

課題名(タイトル):

## 電位依存性イオンチャネルの分子動力学シミュレーション

利用者氏名: ○近藤 寛子(1)

理研における所属研究室名:

(1)生命機能科学研究センター 計算分子設計研究グループ

## 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

ヘムタンパク質はヘムを補因子にもつタンパク質の総称であり、酸素運搬や酸化還元反応触媒、シグナル伝達など様々な生体機能を担っている。活性中心であるヘムには複数の種類があるが、ポルフィリン環に鉄イオンが配位した基本骨格はほぼ共通している。つまり、ヘムは同一の基本骨格を持つにもかかわらず、複合体を形成するタンパク質により異なる機能を発現する。ヘムの機能制御メカニズムは未解明であり、重要な課題である。先行研究では、ヘムの軸配位子やプロピオン酸の配向だけでなく、ヘムの歪みがヘムの物性やタンパク質機能に関与していることが示されている。そこで本研究では、ヘムの歪みに対するタンパク質ポケットの影響を調べることを目的として、立体構造既知の全てのヘムタンパク質を対象にヘムの歪みとヘムが結合しているタンパク質ポケットのアミノ酸組成を網羅的に解析した。Protein Data Bank (PDB) に登録されているヘムタンパク質の立体構造は、2018 年には 5,000 件を超えている。収集したデータはデータベースとして公開した。申請時の研究テーマとは異なっているが、今年度はイオンチャネルに関する研究の進展がほとんどなかったため、このテーマについて報告する。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

タンパク質ポケットがヘムの歪みに与える影響を調べるために、ヘム周囲のアミノ酸残基のみを抜き出したモデル系に対し、量子化学計算による構造最適化を行い、ヘムの歪みの度合いを調べた。計算に時間がかかるため、PDB に登録されているヘムタンパ

ク質の立体構造の中から、配列類似性が 99 %以下のドメインのみを抜き出した。その中で、アミノ酸残基以外の低分子などがヘムに配位しているもの、およびタンパク質ポケットに標準アミノ酸以外のアミノ酸が含まれるものを除いた。タンパク質ポケットは、ヘムの基本骨格(ポルフィリン環を構成する 24 個の重原子と配位している鉄原子)の各原子から 4.5 Å 以内に 1 つ以上の原子が入っているアミノ酸残基の組みとした。モデル系では、タンパク質ポケットとして抜き出した各アミノ酸残基の Ca 原子を水素原子に置き換えた。ヘムは、結晶構造から基本骨格を抜き出し、水素原子を付加した。タンパク質ポケットの重原子を固定した状態で、系全体の構造最適化を行い、ヘムの歪みの変化を解析した。量子化学計算には Gaussian を用い、計算条件は、PBE0/6-31G(d)とした。

## 3. 結果

現時点でまだ全ての系の構造最適化が終わっていないため、並行して行った機械学習による解析結果について述べる。まず、ヘムの歪みの評価には、normal-coordinate structural decomposition (NSD) を用い、代表的な 12 個モード(saddling, ruffling, doming, waving(x), waving(y), propellering, meso-stretching, N-pyrrole stretching, translation(x), translation(y), breathing, rotation)について解析を行った。これらの歪みとタンパク質ポケットの相関を調べるために、ランダムフォレスト法を用いて、タンパク質ポケットのアミノ酸組成からヘムの歪みの大きさを予測した。木の深さを 6 とし、5 回の交差検証から精度の平均値を計算したところ、saddling, ruffling, および doming に関しては、精度がそれぞれ  $0.68 \pm 0.04$ ,  $0.80 \pm 0.02$ ,  $0.80 \pm 0.03$  だった。それ以外の振動モードについては、精度は 0.5 から 0.6 程度の低い

値となった。ruffling では Cys の変数重要度が高くなっており、Cysと共有結合している heme *c* の影響が考えられた (heme *c* の ruffling 歪みの分布は大きい傾向にある) ため、heme *c* のデータを除いて同様の解析を行った。その結果、ruffling での精度は  $0.72 \pm 0.08$  となった。これらの結果から、ruffling および doming に関してはタンパク質環境とヘムの歪みの大小の相関が示唆される。

#### 4. まとめ

ヘムタンパク質におけるヘムの歪みに着目し、構造既知のヘムタンパク質についてヘムの歪みとタンパク質ポケットの網羅解析を行った。その際に得られたヘムタンパク質に関する情報をデータベース PyDISH として公開した。また、タンパク質ポケットがヘムの歪みに与える影響を調べるために、モデル系を作成して量子化学計算による構造最適化を行うとともに、機械学習手法を用いてタンパク質ポケットのアミノ酸組成とヘムの歪みの相関解析を行った。その結果、ヘムの歪みの中でエネルギー的に歪みやすい方向 (saddling, ruffling, および doming) については、タンパク質ポケットとの相関が見られ、ヘム周囲のアミノ酸残基がヘムの歪み、ひいてはヘムの物性に影響を与え、これがヘムタンパク質の機能発現に寄与している可能性が示唆された。

#### 5. 今後の計画・展望

計算対象とした全ての系の構造最適化を行い、ヘムの歪みの結晶構造からの変化を解析する予定である。機械学習の結果と合わせ、タンパク質ポケットがヘムの歪みに与える影響について明らかにしたい。

2020 年度 利用研究成果リスト

**【雑誌に受理された論文】**

「ヘムタンパク質の機能発現メカニズムの解明に向けたデータベースの整備と機械学習を用いた解析」,

近藤 寛子

フロンティア(理論化学会誌), 第 3 巻 1 号, 2021 (in press)

"PyDISH: database and analysis tools for heme porphyrin distortion in heme proteins"

Hiroko X. Kondo\*, Yusuke Kanematsu\*, Gen Masumoto, and Yu Takano\*

Database 2020, baaa066, 2020

**【口頭発表】**

"Analysis of an effect of mutations on the structure of CDR-H3 in the anti-HIV neutralizing antibody PG16"

○Hiroko X. Kondo, Ryo Kiribayashi, Daisuke Kuroda, Kouhei Tsumoto, Yu Takano

第 58 回日本生物物理学会年会 シンポジウム「生体分子と薬剤の構造ゆらぎの生命機能科学」, オンライン開催, 2020 年 9 月 17 日

**【ポスター発表】**

「ヘムタンパク質におけるヘム周囲のタンパク質環境とヘムの歪みの網羅解析」

○近藤寛子, 藤井理則, 谷岡卓磨, 兼松佑典, 吉田孝, 鷹野優

錯体化学会 第 70 回討論会, オンライン, 2020 年 9 月 30 日