

水のエントロピーに着目した蛋白質立体構造予測法の開発

大阪大学 蛋白質研究所 原野 雄一¹

1 蛋白質の折り畳みとそのエネルギー論

蛋白質は、主鎖や側鎖がその内部が密に充填されたユニークな立体構造（天然構造）を形成し、生理的機能を発現する。天然構造は溶媒環境の変化によって、共有結合を維持したまま壊れるが、溶媒条件さえ整えてやれば自発的に天然構造へ折り畳まることが知られている。この事実は1969年に Anfinsen²によって示されたが[1]、蛋白質の機能発現は生物特有の現象ではなく、系の自由エネルギーという物理量が決定していること意味している。蛋白質はアミノ酸がペプチド結合した鎖状高分子であるので、その鎖の構造エントロピーに打ち勝つだけの強力な推進力が折り畳みには必要である。一般にはその推進力として、分子内水素結合形成や蛋白質分子内の van der Waals 相互作用の獲得が挙げられることが多い。しかし、真空中と異なり、水溶液中ではいずれも脱水和（水分子との水素結合や van der Waals 引力相互作用の喪失）の大きなペナルティーを伴い、十分とはいえないと考えられる[2]。また、実際の溶媒環境には多くの塩を含むため、静電相互作用も真空中のように単純には働かない[3]。疎水性部位を蛋白質内部へ埋没させることによる、いわゆる疎水性相互作用が折り畳みの主たる推進力であると指摘されることも多い。しかし、蛋白質の構造データベース解析によると[4]、ミセルのように疎水性部位を選択的に完全に埋没させることは不可能であるようだ。また、蛋白質の安定性に疎水性相互作用のみを考えた場合、矛盾する実験結果も報告されている[5]。

ここで水溶液中の蛋白質の折り畳みに関するエネルギー論を再考してみたい。与えられた蛋白質の構造に対し、「蛋白質+水」のエネルギー関数 F は以下のように表現して差し支えないであろう。

$$F = E + \Delta\mu \quad (1)$$

E と $\Delta\mu$ はそれぞれ、蛋白質分子内のエネルギーと水和自由エネルギーである。水和自由エネルギーをさらに水和エネルギー ($\Delta\varepsilon$) と水和エントロピー (Δs) に分解し、

$$\Delta\mu = \Delta\varepsilon + T\Delta s \quad (2)$$

を考える。 $\Delta\mu$ はタンパク質分子をその構造と重心の位置を固定して水中に挿入した場合の系の自由エネルギー変化として定義される。挿入の過程が定容と定圧では $\Delta\varepsilon$ と Δs は変化するが、 $\Delta\mu$

¹E-mail: yharano@protein.osaka-u.ac.jp

は、その定義としては無限希釈を想定しており、したがって、どちらの過程でも変化はないので、ここでは理論解析の便宜上、定容過程で議論する。多くの実験は定圧で行われているので、実験データと整合性をはかるためには定圧過程で解析を行う必要があるが、エントロピーとエンタルピーへの割り振りが変化するだけで、エネルギーの本質的な議論としては不変である [6]。先に述べた様に、水溶液中での蛋白質の折り畳みの前後で、蛋白質分子内のエネルギー利得と脱水和に伴うエネルギー損失がほぼ相殺するという仮定をおけば、すなわち

$$\Delta E \simeq \Delta \Delta \varepsilon \quad (3)$$

とすれば、

$$\Delta F \simeq T \Delta \Delta s \quad (4)$$

と考えてよいであろう。したがって、 Δs を正確に計算できれば、蛋白質の折り畳みに伴う「蛋白質+水」系の自由エネルギー変化を見積もることができることになる [7]。尚、(3) および (4) 式での両辺における最初の Δ は折り畳みの前後における物理量の変化を意味する。

