

## Topographical Metric to Analyze the Thermal Fluctuations of Protein Conformation

やまと たかひさ さいとう みのる ひご じゅんいち  
 倭 剛久<sup>#</sup>、斎藤 稔<sup>%</sup>、肥後 順一<sup>〇</sup>

<sup>#</sup>東京農工大学・工学部、<sup>%</sup>蛋白工学研究所、<sup>〇</sup>北里大学・薬学部

はじめに

複雑な立体構造をもった生体高分子であるタンパク質。タンパク質分子は凸凹した階層的なエネルギー曲面をもつといわれている[1]。タンパク質分子のダイナミクスを理解するには、エネルギー曲面の形状と分子構造との相関を研究することが重要である。エネルギー曲面の形状はこれまで主にクエンチ法で研究されてきた。クエンチ法は、分子動力学で生成した分子の瞬間構造のポテンシャル・エネルギーを極小化する方法である[2,3]。クエンチ法を用いると分子の熱励起構造とエネルギー極小構造との間の写像を定義できる。ところが、クエンチ法には深刻な問題点がある。「計算量の多さ」である。クエンチ法を用いることなしに、分子動力学の軌跡に含まれる瞬間構造をエネルギー曲面上の異なる谷ごとに分類することはできないだろうか？そのような分類のために、タンパク質分子の異なった立体構造の間の適当な「距離」が定義できると便利である。本研究ではトポグラフィカル・メトリック（地形的計量, TM）という計量を新規に定義し、タンパク質の熱揺らぎの研究に適用した[4]。

多重縮退した基底状態

熱励起された分子構造をクエンチすると、幾つかの異なったエネルギー極小構造が得られる。天然にみられるタンパク質の場合、これらの極小構造の大まかな立体構造はほぼ同じである。しかし、計算機実験による詳細な研究によると、これらの極小構造は原子充填の空間的なパターンに違いがあることがわかった[3]。もう少しわかりやすく言うと、「原子の隣同士の顔ぶれに変化が起こる」ということになる。この事実に着目すると、エネルギー曲面上の「丘を越える」というイベントと「原子の隣同士の顔ぶれが変わる」ということが連関している可能性がある。この仮説はエネルギー曲面の形状とタンパク質の幾何学を結びつける。

3次元地形変化の定量化（トポグラフィカル・メトリックの導入）

「原子の隣同士の顔ぶれの変化」を定量的に計る計量としてトポグラフィカル・メトリック(TM)を導入する。図1にその概念を説明する。実際のタンパク質は3次元であるから、図1の三角形は四面体におきかわる。ここで導入した

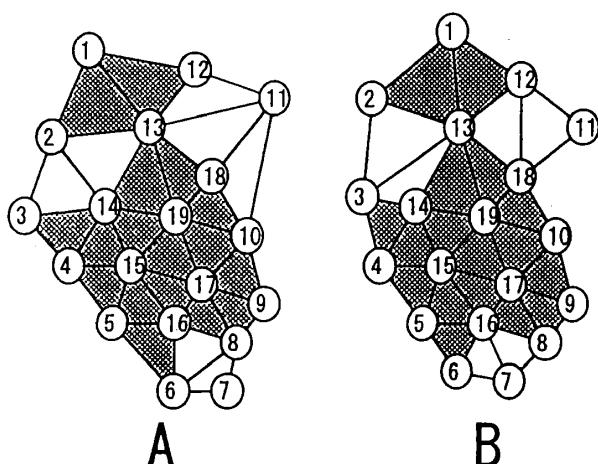


図1 仮想的な2次元分子の地形（左図）

19個の原子からなる分子の2つの構造 A, B が描いてある。隣接する原子同士は線分で結ばれ、分子全体が三角形のモザイクで表してある。両方に共通する三角形は網目、共通でない三角形は白ぬきで表している。AB の「トポグラフィカルな距離」を白い三角形の合計で定義する。この場合は13である。

距離は、数学的な「距離」の性質を備えていることを容易に示すことができる。TM を用いてタンパク質分子の熱揺らぎを解析する。この解析は、タンパク質に限らず任意の凝縮系のダイナミクスの解析に利用できる。

