

## [研究紹介]

「研究成果」の項で述べましたように、私は水溶液中の蛋白質の構造安定性（自由エネルギー）およびそれに対する基質分子の結合親和力（分子認識）を原子レベルで解析する理論（3D-RISM/KH）を構築してきました。しかしながら、平衡状態にある蛋白質の構造や熱力学を解析するだけでは、その機能を明らかにすることはできません。蛋白質がその機能を発現する上で、平衡状態の周りの構造揺らぎやダイナミクスが本質的な役割を演じるからです。例えば、イオンチャネルではゲーティング（弁の開閉）と呼ばれる機構がイオンの透過速度を制御していますが、このゲーティングは蛋白質の構造揺らぎの一例であります。蛋白質の構造揺らぎは、薬剤化合物の設計においても、重要な関心事のひとつになっています。薬剤化合物の設計においては、標的蛋白質の活性部位に対する薬剤分子の結合親和力を求めることが問題の核心ですが、この結合親和力は蛋白質が薬剤化合物を結合した状態（「複合体」と呼ぶ）とそれらが独立に溶液中に存在する状態（「自由状態」と呼ぶ）の自由エネルギーの差で決まります。しかしながら、複合体の安定構造は必ずしも自由状態にある蛋白質の安定構造とは一致しません。むしろ、自由な状態にある蛋白質の揺らいだ構造になっている可能性が高いのです。このため「原子レベルで標的蛋白質の揺らいだ構造をいかに特徴づけるか」は、知的創薬分野における焦眉の課題になっています。私は豊田理研において「水溶液中の蛋白質の構造揺らぎを制御する統計力学理論」の構築を目指しています。

私は、すでに、統計力学の二つの方法（一般化ランジェヴァン理論および3D-RISM/KH理論）を結合することにより、溶液中の蛋白質の構造ゆらぎを原子レベルで記述する新しい理論を提案しています。[Kim, Hirata: J. Chem. Phys., 138, 054108 (2012)] この理論は蛋白質の構造ダイナミクスと溶液の密度揺らぎの時間発展を記述する次の二つの方程式から成り立っています。

蛋白質の構造ダイナミクス：

$$M_{\alpha} \frac{d^2 \Delta \mathbf{R}_{\alpha}(t)}{dt^2} = -k_B T \sum_{\beta} (\mathbf{L}^{-1})_{\alpha\beta} \cdot \Delta \mathbf{R}_{\beta}(t) - \int_0^t ds \sum_{\beta} \Gamma_{\alpha\beta}(t-s) \cdot \frac{\mathbf{P}_{\beta}(s)}{M_{\beta}} + \mathbf{W}_{\alpha}(t) \quad (1)$$

溶液の密度揺らぎ：

$$\frac{d^2 \delta \rho_{\mathbf{k}}^a(t)}{dt^2} = -k^2 \sum_{b,c} J_{ac}(\mathbf{k}) \chi_{cb}^{-1}(\mathbf{k}) \delta \rho_{\mathbf{k}}^b(t) - \frac{i\mathbf{k}}{N} \sum J_{ac}^{-1}(k) \int_0^t ds M_{\mathbf{k}}^{bc}(t-s) \cdot J_{\mathbf{k}}^b(s) + i\mathbf{k} \cdot \Xi_{\mathbf{k}}^a(t)$$

(2)

この内、蛋白質の構造ダイナミクスを記述する方程式 (1) において、 $\Delta\mathbf{R}_\alpha$  は蛋白質原子座標の平衡位置からの変位、 $\mathbf{P}_\alpha$  はその運動量であります。この式は連成振動子に関するランジェヴァン方程式と類似の形式をもっていますが、その摩擦項 (右辺第二項) と揺動力項 (右辺第三項) を無視すると、形式的に調和振動子を記述するフック型の方程式に帰着します。すなわち、原子の変位に比例する復元力が働き、その力の定数 ( $k_B T/\mathbf{L}$ ) は原子座標揺らぎの分散・共分散行列 ( $\mathbf{L}=\langle\Delta\mathbf{R}\Delta\mathbf{R}\rangle$ ) の逆行列になっています。(ただし、 $\langle\rangle$  は蛋白質および溶媒を含む全系のアンサンブル平均) このことは蛋白質の構造揺らぎを支配する自由エネルギーが、原子座標の二次形式になっていることを意味します。

$$F(\{\Delta\mathbf{R}\}) = \frac{1}{2} k_B T \sum_{\alpha,\beta} \Delta\mathbf{R}_\alpha \cdot (\mathbf{L}^{-1})_{\alpha,\beta} \cdot \Delta\mathbf{R}_\beta \quad (3)$$

