

## タンパク質 N 末端の構造と機能の関係

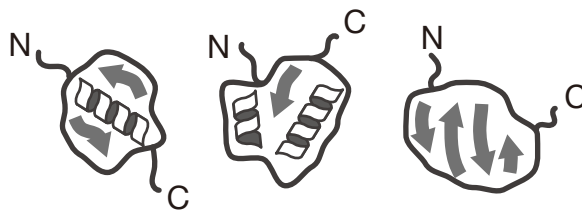
### Relationship between structure and function of the N-terminal of proteins.

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。さらに、タンパク質の立体構造を高精度に予測する AlphaFold 2 の登場により大量のタンパク質の立体構造について計算することが可能になった。タンパク質はアミノ酸の直列なポリマーが  $\alpha$  ヘリックスや  $\beta$  シートなどの二次構造を形成し、主に球状の構造を取る。しかし、**N 末端および C 末端は構造をとらないランダムコイルの状態で存在することが多い**。この様な領域は天然変性領域と呼ばれ、近年その機能が注目されている。特に、タンパク質アセチル化酵素やミリスチル化酵素などの酵素は特定の種類のタンパク質の N 末端を認識して翻訳後修飾を行うことが知られている。また、翻訳中のタンパク質の N 末端配列に結合して翻訳速度を調節するタンパク質の存在も報告されている。本課題ではタンパク質の N 末端の機能について分子動力学計算を用いた研究を行った。



#### 2. 研究成果の内容

まず、タンパク質の末端配列をデータベースから抽出した。多様な配列が存在しており、配列からは分類することができなかった。次に、代表的な配列について構造計算を行った。タンパク質末端を切り出した断片はいくつかの安定構造を取ることが入念なサンプリングにより明らかになった。しかし、タンパク質全体を含むときは構造が異なる場合がしばしば見られた。そのため、末端の構造が機能に与える影響を効率よく調べられる系を模索した。その中で、脂質修飾基はタンパク質の末端の性質を大きく変えることに着目し、研究方針を脂質修飾にフォーカスした。

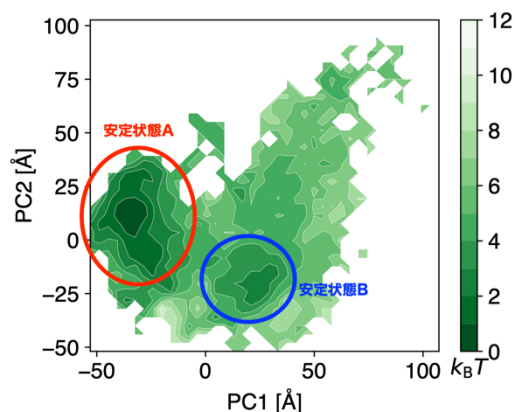
タンパク質末端への脂質修飾が機能にもたらす影響を調べるために、脂質修飾を含むシミュレーションを行った。一般的なアミノ酸と異なり、計算に用いる力場のパラメータは研究当初の段階では存在していなかった。そこで、量子化学計算を用いて脂質修飾基について計算し、既存の GAFF (General Amber Force Field) 力場と共に使用できるパラメータを作製した。N 末端修飾であるミリスチル化に加えて C 末端修飾であるプレニル化についてもパラメータを作製した。モデルタンパク質でシミュレーションを行ったところ、プレニル化タンパク質において興味深い動態が観察された。脂質修飾基はシミュレーション開始後速やかにタンパク質内部に隔離されること

が明らかになった。このときのタンパク質末端の状態を主成分分析 PCA

(Principle Component Analysis)

によって分類した。その結果、2つの安定状態が得られた (右図)。脂質修飾基は疎水性が高く、細胞膜などの脂質二重層に挿入されて安定な膜への局在を可能にしている。しかし、タンパク質内部に隔離された脂質修飾基は一時的に水中へ露出しなけれ

ば膜へと侵入することができない。前述の2つの安定構造間の遷移が重要であると考え、効率的なサンプリング手法により多様な構造を取得した。さらに、脂質二重層を配置したシミュレーションを行い、タンパク質末端のダイナミクスを観察した。このタンパク質は脂質二重層に近接すると、膜表面に安定して局在した。これは脂質修飾の有無によらずタンパク質が持つ性質であることが修飾なしのシミュレーションから明らかになった。長時間のシミュレーションを続けると、脂質修飾が水中に露出することなく膜内へと挿入されることが分かった。実験的に知られていたタンパク質の修飾が原子レベルでどのようなダイナミクスを持つのかを明らかにすることができた。一方で観察された現象の生物学的意義についてより深めていく必要があると考えている。



### 3. 学際共同利用プログラム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、滞りなく研究を実施できた。GPU を搭載しており計算効率が高く、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は非常に優れている。本プロジェクトの実施において学際共同利用によるサポートは欠かせないものであり、GPU 搭載型のスパコンと分子動力学計算を掛け合わせた研究実績が積まれた意義は大きい。

### 4. 今後の展望

本研究課題ではタンパク質末端への脂質修飾がタンパク質の性質を大きく変化させることが明らかになった。本課題で得られた成果については追加の検証を行い、投稿論文の作成を進める。本課題に関連して開発できた計算技術とあわせて、細胞膜とタンパク質の関係について研究を発展させたい。また、今後の展望としては粗視化技術を用いてより時間スケールの長い現象に着目した研究を行うことで、興味深い知見が得られると期待している。

## 5. 成果発表

### (1) 学術論文

1. Rikuri Morita\*, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada\*. Efficient Screening of Protein-Ligand Complexes in Lipid Bilayers Using LoCoMock Score. (2023) *J. Comput. Aided Mol. Des.* **37**, 217-225
2. Ryuhei Harada\*, Rikuri Morita, Yasuteru Shigeta. Free-energy Profiles for Membrane Permeation of Compounds Calculated Using Rare-Event Sampling Methods. (2023) *J. Chem. Model. Inf.* **63**(1), 259-269
3. Takunori Yasuda, Rikuri Morita, Yasuteru Shigeta, and Ryuhei Harada\*. (2022) Protein Structure Validation Derives a Smart Conformational Search in a Physically Relevant Configurational Subspace. *J. Chem. Inf. Model.* **62**(23), 6217-6227
4. Takumi Taketomi, Takunori Yasuda, Rikuri Morita, Jaehyun Kim, Yasuteru Shigeta, Cagla Eroglu, Ryuhei Harada, Fuminori Tsuruta\*. (2022) Autism-associated mutation in Hevin/Sparcl1 induces endoplasmic reticulum stress through structural instability. *Sci. Rep.* **12**, 11891

### (2) 学会発表

なし

### (3) その他

1. Web リリース「膜タンパク質に対して創薬シミュレーションを可能にする計算手法を開発」 筑波大学 計算科学研究センター 2023.3.22

| 使用計算機                       | 使用計算機に<br>○ | 配分リソース※ |      |
|-----------------------------|-------------|---------|------|
|                             |             | 当初配分    | 追加配分 |
| Cygnus                      | ○           | 14000   |      |
| Wisteria/BDEC-01            |             |         |      |
| ※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。 |             |         |      |