

輸送体による金属輸送のダイナミクス

Dynamics of metal transport through protein

小幡 昂諒

筑波大学生命地球科学研究群生物学学位プログラム

1. 研究目的

本研究では、亜鉛輸送体タンパク質 Zrt/Irt-like protein (ZIP)ファミリーによる金属輸送ダイナミクスの理解を目的とし、分子動力学シミュレーション(MD)を用いて ZIP の基質輸送に伴う立体構造変化の探索と解析を目指す。亜鉛は生物の活動に不可欠な栄養素であり、ZIP が生物の細胞内への亜鉛の取り込みに主要な役割を果たしている。ZIP の立体構造研究のモデルとなっているバクテリアホモログの BbZIP は、8 つの結晶構造が報告されている。ZIP は生体膜に埋まっており、タンパク質内部を通じて膜内外への亜鉛輸送を行うと考えられている。しかし報告されているすべての構造において、BbZIP の基質結合サイトは細胞質側に暴露されている一方で細胞外側は疎水性アミノ酸残基で塞がれている。そのため、亜鉛は細胞外から BbZIP の基質結合サイトへ到達可能ではない。モデリングや実験により結晶構造の基質結合サイトが細胞内側へ暴露された構造(内向き構造)から基質結合サイトが細胞外側へ暴露された構造(外向き構造)への大規模な構造変化が予想されているが、外向き構造は実験的に撮られてはおらず、また BbZIP の MD を用いた研究の報告もあるが外向き構造を得られていない。[A. Wiuf et al. *Sci. Adv.* (2022), A. Pasquadibisceglie et al. *Front. Chem.* (2022), Y. Zhang et al. *Nat. Commun.* (2023)].

本プロジェクトでは、MD を用いて BbZIP の内向き構造から外向き構造への構造変化を探索し、ZIP タンパク質による基質輸送のメカニズムについてダイナミクスの側面からの理解を推進することを目指す。

2. 研究成果の内容

2025 年度は、MD を用いた BbZIP の内向き構造 (結晶構造)から外向き構造への構造変化探索のためのプロトコルの開発を行い、実際に内向き構造から外向き構造への構造変化の探索に成功した。BbZIP の内向き構造から外向き構造への構造変化を MD により探索する先行研究として、外力を加えることでエネルギー障壁を低減するメタダイナミクスを用いた報告があるが、完全な外向き構造を得るには至っていない。BbZIP の予想されている構造変化が、基質結合サイトが 8 Å 移動する大規模な構造変化であり、数個の反応座標で記述してバイアスポテンシャルを付加することが困難であるからだと考えられる。そこでバイアスポテンシャルを必要としない構造変化探索の手法

として Parallel Cascade Selection MD (PaCS-MD) [R. Harada et al. *J. Chem. Phys.* (2013)] を用いた構造変化探索を行った。PaCS-MD は独立な短時間の MD の実行、任意の指標でのスナップショットのランク付けとランクをもとに次の MD の初期構造を選択するサイクルにより、任意の指標に沿って系の構造変化を探索する手法である。MD の開始位置を任意指標で決定し、レアイベントを得るという戦略で構造変化の探索を行うため、前もって反応座標を知っている必要がなく、BbZIP の内向きから外向きへの構造変化探索に適していると考えた。

PaCS-MD では、細胞外側からの亜鉛の入口とされている SER106 と基質の移動経路とされている基質結合部位 M1 の距離を用い、S106-M1 間距離が小さいスナップショットを次サイクルの初期構造群として選択した。結果として、3 トライアル行った PaCS-MD の全てで S106-M1 間距離が 15 Å から 10 Å 以下に減少した(図 1 左)。得られた外向き構造では亜鉛が細胞外側から結合サイトへ移動可能であった。また得られた構造変化では、BbZIP がドメイン運動をした(図 1 右)。BbZIP の構造変化については、足場ドメインと輸送ドメインが相対的に運動するエレベータ型の構造変化が予想されている。本研究の構造変化の指標には S106-M1 間距離のみを用いており、ドメインについての制約は置いていない。そのため、基質結合サイトが基質の入口へ接近する際にはエレベータ型の構造変化をすることをタンパク質のダイナミクスの側面から支持する初めてのデータが得られたと言える。

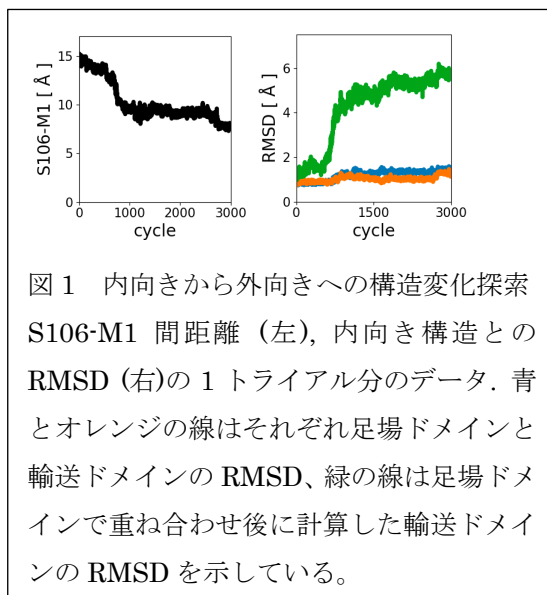


図 1 内向きから外向きへの構造変化探索 S106-M1 間距離 (左), 内向き構造との RMSD (右)の 1 トライアル分のデータ。青とオレンジの線はそれぞれ足場ドメインと輸送ドメインの RMSD、緑の線は足場ドメインで重ね合わせ後に計算した輸送ドメインの RMSD を示している。

3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

Pegasus, Miyabi での複数ノードを占有したジョブの実行により、PaCS-MD の短時間 MD の並列が可能で、円滑な研究の遂行に有用であった。また PaCS-MD では、MD のトラジェクトリデータが一時的に 1 TB 程度の容量となったため、Pegasus の 10 TB, Miyabi の 3 TB の十分な保存容量が必要であった。

4. 今後の展望

2025 年度には BbZIP の構造変化を探索するための準備が整った。今後は、構造変化のメカニズム、特に構造変化の律速となっているイベントの抽出等の解析や、基質結合と構造変化の関連について研究し、BbZIP の基質輸送メカニズムの理解に貢献する。

5. 成果発表

- (1) 学術論文 特になし
- (2) 学会発表 特になし
- (3) その他 特になし

使用計算機	使用計算機に○	配分リソース※		
		当初配分	移行*	一般利用による追加
Pegasus	○	16000		
Miyabi-G	○	27000		
Miyabi-C				
※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				