

## 細胞質ダイニンの一方向輸送性能に関する 分子シミュレーション研究

<sup>1</sup>京大院理

○久保進太郎<sup>1</sup>, 高田彰二<sup>1</sup>

### Molecular simulation study on the one-way transport performance of cytoplasmic dynein

○Shintaroh Kubo<sup>1</sup>, Shoji Takada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biophysics, Kyoto University, Japan

#### 【Abstract】

Cytoplasmic dynein is a molecular motor which proceeds along the microtubules by using ATP hydrolysis free energy. Dynein transports vesicles, mitochondrion and many intracellular organelles to the central direction in cells. However, the mechanism of how dynein can move unidirectionally has been unclear. In our research, we clarify the mechanism of dynein's unidirectional transport by using molecular simulation study and then, we propose the bipedal model for the mechanism of dynein's movement based on the results of our simulations. Dynein is one of the huge proteins in cells so the gold standard all-atom molecular dynamics (MD) simulation is hard due to the simulation cost. Therefore, we use coarse-grained model that is one particle par one amino acid.

#### 【序】

細胞質ダイニンは細胞内で ATP の加水分解の自由エネルギーを用いて二足歩行運動を行う分子モーターである。ダイニンは微小管上を細胞の中心体方向(一般にマイナス端方向と呼ぶ)に移動する事で細胞内の様々な小器官を一方向に輸送する働きがあることが知られている。また、ダイニンは細胞分裂の際に小器官を細胞のしかるべき場所に配置する役割を持つことも知られている。その

ため、ダイニンの変異は癌やアルツハイマー型認知症のような神経異常と深い関わりがあると考えられている。ダイニンについて上記の細胞生物学的な側面の他に近年、Fig.1 に示すヌクレオチド状態に応じた異なる 2 状態の結晶構造が高分解能で解かれた事で詳細な構造についての理解も深まりつつある[1-3]。しかし、具体的にどのような分子内構造変化で運動しているのか、何故マイナス端方向への一方向輸送が可能なのか、といったメカニズムについての知見が乏しい。

そこで本研究は、ダイニンが実際に微小管と結合するドメイン(MTBD)に注目し、その微小管上での運動を分子動力学計算によって解析する。強弱異なる親和性を持つ 2 状態の MTBD がそれぞれ微小管のマイナス端方向、及び、プラス端方向に運動する際にどのような差異があるのかを解析することで、計算によって得られた異方性を基にした二足歩行モデルの構築を目的とする。

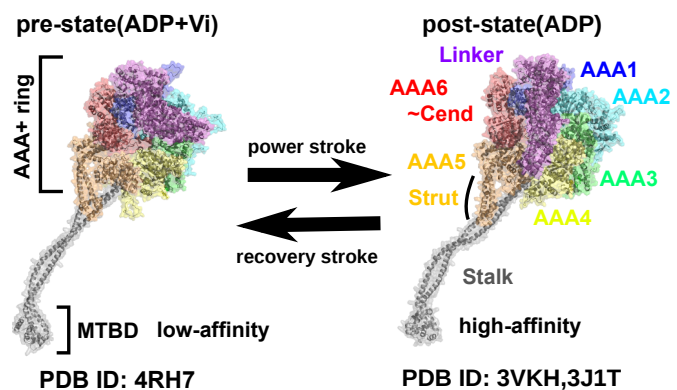


Fig. 1. pre/post state dynein structures

## 【方法 (実験・理論)】

ダイニンのヌクレオチド状態がADP+Pi状態の場合はMTBDの微小管親和性は低く、一方ADP状態の場合には親和性が高い事が知られている。本研究では計算時間の短縮の目的で微小管とMTBDのみを含めた系を用いて計算した。微小管は $\alpha$ チューブリンと $\beta$ チューブリンを交互に3つずつ並べたものを2列配置し、その中央付近にMTBDを設置した。MTBDの2端点に合わせて微小管の長軸方向に仮想的なレールを用意し、2状態のMTBDに対して2方向にそれぞれレールに沿った張力を働かせた(Fig. 2)。計算は1アミノ酸を1粒子とする粗視化モデルを用いた分子動力学計算ソフトCafeMolを使用した[4]。

