

酵素設計のための分子シミュレーション

Molecular Simulation Study for An Enzyme design

下山紘充

野口研究所 糖鎖情報科学研究室

1. 研究目的

糖鎖は蛋白質や細胞表面（脂質）に結合しており、加齢や病気などによって糖鎖配列が変化することが知られている。このため、糖蛋白質のフラグメントを検出することで健康に役立つ多くの情報を得ることができる。

このようなグライコプロテオミクス研究において、O型糖鎖を認識してペプチド部分を切断する酵素に需要がある。IMPα という酵素はこの需要を満たすために使われる酵素であるが、特定のペプチド配列を持つ場合に活性が著しく低下することが知られている。本研究の目的は天然の IMPα が切断できないペプチド配列を切断可能な新規酵素を IMPα から作成する酵素改変である。

2. 研究成果の内容

IMPα が切れる/切れない配列は、糖鎖(GalNAc)が結合したアミノ酸(S/T)の N 側に、D, I の 3 つのどれかが連なっている配列である(...[DI]S*..., *に GalNAc が結合)。この性質を報告した実験 (*Anal. Chem.* 2022, 94, 1060-1069) に基づき D, I の 3 つが S に隣接する糖ペプチド（切れない配列）と、N, L が隣接する糖ペプチド（切れる配列）の両者を IMPα の活性部位に配置し、300K, 1 μ s の MD シミュレーションで両者の振る舞いを確認した。なお、N, L を選んだのは、各々が、D, I と類似した側鎖を持つためである。また初期構造は 1 配列あたり 4 つ（系 16 個）用意した。

初期構造から MD を開始したところ、切れる糖ペプチドは活性部位から一旦解離した後、再度活性部位に近接するトラジェクトリが 5 つあった(N 三つ、L 二つ)。乖離して再起できなかったトラジェクトリが 4 つで、残り 7 つは乖離しなかった。これは活性部位付近での相互作用が強く、切れない配列が IMPα で切断できないのは活性部位近傍で滞在できないからではないと考えられる。

3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

1 μ s の MD のうち 9 割は学際共同利用プログラムの計算資源を使用している。IMPα と糖ペプチドの結合・乖離は時間のかかる現象であり、L を含む配列のトラジェクトリの中には 1 μ s ギリギリで糖ペプチドが再帰している。当研究所にはこのような計算を可能にする計算リソースがないため、「酵素と糖ペプチドの結合・乖離」

を再現する様な MD シミュレーションができたのは学際利用プログラムのおかげである。

IMPa の結晶構造は複数見つかったものの、そこへ至る「過程」の構造は実験で得ることができない。本研究で実現した結合・乖離中の構造は糖ペプチドが IMPa の活性部位に至るまでの「過程」を示しており、なぜ「切れる/切れない」の差が生まれるのかを考える大きなヒントとなる。

4. 今後の展望

切れない糖ペプチドと IMPa の結合・乖離が見えなかったため、切れないペプチドのドッキングを行う予定である。初期構造は切れるペプチドの構造を参考に作成し、温度の制御（拡張アンサンブル方）や PaCS-MD などを用いて、より効率的にドッキングを行う。

切れる/切れない糖ペプチドが活性部位で安定構造を取るまでの軌道を比較することで、切れない理由を調べ、変異体の作成に繋げる所存である。

5. 成果発表

- (1) 学術論文：該当なし
- (2) 学会発表：該当なし
- (3) その他：該当なし

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				
Pegasus				
Wisteria/BDEC-01	○	10800		
※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				