

タンパク-タンパク相互作用面の構造インフォマティクス

●太田 元規

東京工業大学学術国際情報センター

〈研究の目的と進め方〉

立体構造をなしたタンパク質が働く際には、必ず他の物質との相互作用が発生する。酵素は基質と結合し、その化学的性質を変化させる。レセプターはリガンドと結合し、構造変化を通じて生物学的な信号を伝える。こういった相互作用は特異的な相互作用面でのみ生じるが、その様式についてはまだ多くが理解されていない。

とりわけタンパク-タンパク相互作用を理解し、立体構造に基づくシステムバイオロジー研究の礎を築くためには、相互作用時にどのようなことが起きているのかについて多くの知見を蓄える必要がある。本研究ではタンパク質のデータベース解析を綿密に行い、相互作用面についての博物学的研究を遂行する。特にタンパク質の会合状態 (Oligomeric State) に着目し、どのような因子が会合状態を決定しうるのかを調べる。

〈研究開始時の研究計画〉

タンパク質の会合状態に注目したデータベースを作成し、それをSCOPの階層別に眺めることで会合と構造、機能の関係を明らかにする。とりわけ、相互作用面において置換を調べ会合状態予測につながる知見を得る。

〈研究期間の成果〉

タンパク質の配列データベース、UniProtの注釈を利用して、同一タンパクであるにも関わらず、生物種によって会合状態が異なるものの集合を作成した。また、UniProtとタンパク質の立体構造を分類したデータベース、SCOPとの対応をとることで、同一Foldをとるにも関わらず、会合状態が異なるタンパク質の集合を作成した。生物種によって会合状態が異なるタンパク質集合で、許される会合状態ペアについて遷移マトリックスを作成し分布の偏りを検定すると、ある会合状態から遷移できる会合状態の分布は、会合状態全体の分布と著しい違いを示した。一方同一Foldで会合状態が異なるタンパク質集合で同様の解析を行うと、会合状態による制約はないことがわかった。以上をまとめると、SCOPのFoldレベルでは会合状態に対する制約はほとんどみられないが (何々というFoldをとるから、会合状態は何である、と決められない)、Proteinレベルでは強い制約を受けている。よって会合状態を決める制約は機能を実現するためのものと類推される。

次に同一Familyで会合状態が異なるタンパク質の立体構造を利用してマルチプルアラインメントを作成し、相互作用面のアミノ酸置換を調べた。アミノ酸置換の統計から (非相互作用面) → (相互作用面) となるような置換スコアを作成し、このスコアを用いて相互作用面が同定できるかを調べた。タンパク質の部位を、1) 非相互作用面、2) 同一Familyの別のタンパク質では相互作用面だが、問題のタンパク質では非相互作用面、3) 同一Familyの別のタンパク質では非相互作用面だが、問題のタンパク質では相互作用面、という3種類に分け、おのおのスコアの統計をとると、狙い通り 3) > 2) > 1) の

順になったが 3) と 2) の差はわずかであった。このことから相互作用面にはなりえない部位と、なりうる部位を見分けるのは比較的簡単であるが、後者を 2) と 3) に分離し、相互作用面を確定するには相互作用面のトータルの置換パターンだけでは困難であることがわかった。よって相互作用面の決定因子はホットスポットのような局所的な置換か、立体障害などの構造的な要因が支配的なものでは、と類推される。

〈国内外での成果の位置づけ〉

SCOPのFamilyレベルで構造は同じであるが、会合状態が異なるというデータセットを用いて会合状態変化について調べた研究は国内外ともない。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

会合状態別に、こういった機能をもつタンパク質が多いのかを調べようとしたが、COG,GOなどの対応をとるのが難しく、諦めざるをえなかった。また、一応UniProtの注釈をもとに分類作業をすすめているが、注釈自体が怪しいものもみられ、対応に苦慮した。

〈今後の課題〉

置換マトリクスで相互作用面、表面が判定できなかった理由を詳細な考察から明らかにし、両者の判定が可能な方法を開発する。また、置換マトリクスでの判定が困難な対象、例えば静電相互作用のように会合の相手の状態がわからないと結合が予測できないような会合にどのように対応するのかについても考えたい。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文

1. K. Kinoshita and M. Ota, P-cats: Prediction of catalytic residues in proteins from the tertiary structures, *Bioinformatics* (2005) in press.
2. Y. Hioki, K. Ogasahara K, S. Lee, J. Ma, M. Ishida, Y. Yamagata, Y. Matsuura, M. Ota, M. Ikeguchi, S. Kuramitsu, K. Yutani. The crystal structure of the tryptophan synthase beta subunit from the hyperthermophile *Pyrococcus furiosus*, *Eur. J. Biochem.* 271 2624-2635 (2004)
3. T. Imanishi et al. Integrative annotation of 21,037 human genes validated by full-length cDNA clones. *PLoS. Biol.* 2E162 (2004)
4. N. Handa, T. Terada, Y. Kamewari, H. Hamana, J. R. H. Tame, S.-Y. Park, K. Kinoshita, M. Ota, H. Nakamura, S. Kuramitsu, M. Shirouzu and S. Yokoyama, Crystal structure of the conserved protein TT1542 from *Thermus thermophilus* HB8, *Protein Sci.* 12 1621-1632 (2003)
5. M. Ota, K. Kinoshita and K. Nishikawa, Prediction of catalytic residues in enzymes based on known tertiary structure, stability profile, and sequence conservation, *J.*

Mol. Biol. 327 1053-1064 (2003)

6. T. Aita, M. Ota and Y. Husimi, An in silico exploration of the neutral network in protein sequence space, J. Theor. Biol. 221 599-613 (2003)

1) ソフトウェア

P-cats: <http://p-cats.hgc.jp/p-cats/>