

1P083

## タンパク質の長時間シミュレーション中に含まれるレアイベントの解析

(横浜市大院・生命ナノ) 瀧上 壮太郎

### Rare event analysis of long-time protein simulation

(Yokohama City University) Sotaro Fuchigami

【序】タンパク質のシミュレーション結果には動的構造情報が原子レベルの精度で含まれているが、複雑多様な揺らぎの実態、その動的機構、機能との相関を解明するためには、膨大なデータの中から有用な情報を抽出する必要がある。中でも、ゆっくりとした変化を示す運動(遅い運動)や稀にしか起きない運動(レアイベント)は機能と関連する可能性が高く、このような運動を効率的に特定・解析する手法が求められている。そのような手法として、「時間構造に基づいた独立成分分析(tICA)」を我々は提案した<sup>[1]</sup>。本研究では、リジン・アルギニン・オルニチン結合タンパク質(LAO)を対象として1マイクロ秒の長時間シミュレーションを複数回実行し、得られた結果にtICAを適用することによってLAO主鎖が起こすレアイベントを同定するとともに、シミュレーションごとの共通点・相違点について比較検討を行った。

【方法】基質が結合していないLAOの結晶構造(PDB ID: 2LAO, 図1)を用い、水を陽に含んだ系(総原子数は約8万)の全原子分子動力学シミュレーションを行った。シミュレーションの実行には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。周期境界条件を課し、静電相互作用はParticle Mesh Ewald法で計算した。作成した初期構造をエネルギー最小化し、NPTアンサンブルで平衡化を行った後、NVEアンサンブルで1マイクロ秒の本計算を3回実行した。



図1: リジン・アルギニン・オルニチン結合タンパク質の立体構造。2つのドメイン(青と赤)から成る。

【結果】シミュレーションの結果をしてみると、3回の計算いずれにおいても、LAOが大きく揺らいでいる様子が観察される(図2)。揺らぎの時間スケールに注目すると、100 ns オーダーの遅い時間スケールの揺らぎが含まれていることがわかる。各ドメインは安定であることから、LAOの揺らぎはドメイン運動が支配的であると考えられる。

LAOのC $\alpha$ 原子を対象とし、シミュレーション結果にtICAを適用したところ、タンパク質の全体的

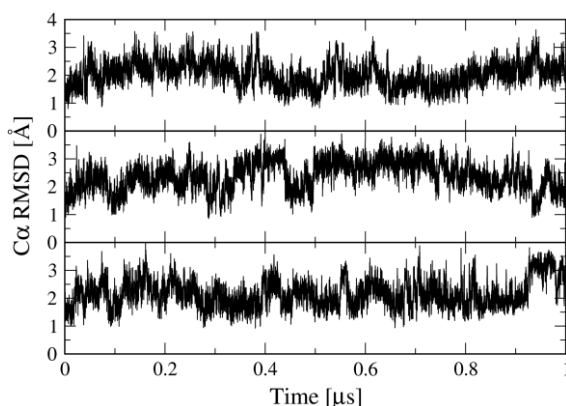


図2: 結晶構造とのC $\alpha$  RMSDの時間変化。上から順に1回目, 2回目, 3回目の計算結果。以下同様。

な運動であるドメイン揺らぎと、局所的な部位の運動とが同定された。前者は遅い運動であり、図2に見られる遅い時間スケールの揺らぎの原因となっていた。後者はレアイventとして特徴づけられることがわかった。同定されたレアイventのうち2つを以下で紹介する。

最も遅い時間スケールの運動として特定されたレアイventは、D220とG221の間のペプチド結合部分のクランクシャフト運動である(図3)。この運動によってR218とG221の間の水素結合が切断され、新たにD220とY223の間に水素結合が形成されたことがわかる。また、主鎖二面角G221 $\phi$ の時間変化からわかるように、この運動が起こったのは、3回のシミュレーションそれぞれにおいて、たった一度だけである。

