

# 拡張ガウス写像と全曲率による 蛋白質の立体構造の新たな特徴付け

## 学位論文内容の要旨

### 緒言

近年 X 線結晶解析や核磁気共鳴を用いた蛋白質の立体構造の決定が多数行われ、データの蓄積とともに、蛋白質の立体構造の分類や予測なども活発に行われている。本論文では、これまでの手法とは全く異なるアプローチとして、微分幾何学で曲線や曲面の大域的な性質を研究するためによく用いられるガウス写像 (Gauss map) , および全曲率 (total curvature) を拡張した概念を用いた蛋白質の新たな立体構造の特徴付けを提案する。

### 材料と方法

材料となるデータは、Brookhaven Protein Data Bank (PDB)に登録されている pdb format のデータ、PDB-ID: 1DLW, 1VPN, 1SVA, 1C1Y, 1CKA, 1CKB, 121P, 221P, 421P, 521P, 621P, 721P, 821P, 1AGP である。まず、ガウス写像の 3 次元 Euclid 空間内の点列を結んだ折れ線グラフへの拡張を行う。今、ある蛋白質 P が、N 個 (N は 2 以上の自然数) のアミノ酸、 $p_1, \dots, p_N$  からなると仮定し、それらの位置ベクトルを太文字で  $\mathbf{p}_1, \dots, \mathbf{p}_N$  と表す (各アミノ酸の  $\alpha$  炭素原子  $C^\alpha$  またはペプチド結合に与る窒素原子 N' の座標を位置ベクトルとする)。ベクトル  $\mathbf{v}_i = \mathbf{p}_{i+1} - \mathbf{p}_i$  ( $i=1, \dots, N-1$ ) は、 $i$  番目のアミノ酸から  $i+1$  番目のアミノ酸への方向ベクトルを表す。これを正規化して原点に平行移動する。これを、1 階の (拡張)ガウス写像 (first order (extended) Gauss map) と呼ぶことにする。簡単のためこれらの点列を順序に従って直線で結んだ折れ線グラフと同一視する。このようにして得られた折れ線グラフに対して、同様の操作を施したものを 2 階の (拡張)ガウス写像 second order (extended) Gauss map と呼ぶことにする。そして Frenet-Serret 公式から 2 階の場合の  $\mathbf{v}_i$  のノルムは曲率に対応するものであることがわかるので、これを拡張された曲率 (extended curvature) , その  $i = 1$  から  $N-2$  までの総和を拡張(された)全曲率 (total extended curvature) と呼ぶことにする。

### 結果

Hemoglobin (PDB-ID: 1DLW) は、2 次構造が全て  $\alpha$ -helix からなる典型的な蛋白質である。First order Gauss map における各ベクトルは構成アミノ酸の index の増加に伴い大きく変化するため、全体的に球面状ではなく稜の長い多角形状になっているのが分かる。これは  $\alpha$ -helix がもつ螺旋構造を反映したものであり、ある程度周期的な構造を示している。Polyomavirus VP1 (PDB-ID: 1VPN) の chain A, simian virus 40 (PDB-ID: 1SVA) は 2 次構造がほとんど  $\beta$ -sheet からなる蛋白質に分類されている。これらの蛋白質では first

order Gauss map における各ベクトルは大きくは変化しないため、全体的に球面状となっている。α-helix 部分のみの first order Gauss map は, Class 1: Mainly alpha に分類される蛋白質と同様に稜の長い多角形状の分布を示し, α-helix の持つ螺旋構造を反映している。β-sheet 部分のみの first order Gauss map では, sheet 状にジグザグに分布する様子が次第に移動する軌跡として表示されている。また 1SVA では一定の方向に密になっていることがわかる。First order Gauss map は曲線の方向性を現しているため, 1SVA においてはその方向に特に方向性があることが分かる。c-Raf1 (PDB-ID: 1C1Y) の Gauss map profile は特徴的な pattern を示している。また, α-helix 部分と, β-sheet 部分のみの Gauss map profile は first order, second order とともに非常に特徴的である。α-helix 部分のみの first order Gauss map は螺旋構造を反映したものであり, Raf ではある種の対称性の存在を予想させる形状を示している。β-sheet 部分のみの first order Gauss map は, sheet 状にジグザグに分布する様子がより明瞭に次第に移動する両極の軌跡として表示されている。また, 全体の second order Gauss map における互いに直交しているように見える成分は, それぞれ α-helix, β-sheet 成分のほぼ独立した寄与であることが分かる。このように分解されて観察されることは first order Gauss map のみでは現れないことで, second order Gauss map をもって初めて観察されることである。このことから second order Gauss map にもまた立体構造を特徴付ける何らかの意義があると考えられる。Ras の各変異では Gauss map profile に大きな違いは認められなかったが, 全曲率を比較したところ, G12V(521P)が他の RAS mutant と比較し最小値を取っていること, G12D(1AGP)が最大値を取っていることが注目される。

#### 考察

Ras の各変異では, Gauss map profile pattern に大きな違いは認められなかったが, 拡張全曲率を比較することによってさらに特徴付けることが可能であるように思われる。特に G12V(521P)と G12D(1AGP)は他の変異と比較しそれぞれ最小値, 最大値を取っており, 機能に相違があるのではないかと予想される。実際臨床的には G12V 変異は最も高頻度に現れる重要な変異である。また G12D はこれに次いで高頻度に現れる変異である。これにはいくつかの解釈が可能である。Total extended curvature は蛋白質の全体的なエネルギー状態に関係しており, total extended curvature が極値となる変異は, 各変異の安定な構造の中でもエネルギー状態が極値となっているのか, あるいは, total extended curvature は蛋白質の活性の強さと相関があり, 活性の差が強いために高頻度に出現しているように見えるのか, などの解釈が考えられ得る。Al-Mulla らの研究によると, G12V(521P)は大腸の進行癌に高頻度に認められ致死率が高いが, G12D(1AGP)にはそのような傾向は認められないという事実は, これらの蛋白質の立体構造に起因するものかもしれないという。Total extended curvature は変異の活性, 悪性度の指標にもなりうるのではないかと想像される。

