数多くのタンパク質の立体構造が明らかにされるに従って、機能および配列ではまったく類似性が見られないにも関わらず、似た立体構造構造を持っているタンパク質ペアが数多く存在することがわかってきた。このことは、立体構造の類似性は、配列の類似性とは違い、すぐさま進化的類縁関係や機能の類似性を意味するわけではないことを示している。これに対して申請者は、構造がすでに分かっているタンパク質において、2つのまったく異なるレベル（2次構造要素の空間配置、全原子種を考慮した原子の空間配置）での比較法を開発し、それぞれのレベルで、構造の類似性と機能の相関の系統的な解析を行った。

二次構造の空間配置の比較では、水口と郷の方法を改良し、類似度の統計的有意性を定量化する方法は新たに開発した。これらの方法を用いて、配列で類似性が見られないタンパク質（967個）の間で総当たりの比較を行い、有意に似た構造を持つタンパク質ペアをすべてリストアップし、その中から進化的な類縁関係がないと考えられているペアの構造上の特徴を調べた。その結果、このようなタンパク質の類似部分構造は、ごく少数の例外を除いて、点対称性をもつことを発見した。この原因としては、対称性をもった構造が進化の過程で独立に生み出された場合と、対称性を持った構造では進化的類縁関係が分からないほどおおきな配列の変化が許容されている場合が考えられる。しかし、このどちらの場合でも、「対称性を持つ構造は、対称性を持たない構造に比較して、安定性あるいは折れ畳みやすさの点で優位性を持つ」ことを強く示唆している。この知見は逆に考えると、あるタンパク質立体構造に類似した構造をもち、かつその類似構造部分が対称性を持たないタンパク質が見出されたときには、そのタンパク質ペアは進化的類縁関係を持つことを示唆している、と考えることができる。この考えに基づき、対称性をもたず進化的類縁関係も考えられない例外的な場合のタンパク質ペアに対して、構造での対応づけを手がかりにしてもう一度検討を行うと、非常に弱いながらも配列の類似性が見られるものがいくつも存在することが見出された。

以上のように申請者は、2次構造要素の空間配置の比較により構造類似性が進化的類縁関係を意味するかどうかに対しての一つの指針となる構造上の特徴を見出した。しかし、タンパク質の機能を考えるには進化的類縁関係だけではまだ十分ではない。同じスーパーファミリーに属するタンパク質でも異なる基質と相互作用することもあり、詳細に見ると異なる機能であると考えうる場合もある。そこで、申請者は、機能と構造の関係をより詳細なレベルで検討するために、すべての原子種を考慮した原子の空間配置の比較法を開発し、モノヌクレオチド結合タンパク質のリン酸部位周辺の構造の総当たりの比較と分類を行った。

この比較には、クリーク検索アルゴリズムを応用した新たな比較方法を確立し、PDBに登録されているすべてのモノヌクレオチドタンパク質複合体（491結合部位）の分類を行った。

この比較の結果、4種類の構造モチーフ（異なるスーパーファミリーで共有されている構造要素）を見出した。そのうち

もっとも多くのスーパーファミリーで共有している構造モチーフは、Glyから始まる4残基の主鎖原子からなり、数多くのよく知られた配列モチーフ（P-loopなど）の一部として現われながら、13もの異なるスーパーファミリーで共有されているものであった。他の3つの構造モチーフは、それぞれ異なる2つのスーパーファミリー、protein kinaseとglutathione synthetase ATPase domain like, actin-like ATPase domainとnucleotidyltransferase, およびFMN-linked oxidoreductaseとPRTaseスーパーファミリーの間に見出されたものであった。

この分類の結果、4種類の構造モチーフが存在するが全体としてみれば、多くのタンパク質は各スーパーファミリー毎にそれぞれ固有の構造をもつというバラエティに富んだものであることがわかった。しかし、そこに出現する原子の組成という観点でみると、結合部位とそれ以外の部分で、5種類の原子で明らかな出現頻度の差が観測でき、原子種の組成という面では共通の特徴を持っていることが見出された。しかも、この5種類の原子の空間配置を各スーパーファミリー内で見られる位置のバリエーションを考慮して配置することにより、結合部位の鋳型を構築する方法を提案し、実際にデータベースの中から関係するタンパク質の結合部位のみを正しく検出できることも確かめられた。

