OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Theoretical Study for Binding Processes of Intrinsically Disordered Proteins
Author(s)	白井, 伸宙
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52317
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式3

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　白井　伸宙　）	
論文題名	Theoretical Study for Binding Processes of Intrinsically Disordered Proteins（天然変性蛋白質の結合過程に関する理論的研究）

論文内容の要旨　天然変性タンパク質は定まった三次元構造を持たないタンパク質である。これらのタンパク質は結合対象となる生体分子に結合する時に構造を形成し、転写・翻訳制御やシグナル伝達の機能を果たす。天然変性タンパク質は原核生物の遺伝子より真核生物の遺伝子の中に多く含まれ、真核生物の中でもヒトなどのより高等な生物に多く含まれている。ここから、天然変性タンパク質は高等な生物の生体機能を実現する上で重要な、構造を持つタンパク質にはない性質を持っている可能性が推察される。本論文の第二部では、天然変性タンパク質とその結合対象分子（ターゲット分子）の格子モデルを構築してモンテカルロシミュレーションを行い、シグナル伝達という機能を果たす上で構造を持たないタンパク質が持つ利点について議論した。このモデルでは、単体の天然変性タンパク質は基底状態として特定の構造を持たず、ターゲット分子との二分子系ではαヘリックス構造を形成して結合した状態が基底状態となる様に設計されている。二分子を箱の中に閉じ込めると、ある温度以下・ある箱の大きさ以下で平衡状態において天然変性タンパク質がαヘリックス構造を取った結合状態が安定化される。結合温度付近での自由エネルギーランドスケープを観察することで、結合過程の経路と中間状態の有無を知ることができる。ターゲット分子の結合部位の性質を変化させるため、結合部位を隠す相互作用を導入すると、それまでに無かった中間結合状態が現れる。このような中間結合状態は、結合部位が隠れている複数の天然変性タンパク質・ターゲット分子ペアで実験により観測されている。この結合状態において天然変性タンパク質は柔軟な構造を利用し、種々のコンフォメーションを取ることで、隠された結合部位へアプローチするための足場を作ることが分かった。我々はこの結合過程を「マルチフォーム結合」と呼び、天然変性タンパク質が構造を持たないがゆえに備えている利点の一つだと結論付けた。本論文第三部では、天然変性タンパク質の一種であるα-シヌクレインの繊維形成過程について扱った。α-シヌクレインはパーキンソン病の原因の一つとして考えられているタンパク質で、臨界濃度以上のα-シヌクレイン溶液は自発的にアミロイド繊維を形成することが知られている。Whiteらの報告によると、α-シヌクレインを含む天然変性タンパク質の繊維形成過程は分子混雑下で加速され、構造を持つタンパク質では減速する[1]。この研究から、天然変性タンパク質の繊維形成と分子混雑の間には一般的な関係があると考えられ、この関係を統計力学的に記述することがこの研究の目的の一つである。さらに、2011年、二つの研究グループによってαヘリックス構造を含むα-シヌクレインの四量体が報告された[2]が、その翌年、Fauvetらによって四量体の存在を否定し、α-シヌクレインは単体の変性状態として存在すると報告した[3]。その後も四量体の存在の是非を問う論文が複数出版されている。我々はこの問題を理論の立場から検討し、解決の糸口を探ろうと考えた。これがこの研究の第二の目的である。これらの目的を果たすため、我々はα-シヌクレインの格子ガスモデルを構築した。このモデルではα-シヌクレインは変性状態、繊維形成のユニットになるβ状態、四量体を形成するα状態の三状態が仮定されている。β状態はβ状態同士、α状態はα状態同士で相互作用が仮定されている。変性状態では、X線小角散乱の実験によって示されている構造を持っている時より大きな慣性半径と、熱測定によって示されているターゲット分子への結合に伴う大きなエントロピー損失を表現するため、β・α状態よりも実効的な体積が大きく、また変性状態は内部エントロピーを持っていることを仮定した。さらに分子混雑からの影響を調べるため、排除体積効果のみを持つ詰め物分子の熱粒子浴を系に付けたグランドカノニカルアンサンブルを考えた。解析計算を行った結果、詰め物分子が格子上の一点分の体積を占めている時に詰め物分子の効果が内部エントロピーを減少させる補正項として繰り込めることを発見し、分子混雑が変性状態の内部エントロピーを減らして変性状態を不安定化するという一般的な関係式を見いだした。この発見により、詰め物分子を明示する必要がなくなったため、シミュレーション計算速度が向上した。モンテカルロシミュレーションの結果、四量体の数と変性状態の数の比はα-シヌクレインの濃度および他の生体分子による混雑度合いによって大きく変化することが分かり、実験では考慮されていない「細胞内の分子混雑」が四量体の存在比を変化する可能性を示すことができた。[1] White D.A. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **132** 5170 (2010). [2] Bartels T. et al. *Nature* **477** 107 (2011); Wang W. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108 17797 (2011). [3] Fauvet B. et al. *J. Biol. Chem.* **287** 15345 (2012).

