

## タンパク質の立体構造変化における階層的ダイナミクス

(横浜市大院・国際総合<sup>1</sup>, 名大院・情報<sup>2</sup>, BIRD・JST<sup>3</sup>, 理研・次世代計算科学<sup>4</sup>)

○ 瀧上 壮太郎<sup>1</sup>, 小池 亮太郎<sup>2,3</sup>, 池口 満徳<sup>1</sup>, 木寺 詔紀<sup>1,4</sup>

【序】タンパク質の構造変化は多様な機能を実現するための分子的基盤となっている。その構造変化の多くは低振動モードで記述される大規模なものであり、剛体的なドメインの運動として特徴付けることができる。一方、タンパク質の構造変化を実現しているのは、タンパク質の主鎖二面角の変化や側鎖間の相互作用の形成・消失などの原子レベルの運動である。ところが、タンパク質の構造変化と原子レベルの運動との間には時間・空間スケールともに大きな隔たりがあるため、2つの異なる階層間の運動の関係は自明でない。また、原子レベルの運動は熱揺らぎによって大きく擾乱されるにもかかわらず、スケールの違いを越えて、タンパク質の構造変化は頑健に実現される。しかし、そのメカニズムはまだ十分に理解されていない。このような場合、2つの階層を同時に含むデータを解析することがもっとも直接的な手段である。本研究では、原子レベルの非平衡分子動力学シミュレーションによって、一切の外力を用いず、タンパク質の自発的な構造変化過程を再現し、タンパク質立体構造変化のメカニズムを原子レベルで明らかにすることを目指す。リガンド結合に伴い大規模な構造変化を起こすタンパク質として、多くの実験データがあり、理論研究も多角的に行われているアデニル酸キナーゼ(AK)を取り上げる。

【タンパク質立体構造変化の階層的記述】タンパク質の大規模な構造変化は、ドメインの剛体的な運動として記述することができる。AKは図1左のように3つのドメインに分けられ、それぞれATP-lidドメイン(赤)、AMP-bindドメイン(青)、coreドメイン(黄)と呼ばれている。AKの構造変化は、ATP-lidドメインおよびAMP-bindドメインがドアの開閉のように剛体的に運動すること(hinge motion)で実現される(図1中央)。しかし、実際には各ドメインは完全な剛体ではなく、構造変化に伴いドメインの変形が起こる。そこで、このようなドメイン内部の運動を検出するため、Koikeらによって開発されたMotion Tree法を適用した。その結果、ATP-lidドメインはかなり剛体的であるのに比べ、AMP-bindドメインは構造変化に伴う変形が大きく、その変形は3つのより剛体的な部分によって記述できることがわかった(図1右)。

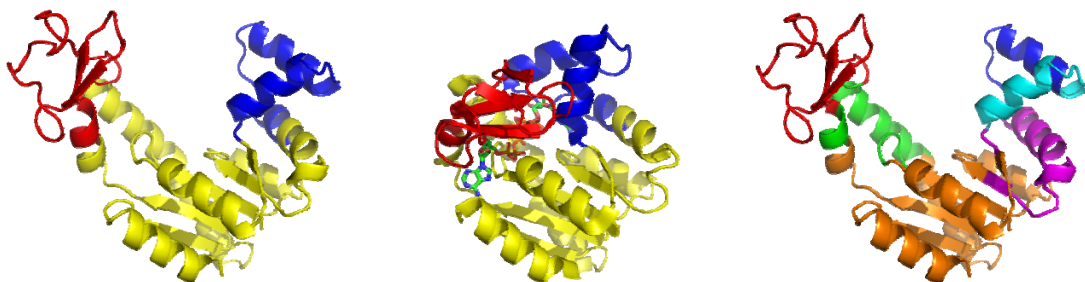


図1: アデニル酸キナーゼの構造変化とその階層的記述。左: 3つのドメインから成るAKのオープン型構造, 中央: 基質を結合したクローズ型AK, 右: より剛体的な6つの部分に分割されたAK(閾値 4 Å)。

