

生体分子間相互作用のエネルギー論的解析

情報工学研究院生命情報工学研究系 准教授 小松 英幸



2018年3月に情報工学研究院生命情報工学研究系准教授を拝命いたしました。この度、研究内容の紹介を執筆する機会をいただきました。ここでは、研究の背景と、これまでおよび現在の研究に触れて、今後の課題について説明させていただきます。

生体分子間相互作用

私は、主に「生体内の分子間相互作用」をエネルギー論的に解析することに興味があります。(以前は「熱力学的に解析する」と言うことが多かったのですが、学生時代に熱力学には苦しめられた人が多く、取っ付

き辛い印象を持たれるので、最近では「エネルギー論」という言葉をよく使っています。)酵素・タンパク質・核酸・糖鎖などの生体内の分子間の相互作用は、すべての生体反応の基礎となる素反応です。各々の相互作用で、どのような種類の結合が、どの程度のエネルギーで、寄与しているのかを明らかにすることは、基礎研究として重要な課題です。さらに、創薬分野では、タンパク質などに作用する物質を予測するために、分子間相互作用のエネルギーに関する情報を、基盤としています。情報技術を用いて、小さな単位構造間の相互作用のエネルギーから、分子間の相互作用エネルギーを推定する手法は、広く用いられています。しかしながら、その精度は現状十分ではありません。その一つの要因は、「疎水性相互作用」の予測の困難さにあると考えられます。

疎水性相互作用

非極性分子は極性溶媒である水の中で、水分子と水素結合を形成できません。そのため、非極性分子の周囲では、水分子同士が構造を形成し、その結果エントロピー(乱雑さ)が減少します。非極性分子が集まると、それらを囲んでいる水分子は少なくなるため、水分子の構造形成によるエントロピー減少は減り、すなわちエントロピーが増加します。このエントロピーの増加が、疎水性相互作用の熱力学的駆動力となります。つまり、「疎水性相互作用」は、分子間の直接的相互作用ではなく、水分子の構造形成に由来します。「疎水性相互作用」は、疎水性の構造が引き合う相互作用でないため、他の分子間相互作用(水素結合、静電的相互作用、ファンデルワールス力)と異なります。現状、タンパク質などの複雑な生体分子の周囲の水分子の構造を解析・予測することは困難であるため、「疎水性相互作用」の強さを予測することはできていません。さらに、タンパク質は、他分子との結合に伴い、その立体構造が変化する

場合が多くあります。その立体構造変化も、分子内アミノ酸残基側鎖間の疎水性相互作用が関係することがあります。

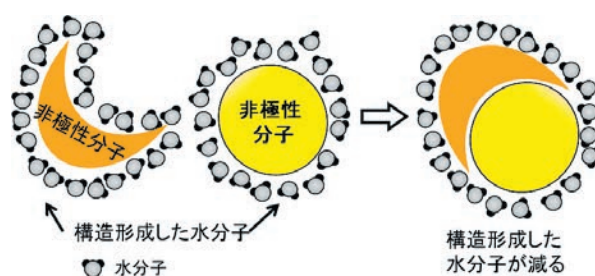


図1 疎水性相互作用の模式図

熱測定

疎水性相互作用を評価するためには、エントロピーの変化を解析する必要があります。それは、分子間の相互作用を熱測定により解析し、相互作用のエネルギーのうち、発熱を生じない相互作用をエントロピー変化による相互作用エネルギーとして分離することで実施できます。私は、これまで、生体分子間相互作用の熱

力学的解析を酵素タンパク質と糖鎖、酵素タンパク質と補因子について実施し、それぞれの結合の強さにおけるエントロピーの変化を評価しました。前者では、糖鎖の結合に伴い酵素タンパク質の大きな立体構造変化が起こることを明らかにしました。熱力学的パラメータの温度依存性から、この立体構造変化では、タンパク質の疎水性アミノ酸残基側鎖間の相互作用が示唆されました。後者では、全体の結合エネルギーに占める疎水性相互作用の寄与の程度を示すことができました。このように、熱測定は、疎水性相互作用を評価するのに大変適した手法です。

今後の研究

タンパク質と生体分子の相互作用には、80キロジュール毎モルにおよぶ強い結合をするものがあります。そのような相互作用はどのような相互作用により実現されているのでしょうか？ 今後は、タンパク質による生体分子の強い結合のメカニズムの解明をテーマの1つとして研究を進めたいと考えています。

しかし、現在、用いられている滴

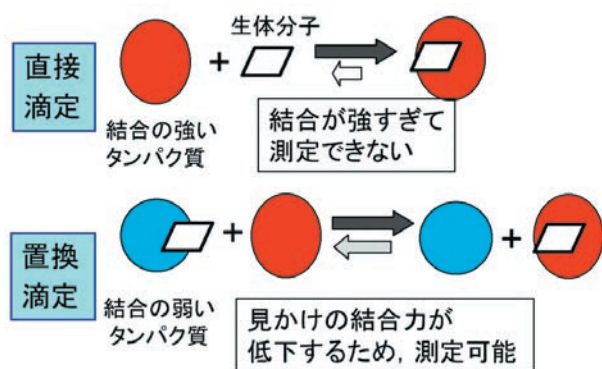


図2 置換滴定の原理

定型熱測定で解析するには、課題があります。1つは、極端に強い相互作用は測定できないということです。結合の強さは、存在する分子の50%が結合する濃度を測定して決めます。しかし、分子間の結合が強い場合、50%が結合する分子濃度が極めて低いため、結合に伴い発生する熱量が測定感度以下になってしまいます。それを解決するために、結合の弱いタンパク質を予め結合させておいて、そこに結合の強いタンパク質を加えて、結合が置き換わるようにすることで、検出限界より高い濃度で熱量

を測定します（このような方法を置換滴定法といいます）。結合の弱いタンパク質は、タンパク質の立体構造に基づいて、遺伝子工学的に作製することが出来ます。

もう1つの課題は、測定データのノイズ対策です。強い結合の測定ではできるだけ低い濃度で測定したいのですが、その分、シグナルが小さくなり、ノイズの比率が大きくなります。最近、熱測定のノイズ対策として、信号処理の分野で用いられている特異値分解を応用して、ノイズからシグナルのピークを分離する方法が開発されています。

このような置換滴定法とノイズ対策の組み合わせにより、強い結合のエネルギー論的解析を進めたいと考えています。しかしながら、このような方法で測定可能な結合の強さは、60〜70キロジュール毎モルと予想されます。それ以上の結合の強さだと分子同士がほとんど離れなくなってしまうからです。70キロジュール毎モル以上の強い結合の測定には、さらに何か新しい工夫が必要です。将来的には、80キロジュール毎モルを超える超強力な結合の解析にも挑戦

したいと考えています。

タンパク質と生体分子の強い結合のエネルギー論的解析ができれば、前述のように、結合における疎水性相互作用の寄与の程度が明らかになります。これは、タンパク質の機能メカニズムとして、とても興味深いものです。そのような知見は、今まで困難であった疎水性相互作用の予測に重要な情報を提供するかもしれません。また、タンパク質に対して強い効果（相互作用）のある薬物を設計することにも役立つかもしれません。

おわりに

私は、昨年度まで九州工業大学大学院生命情報工学研究系助教として、生体分子間「相互作用」を研究してきました。その間、九州工業大学の先生方のご協力が、研究の大きな推進力になっています。最近、研究室の学生の協力により、思いがけなく、応用できそうな酵素阻害剤を発見しています。今後も、先生方や学生たちとの「相互作用」を大切に、「熱」意をもって、研究と教育を進めてゆきたいと思っています。