

近年の実験的・理論的手法の発展により、タンパク質のダイナミクスの理解は大きく進んでいる。特に、マイクロ秒領域でのダイナミクスは実験およびシミュレーションから直接観測できるようになりつつあり、これらの情報を相補的に取り込むことで、分子レベルでの理解が大きく進むことが期待される。一方で、シミュレーションから得られる多自由度・長時間トラジェクトリの解析は容易ではなく、特に構造変化の遷移過程をより詳しく調べるための方法が必要とされている。

本研究では、トラジェクトリの時間情報を有効に活用する、新たなアプローチを提案するとともに、タンパク質のフォールディング過程の反応機構とダイナミクスを分子レベルから明らかにすることを目指して、D. Shawらにより得られたVillin headpiece (HP35) (野生型 (WT) とその変異体 (NleNle)) タンパク質の~300 μ sのトラジェクトリ [1] の解析を行った。

従来、トラジェクトリから重要なモードを抜き出す際には、分散共分散行列を用いて分散の大きい (=“柔らかい”) モードを調べる主成分解析法 (principal component analysis (PCA)) が広く使われていたが、我々はそれらのモードの時間相関関数行列から、より寿命の長い (=“遅い”) モードを求める方法 (dynamic component analysis (DCA)) を開発した [2]。

HP35タンパク質は3つの α ヘリックスからなるタンパク質であり、最も速くフォールドするタンパク質の一つとしてよく知られている (図1)。本研究ではまず、DCAによりトラジェクトリに含まれる一番遅いモード (DC1) を調べた。その結果、DC1はタンパク質のフォールディング/アンフォールディングを適切に表わしていることが確認され、また、このモードに沿って大まかに2状態をとることが分かった。一方で、自由エネルギー障壁付近では細かな起伏が見られた (図2)。さらに、遷移過程のダイナミクスを調べるためにフォールディング/アンフォールディング遷移の遷移時間の分布を求めたところ、大きなばらつきが見られた。これらの結果は、中間状態や複

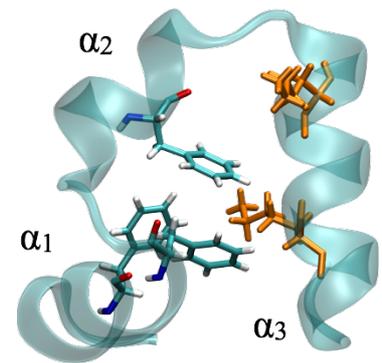


図1: HP35の構造。NleNle変異体ではLys (黄色) がNleに置き換えられる。

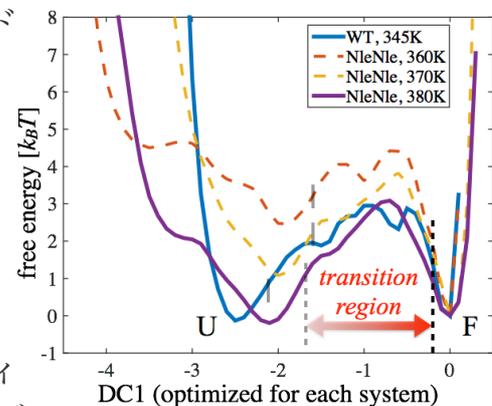


図2: WTおよびNleNle変異体のDC1に沿った自由エネルギー曲線。

数の経路が存在することが示唆している。

次に、より詳細な反応過程を調べるために、WTについて、DC1および他のDCモードで表される二次元自由エネルギー面を調べた。その結果、DC1とDC4で表される自由エネルギー面において、反応経路が主に2つに分けられることが明らかになった(図3)。これらの経路に沿ったタンパク質の構造変化を調べたところ、上の経路(DC4>0)では α_3 ヘリックスの端から壊れていくのに対して、下の経路(DC4<0)では α_1 - α_2 の間のコンタクトが壊れていくことによってアンフォールディングが進むことがわかった。一方で、N1eN1e変異体では、 α_3 ヘリックスから壊れる経路をほとんど通らず、またアンフォールド状態でも α_3 ヘリックスは比較的安定であることも明らかになった。この結果は、N1eN1e変異体ではタンパク質を部分的に安定化させ、また反応経路を絞り込むことで、より早いフォールディングを可能にしていることを示唆している。

本研究は、HP35のように単純に見える小さなタンパク質であっても、フォールディング過程は複数のフォールディング/アンフォールディング遷移の経路を持ち、複雑なダイナミクスをとることを示している。さらに、実際には、(局所的な)より速い運動など異なるタイムスケールに渡るダイナミクスも同時に起きており、単分子FRET法などの最新の実験からも複数の時間スケールを含む量が観測されている。これらの複雑なダイナミクスがどのようにカップルしているのか、またそれを(長時間)分子動力学シミュレーションのトラジェクトリを用いてどのように解析すればいいのかについても当日議論する予定である。

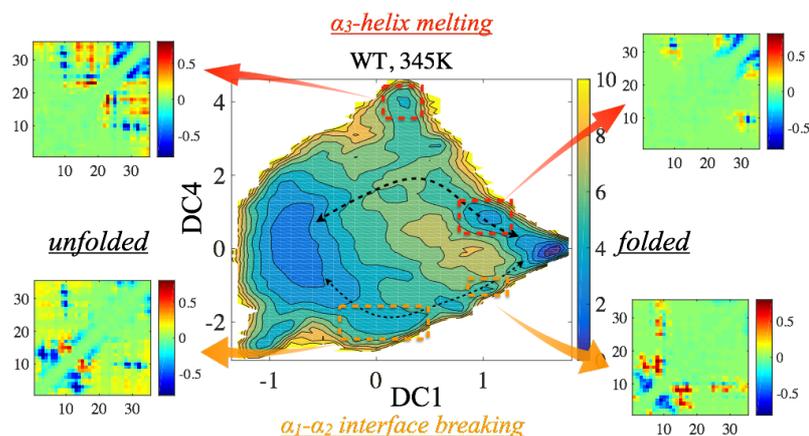


図3: WTのDC1とDC4に関する二次元自由エネルギー面。contact mapは天然状態と比べてcontactがどのように増減しているかを示す。

[1] S. Piana *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 17845 (2012)

[2] T. Mori and S. Saito, *J. Chem. Phys.* **142**, 135101 (2015)