

プロジェクト名(タイトル):

## 分子動力学計算によるタンパク・リガンド複合体の安定構造予測

利用者氏名:

久野玉雄

理研における所属研究室名:

生命機能科学研究センター タンパク質機能・構造研究チーム

### 1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

創薬における薬剤設計では、標的タンパク質のどの領域にどのように薬剤が相互作用し、どのような構造変化を引き起こすかを考えることが重要である。本課題ではサイトカイン受容体の膜貫通ヘリックスに対して薬物がどこにどのように結合するかを分子動力学計算によりシミュレーションし、膜貫通ヘリックスが薬剤のターゲットとなるかどうかを調べる。本年度は膜貫通ヘリックス(PDB 2M20)の安定構造の探索を行なった。また、膜タンパク質は界面活性剤ミセル環境よりも脂質二重膜環境の方が安定なタンパク構造を維持することがしばしばみられ、バルク脂質分子膜環境において脂質分子が膜タンパクに特異的に結合する場合があることはよく知られている。そこでタンパクのどの領域でこのような脂質分子との特異的な相互作用が起り、タンパク構造の安定化にどのように寄与しているかを分子動力学計算によってシミュレーションして調べる。本年度は4回膜貫通タンパク(PDB 7KP4)を用いてまず脂質二重膜環境における安定構造を計算した。

### 2. 具体的な利用内容、計算方法

分子動力学計算を行うにあたり、まず MD プログラム GENESIS のインストールを行なった。そして GENESIS を用いて、サイトカイン受容体の膜貫通領域である1本鎖ヘリックスの二量体(2M20)および4回膜貫通タンパク(7KP4)の脂質二重膜環境における安定構造を調べるための MD 計算を行なった。また 2M20 を利用してホモロジーモデリングにより TpoR の TM ヘリックス二量体モデル(TpoR-TMH2mer)を作り、その安定構造も調べた。計算方法はまずこれらのペプチド分子、タンパク分子の脂質二重膜環境システムを CHARMM-GUI を用いて構築した。エネルギー最小化と7ステップの平衡化を行って系が安定であることを確認したのち、CHARMM36 力場、NPT アンサンブルを用いて 10 ns および 100 ns の production 計算を行なった。構造安定性は MD トラジェクトリの RMSD および RMSF を指標として評価した。

### 3. 結果

2M20 は NMR によって決定された二量体構造である。今回行った 10 ns の MD において構造安定性を維持した。一方、ホモロジーモデリングによって得た TpoR-TMH2mer は二量体接触面において側鎖が干渉し合うモデルであった。これは 2M20 では二量体接触面は Gly や Ala が配置されることで密なパッキングをしているのに対し、TpoR ではそれらが Ser や Thr であることによる。このモデルを初期構造として平衡化計算をしたところ、ヘリックス同士がやや離れて干渉し合わない距離でのパッキング構造となった。このモデルは 10 ns および 100 ns の MD においても安定であった。4回膜貫通タンパク(7KP4)については、100 ns の計算において構造全体として安定であったが、膜外ドメインは若干揺らぎが見られた。

### 4. まとめ

サイトカイン受容体の膜貫通ヘリックスは細胞外シグナルを細胞内に伝える重要な領域である。2M20 は活性状態の二量体構造と考えられていることから今回はこれを用いて TpoR-TMH2mer のモデルを作った。2M20 は右巻き会合様式の二量体であるが、TpoR-TM の活性状態が左巻き会合様式の二量体である可能性も考えてそのモデルを検討する必要があるであろう。7KP4 では膜外ドメインの不安定性が示唆された。揺らぎが増大して不安定な構造となるかどうかはより長い計算時間を検討する必要がある。

### 5. 今後の計画・展望

TpoR-TMH2mer のホモロジーモデリングでは二量体接触面でクラッシュするモデルとなったが、それぞれのヘリックスを回転させることで Ala が接触面に来るといったモデルを作ることができる。実際、サイトカイン受容体の TM ヘリックスは回転して活性状態や不活性状態となることが報告されている。今後はこのような回転を考慮したモデルを作って安定構造を調べる。また左巻き会合二量体のモデルも検討する。そして安定構造のモデルを得たのち、リガンドとの相互作用をシミュレーションする。7KP4 については今後安定化要素と考えられる生体膜のマイナー成分を加えることによる効果を調べる。