#### トポグラフィカル・メトリック v.s. 平均二乗変位

タンパク質分子の構造変化の程度を計る量として、平均二乗変位がよく用いられている。平均二乗変位は、2つの異なる構造を重ねあわせ、各原子の移動距離の2乗平均を求めて算出する。2つの構造の平均二乗変位が小さいからといってそれらの構造がエネルギー曲面上の同じ谷に属しているとは限らない。なぜならば、タンパク質分子の内部で局所的に原子の空間的な並びを変える構造変化（1）は、局所的であるために平均二乗変位は小さいにもかかわらず、タンパク質の原子充填密度は一般的に大きいため、大きな活性化エネルギーを必要とするからである。逆に、2つの構造の平均2乗変位が大きいかからといって、それらの構造がエネルギー曲面上の同じ谷に属さないとは限らない。例えば、タンパク質分子をひとつのゴムボールと考え、ボールを全体的に押しつぶすような弾性変形（2）は、平均二乗変位は大きくても大きな活性化エネルギーは必要としない。

今度は、TM の性質を考える。（1）のような構造変化の場合、トポグラフィカルな距離は小さくならない。なぜならば、原子の並びの変化そのものをカウントして、全原子数での平均操作をしないからである。逆に、（2）のような構造変化の場合、トポグラフィカルな距離は小さくなる。なぜならば、弾性変形の場合、分子全体の形の変化はあっても、局所的な原子の並びに変化はないからである[5]。以上の理由で、TM は本研究目的に適していると考えられる。

### タンパク質の計算機実験[6]

研究対象に選んだタンパク質はリゾチーム。水中で精密にエネルギー計算を高速におこなう COSMOS90[5]を用いた分子動力学の軌跡から熱平衡後 18.6psec の軌跡を取り出した。そして  $N(=372)$ 個の瞬間構造を抽出して解析に用いた。

### 結果

$N$ 個の構造は平均 5728.3 個の四面体をもっていた。 $N$ 個の構造のすべての対についてトポグラフィカルな距離  $d$  を計算すると、その平均値と標準偏差は、それぞれ  $m=5539.7$ ,  $\sigma=333.7$  であった。 $d$  の最大値は 6399、最小値は 3018 であった。 $N$ 個の構造のすべての対について平均二乗変位の平方根を計算すると、その平均値と標準偏差はそれぞれ  $m_{rms}=0.75\text{\AA}$ ,  $\sigma_{rms}=0.12\text{\AA}$  であった。

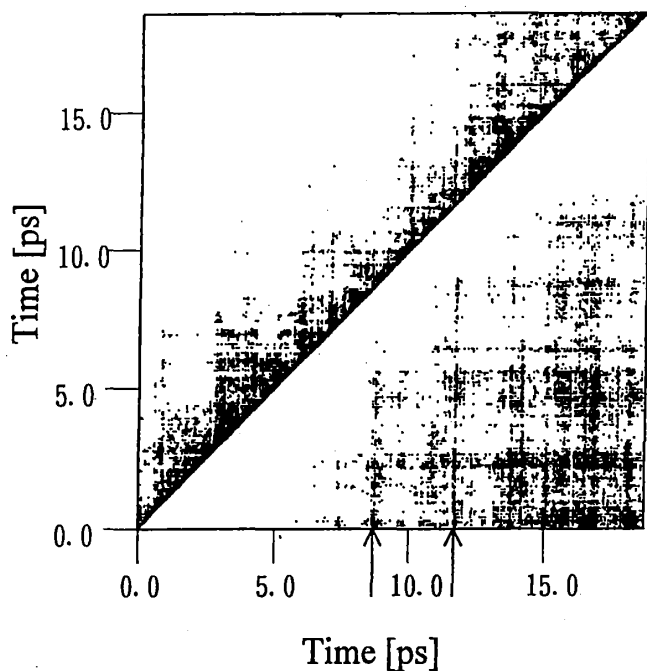


図2 トポグラフィカル距離マップ (左)

二つの異なる時間で、瞬間構造間の距離が  $(m - \sigma)$  より小さい場合に点をうつ (左上)、また  $(m + \sigma)$  より大きい場合に点をうつ (右下)。右下半分で縦に走る2本の黒い線は、それぞれの時間でタンパク質に地形的な変化が突然起こったことを示している (矢印)。

図3 平均二乗変位距離マップ (右)

図2と同様に、瞬間構造間の距離が  $(m_{rms} - \sigma_{rms})$  より小さい場合に点をうつ (左上)、 $(m_{rms} + \sigma_{rms})$  より大きい場合に点をうつ (右下)。

