

課題名(タイトル):

心臓シミュレーターUT-Heart と粗視化分子シミュレーターCafeMol の架橋

利用者氏名:

○金田 亮

理研における所属研究室名:

国立研究開発法人理化学研究所 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

心臓シミュレーターUT-Heart は、細胞内の様々なイオン電流やアクトミオシン等の筋肉の収縮を司るタンパク質の振る舞いを記述する生理学モデルから出発し、内部微小器官等がモデル化された「数値細胞」の運動を経て、最終的には心臓の拍動、血液の拍出、血圧・心電図等まで一貫して再現する事ができるマルチスケール・マルチフィジックスシミュレーターである。この様なシミュレーターは世界的にも例がない。

心筋は筋原線維が束ねられる事で形成されており、筋原線維の最小単位はマイクロメータサイズのサルコメアである。このサルコメアは、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントが入れ子状になった構造をとっており、ATP 加水分解で得られた化学的なエネルギーを利用する事で収縮運動を起こす。心筋の拍動はこのサルコメアの収縮運動が原動力となっている。現在の UT-Heart シミュレーターにおいては、サルコメアモデルを構成するミオシン分子はヘッド1つが言わば1つの質点(自由度)として扱われており、ヌクレオチド状態の変化(化学反応)に対応したアクチンとの結合解離やパワーストロークの確率過程がモンテカルロ法により表現されている。

しかし、この様なサルコメアモデルにおいては、ミオシン-アクチンタンパク質を構成するアミノ酸残基に変異が起こった場合、その変異が肥大型心筋症の様な心疾患を引き起こすメカニズムや心筋の拍動、血圧等に及ぼす影響を解明

する事は出来ない。

そこで私達は、ミオシンやアクチン分子を構成するアミノ酸一つ一つの自由度とタンパクの立体構造を考慮に入れた C $\alpha$ -粗視化モデルに基づくシミュレーター:CafeMol を用いた粗視化分子動力学 MD によりモータータンパクのダイナミクスを調査する事を目指す。

上記の目的の為に、昨年度においては先ず構造ベースの粗視化シミュレーションにとって必須となるヒトのアクトミオシンのモデル構造を構築した。具体的にはヒトと配列相同性の高い生物種のアクチン-ミオシン構造を鋳型にしたホモロジーモデリングを実施した。次いで、構築した上記モデル構造に対して CafeMol を適用し 1ATP 加水分解反応に伴うミオシンの首振り運動が実現可能か否か、フィージビリティスタディを行った。その結果、モデル構造に基づく粗視化 MD でも首振り運動の再現は可能であり、首振りの際にミオシンが発生する力のオーダーも in-vitro の一分子計測で測定される値と整合性がある事が分かった。

2. 具体的な利用内容、計算方法、結果

昨年度までは、ヒトのアクトミオシンモデル構築の際に異なるヌクレオチド状態(ATP, ADP, ADP\*Pi 等)で各々別の生物種、ミオシンファミリーの PDB 構造を鋳型にしてモデル構造を構築した。しかし、その場合、ヌクレオチド状態間で構造に力学的整合性が保たれない恐れがある。そこで、本年度においては、全 ATP 加水分解の加水分解サイクルにおいて統一した生物種、ファミリー由来(myosin-VI)の PDB 構造を鋳型にしてホモロジーモデリングを行う事とした。具体的には、MOE によりヒト心筋と

myosin-VI のアライメントを行い、そのマッピング情報をもとにして Modeller により数百サンプル構造を発生し、その中で最もスコアの良い構造をモデル構造として抽出した。そうして得られたモデル構造に対して CafeMol を適用し 1ATP 加水分解反応に伴うミオシンの首振り運動が実現可能か否か、フィージビリティスタディを行った。(その際、一定ステップ数毎に CafeMol の構造ベースのポテンシャルを Pi-release 型⇒ADP 型⇒rigor 型⇒Pre-power stroke 型…と切り替える事で、MD 上で仮想的に化学反応を模擬した。)

その結果、全ヌクレオチドで生物種を統一した新しいモデル構造に基づく粗視化 MD でも首振り運動の再現は可能であり、首振りの際のミオシンレバーアームの変位のオーダーも in-vitro の一分子計測で測定される値と整合性がある事が分かった。

### 3. まとめ、今後の計画・展望

今年度は化学状態間で生物種(Sus scrofa, myosin-VI)を統一した鑄型構造を適用する事で力学的整合性のあるモデル構造を構築した。更に新しいモデル構造において首振り運動のフィージビリティスタディを行った結果、実験と整合性のある挙動を得た。

今後は、マイクロとマクロの連成解析の意義がより明確となるよう分子モデルの改良を図っていく。マクロからマイクロへのフィードバックによりミオシン分子のレバーアームに変位が加えられることになる。このレバーアームの変位がヌクレオチド結合部位に影響を及ぼすアロステリックモデルを構築する。またこのモデルを用いてマイクロ・マクロ間の相互作用に関する分析と考察を行う。さらに以上のような構造ベースの粗視化分子モデルのシミュレーションにおいて、局所的なアミノ酸の変異を有効に取り込むことの出来るモデリング手法について検討を進める。

### 4. 利用がなかった場合の理由

平成 30 年度 利用研究成果リスト

**【雑誌に受理された論文】**

T. Washio, S. Sugiura, R. Kanada, J. Okada, and T. Hisada, Coupling Langevin Dynamics With Continuum Mechanics: Exposing the Role of Sarcomere Stretch Activation Mechanisms to Cardiac Function, *Frontiers in Physiology* 9, ARTN 333 (2018) [doi: 10.3389/fphys.2018.00333]

**【その他(著書、プレスリリースなど)】**

理研ポスト「京」重点課題2 NEWS LETTER Vol. 9 pp2-7 (2018)