

タンパク質ダイナミクスに注目した分子進化シミュレーション

Simulation of molecular evolution focused on the dynamics of proteins

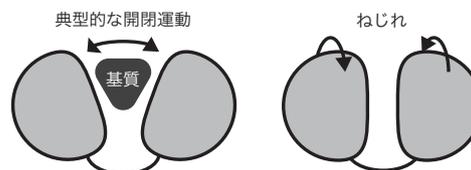
森田 陸離

筑波大学 計算科学研究センター

1. 研究目的

自然界では長年の選択圧による変異の蓄積によって、タンパク質の機能や構造が多様に進化してきた。このような過程を模した**分子進化シミュレーション**をコンピュータ上で行うことで、機能性を有する分子の開発や基礎的な分子機構の解明につなげることができる。既存の分子進化シミュレーションにおいては、**静的な情報についての形質進化**に着目した研究が広くなされている。例えば、既存タンパク質から大きく構造が異なる変異体を作製するシミュレーションでは、サンプリングされたタンパク質の安定構造あるいは平均構造に着目する。他には、医薬品などの化合物の結合性が異なる変異体の取得においてもある静止構造における結合能を評価する。しかし、**タンパク質の重要な性質である動的な構造変化**を無視することはできない。例えば、酵素タンパク質は基質との結合に際してオープン・クローズドの構造変化を起こすことが多い。このような動的な構造変化における運動の方向性や頻度のようなパラメータは、**分子動力学計算 (MD)** により計算できる。

本研究では、MD をベースとした分子進化シミュレーションによって主に2種類のダイナミクス変異体を作製を試みる。1つは、**運動の方向性に関する変異体**である。酵素におけるオープン・クローズドの動きと異なる



図：新たな方向性の運動を獲得した変異体の作製

ドメイン運動を引き起こす変異体を効率よく作成することができれば、新規の機能を持つタンパク質の作製につながる。もう1つは、**時間軸における頻度に関する変異体**である。酵素が確率的に開閉して基質と結合するタイプのドメイン運動において、基質との結合確率はその運動頻度に影響を受ける。例えば、高頻度に開閉する酵素は、基質と代謝物の回転が速く触媒反応を高速に進めることができる。このような酵素の開発は工業的にも重要であり、応用面での広い活用が見込まれる。

2. 研究成果の内容

運動の方向性に関する変異体を作成するため、主成分分析 (PCA) を活用した。タンパク質に関するシミュレーションのトラジェクトリーに対する PCA から主要な運動の方向性を取得することができる。このとき、主要な運動についての固有ベクトルについて、野生型と変異型の内積を計算することで、運動性の異なる変異体を取得できる。ま

ず、タンパク質の変異体を効率よく作成し、シミュレーションを自動化するプログラムを作成した。これにより、多数のアラニン置換型変異体に関するトラジェクトリーを得た。PCAにより野生型との運動性を比較した結果、ほとんどの変異体が野生型と同様の運動性を示した。ごくまれに存在した、野生型と異なる運動性の変異体はタンパク質の構造が不安定になっているのが確認された。このとき、本来の機能を大きく失っていることが考えられるため、これらの変異体は本研究での目的には合致しなかった。アラニン以外の変異体について計算を行い、有望な変異体についてより長時間のシミュレーションを行った。結果については現在解析中である。また、時間軸における変異体についても同様の計算を行った。構造遷移についてマルコフ状態モデルより、遷移速度を求めた。遷移速度が野生型と異なる変異体について、さらに変異を導入して分子進化シミュレーションを行った。

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、多くの変異体について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った。

4. 今後の展望

作成した変異体について、実際の活性や細胞内での働きを調べるために、実験による評価を進めたい。これにより、ダイナミクスに注目した変異体の機能的な重要性が示されると考えている。また、より複雑な運動性を持つタンパク質についても変異体作成を行って、工業的に活用される酵素の開発につなげたい。

5. 成果発表

(1) 学術論文

1. Raja Norazireen Raja Ahmad, Long-Teng Zhang†, Rikuri Morita†, Haruna Tani, Yong Wu, Takeshi Chujo, Akiko Ogawa, Ryuhei Harada, Yasuteru Shigeta, Kazuhito Tomizawa, Fan-Yan Wei*. (2023) Pathological mutations promote proteolysis of mitochondrial tRNA specific 2-thiouridylase 1 (MTU1) via mitochondrial caseinolytic peptidase (CLPP). *Nucleic Acids Res.* **52**(3), 1341-1358
2. Rikuri Morita*, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada*. Latrunculin resistance mechanism of non-conventional actin NAP1 uncovered by molecular dynamics simulations. (2023) *Cytoskeleton*, **81**(2), 143-150 DOI: 10.1002/cm.21798

(2) 学会発表

1. 森田陸離、重田育照、原田隆平「高精度な結合エネルギー計算を活用して解明する非従来型アクチン NAP1 の薬剤耐性機構」第 46 回日本分子生物学会年会 (2023.12.7) ポスター

2. 森田陸離、重田育照、原田隆平「Enhanced conformational sampling based on structural generation by the inverse transformation using principal component analysis」第 61 回日本生物物理学会年会 (2023.11.16) ポスター
- (3) その他

使用計算機	使用計算機に ○	配分リソース※		
		当初配分	移行*	追加配分
Cygnus		10800		
Pegasus		14400		
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。 *バジェット移行を行った場合、「+2000」「-1000」のように記入				