

多時間相関関数および2次元寿命スペクトルによる階層的構造変化ダイナミクスの解析：  
アデニル酸キナーゼへの応用

(分子科学研究所<sup>1</sup>, 京都大学大学院・理<sup>2</sup>, 総合研究大学院大学<sup>3</sup>)

○小野 純一<sup>1</sup>, 高田 彰二<sup>2</sup>, 斉藤 真司<sup>1,3</sup>

Analysis of hierarchical conformational dynamics based on multi-time correlation functions  
and two-dimensional lifetime spectra: Application to adenylate kinase

(Institute for Molecular Science<sup>1</sup>, Kyoto University<sup>2</sup>, SOKENDAI<sup>3</sup>)

\*Junichi Ono<sup>1</sup>, Shoji Takada<sup>2</sup>, and Shinji Saito<sup>1,3</sup>

**【序】** タンパク質のような生体分子系では、ピコ秒・ナノ秒オーダーの局所的な構造揺らぎからマイクロ秒・ミリ秒オーダーの大域的な立体構造変化まで幅広い時間・空間スケールの中に多種多様な運動が存在する[1]. このような時間的にも空間的にも階層的なダイナミクスの中に有意なカップリングが存在するのか、そして、これらのカップリングが生化学機能の発現において重要な役割を果たしているのかを調べることは、生体分子の立体構造とその分子機能との間の相関(構造機能相関)を動的な側面から理解する上で重要である. しかし、従来の理論研究ではタンパク質の構造機能相関が主に静的あるいはエネルギー的観点から議論されており、その構造機能相関をダイナミクスの観点から議論するための解析手法は未だ十分に確立されていない. そこで我々は、特にタンパク質の立体構造変化に伴う状態間遷移の動的相関を解明するため、多時間相関関数に基づいた新しい時系列解析手法の開発を行った[2]. 具体的には、構造を特徴付ける物理量(FRETのドナー・アクセプター間距離など)の三時間相関関数に二次元逆ラプラス変換を施すことによって得られる「二次元寿命スペクトル」の待ち時間依存性を調べることで、異なる寿命を持つ複数の運動間のカップリングの時定数を決定することが可能となった(図1). これは、主に単純液体中での超高速振動ダイナミクスの解析に従来用いられている二次元赤外分光法の理論を応用したものである. 本手法を確立し、生体高分子の多様な立体構造変化の遍歴と相関関係を調べ、生命現象における動的かつ階層的な機能発現メカニズムの解明を進めることが本研究の目的である.

**【方法】** 多時間相関関数および二次元寿命スペクトルに基づいた解析手法の適用例として、マルチドメイン型タンパク質のベンチマークとして知られるアデニル酸キナーゼ(AK)の自発的立体構造変化を考える(図2). AKはATPとAMPから2つのADPを合成する反応を触媒するリン酸基転移酵素であり、最近のFRETの実験結果から、基質が存在しない状況下において複数の準安定状態が存在することが明らかになっている[3]. 計算上、多時間相関関数が収束するためには状態間遷移のイベントを十分に発生させる必要があるため、長時間のトラジェクトリが必要となる. そこで本研究では、計算コスト削減のため、Langevin熱浴と結合した粗視化モデル(アミノ酸配列の特異性と局所的な柔軟性を導入した非格子型郷モデル[4])を採用し、AKの長時間分子動力学シミュレーションを実行した. 構造変化を捉える反応座標として、FRETのドナー・アクセプター間距離(主にV142-A203)を採用し、一時間相関関数および多時間相関関数の数値解析を行った. 時間相関関数の非指数関数的な減衰振る舞いを「指数関数的減衰成分の重ね合わせ」とみなすと、寿命に関する分布関数(寿命スペクトル)は時間相関関数の逆ラプラス変換により求めることができる. 本研究では、Tikhonov正則化法により一次元および二次元逆ラプラス変換を行った. また、タンパク質の寿命と構造を結びつけるため、位置座標に対して主成分分析を行い、反応座標を主成分の線形結合で(近似的に)展開することで寿命スペクトルの各ピークを主成分の観点から帰属した.

【結果と考察】 主要な結果を以下に要約する[2]. (詳細に関しては当日議論を行う).

