

# タンパク質構造変化経路予測法の新規開発

(京大院理) 田村 康一、林 重彦

## A Novel Method to Simulate Protein Conformational Change upon Ligand Binding

(Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ.) Koichi Tamura, Shigehiko Hayashi

### 【序】

ある種のタンパク質は、外部的要因に応答してその構造を変化させ、結果的に機能をも変化させる。他の分子 (リガンド) と相互作用することで構造・機能を変化させるタンパク質はその 1 例である。タンパク質とリガンドの相互作用が構造変化を誘起する仕組みに興味を持たれている。

結晶構造解析や NMR によって多数の構造が原子レベルで解かれてきたが、これらの方法では短寿命な中間体の検出は困難である。すなわち、構造変化前後 (リガンドとの相互作用前後) の安定な終端構造は明らかになっているが、その構造変化経路は不明である場合が多い。結晶化が難しい場合などは、構造変化前後の一方の構造が不明な場合さえある。

All-atom 力場下におけるタンパク質の分子動力学シミュレーション (MD) は、詳細な時空間スケールでの系の記述を可能にする。一方で計算能力の不足により、シミュレーションの時間スケールが構造変化のそれに届かないという欠点を持つ。計算可能な時間内でタンパク質の構造変化を強制的に誘起するためには、系にバイアスをかけなければならない。伝統的には、以下の 2 つがよく使用される:

- Targeted Molecular Dynamics (TMD)<sup>[1]</sup>
- Steered Molecular Dynamics (SMD)<sup>[2][3]</sup>

TMD は、構造変化前後の系の情報に基づいてバイアス・ポテンシャル  $U_{\text{TMD}}(\mathbf{r}_{\text{initial}}, \mathbf{r}_{\text{final}}, t)$  を構築する。  $U_{\text{TMD}}$  を付加した MD 計算を行うことで、  $\mathbf{r}_{\text{initial}}$  と  $\mathbf{r}_{\text{final}}$  を繋ぐ経路が得られる。この方法の欠点はほぼ明らかで、構造変化前後の構造が両方ともに解かれている場合にしか使用できない。さらに、得られた経路が物理的に無意味でないか、十分な検証が必要である。

SMD は、系の情報を参考にして化学的直観に基づいてバイアスの力を定義する。この方法は、構造変化前後の構造のうち一方だけ判明していれば使用可能だが、構造変化が複雑であることが予想される場合には使い難い。

我々は、線型応答理論<sup>[4]</sup>

$$\Delta r \approx \beta C f$$

に基づくバイアスを導入し、摂動を受けた系の構造変化を予測する方法を開発した。この方法は、構造変化前後の一方の構造だけ判明していれば使用可能であり、さらにバイアスを線型応答理論に基づいて、直観によらずに定義可能といった、TMDとSMDの好いとこ取りをしたような特徴を持つ。

この方法論を、酵母カルモジュリンN末端ドメイン<sup>[5]</sup> (CaMn) の構造変化経路予測に応用し、タンパク質がリガンドと相互作用して局所的または大域的に構造変化する様子をシミュレーションすることに成功した。

### 【モデル系】

CaMnは、2つのカルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) と相互作用して大規模な構造変化を起こす。リガンドが結合していない apo-CaMn は、 $\text{Ca}^{2+}$  が結合することでヘリックス間の角度を変化させ、疎水性領域が露わになった holo-CaMn になる (Fig. 1)。

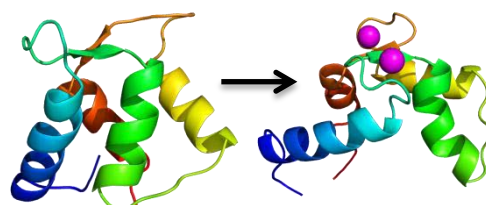


Fig. 1. CaMn の構造変化

### 【結果】

まず、holo-CaMn の長時間 MD を行い、力場上の安定構造が NMR 構造に近い”open”状態ではなく、”partially open”状態であることを明らかにした。

さらに、方法論の検証のために、3つのバイアス・シミュレーションを行った。そのうちの1つの様子は次のようになった。まず、Asp56 が  $\text{Ca}^{2+}$  に配位し、ほぼ同時に His61 が部分的に回転した。その後、His61 の回転が完了し、さらに、Asp58 が  $\text{Ca}^{2+}$  に配位した。次に、Glu31 と Gln62 の  $\text{Ca}^{2+}$  への配位がほぼ同時に生じ、”partially open”状態に到達した。直後のバイアス・シミュレーションによって、”open”状態へと移行したが、自発的に”partially open”状態へと戻った。その他の詳細は当日発表する。

### 【参考文献】

- [1] Schlitter *et al.*, *Mol. Sim.*, **10**, 291 (1993)
- [2] Grubmüller *et al.*, *Science*, **271**, 997 (1996)
- [3] Izrailev *et al.*, *Biophys. J.*, **72**, 1568 (1997)
- [4] Ikeguchi *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **94**, 078102 (2005)
- [5] Ishida *et al.*, *Biochemistry*, **39**, 13660 (2000)