そして、揺らぎの復元力となる「力の定数」は、原子座標に関する自由エネルギー曲面の二階微分で与えられます。このことは、また、3D-RISM/KH 理論に基づき蛋白質の構造揺らぎを求める可能性を意味しています。何故なら、蛋白質の自由エネルギーは 3D-RISM/KH 理論に基づいて原子座標の関数として与えられるからです。

本研究では、以上の理論を以下に述べる二つの研究課題に具体化します。

### (1) 蛋白質構造揺らぎ理論と分子設計への応用

蛋白質の平衡構造は熱力学条件 (温度、圧力、変成剤濃度) の変化やアミノ酸置換 (ミューテーション) などの摂動によって変化します。この摂動による蛋白質の構造変化は変分原理に基づいて次のように求めることができます。まず、蛋白質の自由エネルギー曲面 ((3)式) に摂動 ( $\mathbf{f}$ ) に比例する自由エネルギー一変化の項を付け加えます。

$$F(\{\Delta\mathbf{R}\}) = \frac{1}{2} k_B T \sum_{\alpha,\beta} \Delta\mathbf{R}_\alpha \cdot (\mathbf{L}^{-1})_{\alpha,\beta} \cdot \Delta\mathbf{R}_\beta - \sum_{\alpha} \Delta\mathbf{R}_\alpha \cdot \mathbf{f}_\alpha \quad (4)$$

この式に変分原理

$$\frac{\partial F(\{\Delta\mathbf{R}\})}{\partial \Delta\mathbf{R}_\alpha} = 0$$

を適用すると、摂動 ( $\mathbf{f}$ ) によって引き起こされる蛋白質の構造変化を記述する線形応答理論を導き出すことができます。(この式自身はすでに 2006 年に横浜大学の池口らによって全く別の仕方で導かれています。)

$$\langle \Delta \mathbf{R}_\alpha \rangle_1 = (k_B T_0)^{-1} \sum_\beta \langle \Delta \mathbf{R}_\alpha \Delta \mathbf{R}_\beta \rangle_0 \cdot \mathbf{f}_\beta \quad (5)$$

本研究課題はこの理論式に基づいて熱力学的摂動やアミノ酸置換など様々な摂動によって誘起される蛋白質の構造変化を求めることであります。[Hirata, Akasaka: J. Chem. Phys., 044110 (2015)]

この方法は蛋白質の構造-機能相関に関わる公汎な問題にその応用を見出すことが期待されますが、特に、アミノ酸置換によって誘起される変異体の構造変化を求めることは、「酵素改変」や「知的創薬」分野に革命的な技術をもたらす可能性を秘めています。例えば、インフルエンザの流行（パンデミック）が大きな社会問題になっていますが、その脅威の主たる原因はインフルエンザウイルスがアミノ酸置換によって市販の薬剤（例えば、タミフル）に対する耐性を獲得することにあります。もし、人類がウイルスのアミノ酸置換の速度を上回る速さで新しい薬剤を開発できればこの問題は解決するわけですが、実際には、非常に立ち後れているのが現状です。その立ち後れの原因のひとつは、変異体（標的蛋白質）の構造決定に時間がかかり過ぎることにあります。本研究課題で開発する方法を使えば、野生型（アミノ酸置換前のウイルス）の蛋白質構造から出発して、一日以内に、変位体の構造を作り出すことができますので、新薬開発の速度を画期的に加速することが期待されます。

## (2) 蛋白質のマルチスケールダイナミクス方法論の構築

蛋白質水溶液のダイナミクスは原子間結合の振動モードからドメイン間の集団運動（拡散運動）に亘る幅広い時間スケールの運動モードを含み、その時間スケールの差は数千倍にも及びます。このような系に通常的全原子 (MD) シミュレーションを適用することは計算時間の負荷が大きく、あまりスマートとは言えません。このため、いわゆる「粗視化モデル」が国際的に注目を集めていますが、現在、行われている粗視化モデルでは、まず、水を連続媒体で置き換え、蛋白質はアミノ酸残基を一個の「球」で表現するなどの大胆なモデル化を行いません。そして、そのような単純化したモデルのダイナミクスをランジェ