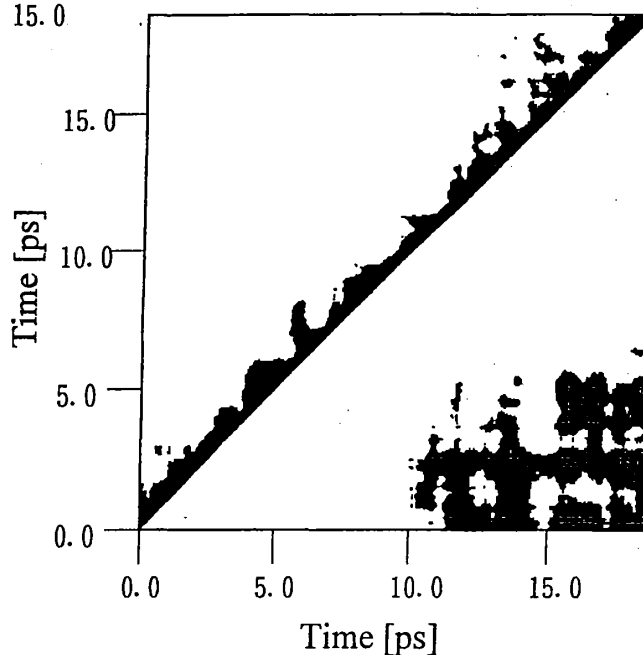


図2と図3にそれぞれ、TMと平均二乗平均を用いた解析結果を示す。図2の左上半分に注目する。3psecから6psecにかけての時間帯に黒い三角形が対角線上看られる。このことは、この時間帯に含まれる構造の間のトポグラフィカル距離がお互いに小さいことを意味する。さらに、この時間帯では、エネルギー曲面上の単一の谷の中を揺らいでいる可能性が示唆される。一方、図3の左上に注目する。この図では3psecから6psecの時間帯には2つに分かれた三角形が見える。平均二乗変位を用いた解析では、この時間帯に含まれる構造は2つのクラスターにそれぞれ分別されることになる。

次に、図2の右下に注目する。2つの矢印の時間に黒い線が見える。このことは、この時間の瞬間構造はそれ以前の構造とトポグラフィカル距離が大きいことを意味する。一方、図3右下にはこのような線は見られない。

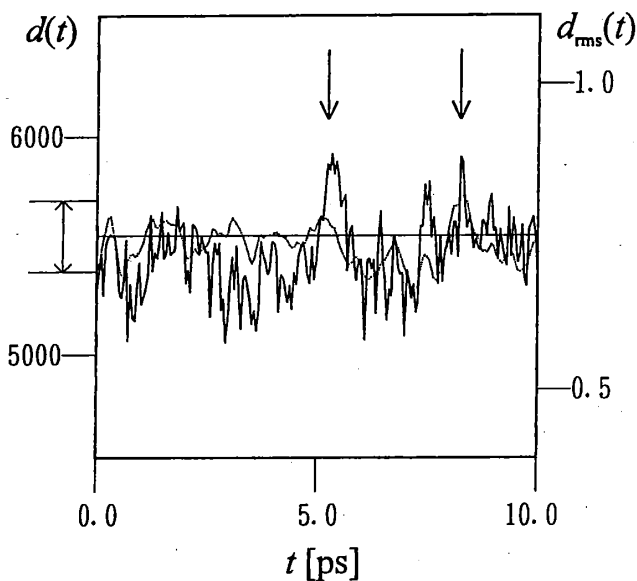


図4 距離の時間変動

ある時間  $t$  から 3.4psec 後にどれだけ距離が増えるかを  $t$  に対してプロットした図。実線がトポグラフィカル距離( $d$ )、破線が平均二乗変位の平方根( $d_{rms}$ )。標準偏差 $\sigma$ 、 $\sigma_{rms}$ が図左の矢印の幅になるように描いてある。図上の2つの矢印は、図2の2つの矢印に対応している。

図4に距離の時間変化を示す。この図から、トポグラフィカル距離が時間に対して敏感に変動している様子が分かる。

以上でTMがタンパク質の熱揺らぎの解析に有効であることがわかった。TMを用いてさらに長時間の軌跡を解析する予定である。

#### 参考文献

- [1] H. Frauenfelder, F. Parak, R.D. Young, Ann. Rev. Biophys. Chem. 17 (1988) 451.
- [2] R. Elber, M. Karplus, Science 235 (1987) 318.
- [3] T. Noguti, N. Go, Proteins 5 (1989) 125.
- [4] T. Yamato, M. Saito, J. Higo, Chem. Phys. Lett. 219 (1994) 155.
- [5] J-F. Gibrat, N. Go, Proteins 8 (1990) 258.
- [6] M. Saito, Mol. Sim. 8 (1992) 321.