

博士論文要旨

論文題目：Structural analysis of transient hub proteins
(ハブタンパク質の一時的な相互作用を可能にする構造的要因)

氏名 日暮 美穂

1. 背景及び目的

多くのタンパク質は他のタンパク質と相互作用することでその機能を発揮する。タンパク質間相互作用には安定(stable)な相互作用がある一方で一時的(transient)な相互作用も存在し、特に後者はシグナル伝達等の重要な機能の基盤となることが知られている。また、一時的な相互作用をするタンパク質の中でも、複数のタンパク質と相互作用をすることができるものが存在し、そのようなタンパク質の多くはタンパク質相互作用ネットワーク上でハブとなるためハブタンパク質(hub protein)と呼ばれている。これらのハブタンパク質は欠損すると多くの場合致死性を示すことから、生体内で重要な役割を果たすと考えられている。また、ハブタンパク質は形状の全く異なる複数のタンパク質と特異性を保ったまま相互作用をすることができ、その相互作用は可逆的で、結合と解離を繰り返すことが可能である。

近年ハブタンパク質の表面が非ハブタンパク質の表面に比べて多くの決まった三次構造を取らない disorder 領域を持つことが報告された。この結果からタンパク質結合部位にある disorder 領域が複数のタンパク質との一時的な相互作用に寄与しているという説が受け入れられつつある。しかし、本研究での調査の結果、先行研究で定義されたハブタンパク質の中には超分子複合体のサブユニットのように複数のタンパク質と安定な結合をする stable hub protein が2割程度含まれていることがわかった。先行研究における解析では stable hub protein が統計に影響を与えてしまい、本来注目すべき、一時的な相互作用をするハブタ

ンパク質(以降 *sociable protein* と呼ぶ)の性質が反映しきれていない可能性がある。そのため、本研究では構造データベースを用いた *sociable protein* の抽出と、それらの相互作用に寄与する構造的基盤の研究を行った。

本研究では構造データベースを元に抽出を行なったが、先行研究で大規模実験により検出された相互作用データ及び遺伝子の共発現データを元に、複数のタンパク質と一時的な相互作用をするタンパク質('date' hub と呼ばれる)と複数のタンパク質と安定な相互作用をするタンパク質('party' hub と呼ばれる)の分離が試みられている。さらに、近年それらに対し disorder 領域の予測を行なった結果、'date' hub は 'party' hub よりも有意に多くの disorder 領域を持つことが報告された。この主張が本研究で得られた結果を支持しなかったため、これらの先行研究の結果の検証を行なった。

2. 方法及び結果

PDB に登録されている X 線結晶構造解析で構造決定された高解像度(3.0 Å以下)の 68474 チェインから配列冗長性を除いた 6398 チェインの各々について PDB 中で異なる結合状態の有無を調べ、3つ以上の結合状態を持つものを *sociable protein*、単一の結合状態しか見つからなかったものを *non-sociable protein* と定義し、両者の比較を行なった。また、先行研究との比較のため、*non-sociable protein* のうち結合するタンパク質が3種類以上存在するタンパク質を抽出し、*stable hub protein* とした。結果、86 チェインの *sociable protein*、1013 チェインの *non-sociable protein*、46 チェインの *stable hub protein* を得た。

それらに対し、PrDOS サーバーを用いてアミノ酸配列から disorder 領域の予測を行い、相互作用部位に占める disorder 領域の割合の比較を行なったところ、*sociable protein* と *non-sociable protein* では有意な差が認められなかった(Fig.1)。それに対し、*stable hub protein* は他より多くの disorder 領域を持つことがわかった。

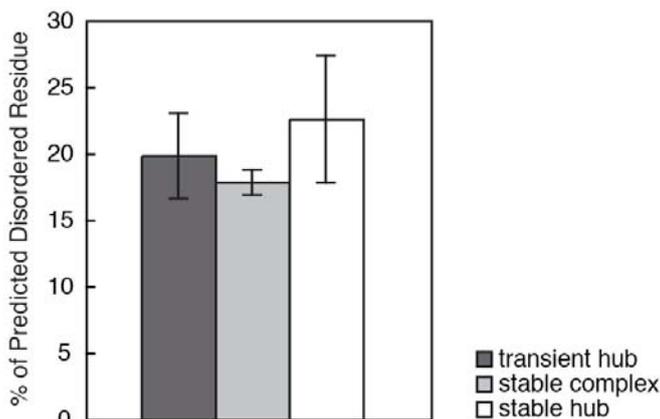


Fig.1 相互作用部位に占める disorder 領域の割合

この結果は、先行研究で示唆されていた hub protein の disorder 領域の多さは *stable hub protein* 由来であることを示唆するものであり、従来の相互作用部位にある disorder 領域が hub protein の複数のタンパク質との一時的な結合に寄与するという説を支持するものではなかった。

相互作用部位における disorder 領域の割合に差が見られなかったことから、他の構造的特徴の比較を行なった結果、構造全体の柔軟性に差があることを見いだした。PDB 中の identity 90%以上の近縁タンパク質の全てについて構造変化の指標である RMSD (root mean square deviation)の計算を行なった。その最大値である maxRMSD を構造全体の柔軟性の指標として調査を行った。その結果、sociable protein は non-sociable protein 及び stable hub protein よりもはるかに高い構造の柔軟性を持つことが明らかになった(Fig. 2)。