論文審査の結果の要旨

申請論文は、近年X線結晶解析やNMRの技術的な進歩により明らかにされてきた数多くのタンパク質の立体構造データベースの系統的な解析による、タンパク質の立体構造と機能の関係に関する研究成果である。主論文は3つに分かれている。第一部はリン酸結合部位の原子の空間配置の分類結果について、第二部は2次構造要素の空間配置の類似性における対称性の重要性に関して、第三部は原子の空間配置の比較法の開発および結合部位の構造鋳型の構築法の開発に関する研究である。

多くのタンパク質において原子レベルでの立体構造が明らかにされるに従って、機能および配列ではまったく類似性が見られないにも関わらず、似た立体構造を持っているタンパク質ペアが数多く存在することがわかってきた。このことは、タンパク質の立体構造と機能の関係が複雑な相関を持っていることを示している。これに対して従来は、各タンパク質ごとに各論として、立体構造と機能の関係が議論されていただけであった。これに対して申請者は、2つのまったく異なるレベル（2次構造要素の空間配置、全原子種を考慮した原子の空間配置）での比較法を開発し、構造がすでに分かっているすべてのタンパク質を対象として、構造と機能の相関の系統的な解析を行い、一般論としての立体構造と機能に関する研究を行った点は十分に評価に値すると思われる。

申請者は、二次構造の空間配置の比較には、従来の方法を改良した方法を用い、類似度の統計的有意性を定量化する方法を確立している。これらの方法を用いて、配列で類似性が見られないタンパク質（967個）の間で総当たりの比較を行い、有意に似た構造を持つタンパク質ペアをすべてリストアップし、その中から進化的な類縁関係がないと考えられているペアの構造上の特徴を調べている。その結果、このようなタンパク質の類似部分構造は、ごく少数の例外を除いて、点対称性をもつことを発見している。この原因として、対称性をもった構造が進化の過程で独立に生み出された場合と、対称性を持った構造では進化的類縁関係が分からないほどおおきな配列の変化が許容されている場合が考えられるが、申請者は、このどちらの場合でも、「対称性を持つ構造は、対称性を持たない構造に比較して、安定性あるいは折れ畳みやすさの点で優位性を持つ」ことを強く示唆していると考察している。申請者はさらに、この知見は、あるタンパク質と類似した構造をもち、その類似構造部分が対称性を持たないときには、そのタンパク質ペアは進化的類縁関係を持つことが示唆される、と考察を進めている。しかも、このような考察に基づき、対称性をもたず進化的類縁関係も考えられないといわれている例外的なタンパク質ペアに対して、構造での対応づけを手がかりにしてもう一度検討を行うと、非常に弱いながらも配列の類似性が見られるものがいくつも存在することを発見している。このことは、あるタンパク質に対して、類似立体構造をもつタンパク質が見出されたとき、進化的類縁関係を意味するかどうかに対しての指針となる構造上の特徴を見出したことを意味しており、タンパク質の立体構造とその機能の関係に関する一般的特徴の発見として大きく評価できる発見である。

また、より詳細な構造が機能とどうか関わっているかを明らかにするために、活性部位周辺の原子の空間配置の比較分類も行っている。この比較および結果の解析には、クリーク検索アルゴリズムを用いた新しい方法を考案しているが、この方法は非常に一般性を持った方法であり今後さまざまな系での応用が可能な高く評価できる方法である。今回申請者は、この方法を用いて、モノヌクレオチドタンパク質複合体（339エントリー、419結合部位）のリン酸結合部位周辺の原子の空間配

置の分類を行っている。

この比較の結果、4種類の構造モチーフ（異なるスーパーファミリーで共有されている構造要素）を新たに発見している。そのうちもっとも多く、スーパーファミリーで共有されている構造モチーフは、Glyから始まる4残基の主鎖原子からなり、数多くのよく知られた配列モチーフ（P-loopなど）の一部として現われながら、13もの異なるスーパーファミリーで共有されているものであった。他の3つの構造モチーフは、それぞれ異なる2つのスーパーファミリー、protein kinaseとglutathione synthetase ATPase domain like, actin-like ATPase domainとnucleotidyltransferase, およびFMN-linked oxidoreductaseとPRTaseスーパーファミリーの間に発見された。さらに申請者は、結合部位ではそれ以外の部位とは明らかに異なる原子の組成を持つことを見出している。しかも、その組成の偏りを利用して、結合部位の特徴をあらわす構造鋳型の構築方法を開発している。このような知見は、機能未知のタンパク質の構造がとかれたときにその機能を予測する方法の開発につながる可能性をもっており大いに評価できる。

よって本論文は、博士（理学）の学位論文として価値があるものと認めた。