

## 分子動力学シミュレーションによるタンパク質の 構造緩和過程の解析

<sup>1</sup>横浜市大院・生命医科学

○ 瀧上 壮太郎<sup>1</sup>

### Conformational relaxation processes in a protein studied by molecular dynamics simulation

○ Sotaro Fuchigami<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University, Japan

**【Abstract】** Conformational changes of proteins play a crucial role in their variety of functions. Interestingly, a pathway for a large conformational change is not always identical but rather shows variability induced by the intrinsic flexibility of a protein. However, the underlying molecular details remain unclear. In the present study, we performed molecular dynamics (MD) simulation of a protein to characterize its pathways for conformational changes. Lysine-, arginine-, ornithine-binding protein (LAO) was selected as a target protein. LAO comprises two domains and undergoes slow and large-amplitude domain motions. MD simulations of LAO in the closed form without a ligand in explicit water were carried out many times. In almost all trajectories, conformational relaxation of LAO from the closed form to the open form was successfully simulated; some occurred immediately and others slowly. In this relaxation process, it seemed that the salt bridge between K186 and C-terminal D238 was a key interaction to stabilize the open form.

**【序】** タンパク質の揺らぎや立体構造変化は幅広い時間・空間スケールに渡って生じている。これらの運動はタンパク質が多様な機能を実現するための分子的基盤となっており、様々な実験的・計算的手法によってその実態が明らかにされてきている[1-3]。興味深いことに、タンパク質の大きな立体構造変化においては、その経路は必ずしも一意的ではなく、タンパク質に内在する柔軟性に起因して複雑多様な挙動を示す。しかし、その詳細は十分に把握されていない。そこで本研究では、タンパク質の構造変化経路に関してその多様性の実態を解明すべく、リジン・アルギニン・オルニチン結合タンパク質 (LAO) をターゲットとして、分子動力学シミュレーションを多数回実行した。再現された自発的な構造緩和の経路を比較することによってその多様性を解析するとともに、この過程で生じる特徴的な相互作用を明らかにすることを目指した。

**【方法】** LAO の基質結合時に安定なクローズ型構造から基質を取り除いたものを対象として、水を陽に含んだ系 (Fig. 1) の全原子 MD 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 MD 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 (圧力: 1 atm, 温度: 300 K) で平衡化を行った後、本計算を 25 回実行した (実行時間: 最小 50 ns, 最大 500 ns)。

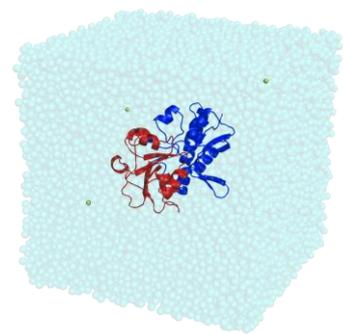


Fig. 1. Simulation system.

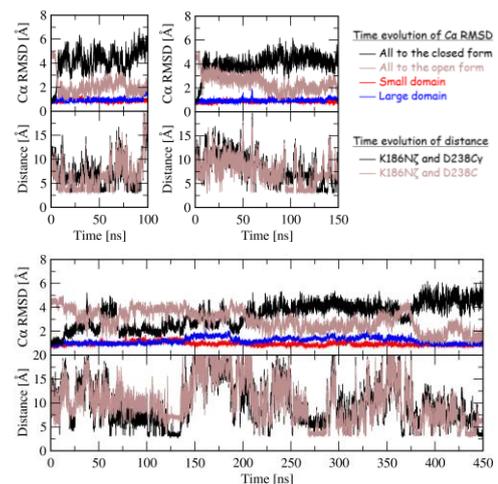
**【結果・考察】** 25 回行ったシミュレーションのほとんどすべてにおいて，LAO の 2 つのドメインは安定であり，クローズ型構造からオープン型構造へのドメイン運動が自発的な構造緩和として観察された．Fig. 2 の各図の上段には，構造緩和が実現した結果のうち 3 つについて，クローズ型構造とオープン型構造からの RMSD と各ドメインの RMSD の時間発展が示されており，クローズ型構造からオープン型構造へと緩和する様子が見てとれる．また，この構造緩和が実現する時間スケールは，速いものから遅いものまで様々であることも明らかになった．

続いて，構造緩和の経路を解析するために，オープン型構造の主成分分析で得られた第 1 主成分（ドメインの開閉運動）と第 2 主成分（ドメインのねじれ運動）の空間にシミュレーション結果を射影したところ，多様な経路で構造緩和が生じていることが判明した（Fig. 3）．クローズ型構造からオープン型構造への緩和には 2 つのドメイン運動（開閉運動とねじれ運動）が起こる必要があるが，その順番は特に決まっておらず，どちらが先に起こってもよく，同時でもよいことがわかる．また，構造緩和で到達するオープン型の立体構造は，結晶構造解析で決定された構造ではなく，オープン型構造のシミュレーションで得られた平衡構造であることも確認できた．

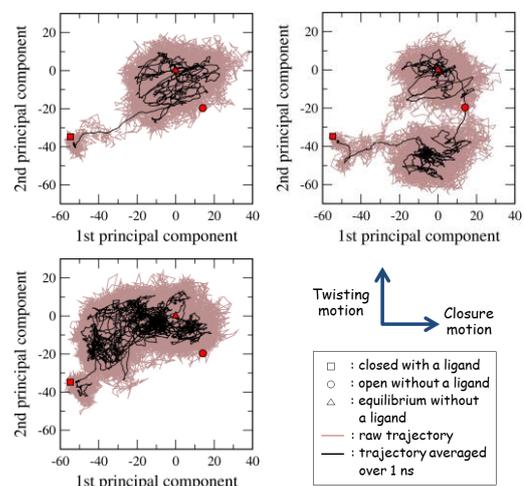
この平衡構造では，ドメイン間のヒンジ領域の近傍に存在する K186 と C 末端である D238 の間に，結晶構造には見られない塩橋が形成されていた（Fig. 1 各図の下段，Fig. 4）．この塩橋は，オープン型構造を安定化し，基質の結合を促進するのに寄与していると考えられる．また，オープン型構造への構造緩和に失敗したシミュレーション結果では C 末端部分の構造が変化してしまっており，ヒンジ領域近傍の塩橋を形成することができなかったことが，安定なオープン型構造に到達できなかった一因になっていると考えられる．

### 【参考文献】

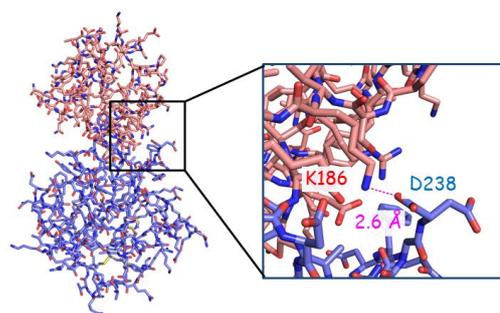
- [1] K. Henzler-Wildman and D. Kern, *Nature* **450**, 964 (2007).  
 [2] S. Fuchigami *et al.*, *Adv. Chem. Phys.* **145**, 35 (2011).  
 [3] Y. Naritomi and S. Fuchigami, *J. Chem. Phys.* **139**, 215102 (2013).



**Fig. 2.** Conformational relaxation and salt bridge formation (traj. #2, #13, #21).



**Fig. 3.** Trajectories in the first-two-PC space of the equilibrium form (traj. #2, #13, #21).



**Fig. 4.** Snapshot at 50 ns in trajectory #2.