



Title	Model building of a Protein-Protein Complexed Structure using Saturation Transfer by heteronuclear NMR experiments without paired intermolecular NOE.
Author(s)	松田, 知己
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45144">https://hdl.handle.net/11094/45144</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	まつだともき
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第18216号
学位授与年月日	平成15年12月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	Model building of a Protein-Protein Complexed Structure using Saturation Transfer by heteronuclear NMR experiments without paired intermolecular NOE. (異核種多次元NMRにおける交差飽和法を利用した蛋白質複合体立体構造解析法の研究)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 春木  (副査) 教授 阿久津秀雄 教授 江口 太郎

## 論文内容の要旨

ポストゲノム時代を迎え、蛋白質同士の相互作用の網羅的な研究が盛んに行われている。さらにこれらの相互作用メカニズムを理解するためには、さらに、相互作用ペアをつくる蛋白質複合体の立体構造を知る必要がある。しかし、個々の蛋白質の構造が明らかになっている場合でも、改めて複合体の構造を実験により決定するのは労力を要する。また、個々の蛋白質の立体構造情報のみから予測をすることも困難である。そこで、いくつかの比較的容易に測定のできる実験データを補ってやると探索領域が狭まり、予測の精度を高めることができる。特にNMRに関しては、簡単な測定データとドッキングシミュレーションの手法を組み合わせた方法を開発する努力がなされている。本研究では、最近開発されたNMRのSaturation transfer(SAT)法によって得られる、結合表面の残基情報と蛋白質間の距離情報データを用いた、新しい蛋白質-蛋白質ドッキング・シミュレーション方法を開発した。以前にNOE-Distace Geometry法で構造が決定されているCAD-ICAD蛋白質複合体を具体的な対象として選び、2つの蛋白質をそれぞれ安定同位体ラベルし、それらの複合体に対してSAT法を含む種々の異核種多次元NMR測定を行い、得られたデータを用いてシミュレーション計算を行って、複合体立体構造を構築した。

はじめに、片側の分子のSAT法のデータに関するハーモニックポテンシャルを用いた分子動力学(MD)シミュレーションを行った。SAT法では未標識蛋白質から標識蛋白質へのプロトン磁化の飽和の移動を観測することにより、後者の結合界面を決定することができる。そして、シミュレーションの最終構造を蛋白質分子形状や静電ポテンシャル分布の相補性を指標に評価した。その結果、SATのエネルギーの比較をすると正解構造と同程度の低エネルギー状態が複数存在し local minimum構造にトラップされる可能性が高い、形状や静電ポテンシャルの分布が対称的な場合は候補が複数できてしまう、などの問題点が明らかとなり信頼性の高い予測を行うためには更なるデータが必要であることがわかった。

そこで、次に両側の分子のSATの情報と分子間の相対方向の情報が得られるResidual dipolar coupling(RDC)法の結果を利用したドッキングシミュレーションにより複合体構造モデルを得る方法を開発した。RDCでは、液晶状態のPEG中で磁場をかけて蛋白質分子を配向させ、目的とする原子間の双極子相互作用に由来する分子間の相対

配置の情報を得ることができる。蛋白質分子を剛体とみなし、まず、個々の分子を RDC の測定データに基づいて回転の自由度を与えて配向させた。次に、その分子の相対的な方向性を保ったまま並進の自由度を与えて SAT 測定データによる疑似ポテンシャルと van der Waals エネルギーを加えたものをターゲット関数としたエネルギー最適化計算を行った。さらに、複合体形成に伴う小さな構造変化に対応するために、剛体シミュレーションの結果に対して RDC と SAT のデータに基づく拘束をかけた全原子に関する MD シミュレーションを行う系を開発し、ペアワイズな分子間 NOE 情報を使わずに複合体構造を再現することができた。

### 論文審査の結果の要旨

生体分子機能を詳細に理解するためには、蛋白質-蛋白質間相互作用の構造的な解明が本質的に重要である。本論文は、細胞死（アポトーシス）機能において重要な働きをする CAD-ICAD 蛋白質複合体を具体的なモデル系として選び、異核種多次元 NMR における交差飽和法による相互作用界面情報と、Residual dipolar coupling (RDC) 法による蛋白質双方の分子の相対的な配向情報を実験的に求め、それら情報をもとに新たな複合体形成アルゴリズムを開発してシミュレーション計算を行って、従来広く行われていたペアワイズな分子間 NOE 情報を使わずに複合体構造を再現することができた。本論文は、広く様々な蛋白質-蛋白質相互作用の解明に貢献するものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。