2 水和エントロピーに基づいた新たなエネルギー関数の提案

これまでの議論の基づくと、与えられた蛋白質の構造に対する水和エントロピーの計算が必要になるが、莫大な数の蛋白質の構造群を相手にするため高速計算が可能でなければならないので、次のような計算法を考えたい。水和エントロピーの計算には、水の特長さえ上手く考慮できていれば「蛋白質-水」間の相互作用にはあまり依存せず、溶質の幾何学的形状が重要であることが最近の理論解析により示されている [8]。このことから、分子モデルとして、蛋白質分子を剛体球（原子）の結合体としてモデル化してもよいと考えられる一方、溶媒である水には、現在最も精密とされる多極子モデルを用いる事とする。また、各蛋白質の構造に対しての水和エントロピーの計算には、分子形状から熱力学量を高速に計算できる形態熱力学 [9] と角度依存型積分方程式論に基づいて行うこととする。蛋白質分子を剛体球集団として扱うので、エネルギー的に無矛盾になるように構造によっては脱水和のペナルティーを与えなければならない。このため、完全に溶媒に露出した構造を基準とし、水素結合可能な原子が蛋白質内部に埋もれかつ水素結合をしていない構造の場合にのみ、一原子当たり $7kT$ の脱水和ペナルティーを与えることとする。

以上のように、蛋白質の折り畳みに伴う熱力学量の変化に関して、主要と考えられる因子を残しつつ簡略化を進めたわけであるが、どの程度妥当であるかを評価しなければならない。このような場合に一般的に行なわれるのが、Decoy セットでのテストである。天然構造と異なった数多くの Decoy（偽物）構造に対してエネルギー値を計算し、良いエネルギー関数であれば天然構造に最低値を与え、結果的に天然構造を見出すことになるというものである。例として、テストした Decoy セットに関して、図 1 に計算結果を示す。この Decoy セットには 7 種類の蛋白質を含み、それぞれ約 600 通りの構造を含んでいる。図のように、全ての Decoy セットに関して天然構造がエネルギー関数に最低値を与え、Decoy 構造群と見分けることができた [10]。その他にも数多く

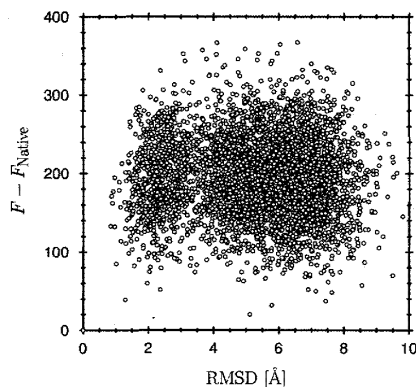


図 1: Decoy 構造のエネルギー値を天然構造からの RMSD に対してプロットしたもの。

の Decoy セットが存在するが、多量体構造やフラグメントを除けば、同様に天然構造の検出に成功している。特筆すべきは、我々のエネルギー関数には、蛋白質の構造に関して経験的因子が全く含まれていないことである。このことは、蛋白質そのものの性質よりも、むしろ水が蛋白質安定性には決定的であることを物語っているのではないだろうか。

謝辞

この研究は、京都大学エネルギー理工学研究所に在籍中に行われたものであり、研究全般にわたりご指導下さった木下正弘教授に深く感謝いたします。

参考文献

- [1] C. B. Anfinsen, *Science* **181** (1969), 223.
- [2] K. A. Dill, *Biochemistry* **29** (1990), 7133.
- [3] M. Kinoshita and Y. Harano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **78** (2005), 1431.
- [4] G. J. Lesser and G. D. Rose, *Proteins* **8** (1990), 6.
- [5] C. N. Pace, *Biochemistry* **40** (2001), 310.
- [6] M. Kinoshita, Y. Harano and R. Akiyama, *J. Chem. Phys.* **125** (2006), 244504.
- [7] Y. Harano, and M. Kinoshita, *Biophys. J.* **89** (2005), 2701.
- [8] T. Imai, Y. Harano, M. Kinoshita, A. Kovalenko and F. Hirata, *J. Chem. Phys.* **125** (2006), 024911.
- [9] R. Roth, Y. Harano and M. Kinoshita, *Phys. Rev. Lett.* **97** (2006), 078101.
- [10] Y. Harano, R. Roth, Y. Sugita, M. Ikeguchi and M. Kinoshita, *Chem. Phys. Lett.* **437** (2007), 112.