

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 西村 麻彦

タンパク質は 1 本のアミノ酸の鎖として合成されてから、そのアミノ酸配列特有の天然構造へと折り畳まれて (folding)、そのタンパク質特有の機能を発揮する。また、近年になって、タンパク質中で特定の構造を持たない disorder 領域の研究が注目されるようになり、ある標的分子が近付いてきた時のみ特定の構造へ変化して、その機能を発揮する例も発見された。これらの現象はタンパク質を構成するアミノ酸鎖の動きに起因するものであり、その動きの機構を解明しようと多くの研究が行われてきた。例えば、 Φ 値解析によって遷移状態における構造を解明する研究や、光学装置と急速混合装置の組み合わせによってミリ秒以下の単位で変化を記録し、その動きを解明する研究が行われてきた。しかし、これらの実験手法では原子レベルの挙動を知ることはできない。そこで、原子レベルの挙動が得られる MD (分子動力学) シミュレーションを用いて、タンパク質の動きを解析する必要性が高まってきた。しかし、MD シミュレーションによって天然構造への folding を観測するには克服しなければならない問題がある。また、disorder に関してはその定義の仕方に問題がある。本論文は、MD シミュレーションによって天然構造への folding を観測させる手法の開発と disorder を再定義することを試み、それらの解析を行ったもので、4 章からなる。

第 1 章の序論に続き、第 2 章では、二次構造予測の情報を取り入れた MD シミュレーションを開発した。まず、二次構造エネルギーの値を決定するために、二次構造予測プログラム PSIPRED から尤度関数を求めた。そして、各予測に各区画における尤度関数から二次構造エネルギーを計算後、各区画を滑らかに繋げることで二次構造エネルギーマップを作成した。作成された二次構造エネルギーマップと実際の二次構造予測の結果を用いて、3 種類のタンパク質に対して、二次構造予測の情報を取り入れた MD シミュレーションを行い、各タンパク質における天然構造の予測を試みた。その結果、シミュレーション中に発生した構造をクラスタリングして得られたクラスタの内、最も存在確率が高いクラスタに天然構造と同じ二次構造を形成している構造を発見することに成功し、MD シミュレーションにおいて天然構造を予測する手法を確立した。

第 3 章では、X 線結晶構造解析のデータを使って電子密度を再構成し、そのタンパク質内の各アミノ酸残基の周辺電子密度を計算することで、各アミノ酸残基における disorder を定量化することを試みた。まず、結晶構造解析プログラムである CCP4 を用いて、PDB に登録されている pdb ファイルと構造因子データから電子密度を再構成した。その再構成した電子密度データと pdb ファイルの各アミノ酸残基の原子座標を用いて、van der Waals

半径内の電子密度を足し合わせることで周辺電子数を求め、その値を理想的な電子数で割ることで得られる値を **disorder** の尺度である **Order Degree** として定義した。その後、**B-factor** による補正と、総電子数による補正を加えることで最終的な **Order Degree** を決定した。次に、求めた **Order Degree** のデータを用いて、解析を行った結果、**Asp, Glu, Lys, Arg** 等の親水性残基は **Order Degree** が低く、逆に疎水性残基は **Order Degree** が高い傾向があること、主鎖骨格の **Order Degree** では **Gly** が低い値を取る傾向があること、ヘリックス構造は関与する残基数が増える程、**Order Degree** が高くなる傾向があること、シート構造は二次構造の中では最も **Order Degree** が高くなる傾向があること、コイルの構造はヘリックスやシートに比べて **Order Degree** が低い傾向があること、親水性のアミノ酸残基は溶媒露出表面積が増える程、**Order Degree** が低くなっていく傾向があること、疎水性残基は溶媒露出表面積が増えても **Order Degree** が低くなりにくい傾向があること、リガンドの周辺アミノ酸残基における **Order Degree** は高くなる傾向にあること、そして低 **Order Degree** 領域におけるアミノ酸の出現頻度は **Gly** が最も多く、次いで親水性残基が多く現れ、疎水性残基は少ない傾向があることが明らかとなった。第4章では、総括と展望が述べられている。

以上、本研究は天然構造の形成機構を解明するための手法の開発を行うとともに、**disorder** に関する新たな尺度を導入し、**disorder** に関する多く知見を得られたことから、学術的、応用的に貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。