

論文内容の要旨

論文題目：

DTA: Dihedral transition analysis for characterization of the effects of large main-chain dihedral changes in proteins

(二面角遷移に基づくタンパク質立体構造変化の解析手法)

氏名 二島 渉

1. 序論

タンパク質の立体構造変化は、しばしばその機能と密接に関係しており重要である。これらの変化はドメイン運動のような大域的な動きからループの移動のような局所的な動きまでさまざまなものがある。本研究では、2つタンパク質の立体構造における主鎖の二面角の差に注目するというこれまでとは違った視点で構造変化を特徴づける解析手法(DTA)を開発した。また、高解像度なものにしばった広範囲で非冗長な 459 個のタンパク質の組に対して DTA を適用し、タンパク質において主鎖の二面角変化が与えるタンパク質の立体構造変化を解析した。

2. 手法

構造変化を起こすタンパク質の二つの立体構造を比べた場合の二面角の差 $\Delta\phi$, $\Delta\psi$ が構造のある部分に局所的に集中して大きな値をとる現象がある (二面角遷移)。DTA はこれらの二面角遷移の性質を利用している。

■DTA の一連の流れは次の4ステップからなる。

- Step1:** 2つの構造の差から、主鎖の二面角 φ , ψ , ω について二面角遷移が起きているかを判定する。
- Step2:** ポリペプチド鎖を、二面角遷移が起こった断片(Transition Fragment[TF])と起こってない断片(Stable Fragment[SF])に分ける。
- Step3:** SF のクラスタリングを行い、お互いの RMSD が小さい SF を統合し Stable Region(SR)と呼ばれる領域にまとめる。
- Step4:** TF,SF,SR は、それらの断片の長さ、二乗平均平方根変位(RMSD)、Non Locality Score(NLS)と呼ばれる周囲の断片に与える影響を数値化したもので特徴づける。

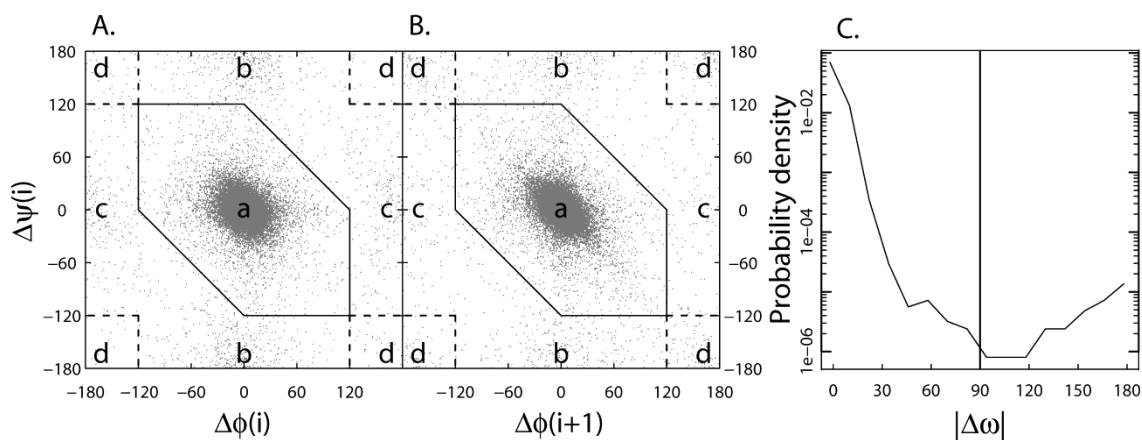
※Step1 での二面角遷移の判定には、次のような基準で行う(図1参照)。

$$(1) |\Delta\varphi(i)| \geq 120^\circ \quad (2) |\Delta\psi(i)| \geq 120^\circ \quad (3) |\Delta\varphi(i) + \Delta\psi(i)| \geq 120^\circ \quad (4) |\Delta\omega(i)| \geq 90^\circ$$

3. 結果

【二面角変化の性質】

459個の高解像度で非冗長、有意に構造変化をしている同じアミノ酸配列のタンパク質の組を用い、側鎖を挟んだ組($\varphi(i), \psi(i)$)とペプチド平面を挟んだ組($\psi(i), \varphi(i+1)$)と $\omega(i)$ の二面角に対して二面角の差の分布を調べた(図1)。その結果、大きく二面角が変化する領域にクラスタがあることを確認した。また、 $\Delta\varphi(i)$, $\Delta\psi(i)$, $|\Delta\varphi(i) + \Delta\psi(i)|$ の分布からも遷移が確認でき 120° で極小値をとることがわかった。これらの二面角変化の性質は、DTA の二面角遷移の判定基準で妥当であることを示している。



