

天然変性蛋白質—新しい蛋白質像—

Keyword: 天然変性蛋白質

1. 言葉の定義

生体内で機能を発揮することで生命活動を支えている蛋白質は、20種類のアミノ酸が多様な一次配列でつながった一本のポリペプチド鎖であり、一次配列に応じて特定の立体構造（「天然構造」と呼ばれる）に折れたたまる。蛋白質の結合部位と呼ばれる部位にパートナー分子が結合することで機能が発揮されるが、天然構造はパートナー分子との相互作用が効率的に起きるように形成される（図1(a)）。パートナー分子は、DNA、RNA、小分子、蛋白質など様々である。図1(a)のように蛋白質とパートナー分子が形の相補性を利用して効果的に結合する機構は「鍵と鍵穴」機構と呼ばれる。利用されるのは形だけでなく、分子表面の電荷分布の相補性などの物理化学的な性質であることもあるが、これも広い意味で「鍵と鍵穴」機構の範疇にある。蛋白質は相互作用に有利な天然構造を事前に用意してパートナー分子を待ち構えているのである。

ところが天然変性蛋白質と呼ばれる蛋白質の一群はこの範疇に入らず、溶液中でパートナー分子と離れているときは蛋白質の一部または全体が特定の立体構造を持たない状態（変性状態）にある（図1(b)）。変性状態にある領域を変性領域、立体構造を形成している領域をコア領域と呼ぶ。変性領域にパートナー分子が接触すると、結合を促進するために変性領域に立体構造が誘起される（図1(c)）。この機構を「折れたたみと共役した結合」と呼ぶ。

また、変性領域が直接結合に関与せずに、コア領域とパートナー分子の結合をサポートする場合もある。例えば図1(d)のように二つのコア領域が変性領域で繋がれている

際に、パートナー分子との結合に有利になるように変性領域が構造を形成する（図1(e)）。この場合、変性領域はパートナー分子と相互作用する以前から重要な役目を果たしている。すなわち、二つのコア領域が別々の分子であれば、それらは空間的に離れている可能性が高い。コア領域を接近させておくことで複合体の形成確率を格段に上げるのである。

2. 発端

一部または全長が変性しているポリペプチド鎖の存在は以前から知られていたが、立体構造が実験的に決定できない領域は構造生物学的に興味を引かなかった。鍵と鍵穴のスキームから見ても変性領域が機能的に重要であるとは考えにくかった。しかし、ある蛋白質の変性領域がヘリックス構造に折れたたまれつつパートナー分子と結合することをP. Wrightらが実験的に示すと状況は一変する。^{1,2)}以降、世界中の蛋白質研究者が天然変性蛋白質の研究を始め、特定の立体構造を持つ蛋白質だけが機能を持つという従来の常識が覆された。同時に、研究の対象が大きく広がった。バイオインフォマティクスの研究³⁾から、真核生物の蛋白質は平均すると2~3割ほど変性領域もっており、細胞核内蛋白質ではこの割合はさらに増すようである。転写や翻訳を担う蛋白質の多くが天然変性蛋白質であることも分かってきた。例えばiPS細胞の初期化を担う山中因子と呼ばれる蛋白質も変性領域を持ち、この領域に立体構造が形成されることで多様なパートナー分子との複合体を生成する。⁴⁾

3. メカニズム

ゲノム全体に対する統計的解析や分子生物学的研究から、天然変性蛋白質について興味深い結果が得られているが、それらの研究の紹介は他に譲る（例えば文献5を参照）。

天然変性蛋白質の「折れたたみと共役した結合」を物理学的に眺めると、この現象が起きるためには、天然変性蛋白質の自由エネルギー地形がパートナー分子の有無で大きく変わる必要がある。系のボルツマン因子 $\exp[-E(r)/k_B T]$ が与えられたとする ($E(r)$ は系のある構造 r でのエネルギー、 k_B と T はそれぞれボルツマン定数と温度 (300 K))。 r は系の全構成原子の座標集団だが、パートナーが存在するときは $r = r_{\text{IDP}} + r_{\text{part}} + r_{\text{sol}}$ である (r_{IDP} , r_{part} , r_{sol} はそれぞれ天然変性蛋白質、パートナー分子、溶媒分子の座標集団)。一方、パートナーが存在しないときは $r = r_{\text{IDP}} + r_{\text{sol}}$ である。ここで r_{IDP} だけを残して他の自由度でボルツマン因子を積分し分配関数 $Z_{\text{IDP}+\text{part}}(r_{\text{IDP}}, T)$ と $Z_{\text{IDP}}(r_{\text{IDP}}, T)$ を得