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　白井伸宙　）

論文審査担当者	（職）	氏　名
主査	教授	菊池誠
副査	教授	阿久津泰弘
副査	教授	小川哲生
副査	客員教授	肥後順一
副査	准教授	藤本仰一

論文審査の結果の要旨

タンパク質は生体内で特定の立体構造を取って機能すると考えられてきた。しかし、近年になり、生理条件下で特定の立体構造を持たないタンパク質が大量に発見され、総称して「天然変性タンパク質」と呼ばれて研究者の興味を引いている。その多くは細胞の核内にあり、シグナル伝達などの機能を果たしている。これらのタンパク質は　DNA や他のタンパク質などと結合して機能するが、その際に特定の構造を取ることから、「結合と折れたたみ」が協同的に起きるものと考えられ、新しい「タンパク質折れたたみ現象」として生物物理学の立場からも盛んに研究されるようになった。

本論文は、この天然変性タンパク質の結合と折れたたみを統計物理学の観点から研究したものである。内容は大きく二部に分かれているが、いずれも申請者独自のモデルを構築して、計算機シミュレーションにより、「天然変性であることの物理的な意味」を明らかにしたものである。

前半で、申請者はタンパク質の粗視化モデルのひとつである格子タンパク質モデルを拡張し、天然変性タンパク質とそれが結合する標的タンパク質の結合部位とを表現するモデルを構築した。このモデルでは (1) 特定の立体構造を持たないという天然変性タンパク質の特徴 (2) 従来あまり重視されてこなかった、標的タンパク質側の構造変化、のふたつが取り入れられている。このモデルに対してモンテカルロシミュレーションを行ない、熱平衡状態の自由エネルギー景観を計算した結果、天然変性タンパク質は構造が大きく揺らいでいるために、形を変えつつ標的タンパク質に少しずつ結合していき、結果として「隠れた結合部位」にも結合できることを見出した。これは天然変性タンパク質が特定の構造を持たないことの利点のひとつを明らかにした重要な結果である。

後半で、申請者は天然変成タンパク質のひとつである　α シヌクレインに着目し、それがアミロイド繊維を形成するメカニズムを研究した。特に細胞内はさまざまな生体高分子で混み合っていることを考慮し、その混み合いが繊維形成に与える影響に注目した。多数のタンパク質と混み合い分子を含む系を表現する統計力学的モデルとして、申請者は格子ガスモデルを拡張してタンパク質の自由エネルギーと慣性半径の関係を取り入れた「ファネル気体モデル」を提案し、計算機シミュレーションを行なった。結果として、　(1) α シヌクレインの密度を増すと繊維形成が促進される (2) 混み合いの度合いが増すと繊維形成が促進される　(3) 混み合いの度合いによって、　α シヌクレイン 4量体が形成される、ことを見出した。これらは既知の実験事実を説明できるとともに、実験的に決着していない 4量体の存在に対する示唆を与える重要な結果である。

よって、本論文は博士　（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。