

クラスター解析による Photoactive Yellow Protein 周辺水分子の時空構造に関する理論的研究

○水上 卓¹、杉山 歩²、Acep Purquon²、齋藤 大明² 長尾 秀実^{1,2}
(北陸先端大院・マテリアル¹、金沢大院・自然²)

【序】

PYP(photoactive yellow protein)は *Ectothiorhodospira halophila* のもつ青色感受性の光走性色素である。発色団としてパラ-クマル酸をもち、その *trans-cis* 光異性をトリガーとして蛋白質部分が構造変化し、機能発現の中間体が生じる。機能発現に向けた構造変化のメカニズムを解明することは、大きなテーマである。一方、蛋白質周辺の水分子はバルク状態と比べて特異な性質を持つということはひろく知られている。我々は蛋白質周辺の水分子構造がその蛋白質の構造変化に重要な役割をもつと考え、蛋白-水分子相互作用に焦点をあてそのダイナミクスの解析を行ってきた。

水分子の静的/動的構造の解析については、広く研究が行われてきた。多くの場合、(動経方向の) 分布関数を用いて解析が行われてきたが、最近グリッド状に空間を切り分け、その空間上の点における物理量の議論が行われた^[1,2]。また水分子ネットワークをグラフと見なし解析する試みもある^[3]。分子動力学計算では各水分子に index をわりふって計算を行うために、蛋白質側から見て同じ配置でも、例えば複数の水分子を"入れ替え"た配置は水分子の index では異なったコンフォメーションと見なされ、構造変化を定量的に見積もるのに困難があった。それに対して以上のアプローチは、蛋白質側から見て水分子を"名無し"で入れ替え可能な粒子におとしこむ試みとも言うことができる。

今回、蛋白質と周辺水分子の相互作用を解明することを目的に、ピコ秒領域において水分子のグローバルな構造を時間平均して得られた空間分布を用いることを提案し、時刻の異なる分布構造間の距離を定義することによって階層的クラスター解析をおこない、蛋白質周辺の水分子構造のクラス分けを行った。その結果を用いて蛋白質-水分子間のダイナミクスを議論する。

【方法】

初期構造は PDBID:2PYP を用いた。分子動力学シミュレーションに用いた力場は Amber03、および発色団であるクマル酸周辺の電荷分布を Gaussian03 による量子力学計算(B3LYP/6-31+G(d,p))によって決定し、それから導いた力場を採用した。TIP3P 剛体モデル水分子を蛋白質周辺に 11131 個配置し、300K にて NVT アンサンブルで分子動力学シミュレーション

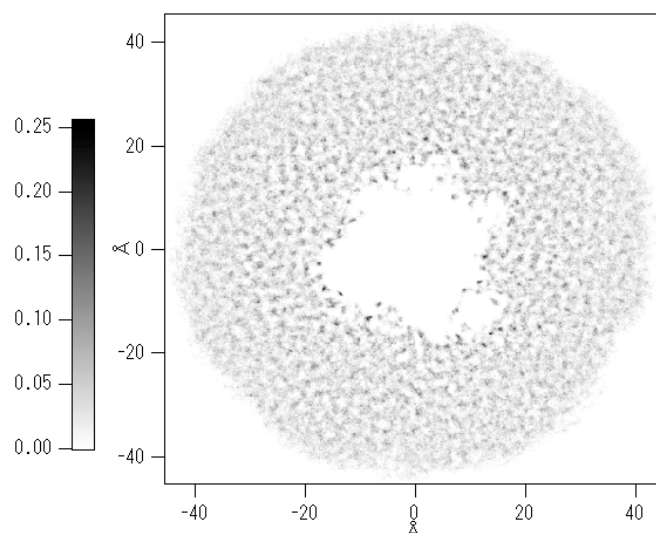


図1. 水分子の平均空間分布。積算は25ps。スケールは1Å³あたりの粒子数濃度

を行った。トータルのランタイムは 5 ns である。

周辺水分子のグローバルな平均構造として、水分子重心位置の空間分布を採用した。まず MD シミュレーションを実行している Euclid 空間を 0.2Å 毎にグリッド状に区切った。生じた一辺 0.2Å の各 cube に水分子の重心が含まれる場合、その bin(cube) の count を 1 上げる操作を繰り返し、分布を得た。時間による積算を行う場合は、積算 frame shot 数で割ることによって平均値を求めた。異なる時刻で得られた水分子空間分布間の距離は、分布間の平均二乗分散によって定義した。階層的クラスタ解析は、最近隣法、群平均法、ward 法を用い、樹形図を作成した。

【結果と考察】

図 1 に 25ps 積算、Z 軸方向に 5Å 厚でスライスした水分子平均空間分布を示す。中心部の空白は蛋白質の占める空間である。25ps の時間領域では、空間上で水分子重心の強く分布している領域と、ほとんど分布していない領域がはっきりと分離していることがわかる。次に、500ps のトラジェクトリーを 100 個に等分割し、それぞれ 5ps の領域で積算した水分子重心の空間分布を 100 個用意した。この 100 個の時系列分布の間の相互距離を計算し、階層的クラスタ解析を行った。蛋白質の表面から 4Å の空間に存在する水分子の分布を用い、

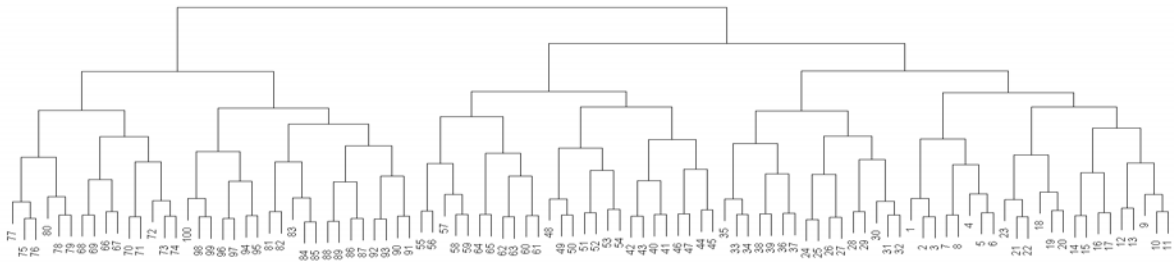


図 2. 蛋白質表面 4Å の水分子空間分布のクラスタリング。

index は時刻 5(i-1) ps から 5i ps の積算による空間分布であることを示す。

ward 法によってクラスタリングされた結果の樹形図を図 2 に示す。その結果、水の構造類似性で測った複数のクラスタレベルが存在し、時系列的にレベル間の構造転移を行っていることが解った。同じ手法による解析を蛋白質に対しても行い、蛋白質と周辺水分子との樹形図を比較すると、ある程度の類似性を示すことが解った。これは蛋白と周辺水分子の構造変化に同期性があることを示唆する。講演ではこれらのクラス分けされた諸構造を用い、ポテンシャルエネルギーなどの計算により評価し、蛋白質と周辺水分子の相互作用、安定性およびダイナミクスを議論する。

[参考文献]

1. J.Higo et al., *PNAS*, 98, 5961-5964(2001)
2. V.A.Makarov et al., *Biophysical Journal*, 79, 2966-2974(2001)
3. N.Matsumoto and I.Ohmine, *J.Chem.Phys.* 104, 2705-2712(1996)