

分子動力学計算を用いた非従来型分子シャペロンの構造的な研究

Structural Investigations on Non-conventional Molecular Chaperones using Molecular Dynamics Simulations

森田 陸離

筑波大学 計算科学研究センター

1. 研究目的

タンパク質の構造と動態は強く機能に繋がっており、生命の分子機構を解き明かす上で非常に重要である。近年のハードウェアの進歩により、分子動力学シミュレーション (MD) によってタンパク質の時空間情報を高解像度で得ることが可能となった。タンパク質が正しい機能を持つためには正しい立体構造を取る必要がある。分子シャペロンはタンパク質が適切にフォールディングして構造を形成するのを助けるタンパク質である。例えば、ATP によるエネルギーを消費してはたらく GroEL や熱ショックに対応してはたらく HSP (heat shock protein) などが知られている。これらの分子シャペロンが非特異的にタンパク質を標的とする一方で、特定のタンパク質のみを標的とする特殊な分子シャペロンも存在する。また、ある種のタンパク質は主要な機能に加えてシャペロン様の機能を持つ可能性が示唆されている。そこで、本プロジェクトでは非従来型の分子シャペロンが生体内で果たす役割を解明するために、MD によるシミュレーションを実施した。

2. 研究成果の内容

【1. 局所的分子シャペロンとしてのカルモジュリン】

カルモジュリン (CaM) はカルシウムイオンの存在によって構造変化するタンパク質である。カルモジュリンキナーゼを始めとするリン酸化酵素や多数のタンパク質と相互作用することで、生体内でのシグナル伝達において重要な役割を担っている。CaM はダンベル状の構造をしており、Ca²⁺ と結合すると標的タンパク質を抱え込むような構造変化をとる。タンパク質構造データベースに登録されている CaM 複合体のほとんどで、CaM は一本の α ヘリックスを保持している。ところが、天然タンパク質の構造として α ヘリックスが単独で存在することは稀であり、自由なタンパク質末端はランダムコイルとして存在する。これらの事実から、CaM はタンパク質のランダムコイルを α ヘリックスに変形させる分子シャペロンである可能性が考えられた。本プロジェクトではランダムコイル構造と α ヘリックス間の構造変化についてのサンプリングを進めた。今後は、CaM との複合体についてのモデリングを行い、計算と解析を進めたい。

【2. ヒストンシャペロンの局在を制御する構造変化】

ヒストンシャペロン (Nap1) はフォールディングを主な機能としない分子シャペロンである。ヒストンは DNA の高次構造形成や転写制御に関与するタンパク質であり、8 量体を形成して DNA を巻きつける。Nap1 はヒストンの輸送や多量体形成にはたらくと考えられている。ヒストンが合成されるのは細胞質であるが、機能するのは核内でありシャペロンによる輸送を要する。Nap1 が核外へ排出されるためには核排出シグナル (NES) が認識される必要がある。ところが、Nap1 の NES はアクセサリドメイン (AD) と呼ばれる構造によってマスクされている。AD には細胞周期依存的にリン酸化される部位が複数存在している。これらのリン酸化が AD の構造変化を引き起こし、NES を露出させる可能性が考えられた。そこで、本研究では野生型およびリン酸化型 Nap1 についての分子動力学計算を行った。その結果、複数回の試行においてリン酸化型 Nap1 では AD が大きく構造変化し、NES が露出した。また、この過程においては複数のリン酸基が 2 つの機構に関与することが示唆された。一つはリン酸化による親水性の増加であり、AD の解離を促している。もう一つは、水素結合ネットワークの破壊により AD をロックする機構の解除に関わっている。このような制御は実験で考えられてきた挙動と一致しており、仮説を原子レベルで検証することに成功した。

【3. 分子シャペロンとして機能する脂質表面】

タンパク質と比較して分子量の小さなペプチドは医薬品や毒として生体強い影響をもたらす。ハチ毒であるメリチンは細胞膜に小孔を形成して細胞を破壊する。一方で、がん細胞への特異性が高いことから医薬品のコア構造として期待されている。メリチンは水溶液中ではランダムコイル様の構造をとるが、膜表面では α -ヘリックス構造を取ることが知られている。この性質は多くのペプチド毒に共通しており、細胞膜の脂質表面が分子シャペロンとして機能するといえる。本プロジェクトではタンパク質が脂質に結合した際の構造変化を分子動力学計算によって調べた。現時点では、構造変化をうまく抽出することには成功しておらず、効率の良いサンプリング手法の開発および検証を進めた。

3. 学際共同利用が果たした役割と意義

学際共同利用によって、分子動力学計算で用いるソフトウェアの計算が非常に高速化され、結論を得るに足るシミュレーションを実施できた。具体的には、Cygnus が GPU を搭載しており計算効率が高いこと、および多くの計算ノードで並列に計算を進めることができる点が果たした役割は大きい。本プロジェクトの遂行において学際共同利用のリソースは欠かせないものであり、GPU 搭載型のスーパーコンピューターと分子動力学計算の相性が非常に良いことが改めて示された点にも、意義がある。

4. 今後の展望

本プロジェクトで得られたヒストンシャペロンについての分子機構は、新たな実験による検証に繋がる可能性がある。計算と実験の協同による現象の解明を進めたい。また、CaM および膜タンパク質については、追加の計算や解析を実施して投稿論文の作成を進めたい。今後の展望としては、本プロジェクトのテーマを発展させてランダムコイルタンパク質の構造変化について網羅度の高い検証を行うことで興味深い知見が得られると考えている。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- Sho Ashida†, Rikuri Morita†, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada*. Phosphorylation in the accessory domain of yeast histone chaperone protein 1 exposes the nuclear export signal sequence. *Proteins* **90**(2), 317-321
- Rikuri Morita*, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada*. (2021) A post-process to estimate an approximated minimal free energy path based on local centroids. *Chem. Phys. Lett.* **782**, 139003

(2) 学会発表

なし

(3) その他

なし

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース*	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	16000.00	4800.00
Oakforest-PACS			
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			