## 【結果・考察】

Fig. 3は強結合状態のMTBDをマイナス端方向に4pNの力で引っ張ったときのトラジェクトリである。上図はMTBDの重心位置、下図は赤・緑・青の順に外力を働かせる2端点とMTBDの球状部の重心が微小管となす角、MTBDの付け根(hinge)と重心が微小管となす角、hingeの大きさを表している。上図において、重心位置が開始地点から30Å離れるのに要した時間を解離時間とした。

Fig. 4は強結合状態のMTBDの外力の大きさと平均を取った解離時間を表している。マゼンダがプラス端方向、シアンがマイナス端方向にそれぞれ外力を与えた場合である。すると、4pN付近でマイナス端方向に引っ張られた方がプラス端方向に引っ張られる場合と比べて約2倍以上早く解離することが判明した。これは、ダイニンが二足歩行でマイナス端方向に運動することを踏まえると自然な結果である。

Fig. 3上図で、最初に動き出す時点に注目すると、一旦反対方向に移動していることが確認される。この付近のMTBDの構造に注目するとFig. 5のようになっていた。MTBD上方の数字は時系列を表している。確かに、状態4で大きく進行方向と反対にMTBDの重心位置が大きくぶれていた。これより、MTBDの異方性には微小管とのなす角が重要なのではないかと考え、(1)レールの束縛力を強くして、角度変化を許容しない場合、(2)Fig. 5の状態2や3などを初期状態とする場合、の2通りの系を追加で計算したところ、確かに(1)の場合は10pNの強さでマイナス端に外力を与えてもMTBDは全く解離せず、(2)の場合は1~2pNの外力でも容易に解離した。従って、運動の異方性には、MTBDの微小管とのなす角が重要であることがわかる。なす角の変化が具体的にどのアミノ酸ペアの解離を意味するのか等詳細は当日発表する。

## 【参考文献】

- [1] H. Schmidt *et al.* *Nature* **518**, 7539 (2015).
- [2] T. Kon *et al.* *Nature* **484**, 7394 (2012).
- [3] W.B. Redwine *et al.* *Science* **337**, 6101 (2012).
- [4] H. Kenzaki *et al.* *J. Chem. Theory. Comput.* **7**, 6 (2011).

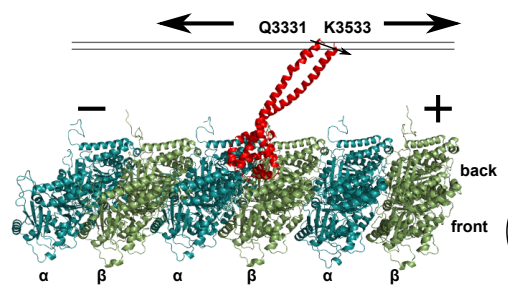


Fig. 2. setup for simulation system

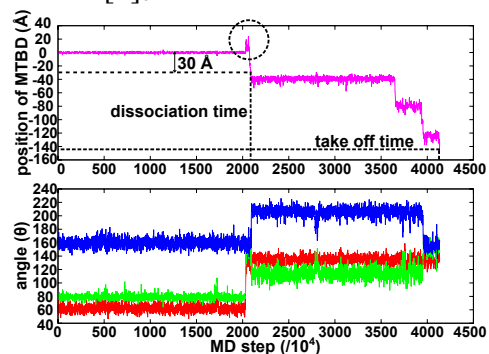


Fig. 3. trajectory of high aff. MTBD

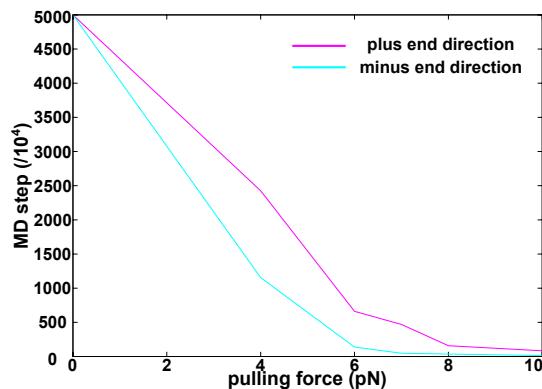


Fig. 4. dissociation time of high aff. MTBD

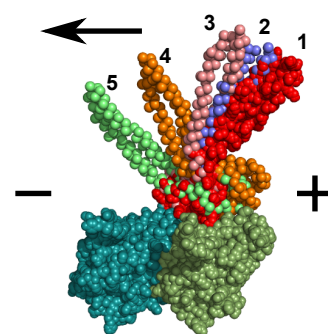


Fig. 5. MTBD movement