ヴァン方程式で記述するというのがスタンダードな方法です。しかし、このようなモデルでは、酵素反応のような蛋白質の機能発現に関わるダイナミクスを記述することは極めて困難です。なぜなら、蛋白質の機能は原子レベルで発現しており、原子の個性を無視したいかなるモデルも意味を成さないからです。

私は、3D-RISM/KH 理論と一般化ランジェヴァン理論に基づき、原子間振動モードからドメイン間集団運動に及ぶ幅広いスケールのダイナミクスを実現する新しいシミュレーション手法の開発に着手しています。この方法論は基本的にはいわゆる「基準振動解析」の発想と似ています。真空中の蛋白質の基準振動解析では、Hessian (分散・共分散行列) の対角化を通じて、互いに独立な振動モードを取り出します。モードが独立であるため、それぞれのモードの空間、時間スケールも独立になっています。(ちょうど、海洋上の舟の走行とそれに乗っている人の運動を切り離すことができるのと同じです。)

基準振動解析と同様の発想を水溶液中の蛋白質のダイナミクスを記述する上記 (1) 式に適用し、それを **Vellet** アルゴリズムの形式で記述すると、(過減衰近似で) マルチスケールダイナミクスの基本式が得られます。(Hirata & Kim, *J. Mol. Liquid*, 217 23-38 (2016))

$$\begin{aligned} \mathbf{R}_\alpha(t + \Delta t) = & 2\mathbf{R}_\alpha(t) - \Delta\mathbf{R}_\alpha(t - \Delta t) - \frac{k_B T}{M_\alpha} \sum_\beta (\mathbf{L}^{-1})_{\alpha\beta} \cdot \sum_{i=1}^{3N-6} \mathbf{u}_{\beta i} Q_i(t) \Delta t^2 \\ & - \sum_\beta \frac{\zeta_{\alpha\beta}}{M_\alpha M_\beta} \sum_{i=1}^{3N-6} \mathbf{u}_{\beta i} \dot{Q}_i(t) \Delta t^2 + \mathbf{W}_\alpha(t) \Delta t^2 \end{aligned} \quad (6)$$

上式中、 $\mathbf{u}$  は Hessian ( $k_B T/\mathbf{L}$ ) を対角化する固有ベクトル、 $Q_i(t)$  は主成分変数であり、いわば主軸方向の揺らぎの大きさを意味します。この式においては、すべての物理量は原子レベルで記述されており、一方、各モードの空間スケールを表す  $Q_i(t)$  はそれぞれ独立なので、モード間の干渉が生じて、原子が重なってしまうような心配はありません。こうして、同じ時間刻み ( $\Delta t$ ) の間に、モードによって大きさの異なる原子座標変位 ( $\Delta\mathbf{R}$ ) を作り出すことが可能になります。(全実空間での原子座標変位はすべてのモードに関する「重ね合わせ」になります。) 本研究ではこの方程式に基づき、マルチスケールダイナミクスの計算アルゴリズムおよび計算プログラムを開発します。さらに、そのプログラムを酵素反応やモーター蛋白質に適用し、その原子レベルのダイナミクスを解明しようと企てています。

以上二つの課題を達成する上で共通の鍵となるのは、上に述べた構造揺らぎ

の「分散・共分散行列 ( $\mathbf{L}=\langle\Delta\mathbf{R}\Delta\mathbf{R}\rangle$ )」の計算です。真空中の蛋白質の場合は、この物理量は蛋白質内部の相互作用ポテンシャルの原子座標に関する二階微分で求めることができ、その計算手法は、すでに30年以上も前に、郷信広京都大学名誉教授によって確立されています。一方、溶液中の蛋白質の場合は、溶媒和自由エネルギーの原子座標に関する二階微分を求める必要がありますが、これは計算科学的に極めて挑戦的な課題であります。しかし、私は3D-RISM/KH理論に基づいてこの課題を解く処方箋を見出しており、必ず解決できると確信しています。