

3P105

分子シミュレーションによるEF-hand型カルシウム結合蛋白質の特性解析

小坂井晋作、岩淵真悟、栗田典之
(豊橋技術科学大学、知識情報工学系)

【研究背景と目的】

カルシウムイオン(Ca)は、生体内の情報伝達物質として多くの役割を担っている。特に、筋収縮等におけるカルシウム結合タンパク質(CaBP)へのCaの結合は、CaBPの構造を大きく変化させ、CaBPの活性化や機能発現の引き金となる。多くのCaBPが有するCa結合部位に特徴的なモチーフとして、ヘリックス-ループ-ヘリックス(HLH)がある。HLHのループ部分にCaが結合することにより、HLHがEF-handと呼ばれるモチーフへ変化し、CaBPの機能が発現することが実験により分っている[1]。しかし、この反応機構は、原子レベルでは未解明である。

また、EF-hand型CaBPは、ループ部分でCaを結合し、ループ6番目の残基がグリシン(Gly)以外の場合、EF-hand構造が乱れ、Caを結合できないと言われている。本研究では、Gly置換がCaBPのEF-hand構造及びCa結合能に与える影響を明らかにするため、EF-hand型CaBPの一種であるパラアルブミン(PAR)のループ6番目のGlyを他のアミノ酸に置換し、古典分子動力学(MD)シミュレーションによりPARの構造変化を解析した。さらに、分子軌道計算により、PARとCaの結合状態がアミノ酸置換により、どのように変化するかを明らかにした。

【研究結果と考察】

1. アミノ酸置換によるPARの構造変化

ループ6番目のGlyをAsp,Leu,Gln,Arg,Trpに置換し、AMBER力場を用いたMM計算により最適化した構造に対し、MD計算を行い、PARの動的な構造変化を解析した。MD計算の時間ステップは1fsec、シミュレーション時間は1nsec、温度は298K、真空中で結晶水を含んだ条件で行い、Ca周辺に存在するPARのアミノ酸側鎖の酸素原子とCaの距離を解析した。Fig.1に示すように、GlyをAspに置換した場合、53Asp及び55SerのOとCaの距離が大きく離れることが明らかになった。それ以外の残基を置換した場合は、CaとOが結合していると言える範囲(2.2~2.6)で推移している。

距離の時間平均をとると(Table 1)、56番目のGlyをAspに置換した場合のOとCaの距離以外は、全て2.2から2.6の範囲内であり、PARのループ周辺のアミノ酸の酸素原子は、Caとの結合を保っているといえる。

現在、結晶水の他に、タンパク質の周辺5に水分子を加えた水和構造に対し、MD計算を実行中であり、その結果は当日ポスターで発表する。

2. アミノ酸置換によるPARとCa間の結合状態の変化

MD計算を行い、最もポテンシャルエネルギーの低い構造を、MM計算で最適化し、その構造に対し、半経験的分子軌道計算(MOPACのPM3法)、及びQM/MM計算を行い、CaとPARの結合エネルギーがアミノ酸置換によりどのように変化するかを解析している。この結果は当日ポスターで発表する。

【まとめ】

MM 及び MD 計算により、PAR のループ 6 番目の Gly を他のアミノ酸に置換した際の PAR と Ca の結合構造の変化を解析した。その結果、Gly を Asp に置換した場合を除き、Gly 置換による Ca 周辺の構造変化は大きくなく、PAR のループ 6 番目の Gly が Asp 以外の他のアミノ酸であっても、EF-hand 構造を保てることを明らかにした。

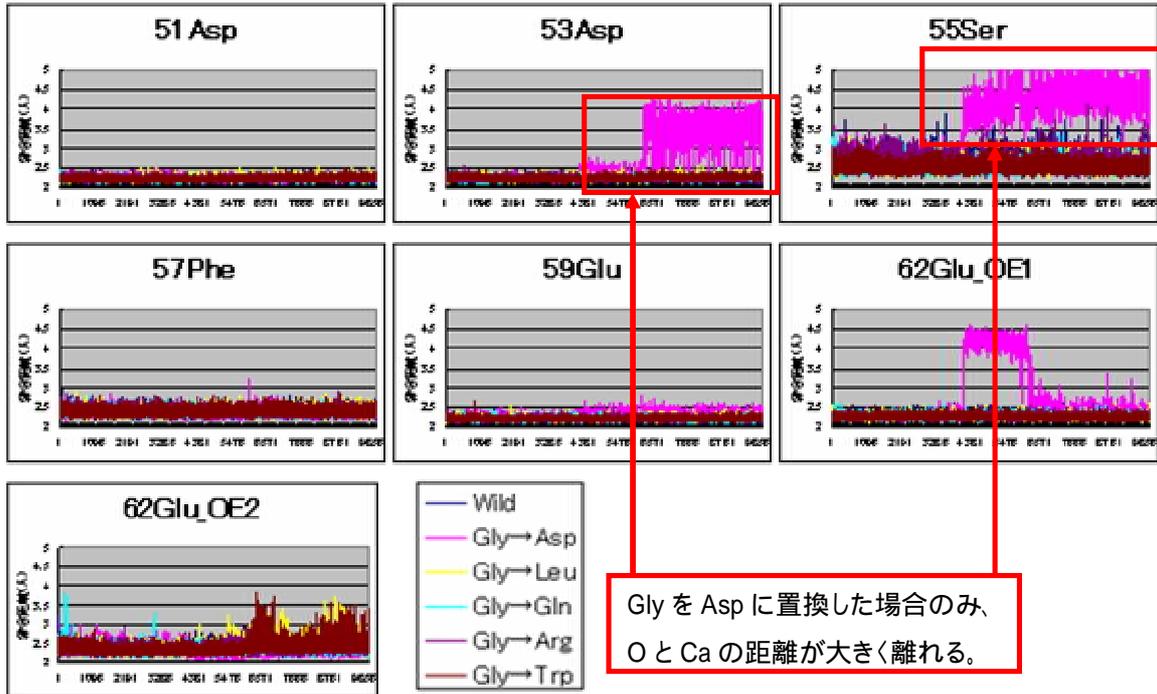


Fig.1 MD 計算による PAR の O と Ca の距離の時間変化

Table 1 MD 計算時の Ca と O の距離の時間平均 ()

| CD Domain Ca+ | 51Asp | 53Asp | 55Ser | 57Phe | 59Glu | 62Glu-01 | 62Glu-02 | Average |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|----------|---------|
| Wild | 2.22 | 2.23 | 2.62 | 2.39 | 2.21 | 2.29 | 2.37 | 2.33 |
| Gly Asp | 2.23 | 2.73 | 3.61 | 2.36 | 2.28 | 2.71 | 2.33 | 2.61 |
| Gly Leu | 2.25 | 2.25 | 2.56 | 2.39 | 2.22 | 2.27 | 2.44 | 2.34 |
| Gly Gln | 2.21 | 2.22 | 2.54 | 2.38 | 2.20 | 2.28 | 2.37 | 2.31 |
| Gly Arg | 2.23 | 2.23 | 2.64 | 2.40 | 2.21 | 2.27 | 2.37 | 2.33 |
| Gly Trp | 2.23 | 2.24 | 2.54 | 2.40 | 2.21 | 2.26 | 2.43 | 2.33 |

【参考文献】

[1] M. S. Cates, M.B. Berry, E.L. Ho, Q. Li, J.D. Potter, G.N. Phillips, Structure, 1997, 7, p1269-1278.