#### 結語

蛋白質の立体構造を特徴付ける新しい手段として extended Gauss map, および total extended curvature が有用である可能性がある。どちらも蛋白質の立体構造を敏感に反映するが, 立体構造がほとんど変わらない Ras 変異体に対して, total extended curvature は蛋白質の活性の指標になりうる可能性が示唆される。幾何学的な数値計算のみで蛋白質の活性を表現できるとすればその有用性は測り知れない。今後多数の構造を比較し検討を重ねることにより, 多くの蛋白質で活用できるものと考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 長 嶋 和 郎

副 査 教 授 守 内 哲 也

副 査 教 授 寺 沢 浩 一

学 位 論 文 題 名

## 拡張ガウス写像と全曲率による

## 蛋白質の立体構造の新たな特徴付け

微分幾何学において曲線や曲面の大域的な性質を研究するために用いられるガウス写像と全曲率を拡張した新規の概念により蛋白質の立体構造の新しい特徴付けを行った。まず、ガウス写像の3次元 Euclid 空間内の点列を結んだ折れ線グラフへの拡張を行った。今、ある蛋白質 P が、N 個のアミノ酸、 $p_1, \dots, p_N$  からなると仮定し、それらの位置ベクトルを太文字で  $p_1, \dots, p_N$  と表す。ベクトル  $v_i = p_{i+1} - p_i$  ( $i=1, \dots, N-1$ ) を正規化して原点に平行移動する写像を 1 階の(拡張)ガウス写像 (first order (extended) Gauss map) と呼ぶことにする。1 階ガウス写像の終点を結んだ折れ線グラフに対して、同様の操作を施したものを 2 階の(拡張)ガウス写像 second order (extended) Gauss map と呼ぶことにする。そして Frenet-Serret 公式から 2 階の場合の  $v_i$  のノルムは曲率に対応するものであることがわかるので、その  $i=1$  から  $N-2$  までの総和を拡張全曲率 (total extended curvature) と呼ぶことにする。これらの概念を用い、SCOP 分類において、Class 1: All alpha proteins の中から代表的なものとして hemoglobin を、Class 2: All beta proteins, Class 3: Alpha and beta proteins (a/b) の中から筆者の所属している研究室で研究の対象となっている蛋白質あるいは関連のある蛋白質である、polyomavirus の VP1, simian virus 40 の VP1, Raf, Crk, そして多数の変異とその性質がよく知られている Ras の各変異を解析した。Hemoglobin は、2 次構造が全て  $\alpha$ -helix からなる典型的な蛋白質であるが、first order Gauss map における各ベクトルは  $\alpha$ -helix がもつ螺旋構造を反映し、構成アミノ酸の index の増加に伴い大きく変化するため、全体的に球面状ではなく稜の長い多角形状となっていた。Polyomavirus の VP1 の chain A, simian virus 40 の VP1 は 2 次構造がほとんど  $\beta$ -sheet からなる蛋白質に分類されている。これらの蛋白質では first order Gauss map における各ベクトルは大きくは変化しないため、全体的に球面状となっていた。 $\beta$ -sheet 部分のみの first order Gauss map では、sheet 状にジグザグに分布する様子が次第に移動する軌跡として表示された。c-Raf1 の  $\alpha$ -helix 部分と、 $\beta$ -sheet 部分のみの Gauss map profile は

first order, second order ともに非常に特徴的であった。全体の second order Gauss map における互いに直交しているように見える成分は、それぞれ  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet 成分のほぼ独立した寄与であり、second order Gauss map におけるある種の対称性による特徴づけの可能性が示唆された。Ras の各変異では、Gauss map profile pattern に大きな違いは認められなかったが、拡張全曲率を比較することによってさらに特徴付けることが可能であるように思われた。G12R, G12V, Q61H, Q61L の各変異の GTPase 活性は、wild type の 10 分の 1 以下であることが知られており、これらの変異の total extended curvature が相対的に小さいことと並行していた。total extended curvature は変異の活性、悪性度の指標にもなりうるのではないかと想像された。

口頭発表に際し、副査の守内教授、寺沢教授より、新規に開発された拡張ガウス写像解析は蛋白質の機能予測に使えるのか、K-Ras、N-Ras などではどうなるのか、大型計算機による計算が必要か、解析に必要なデータは何か必要か、解析にはどのくらいの時間がかかるのか等の質問があった。主査の長嶋教授より 1 階ガウス写像、および 2 階ガウス写像は直観的にはどのような意味を持っているのかという質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は Protein Data Bank に登録されているデータや、登録されていない蛋白質に対しても、AMBER などの分子動力学計算により立体構造予測を行い、そのデータに基づきガウス写像解析を行うことができること、ガウス写像解析自体は高速計算を必要としないが、立体構造予測には高速計算が必要なこと、virtual mutant を作成し機能予測が可能かもしれないこと、物理的な直観的説明をすれば適切に導入されたパラメータに対し 1 階ガウス写像は速度ベクトル、2 階ガウス写像は加速度ベクトルに対応するものであることなど、適切な回答を行った。

この論文は、蛋白質の立体構造を特徴付ける全く新しいアプローチを提唱するものであり、今後多数の構造を比較し検討を重ねることにより、多くの蛋白質で活用できるものと期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。