



解禁時間 (テレビ、ラジオ、Web) : 平成 19 年 11 月 20 日 (火) 午前 7 時
(新聞) : 平成 19 年 11 月 20 日 (火) 付夕刊

科学技術振興機構報 第 4 4 0 号

平成 1 9 年 1 1 月 1 5 日

東京都千代田区四番町 5 番地 3
科学技術振興機構 (J S T)
Tel: 03-5214-8404 (広報・ポータル部広報課)
URL <http://www.jst.go.jp>

たんぱく質の折り畳み運動を読み解く新手法を開発

J S T (理事長 北澤宏一) は、たんぱく質などの生体分子がいかにしてさまざまな立体構造を取りながら (移り変わりながら) 安定な折り畳み状態になるのかを、実験的な 1 分子の挙動観察で得られる時系列データから読み解くための全く新しい方法論を開発しました。

本方法論は、1 分子の運動が細胞や組織などのさまざまな環境の中で、いかにして細胞や組織などの機能に結びつくのかを解明する手段を示したものです。従来の理論的な数理モデルや微視的な計算機シミュレーションに頼ることなく、1 分子レベルの運動の解析結果を組み合わせることにより、できるだけ自然な形で背後に存在する折り畳みの原理を、1 分子の挙動の時系列データを通してたんぱく質から得るための方法論です。この方法論を用いて 1 分子解析を蓄積することにより、例えばアルツハイマー病の原因であるアミロイド凝集体の形成機構の解明などへの展開が期待されます。

本研究は、J S T 戦略的創造研究推進事業チーム型研究 (CREST) 「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」研究領域 (研究総括: 柳田敏雄) における研究課題「蛋白質の折り畳み運動解明を目指した一分子観測法の確立」(研究代表者: 高橋聡 大阪大学蛋白質研究所 准教授) の一環として、小松崎民樹 (北海道大学電子科学研究所 教授) と馬場昭典 (同大学 博士研究員) が行ったものです。

今回の研究成果は、米国科学雑誌「米国科学アカデミー紀要 (PNAS)」の電子版で 2007 年 11 月 19 日の週 (米国東部時間) に公開されます。

<研究の背景>

生命現象を理解するためのアプローチとしては、大きく分けて2つの流れがあります。巨視的な立場から背後の数理モデルを提唱するトップダウン的構成論的手法と、微視的な立場から計算機シミュレーションなどで巨視的な現象の再現を試みるボトムアップ的還元論的手法です。前者は研究者のイメージが先行し、大胆すぎる仮定や現象から乖離したモデルに陥る可能性があり、後者は計算能力の限界があるために、ミクロからマクロへつなぐ生命現象を把握するのは困難を伴うものと考えられます。細胞や組織などのさまざまな環境の中での生体分子の挙動を観察することができる1分子観察技術は、これらのトップダウン、ボトムアップ的手法の利点を残しながら両者を橋渡しできる可能性を秘めています。しかし、橋渡しの役目を果たすためには、観測される1分子時系列情報から、生命現象の背後に存在する原理やモデルをできるだけ自然な形で“抽出”することができる新しい方法論が必要となります。

<研究の概要>

1分子観察は、従来の実験で観測されるような多数の分子の統計平均には表れてこない分子1個の挙動を観察しようというものです。つまり、生命活動の基本単位である生体分子の1分子レベルの運動や分子機能を直接観察する手法です。これまでの多くの観測を通して、その分子がかかわる系がどのように分布しているか、また、どのように移り変わっているのかなどの新しい情報が次々に報告されてきています。しかし、それらの現象を解釈するための解析手法の構築は立ち遅れています。また、そもそも1分子の挙動の時系列から、系について何を読み取ることができるかを事前に想定しにくいのが現状です。従来の時系列解析は、事前にモデルを仮定し、そのモデルの枠内で現象を理解するものがほとんどでした。本研究で開発された方法は、できるだけモデルをあらかじめ規定せず、たんぱく質1分子の観察を通して、たんぱく質自身にたんぱく質について語ってもらう立場を取ります。

たんぱく質は、DNAの情報に基づいてアミノ酸がつながった高分子であり、無数の立体構造をもつ変性状態^{注1)}から、固有の形に折り畳むことで機能を果たしています。たんぱく質は変性状態からいくつかの局所平衡状態^{注2)}を遷移しながら、最終的には唯一の天然状態^{注3)}に折り畳むものと考えられています。しかし、多種多様なたんぱく質において、それぞれ局所平衡状態はどれくらいの数存在しているのか、それらはどのように分布し、つながっているのか、また、どのような時間スケールで各々の局所平衡状態内の立体構造群を渡り歩き、かつ状態間を遷移していくのか——などの折り畳みのダイナミクスに関する知見はほとんど得られていません。

これまでの1分子観察の時系列情報と本研究の方法論との併用によって、上記の問いに対する解答を与えることが可能と思われます。また、局所平衡状態間の遷移の時間スケールの階層性、天然状態や変性状態など各状態を巡る局所平衡時間の

