

4C07 酵素の基質結合と大規模構造変化に関する理論的研究

(阪大院・基礎工¹、筑大院・数理²、JST,CREST³)

○馬場剛史¹、原田隆平²、中野雅由¹、重田育照^{2,3}

Theoretical study on substrate binding process and dynamical conformational change of enzyme

(Osaka University¹, University of Tsukuba², JST-CREST³)

○Takeshi Baba¹, Ryuhei Harada², Masayoshi Nakano¹, Yasuteru Shigeta^{2,3}

【背景】 基質は酵素に結合すると、一部の酵素は、基質の結合に伴って大きな構造変化を引き起こすことが X 線結晶構造解析などの実験から示唆されており、しばしば誘導適合と呼ばれている。本研究で対象としているナイロンオリゴマー分解酵素 (NylB) も誘導適合する酵素の 1 つである。NylB の基質である ALD(Ahx-liner dimer)が結合すると、ループ領域(Gln166-Val177)にある Tyr170 が ALD と水素結合を形成し、大規模な構造変化を起こすことが明らかにされている[1]。一般的にループ移動のような大規模構造変化や基質結合などは、通常短い時間での古典分子動力学法では、検出することは非常に困難であることが知られている。この問題を解消するために、レプリカ交換法やメタダイナミクス法などの手法が開発されているが、本研究では、PaCS-MD(Parallel Cascade Selection-MD)法を適用した[2]。本手法は、異なる初期構造が用意された多数の MD 計算を完全な分散環境で実行し、その情報をもとに構造を効率よくサンプリングする点が特徴である。本研究では PaCS-MD の重要な要素である selection ルールについて再検討し、ナイロンオリゴマー分解酵素の誘導適合過程や基質結合過程を明らかにすることに取り組んだ。

【理論と計算手法】 PaCS-MD は短い MD 計算によって得られたアンサンブルから、事前に決めた selection ルール (例えばアミノ酸残基間距離が小さくなるなど) に基づいてランキングし、その上位を初期構造として再度短い MD 計算を実行するプロセスを 1 cycle とする手法である。この一連の作業を繰り返すことで、大規模な構造変化などの検出を可能としている。本研究ではナイロンオリゴマー分解酵素に対して本手法を最適化するため、5 種類の selection ルール「距離 : (a) d_1 が小さい (b) d_2 が小さい (c) d_1, d_2 のどちらかが小さい。(50:50 で選択) RMSD:(d) 構造全体の終構造に対する RMSD が小さい(e) 構造の一部 (ループ領域と酵素) の終構造に対する RMSD が小さい」について検討した。 d_1, d_2 をそれぞれループ領域と酵素間(Glu168-Ser217)、基質と酵素間(Tyr170-Ald393)を評価する距離として定義する。その後、得られた軌跡とアンブレラサンプリング法を利用して、 d_1 と d_2 に対する自由エネルギー解析を実行した。

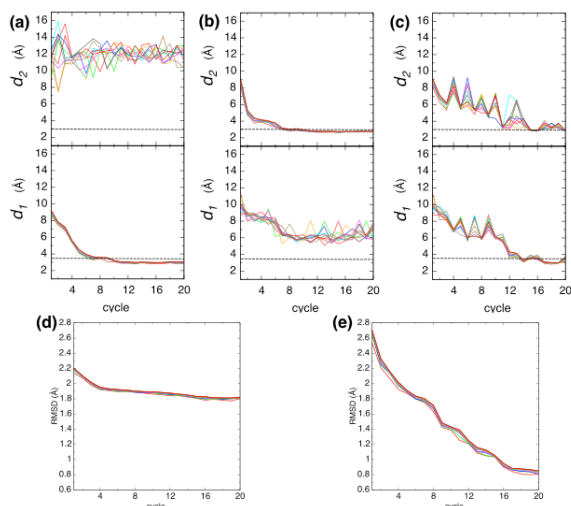


図 1 PaCS-MD の結果

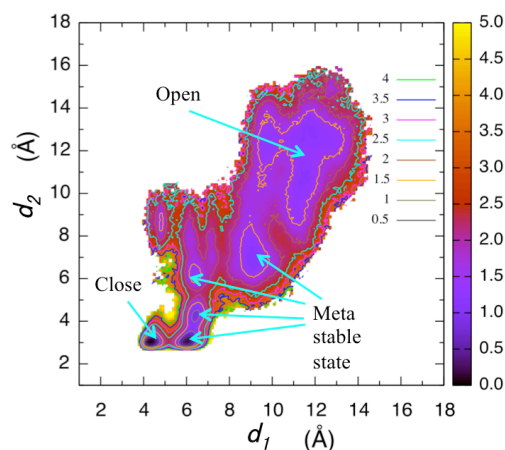


図 2 誘導適合の自由エネルギー解析結果

【結果】 図 1 に PaCS-MD を 20cycle 実行した結果を示す。その結果、距離で検討した場合、(a)や(b)のような片方の距離だけを条件にした場合うまく最終構造にたどり着かないことが判明した。これは 2 つの距離 (d_1 、 d_2) に関連するループ領域に含まれるアミノ酸(Glu168 と Tyr170)が協同的な構造変化をすることによってループ移動を伴う構造変化を制御していることを示唆している。実際 2 つの距離を考慮した (c) の場合、うまく選択されたことによって最終構造付近への構造変化が観測されている。一方、RMSD で検討した場合、全体構造に対する RMSD で評価を行った(d)では、うまく最終構造にたどり着くことはできなかった。これは、今回取り上げたループ移動の変化が酵素の一部のみで生じる変化であったことが大きく影響していると予想される。従って、変化する部位のみに着目した(e)の条件で PaCS-MD を実行したところ、素早く構造変化し、5 つ条件の中で最も終構造に近づく結果となった。そこで、本研究では(e)で得られた構造変化とアンブレラサンプリング法を利用することによって、図 2 に示すような自由エネルギー地形が得られた。その結果、ループ移動前 (Open 構造) からループ移動後 (Closed 構造) への構造変化過程において 4 カ所の準安定点が存在することが明らかとなった。また、ループ部位の詳細な移動経路としては、今回判明した準安定点をうまく段階的に通過することによって、構造変化していることが判明した。さらに、Open 構造から Closed 構造への構造変化に伴い、約 1.4 kcal/mol の安定化が得られることも分かった。本研究では基質が酵素の外から内部へ移動する基質結合過程についても selection ルールを再検討することによって、検出することに成功しているが、その詳細な結果については当日報告する。

【参考文献】

- [1] Y. Kawashima *et al.*, *FEBS journal* (2009) 276, 2547.
- [2] R. Harada *et al.*, *J. Chem. Phys.* (2013) 139, 035103.
- [3] T. Baba, *et al.* *J. Comp. Chem.* (2014) 35, 1240.