

## 別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

## 主 論 文 の 要 旨

論文題目 Prediction of Membrane Protein Structures by Replica-Exchange Method and Development of More Efficient Replica-Exchange Methods

レプリカ交換法による膜タンパク質の立体構造予測とより効率的なレプリカ交換法の開発

氏 名 浦野 諒

## 論 文 内 容 の 要 旨

タンパク質は20種類のアミノ酸の連なりとして合成され、ネイティブ構造と呼ばれるヘリックス（らせん）やシート等で構成された3次元の立体構造をとる。これらのアミノ酸配列と構造、機能の関係の解明は生物物理学における基本課題の一つである。

生体膜中に存在する膜タンパク質は、細胞内外の物質の輸送に関係する重要な機能を持っている。そのネイティブ構造の決定はX線回折、核磁気共鳴、電子顕微鏡などにより行われてきたが、計算機シミュレーションによる決定は、現在の高い計算機の性能をもってしても困難である。Kokubo&Okamoto(2004,2009)は、膜環境を陰溶媒モデルで表し、分子の可動空間を安定な膜貫通領域のみを対象とすることで、計算量を減らす方法を提案し、さらにレプリカ交換法という構造探索の効率を上げる手法を併用して、ネイティブに近い構造を得た。しかしながら、この手法では、膜貫通ヘリックスのヘリックス構造を剛体として扱ったため、ヘリックス構造のゆがみに関する実験情報なしに使用できないという欠点があった。

以上を踏まえて、申請者は膜タンパク質の安定構造予測法の改善を2つの観点から行った。ひとつには、レプリカ交換法について2種類の改良を行った。1つ目の改良はレプリカ交換を行うときにメトロポリスの判定法による擬似乱数を用いなくて、熱浴法に基づいた微分方程式により交換の場所と瞬間を決めてレプリカ交換シミュレーション

を行う方法を提案した。擬似乱数を用いないことで、それに関わる並列計算時に起きる効率の低下を回避することができる。提案した手法が2次元イジング模型において、従来のレプリカ交換法の結果を再現することを確認した。2つ目の改良は、従来ランダムウォークにより決まっていた各レプリカのとる温度の経路を詳細釣り合い条件を満たしつつ固定することで、レプリカ交換法の効率の指標の一つである最高温度と最低温度の間の往復回数の最大化したことである。当該手法を2次元イジングモデルに対して実行し、ランダムウォークの場合に比べて平均で2倍程度を往復回数を得られるまでを示した。

また、ふたつ目の観点として、Kokubo-Okamotoの手法を拡張し、ヘリックス構造の柔軟性を取り扱えるようにした。具体的には、ヘリックス構造の主鎖の変化を取り入れ、膜環境中のヘリックス構造の制限を表現するポテンシャルエネルギーを陰溶媒モデルに対して追加した。その新手法を3種類の構造既知の膜タンパク質であるグリコフォリンA、フォスフォランバン、補分子レチナールなしのバクテリオロドプシンに対して適用した。新手法によりアミノ酸配列情報だけから構造予測を行えるようになり、ヘリックス構造の曲がりの有無にかかわらず自由エネルギー極小構造としてネイティブ構造に近い構造が得られた。

また、申請者は特にバクテリオロドプシンの解析結果から、予測された安定構造の中に、ヘリックスの凝集による補分子レチナール挿入のための空孔が自発的に形成された構造を確認した。今まで、ヘリックスの凝集によるレチナールの挿入の補助は過去の実験により示唆されていたが、具体的な構造は得られていなかった。さらに、予測構造ではヘリックス構造の曲りはネイティブ構造でのレチナールの場所から離れたヘリックスでは高く再現して、近くでは計算系にレチナールの相互作用がないため、それよりも低かった。また、周囲の相互作用がないフォスフォランバンの予測結果でも同じ傾向が見られた。これらから、膜タンパク質の膜貫通ヘリックス構造の曲がりの要因についての仮説が得られた。膜貫通ヘリックス構造はヘリックスのどの位置で曲がるかはアミノ酸配列だけで決定されており、曲がりの方向と程度は周囲との相互作用により決定されるという仮説を得た。

以上をまとめると、申請者は、レプリカ交換法の改良を行うことでより構造空間探索効率の良い手法を提案してその妥当性を確認した。また、膜タンパク質の取り扱い手法を一般化することにより、より多くのヘリックス型の膜タンパク質に使えるようにした。実験構造を再現し、かつ拡張前では、ヘリックス構造について実験情報なしにできなかった構造予測を行えるようにした。特にバクテリオロドプシンでは、実験では示唆されているが、直接に確認できなかった構造についての情報を得ることができた。