局所的な運動によるレアイventとして、もう少し広い範囲に影響するものを図4に示す。この運動では、周囲との水素結合によってコンパクトな構造を形成していたターン部分が一時的に壊れ、その後、元の構造が再形成された。この局所的アンフォールディングは3回のシミュレーションいずれにおいても観察され、図に示したP16の主鎖酸素原子とF29の主鎖窒素原子との距離の時間変化から、壊れ方に少なくとも3つの段階が存在することが窺える。また、この部分に含まれるY14はリガンドとの結合部位であることから、観察された局所的アンフォールディングがリガンド結合過程に関わっている可能性も考えられる。

以上のように、タンパク質の運動は複雑多様であるにも関わらず、tICAを用いると、シミュレーション中でわずか数回しか起こらないようなレアイventを効率的に同定・抽出することができる。

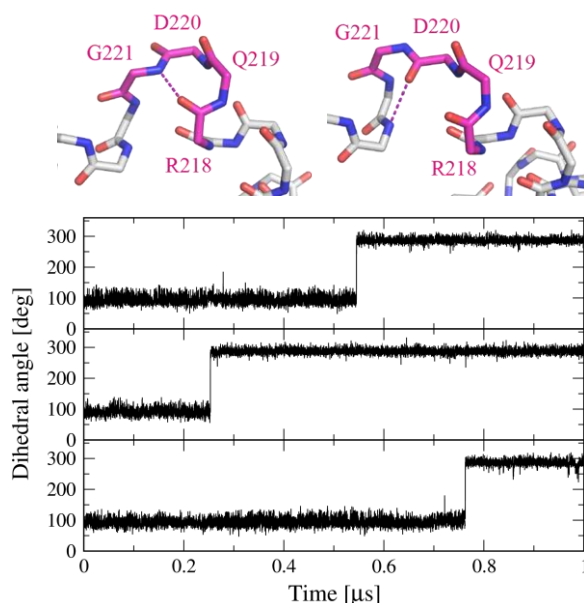


図3 : tICAによって特定されたLAO主鎖のレアイventであるクランクシャフト運動。遷移前後の構造(上)と主鎖二面角G221 $\phi$ の時間変化(下)。

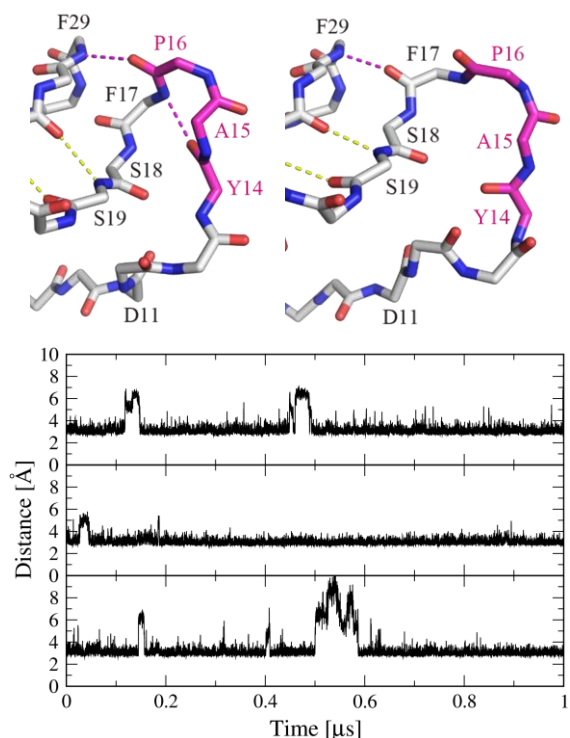


図4 : tICAによって特定されたLAO主鎖のレアイventである水素結合の切り替え。遷移前後の構造(上)と水素結合距離P16O-F29Nの時間変化(下)。

[1] Y. Naritomi and S. Fuchigami, *J. Chem. Phys.* **134**, 065101 (2011).