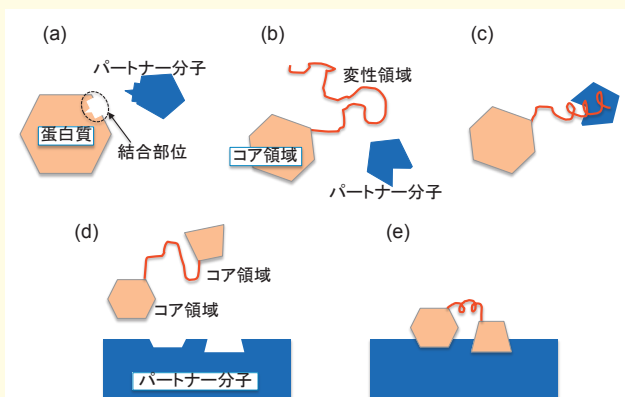


図1 (a)「鍵と鍵穴」モデルにより結合しようとしている蛋白質とパートナー分子。(b) パートナー分子と相互作用していない天然変性蛋白質。(c) パートナー分子と結合した天然変性蛋白質。(d) 二つのコア領域を変性領域が繋いでいる。この状態で溶液中を揺らいでいる。(e) パートナー分子と結合した天然変性蛋白質。コア領域とパートナー分子がうまく結合するように、変性領域に構造が形成される。

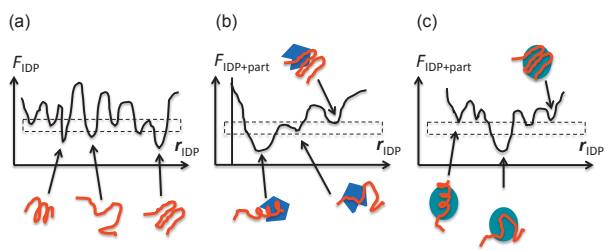


図2 (a) パートナー分子が存在しないときの天然変性蛋白質の自由エネルギー地形。(b) あるパートナー分子が存在するときの自由エネルギー地形。「折れたたみと共役した結合」が起きる。(c) 別のパートナー分子が存在するときの自由エネルギー地形。破線の囲みは室温に対応するエネルギー領域。

た(前者はパートナーが存在下, 後者は非存在下の分配関数)とすると, これらの系の自由エネルギー地形(平均力ポテンシャル)は $F_{\text{sys}}(\mathbf{r}_{\text{IDP}}, T) = -k_B T \ln[Z_{\text{sys}}]$ で与えられる (sys = IDP または sys = IDP + part). 「折れたたみと共役した結合」を説明するためには, パートナー非存在下で自由エネルギー地形上に圧倒的に安定な立体構造が存在せず(図2(a)), 存在下では特定の立体構造をとりつつ複合体が形成されて安定化される(図2(b)) 必要がある。

さて図2(a) と (b) を眺めていると一つの疑問が生じる。天然変性蛋白質は, 多様な立体構造をとりつつ複数のパートナー分子と結合しないのか? 答えは“結合する”であり, 多くの天然変性蛋白質がこの性質を持つことが分かってきた(図2(c)). この性質は「鍵と鍵穴」モデルから出てこない。例えば, DNA 修復, 細胞増殖停止, アポトーシスなどの細胞増殖サイクルを制御し, 細胞のがん化を抑制する蛋白質 p53 は, その C-末端側にある変性領域が α ヘリックス, β ストランド, コイル構造等の構造をとりつつ異なるパートナー分子と結合する.⁶⁾ 立体構造の揺らぎを最大限に利用する天然変性蛋白質ならではある。多種多様な蛋白質の間で相互作用をネットワークとして描いたとき, 多数の相互作用を集めるノードに天然変性蛋白質が位置することが多い。

