The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Application of Multicanonical Molecular Dynamics Simulations Investigating Protein-Protein Interactions
Author(s)	飯田, 慎仁
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69368
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（飯田慎仁）	
論文題名	Application of Multicanonical Molecular Dynamics Simulations Investigating Protein-Protein Interactions （蛋白質間相互作用へのマルチカノニカル分子動力学法の応用）

論文内容の要旨

固有な立体構造を持つ蛋白質は、その形を基に選択的に生体分子を認識している。一方、固有な立体構造を形成しない蛋白質（ディスオーダー蛋白質）あるいは領域（ディスオーダー領域）は、結合と折りたたみを伴う分子認識を行なっている。ディスオーダー蛋白質（領域）は蛋白質間相互作用ネットワークの核として機能することが多く、結合と折りたたみを伴う分子認識により多様な生体分子と相互作用する能力（ハブ性）も発揮できる。しかしながら、原子レベルでどのように分子認識がおこなわれているかの完全な理解はなされていない。また、ハブ性はディスオーダー蛋白質（領域）に生じる翻訳後修飾によって制御されることが多く、翻訳後修飾がディスオーダー蛋白質（領域）の動的な立体構造の集まり（立体構造集団）に何らかの影響を与えていると推測できる。しかし、翻訳後修飾の立体構造集団への影響は十分に理解されていない。

ディスオーダー領域を持つ蛋白質の有名な例としてp53蛋白質がある。p53は転写因子としても知られており、DNAに結合することで標的遺伝子を活性化し、細胞死や細胞周期の停止、DNA修復を誘導する。

これらの機能は、p53に含まれる、あるディスオーダー領域（C末端ドメイン：CTD）が制御している。このCTDは複数の生体分子と相互作用することがしられており、複数の複合体構造（結合相手：S100B,CyclinA,Sir2,CBP）が同定されている。またこのCTDは多様な翻訳後修飾サイトを持ち、複合体構造においては、Sir2とCBPに対して382残基目のリシン（K382）のアセチル化が見られる。ただし、S100BとCyclinA関してはK382のアセチル化は生じていない。

本論文においてはp53 CTDに着目し、翻訳後修飾の一つであるアセチル化がCTD単体の立体構造集団に及ぼす影響を明らかにする（研究１）[1]。加えて、CTDの結合分子の一つであるS100Bに対する分子認識過程を理解する（研究２）。

p53 CTD単体は立体構造集団として存在し、かつ柔軟な分子認識機構をとるので、K382のアセチル化の影響および分子認識過程の理解には、その統計的な性質を得ることが必要である。それに加えて、原子レベルでの描像も明らかにしたい。そこで有効であると考えられる手法の一つとして全原子分子動力学法であるが、通常の分子動力学法では多様な構造を探索するには適さない。そこで私は、高効率な立体構造探索を行える、仮想系と共役した全原子マルチカノニカル分子動力学法（V-McMD）を使用した。この手法の有用性を、私はV-McMDをエンドセリン誘導体の２量体形成過程に応用することで実証した[2]。

研究１において、p53 CTD系の自由エネルギー地形を描き（図１）、K382のアセチル化が立体構造集団を変化させることを明らかにした。計算結果の妥当性を評価するために、私は円偏向二色性スペクトル測定も行った。

研究２において、S100B-CTDの自由エネルギー地形を描き、安定な立体構造が存在することを示した（図２）。それゆえに、S100B-CTDは不均質な複合体を形成していると結論付けた。計算結果の妥当性を評価するために実験との比較を行った結果、計算結果と実験結果の間で定性的な一致が見られた。