【分子動力学シミュレーション】 基質が結合していないクローズ型 AK を初期構造として、水を陽に含んだ全原子分子動力学シミュレーションを行った。系の総原子数は約 5 万である。シミュレーションの実行には、Ikeguchi により開発された高精度・高効率な分子動力学シミュレーションソフトウェア MARBLE を使用し、力場は CHARMM22/CMAP を用いた。系に周期境界条件を課し、静電相互作用の計算には Particle Mesh Ewald (PME) 法を用いた。作成した初期構造をエネルギー最小化し、等温等圧(NPT)アンサンブルを用いた平衡化を行った後、ミクロカノニカル(NVE)アンサンブルで 20 ナノ秒の本計算を 20 回行った。すべての計算において時間刻みは 2 フェムト秒とした。

【構造変化過程における階層的ダイナミクス】 20 回のシミュレーションのうち 13 回において、クローズ型 AK からオープン型 AK への構造緩和が観察された。この構造緩和過程における主鎖二面角の時間変化を調べたところ、タンパク質構造変化と相関を持つものがドメイン境界付近で見つかった。それと同時に、ドメイン内部においても構造変化と有意な相関を示す二面角があることがわかった。この結果は、剛体的と考えられているドメインに内部運動が存在し、構造変化に寄与している可能性を示唆する。

そこで、Motion Tree 法をトラジェクトリの各スナップショットに適用し、構造変化過程におけるドメイン内部の運動を調べた。初期構造に対する Motion Tree 法から得られた情報(閾値 4 Å)を時間軸に沿ってグラフ化した Motion Flow ダイアグラムを図2に示す。この図より、ATP-lid ドメインが先に動き始め(0 ns で分岐)、続いて AMP-bind ドメインの運動が 3~4 ns にかけて段階的に起こったことがわかる。また、赤線の分岐・集合から、ATP-lid ドメインは 6 ns 程度まで大きな内部運動を示すが、その後は剛体的なドメインとして安定することが読み取れる。一方、AMP-bind ドメインでは、Motion Tree 法で同定された 3 つの部分が相互に複雑な運動を起こすことによってドメインの構造変化が実現されている。構造変化に伴い有意な変化を示した主鎖二面角の多くは、ドメインの内部運動と対応付けることができ、ドメイン内部運動のメカニズムを説明することができる。

以上より、タンパク質の立体構造変化には、「ドメインの剛体的な運動・ドメイン内部の変形運動・主鎖二面角の変化」という3つの異なる階層的ダイナミクスが含まれていることがわかる。これらの階層間の事象を関連付けることによって、タンパク質の構造変化を原子レベルから理解することができる。

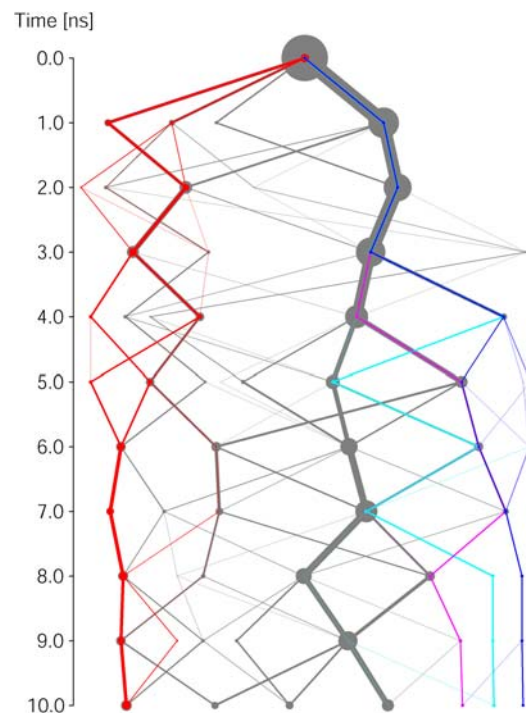


図2: 構造変化過程におけるドメインの内部運動. 中央の太い流れが core ドメインに、赤線が ATP-lid ドメインに、青・紫・水色の線が図1右に示した AMP-bind ドメインの各部分に対応している。円の大きさは各部分の残基数に比例している。