

主鎖環状化がタンパク質に与える 二つの構造安定化効果

SATテクノロジー・ショーケース2019

■ はじめに

タンパク質はアミノ酸が共有結合によって連なった鎖状の高分子であり、一定の折りたたみ構造(天然構造)を持って生体内で作用する。タンパク質は医薬品としても注目されているため、有用で安全なタンパク質の設計が求められている。しかし、タンパク質を自在に設計することは、未だ困難が多い。タンパク質を医薬品に応用するためには、タンパク質構造と設計手法の理解が必要である。

有効なタンパク質の設計手法の一つとして考えられている主鎖環状化は、一本鎖であるタンパク質を環状にすることによって、タンパク質の揺らぎ(エントロピー変化)を抑えて構造を安定化させる。他の手法に比べて人為的な改変を最小限に抑えることができ、かつ構造安定性を上げることによって品質を保証できるため、医薬品のためのタンパク質の設計に適している。しかし、主鎖環状化がタンパク質に与える詳細な構造安定化効果は不明なので、環状化タンパク質の論理的な設計方法は確立されていない。このため、主鎖環状化による構造安定化は、必ずしも成功するわけではない。

本研究では、主鎖環状化タンパク質の構造安定化効果の解明を目的とした。環状化の対象として、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を用いた。我々は、直鎖状G-CSFおよびタンパク質構造データベース(PDB)中の構造を参考に設計[1]した環状化G-CSFについて、実験と計算を用いて構造安定性を比較した。その結果、主鎖環状化による二つの構造安定化効果が見られたので報告する。

■ 研究内容

1. 溶液中における構造安定化効果

タンパク質の熱力学的安定性は、天然構造と天然構造が壊れた構造(変性構造)のギブスの自由エネルギー差分(ΔG)の大きさを評価できる。変性剤変性実験によって、環状化G-CSFは直鎖状G-CSFに比べて熱力学的安定性が高いことがわかった。

2. 天然構造における構造安定化効果

環状化G-CSFの天然構造が熱力学的安定性増大に影響を与えるかどうかを調べた。

① 環状化G-CSFのX線結晶構造解析

環状化G-CSFの天然構造を得るために、結晶構造解析を行った。その結果、環状化G-CSFは直鎖状G-CSF

の構造を保ったまま、環状化領域に水素結合が形成されたことがわかった。

② 環状化G-CSFの水素結合数計算

温度300 K一定の分子動力学シミュレーションによって、環状化G-CSFと直鎖状G-CSFの平衡状態における天然構造を取得した。分子内水素結合数を調べた結果、環状化G-CSFは、直鎖型G-CSFに比べて水素結合数が増大したことがわかった。

③ 環状化G-CSFの自由エネルギー評価

環状化G-CSFの構造安定化の要因を調べるために、自由エネルギーの計算を行った。その結果、環状化G-CSFの天然構造は、水素結合エネルギーを含む静電相互作用エネルギーによって構造安定化したことがわかった。また、タンパク質の構造安定化に寄与する13種の ΔG を調べた結果、環状化G-CSFは主鎖のエントロピー、次に主鎖の水素結合エネルギーによって構造安定化したことがわかった。

3. 考察と結論

主鎖環状化は、タンパク質の変性構造のエントロピーを上げる効果を持つと考えられてきた。本研究で主鎖環状化タンパク質の天然構造に着目することにより、タンパク質の主鎖環状化は、天然構造の水素結合エネルギーにも影響を与えることがわかった。この結果は、主鎖環状化タンパク質が論理的に設計可能であることを示唆する。主鎖環状化タンパク質の理解と設計戦略の確立に貢献するものである。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

(論文)

[1] Miyafusa, T., Shibuya, R. *et al. ACS Chem. Biol.* **12**, 2690–2696 (2017).

(施設)

X線回折データの取得は、高エネルギー加速器研究機構のフotonファクトリーBL-1Aにて行われた。

代表発表者 渋谷 理紗(しぶや りさ)
所 属 東京大学大学院新領域創成科学研究科
メディカル情報生命専攻
問合せ先 〒277-8562 千葉県柏市柏の葉 5-1-5
TEL: 04-7136-4003 FAX: 04-7136-4020
8645322850@edu.k.u-tokyo.ac.jp

■ キーワード: (1) タンパク質
(2) バイオ医薬品
(3) ポリペプチド主鎖環状化
■ 共同研究者: 宮房孝光・本田真也
(産業技術総合研究所・
バイオメディカル研究部門)