【図1】 二面角の変化と二面角遷移の判定基準。(A): 側鎖を挟んだ組 ($\varphi(i), \psi(i)$)の分布,(B): ペプチド平面を挟んだ組 ($\varphi(i+1), \psi(i)$)の分布, (C): $\omega(i)$ の分布 実線は、二面角遷移のしきい値、波線は、(A)s-flip, (B)p-flip のしきい値

【S-flip, p-flip の統計】

特別な角度における二面角遷移で興味深いものに s-flip, p-flip がある (図 1 参照)。これらは最少単位の構造変化であり、この p-flip, s-flip がどのぐらいの割合で起こっているかという重要な統計データを示した。

【TF, SF, SR の統計】

前述の 459 組のデータセットを用い DTA を行った結果、82% のタンパク質で二面角遷移が起こっていることがわかった。SR が 1 つであるタンパク質の割合は 54% で、ほとんどのタンパク質が局所的な構造変化であると考えられる。TF, SF の数はそれぞれ 523 と 1287 であった。また、TF, SR の長さ、RMSD などの分布の統計データも示した。

【TF のランキングにより抽出される典型的な動き: hinge, flap, path-preserving】

TF の NLS や RMSD の値をランキングすることで、典型的な動きを明らかにした。

• hinge の動き

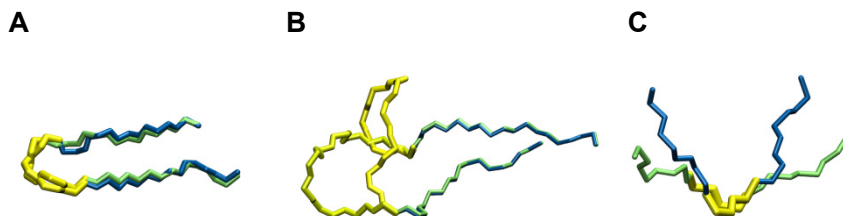
TF の NLS の大きい順にトップ 10 を調べたところ、すべての動きが hinge であった。8 つ場合は、大きな別の分子に結合するときに起こっていた。残りの 2 つはアロステリーに関係していた。

• flap の動き

局所的で(NLS \leq 1.0 Å) RMSD が大きい順にトップ 10 を調べたところ、8 つの動きが特定の断片が局所的に上下する flap の動きであった。6 つの場合が、小分子に結合している場合に起こっていた。

• path-preserving の動き

局所的で(NLS \leq 1.0 Å) RMSD が小さい順にトップ 10 を調べたところ、すべての動きは、主鎖がほとんど動かない path-preserving の動きであった。3 つの場合がリガンド結合に関係していた。



【図 2】 二面角遷移によって特徴づけられた動き TF は黄色で示してある部分。(A): "path-preserving", (B): "Flap", (C): "Hinge"

4. 考察

【hinge, flap, path-preserving の動きと機能との関係】

DTA により、hinge, flap, path-preserving の動きを抽出することに成功した。ランキングした結果から hinge, flap, path-preserving で、機能と関連がある動きが数多く認められた。Path-preserving は、これまでの手法では検出できなかった動きであり、DTA では頻繁に検出されている動きである。これらのことから、DTA は、今までの手法では検出できなかった機能的な動きまでも検出するのに有効な手法であると考えられる。

DTA は、二面角遷移に基づく解析手法なので、立体構造間の動きに二面角が大きく変化する領域がないと構造変化を特徴づけることができない。例えば、次のような例がある。

- ・ドメイン運動の回転軸がヒンジの二面角の軸にほぼ一致する場合、小さな二面角変化で全体に運動が伝わるため、二面角遷移が起こらずそのヒンジが検知できない。
- ・ヒンジで連続的に少しずつ二面角が変わることで大域的な構造が変わる場合、そのドメイン運動は検知できない。

このことからわかるように DTA は、今までに新しい視点からタンパク質の構造変化を解析する手法である。より効果的に運動を解析するには、これまでのようなドメイン運動を検出する手法と併用するのが望ましい。

5. まとめ

我々は、二面角の遷移に基づきタンパク質の組の構造変化を特徴づける手法を開発した。459 組のタンパク質の立体構造をもとに、これまで解析されたことのない二面角遷移や DTA で割り当てた断片(TF,SF,SR)の統計データを示した。さらに TF の二乗平均平方根変位(RMSD)、Non Locality Score(NLS)と呼ばれる周囲の断片に与える影響を数値化したものを使用し、ランキングすることで hinge, flap, path-preserving が典型的な動きであると確認した。これらのランキングされた動きを検証した結果、DTA は機能と関連した動きを抽出するのに有効な手法で、これまでの手法では検出できなかった動きまでも検出することができる結論付けられた。DTA は、いくつかの検知できない動きも存在するが、新しい視点から機能に関連した動きを特定し、それらの動きを特徴づけるのに効果的な手法である。

6. 補追

459 組のタンパク質の DTA の結果は、データベースにまとめインターネット上で公開している。 URL : <http://dynamics.iam.u-tokyo.ac.jp/DTA/>