機能性ポリペプチドの コンホメーション解析

Conformational Analysis of Functional Polypeptides

岡 勝仁
Masahito Oka

新しい機能性人工タンパク質の分子設計において、アミノ酸配列-立体構造-分子機能の連関に立脚し、既存の天然タンパク質の枠にとらわれることなく、アミノ酸配列の範囲を D-アミノ酸残基を含む非天然アミノ酸残基にまで拡張することにより、より広いコンホメーション空間の中で立体構造の設計を行うことが可能となる。したがって、対応する分子機能の範囲は大きく広がるものと予想される。近年、20 種類の天然アミノ酸残基からなるタンパク質においてよく知られている α -ヘリックスや β -ストランド以外の新しい二次構造の存在の可能性を示唆する周期性アミノ酸配列からなる新しいタンパク質が次々と見い出されている。また、 α -ヘリックスバンドル構造、 β -シート構造、 β -パレル構造等の既知の超二次構造とは異なる新しい型の超二次構造の存在が X 線結晶解析で明らかにされつつある。これらの事実は既存のタンパク質の立体構造（二次構造や超二次構造）の枠をこえて、ポリペプチドの全コンホメーション空間にわたって新しい立体構造の可能性を探る方向の妥当性を示している。

対象とする機能性ポリペプチドのコンホメーション解析にあたっては構造最適化を効果的にすすめるため、次の二つの方法に従って相互作用を考慮する¹⁾。すなわち、1) 残基内相互作用-近距離相互作用-中距離相互作用-長距離相互作用-分子間相互作用と段階をおって相互作用範囲を拡張してゆく方法と、2) Ala 残基近似 (Gly 残基と Pro 残基以外の 18 種類のアミノ酸の側鎖原子団をメチル基で近似する方法) により骨格構造を求めた後側鎖を含めた相互作用を考慮するという方法を用いる。分子設計という視点からは、ポリペプチドの全コンホメーション空間にわたって、機能発現構造の探索を検討することが望ましいが、現在の計算機の処理能力を考えると、次元数と領域をしばりこむことのできる二次構造と超二次構造が、対象とする空間におけるすべての極小構造を探るという面から妥当な対象と

なる。

このような視点から、一連の周期性ポリペプチドについて、Ala 残基近似を用いて分子力学計算に基づく二次構造の解析を行ってみると、反復アミノ酸配列に対応し、既存の二次構造の範囲をはるかにこえる実に多様な二次構造が安定構造として存在しうることが明らかになった^{1)~4)}。得られた二次構造は二つの範疇、すなわち、右巻きあるいは左巻きというらせんの回転方向が明確に判断できる β^x -ヘリックス (x はらせん一回転あたりの残基数) と、らせんの回転方向の判定が困難な γ -ヘリックス⁴⁾ に大別される。この分類に従うと α -ヘリックスは $\beta^{3.6}$ -ヘリックス、 β -ストランドは二残基周期の γ -ヘリックスとなり、いずれも多くの β^x -ヘリックスや γ -ヘリックスの中の特種な一つのヘリックスにすぎないことになる。現在までのところ、反復残基数が 2 から 6 の範囲の周期性ポリペプチドについて種々の x の値をとる β^x -ヘリックスが構造最適化による安定な極小構造として見い出されている。次の段階として、側鎖原子団の特性を相互作用のなかに考慮することにより Ala 残基近似で得られた極小構造の相対的安定性の変化と、コンホメーションの摂動により、機能性ポリペプチドのアミノ酸配列に対応する安定構造が得られることになる。この際、機能発現の役割を担う側鎖原子団の導入に加えて、機能

ヘリックス軸に沿ってオバレニル基の積層構造が形成されている。
図 1 ポリ(オバレニルアラニン-D-アラニン-アラニン)の最安定構造

発現の背景となるコンホメーションの安定化,あるいは,合成過程における溶解性の向上等の役割をになう側鎖原子団の導入も考慮することになる。具体的応用として,ヘリックス軸に沿った π 電子系側鎖原子団の積層構造を有する機能性ポリペプチドの分子設計を試みたところ, L-アミノ酸残基と D-アミノ酸残基の反復アミノ酸配列からなるポリジペプチドやポリトリペプチドにおいて, Ala 残基近似の段階で安定構造の一つであった β^6 -ヘリックス³⁾が側鎖原子団の相互作用により大きく安定化し,図1に示した導電性機能の発現が期待される π 電子系側鎖原子団の積層構造が π 電子系の拡大にともない一意的な安定構造となることが明らかになった⁵⁾。

二次構造の分子内集合体として形成される超二次構造についても,既知の α -ヘリックスバンドル構造, β -シート構造, β -バレル構造等以外にも,多様な存在様式が可能であることが,分子力学計算により明らかになった^{6),7)}。すなわち 1) L-Ala 残基からなる α -ヘリックスと D-Ala 残基からなる α -ヘリックスの集合体の場合,二つのヘリックスが平行に並ぶという新しい超二次構造を形成すること, 2) β -ストランド部分の残基数に依存して逆平行 β -シート構造,もしくは平行 β -シート構造の変型ともみなせる偏平な β -ヘリックス構造のいずれかを安定構造として形成すること,さらに, 3) L-Ala 残基からなる β -ストランドと D-Ala 残基からなる β -ストランドの分子内集合体の場合,図2に示したような六つの β -ストランドからなるバンドル構造を一意的な安定構造として形成することが明らかになった⁶⁾。

このように,ポリペプチドのコンホメーションは,二次構造,超二次構造というコンホメーション空間内の極めて限定された領域に限ってみても,天然のタンパク質において知られている範囲をはるかに超える多様な二次構造や超二次構造の可能性を持っているといえる。すなわち,天然のアミノ酸残基とはコンホメーション特性の大きく異なる非天然アミノ酸残基やコンホメーションの自由度が厳しく制限されている Pro 残基を効果的に用いることにより,機能性ポリペプチドがとりうる骨格構造の範囲をコンホメーション空間内の未知の領域へと大きく広げることが可能になり,新しい二次構造や超二次構造に基づく機能性ポリペプチドの分子設計の道が大きく開かれてゆくものと期待される。

文 献

- 1) 岡 勝仁, 化学工業, **42**, 346~353 (1991)
- 2) 岡 勝仁, 第2回バイオ高分子シンポジウム講演要旨集, 9~10 (1992)
- 3) M. Oka, Y. Baba, A. Kagemoto, A. Nakajima: *Polym. J.*, **22**, 135~145 (1990)
- 4) M. Oka, Y. Baba, A. Kagemoto, A. Nakajima: *Polym. J.*, **22**, 555~558 (1990)
- 5) M. Oka, I. Ohiso: *Peptide Chem.*, **1993**, 397~400 (1994)
- 6) 岡 勝仁, 石川裕一郎, 高田憲明, 西長 明, 中島章夫: ポパール会記録, **103**, 72~80 (1993)
- 7) Y. Ishikawa, N. Takada, M. Oka, A. Nishinaga: *Peptide Chem.*, **1993**, 461~464 (1994)

(大阪工業大学工学部一般教育科・助教授, 工博, 専門=高分子物性)

六つの β -ストランドが逆平行型に集合してバンドル構造を形成している。

図 2

Ac-[(Ala)₁₀-Gly-Gly-(D-Ala)₁₀-Gly-Gly]₂-(Ala)₁₀-Gly-Gly-(D-Ala)₁₀-NHMe において見い出された新しい超二次構造 (β -ストランドバンドル構造)