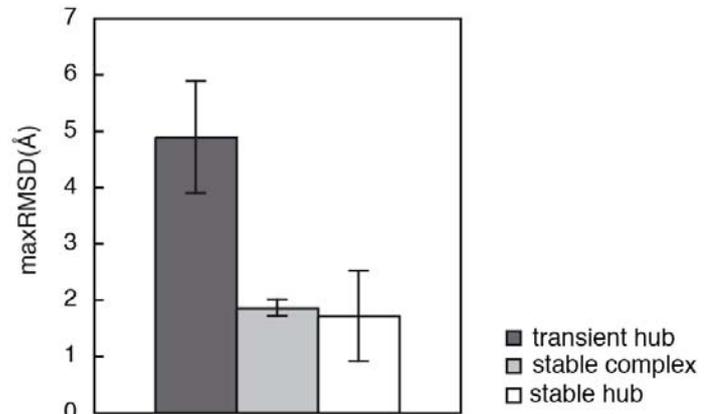


Fig. 2 構造全体の柔軟性

さらに、sociable protein の構造の柔軟性の基盤となる構造的特徴を探索すべく、タンパク質コアに存在する残基同士の相互作用及び原子パッキングの比較を行なった。その結果、sociable protein のコア残基同士の水素結合数は他に比べて有意に少なく(Fig. 3)、原子パッキングは他に比べて有意に粗いパッキングであることがわかった。以上から、これらの sociable protein の際立った構造的特徴が高い構造の柔軟性の基盤となることが示唆された。

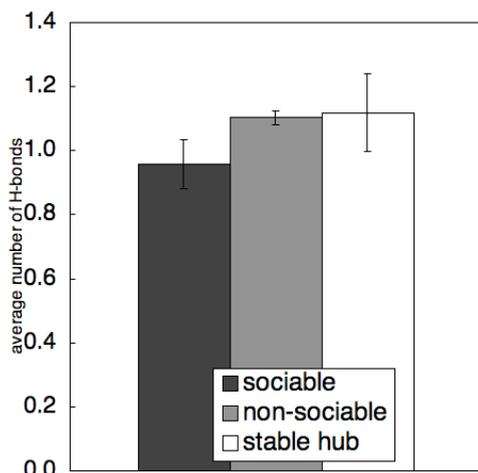


Fig.3 コア残基の平均水素結合数

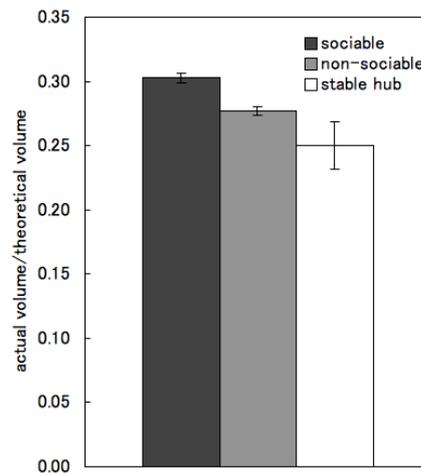


Fig.4 原子パッキングの比較

また、本研究で得られた結果が相互作用データと遺伝子の共発現データを用いた先行研究の結果と一致しなかったため、検証を行なった。先行研究で同定された'date' hub 及び'party' hub に対して disorder 領域の予測を行なった結果、確かに'date' hub は'party' hub に比べて有意に多くの disorder 領域を持つことがわかった。しかし、先行研究で用いられたも

のと同じ相互作用データから、少ない種類のタンパク質としか相互作用しない non-hub protein を抽出し、disorder 領域の予測を行なったところ、non-hub と 'date' hub では有意差が見られなかった (Fig.5)。また、'party' hub のリストを調べた結果、データセットの扱いや大規模な相互作用検出実験の性質に由来するバイアスが 'party' hub の disorder 含有量を下げている原因となっていることが明らかになり、先行研究の筆者らによる disorder 領域が 'date' hub の持つ複数のタンパク質との一時的な相互作用に寄与するという主張を支持しなかった。

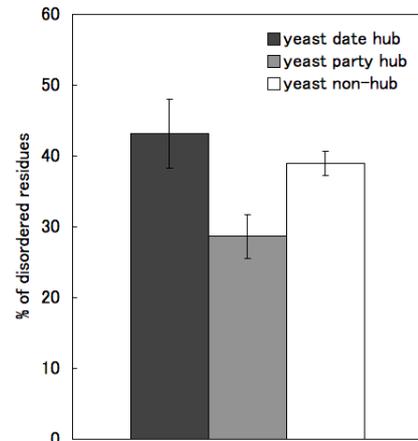


Fig.5 disorder 領域の割合の比較

3. まとめ

複数のタンパク質との一時的な結合を可能にするのは構造全体の柔軟性であり、先に示唆されていた局所的な柔軟性を与える disorder 領域ではないことが明らかになった。また、hub protein の disorder 領域の多さは stable hub protein 由来であり、同じハブタンパク質でも安定な相互作用をするものと一時的な相互作用をするものでは構造的基盤が異なることが示された。さらに、これらの基盤となる構造的特徴はコア残基の水素結合数の少なさと粗い原子パッキングであることが明らかになった。本研究の結果からこのような際立った構造的特徴が sociable protein の構造の柔軟性の基盤となり、ひいてはこのタンパク質の柔軟性がシグナル伝達等、生体にとって重要な役割を果たすためには必要であることが示唆される。