違いと折り畳み効率との関係、たんぱく質 1 分子レベルでの揺らぎと機能など、従来あまり知られていなかったたんぱく質の新しい動態構造の詳細が明らかとなると期待されます。さらに、多くのたんぱく質に対する本研究の 1 分子解析を蓄積すれば、たんぱく質の折り畳みダイナミクスや熱揺らぎの中での生体分子の機能の頑健性などに対する本質的な理解につながり、将来的には、新薬の開発や人工たんぱく質の設計などへの応用につながると期待されます。

<研究成果の概要>

本研究では、1 分子観察で得られる一次元の時系列データから局所平衡状態を抽出し、それら局所平衡状態がどのようにつながりあっているかを俯瞰する「自由エネルギー地形」^{注4)} (盆地と峠から成る山脈の地形を高次元に拡張した“高次元の等高線図”に相当します) を構成する新しい方法論を開発しました。従来の解析方法では観測値のスカラー量^{注5)} やガウス分布^{注6)} の重ね合わせから、(その存在を前提として) 局所平衡状態を“定義”します。

一方、我々の方法論では、局所平衡状態の存在をあらかじめ規定せず、その存在の可否を検証しながら局所平衡状態を時系列データから“抽出”します(図 1 参照)。我々の方法論では、それぞれの局所平衡状態は、系が滞在する局所的な領域の多次元的地形を反映した「観測値の分布」として得られ、従来の方法よりも背後に存在する自由エネルギー地形をより正確に再現できることを、モデルたんぱく質の計算機実験を用いて示しました。1 分子観察と我々の方法論を併用し、(抽出される) 自由エネルギー地形を俯瞰することで、たんぱく質が変性した状態からどのような時間スケールで、どのような経路を経て天然状態に折り畳むのかを理解することが可能となりました。

<今後の展開>

我々の方法論と生体分子の 1 分子観察実験を併用することで、計算機実験では計算が困難な、例えば、細胞の中における生体分子の実効的な自由エネルギー地形などを評価することができます。また、物性(例えば、耐熱性)が異なるたんぱく質群の自由エネルギー地形を俯瞰することによって、それらたんぱく質が進化の過程でどのような折り畳み戦略(局所平衡状態の総数、および分布や折り畳み経路)を選択してきたのかを 1 分子観察を通して考察することも可能となります。

たんぱく質の動態構造への新しい知見、例えば、時間スケールに応じて変化する自由エネルギー地形、局所平衡に至る緩和時間と折り畳みとの関係、および 1 分子レベルでの熱的揺らぎと機能との関連なども明らかにされていくことが期待されます。

さらには、これらの知見を蓄積し、たんぱく質の折り畳み問題に対する理解を深

めることで、アルツハイマー病や狂牛病などの原因として知られるアミロイドなどのたんぱく質の凝集体の形成機構の解明や、将来的には、新しい人工たんぱく質ならびに新薬のデザインなどへの応用が期待されます。