4. 計算科学的なアプローチ

折れたたみと共役した結合の自由エネルギー地形は図2のようになることが想像できるが, 生体高分子系で自由エネルギー地形を解析的に得ることはほぼ不可能であり, シミュレーションを用いたアプローチになる。そのとき蛋白質の表現には大別して粗視化モデルと全原子モデルの二通りがある。

粗視化モデルでは幾つかの原子をまとめて一つの質点に置き換え, かつ溶媒は露わに考慮しない。系の単純化により本来あるべき相互作用の詳細が抜け落ちる代わりにハミルトニアンに実験結果を反映させる(例えば実験から得られた複合体構造がエネルギー的に安定になるように設定す

る)。このアプローチは Go-like モデルと呼ばれる粗視化モデルを起源としており, protein folding の研究では数々の有用な結果が得られている。このモデルを用いて, 変性領域が離れたところにあるパートナー分子を捕まえる「フライキャスティング機構」が提案されている。⁷⁾ また, 天然変性蛋白質とパートナー分子の相互作用の強さに依って, 折れたたみと共役した結合の現象を起こす駆動因子が変わることが示唆されている。⁸⁾

全原子モデルでは天然変性蛋白質, パートナー分子, 溶媒を露わに取り扱うが, 計算量が膨大になる。天然変性蛋白質とパートナー分子をすべて取り込んで計算を行い詳細な自由エネルギー地形を求めるには, まだ時間がかかりそうだが, 複合体形成に本質的な役割を果たす部分をコア領域から切り出してパートナー分子との結合の過程を再現し, 自由エネルギー地形を得るところまではきている。著者自身の研究紹介で恐縮であるが, 全原子マルチカノニカル分子力学によると, パートナー分子の有無で自由エネルギー地形が大きく変わり, 折れたたみと共役した結合が起こることが分かる。⁹⁾ 物理学では現象を単純明快に説明することが好まれるが, 全原子モデルからの結果は, 複雑である。また, 最終的に安定な複合体にたどり着くまでに, 多数の中間的な複合体構造を経ることも分かり, 何らかの本質的な因子に導かれて現象が起きているようには見えない。全原子モデルから得られる“きたない”結果と, 粗視化モデルから得られる“すっきり”した結果に整合性をつける必要がある。

5. 最後に

天然変性蛋白質は構造柔軟性を積極的に活用することで機能しており, 従来の蛋白質観を大きく変えた。真核生物の核内では様々な調節機構に関わっており, もはや生命現象を理解する上で不可欠な分子である。進化を考える上でも重要な研究対象である。最近では細胞や細胞核の中での蛋白質の振る舞いが実験・計算の両面で研究されている。今まで想像もしていなかった天然変性蛋白質の役割が, 分かるかもしれない。今後の研究の進展が待たれる。

参考文献

- 1) P. E. Wright and H. J. Dyson: J. Mol. Biol. **293** (1999) 321.
- 2) K. Sugase, *et al.*: Nature **447** (2007) 1021.
- 3) J. J. Ward, *et al.*: J. Mol. Biol. **337** (2004) 635.
- 4) S. Jerabek, *et al.*: Biochim. Biophys. Acta **1839** (2014) 138.
- 5) 西川 健: 生物物理 **49** (2009) 004.
- 6) C. J. Oldfield, *et al.*: BMC Genomics **9** (Suppl. 1) (2008) S1.
- 7) B. A. Shoemaker, *et al.*: Proc. Natl. Acad. Sci. USA **97** (2000) 8868.
- 8) K. Okazaki, *et al.*: Proc. Natl. Acad. Sci. USA **105** (2008) 11182.
- 9) J. Higo, *et al.*: J. Am. Chem. Soc. **133** (2011) 10448.

肥後順一〈大阪大学蛋白質研究所〉

(2015年5月15日原稿受付)