- (1) AK の FRET 距離に関する一時間相関関数を計算したところ、複数の温度で非指数関数的な減衰振る舞いが観測された. これに一次元逆ラプラス変換を実行し、一次元寿命スペクトルを求めたところ、短時間から長時間まで幅広い時間スケールの中に複数の運動が存在し、主に速い成分、中間的成分、および遅い成分に分類できることが明らかになった (図 3).
- (2) 反応座標 (V142-A203 距離) と各主成分の線形係数を求め、反応座標と強い相関を持つ主成分の自己相関関数と寿命スペクトルを調べた結果、ATP 被覆ドメインが局所的に変化する構造遷移が中間的および遅い成分の起源であることが明らかになった.
- (3) 一時間相関関数に含まれる同時確率分布の時間依存性を調べた結果、寿命が初期構造の違いに強く依存し、特に V142-A203 距離の初期値が長距離および短距離の場合、それぞれ中間的寿命および長寿命を持つことが明らかになった. ここで、長距離構造は ATP 被覆ドメインが局所的に変性した構造であり、短距離構造は ATP 被覆ドメイン内の  $\beta$  ヘアピンとループが互いに配置を入れ替えたフリップ中間構造である (図 3).
- (4) 三時間相関関数および二次元寿命スペクトルを解析した結果、二次元スペクトルの非対角成分に複雑な待ち時間依存性が観測された (図 4). 二次元寿命スペクトル (寿命の同時確率分布) から各寿命成分間の遷移行列を求め、その待ち時間依存性を調べた結果、長時間にわたりマルコフ過程 (状態間遷移が「記憶の無いジャンプ」によって記述される確率過程) と著しく異なることが明らかになった. これはフリップ中間構造へと至る遅い構造遷移が他の運動と有意に相関していることを示しており、この中間構造の存在が機能発現に何らかの役割を果たしている可能性を示唆している.

[1] K. Henzler-Wildman and D. Kern, *Nature* **450**, 964 (2007).

[2] J. Ono, S. Takada, and S. Saito, *J. Chem. Phys.* **142**, 212404 (2015).

[3] M. Pirchi, G. Ziv, I. Riven, S. S. Cohen, N. Zohar, Y. Barak, and G. Haran, *Nat. Comm.* **2**, 493 (2011).

[4] W. Li, T. Terakawa, W. Wang, and S. Takada, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 17789 (2012).

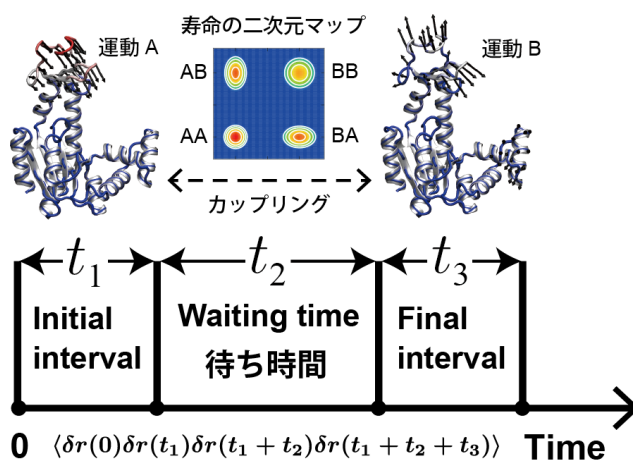


図 1. 多時間相関関数の概念図.

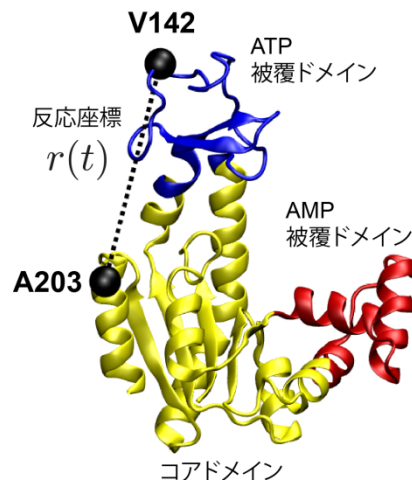


図 2. AK の open 結晶構造と反応座標.

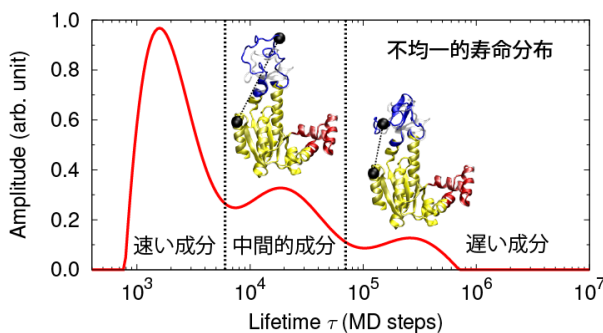


図 3. V142-A203 距離の一次元寿命スペクトル.

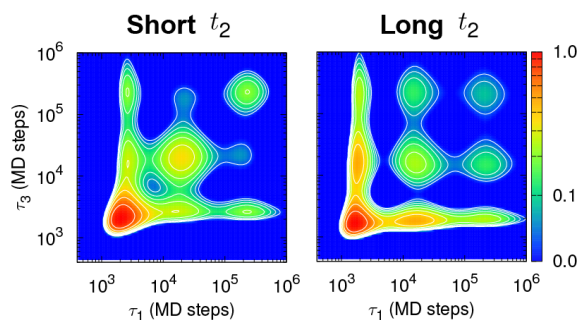


図 4. 二次元寿命スペクトル.