<参考図>

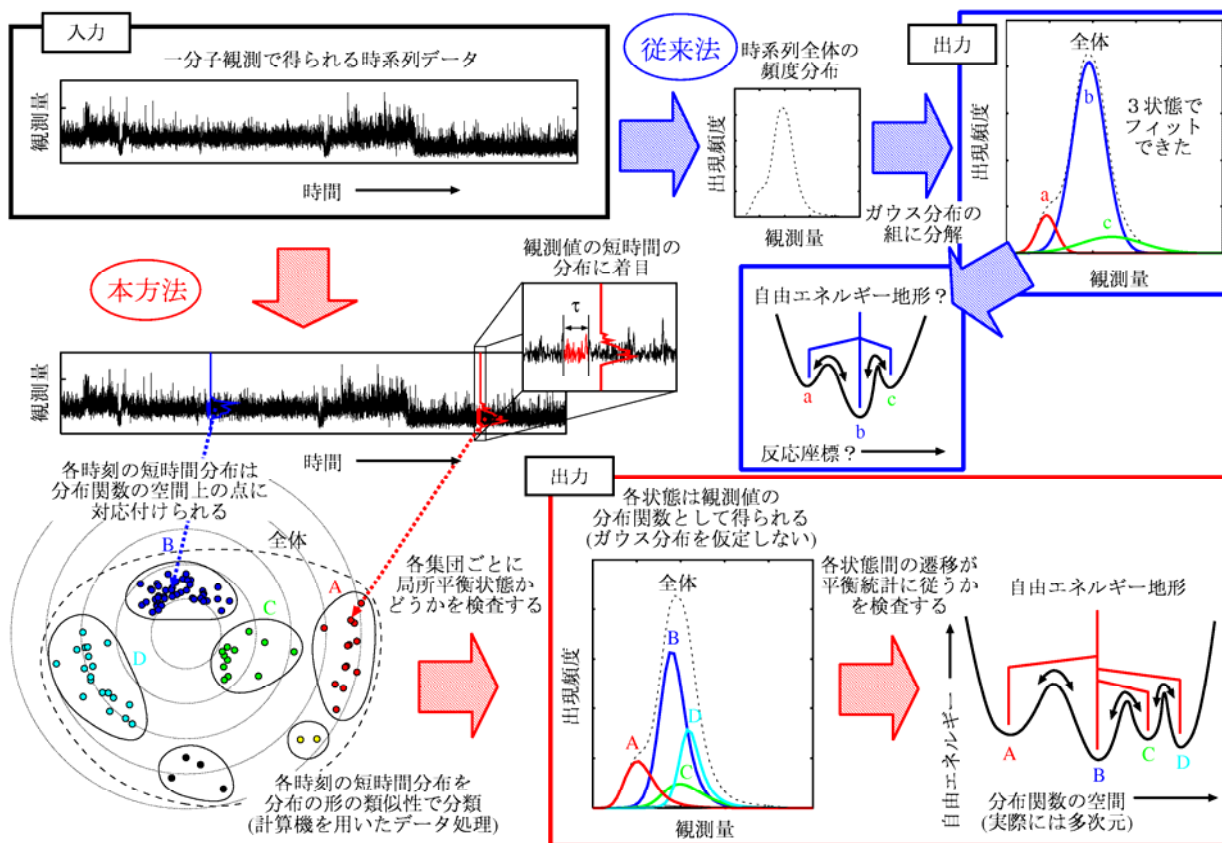


図1：開発した方法論の概略

本方法では、時系列を解析する際に、それぞれの時刻で得られた観測値をそのまま用いるのではなく、近傍の時刻の観測値を含めた、観測値の散らばり方(ここでは短時間分布と呼びます)に着目し、これらの短時間分布の中で、形が類似している集団一つ一つを、計算機を用いて分類します。この際、それぞれの短時間分布同士の類似性を評価するための“分布間距離”を導入します。図中の「分布関数の空間」とは、これらの分布同士の距離関係をできるだけ保つように平面上にそれぞれの短時間分布を点として配置したものです。その点に対応する短時間分布の形が似ているもの同士ほど距離が近く、異なっているほど距離が遠くなるように配置されます(実際の計算アルゴリズムでは、形が類似している集団を分類する際には平面に投影する必要はなく、図中では、概略の説明のために平面に投影して可視化しています)。

<用語解説>

注1) 変性状態：ランダムなコイルのような天然状態の折り畳んだ構造とは違い、“ほどけた”構造群の集まりから成る局所平衡状態と考えられている。

注2) 局所平衡状態：たんぱく質などの立体構造群の集まりに相当し、系はその構造群の間を十分巡った後に別の（局所平衡）状態へ遷移する。

注3) 天然状態：（たんぱく質などの）生体分子が正しく折り畳んだ構造に相当し、その構造において、生体分子は正常な機能を発揮することができると考えられている。また、たんぱく質はそれぞれのアミノ酸配列に固有の立体構造を自発的に形成することから、たんぱく質の天然状態は熱力学的に最も安定な状態であると考えられている。

注4) 自由エネルギー地形：局所平衡状態のつながりの俯瞰図を自由エネルギー地形と呼び、局所平衡状態は自由エネルギー地形上の盆地に相当し、盆地の深さや盆地と盆地をつなぐ峠の高さは、たんぱく質が局所平衡状態にある時間の長さとその局所平衡状態から、異なる別の局所平衡状態にどれくらい早く遷移するかによって決まる。

注5) スカラー量：1つの数値だけで表される量。文中では1分子時系列データの数値そのものを指す。

注6) ガウス分布：確率密度関数が物理量の平均値と分散だけで決定され、平均値において関数値が最大となるとともに、その平均値を挟んで左右対称に関数が単調減少する確率分布。正規分布ともいう。1分子時系列データの分布全体をガウス分布の重ね合わせでフィットして、局所平衡状態を“経験的に決める”ことが多い。

<掲載論文名>

“Construction of effective free energy landscape from single molecule time series”

(1分子時系列からの実効的な自由エネルギー地形の構築)

<研究領域等>

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究 (CREST)

研究領域： 「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」
(研究総括 柳田 敏雄 大阪大学大学院生命機能研究科 教授)

研究課題名： 「蛋白質の折り畳み運動解明を目指した一分子観測法の確立」

研究代表者： 高橋 聡 (大阪大学蛋白質研究所 准教授)

研究期間： 平成16年度～平成20年度

<お問い合わせ先>

小松崎 民樹 (コマツザキ タミキ)

北海道大学電子科学研究所

分子生命数理研究分野

〒060-0812 北海道札幌市北区北12条西6丁目

TEL&FAX: 011-706-2892

E-mail: tamiki@es.hokudai.ac.jp

金子 博之 (カネコ ヒロユキ)

科学技術振興機構 戦略的創造事業本部

研究領域総合運営部

〒102-0075 東京都千代田区三番町5番地 三番町ビル

TEL: 03-3512-3531 FAX: 03-3222-2066

E-mail: hkaneko@jst.go.jp