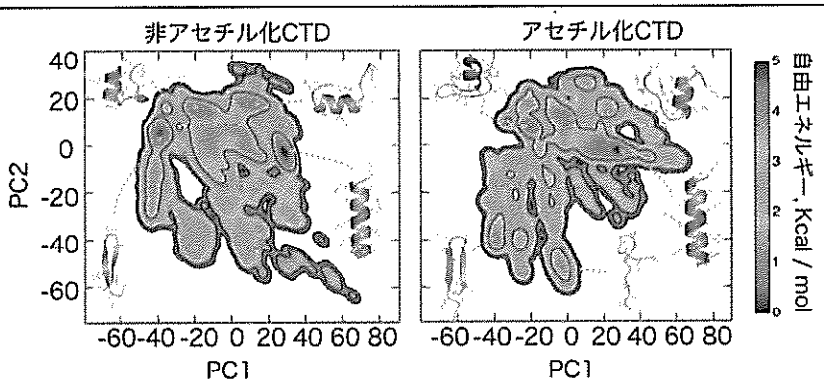

図 1 p53 CTD単体の自由エネルギー地形：立体構造集団の熱力学的安定性を描写している。熱力学的に安定な立体構構造を載せている。

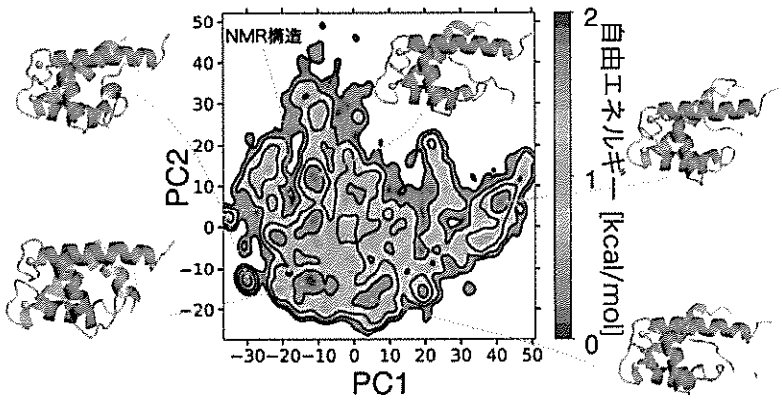

図 2 S100B-CTD複合体構造の自由エネルギー地形：載せてある構造のうち、cartoon表示がS100B、ribbon表示がCTDである。実験構造（NMR：黒点）がある安定領域に位置していることから、このシミュレーションは妥当性がある。

[1] S. Iida, T. Mashimo, T. Kurosawa, H. Hojo, H. Muta, Y. Goto, Y. Fukunishi, H. Nakamura, J. Higo, *J. Comput. Chem.*, **2016**, *37*, 2687–2700.

[2] S. Iida, H. Nakamura, J. Higo, *Biochem. J.*, **2016**, *473*, 1651–62.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　飯　田　慎　仁　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主査　教授	中村春木
	副査　教授	栗栖源嗣
	副査　教授	後藤祐児
	副査　教授	菊池　誠

論文審査の結果の要旨

本論文では，蛋白質間相互作用を解析するための計算科学的手法であるマルチカノニカル分子動力学法を発展させ、小さな蛋白質（エンドセリン誘導体）が作るホモダイマー形成機構や、蛋白質中の天然変性領域（p53 蛋白質の C 末端領域）が形成する一時的な折りたたみ状態および折りたたみと結合を伴う分子認識を解明することを目的とする。近年発見され、その重要性が注目されている固有な立体構造を形成しない蛋白質（天然変性蛋白質）あるいは領域（天然変性領域）は、結合と折りたたみを伴う分子認識を行なうことが知られている。天然変性蛋白質（領域）は蛋白質間相互作用ネットワークの核として機能することが多く、結合と折りたたみを伴う分子認識により多様な生体分子と相互作用する能力（ハブ性）も発揮できる。しかし、天然変性蛋白質（領域）の原子レベルにおける分子認識機構には不明な点が多く、特に天然変性蛋白質（領域）に生じる翻訳後修飾が、動的な立体構造集団（アンサンブル）に与える影響は良く理解されていない。そこで本研究では、天然変性領域をもつことで有名な p53 蛋白質の C 末端領域に着目し、翻訳後修飾の一つであるリシン残基のアセチル化が C 末端領域単体の立体構造アンサンブルに及ぼす影響を明らかにする一方、この C 末端領域が結合する分子の一つである S100B に対する分子認識過程を研究した。

まず、高効率な立体構造探索を行うことが期待される仮想系と共役した全原子マルチカノニカル分子動力学法（V-McMD）について、エンドセリン誘導体の 2 量体形成過程にこの V-McMD 法を応用して実証した。次に、p53 蛋白質の C 末端領域単体の水溶液中における自由エネルギー地形を描き、382 番目のリシン残基のアセチル化が立体構造集団を変化させることを明らかにした。計算結果の妥当性を評価するため円偏向二色性スペクトル測定による検証も行った。さらに、この p53 蛋白質 C 末端領域と S100B 蛋白質とが同時に存在する水溶液系に対しても自由エネルギー地形を描き、これら 2 つの分子による複合体構造形成における天然変性領域の分子認識機構を議論した。

これらの研究は、蛋白質の分子シミュレーション分野において新規の解析手法を提供するとともに、天然変性蛋白質（領域）の構造形成と機能に関して新しい知見を与えるものと考えられる。

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。