

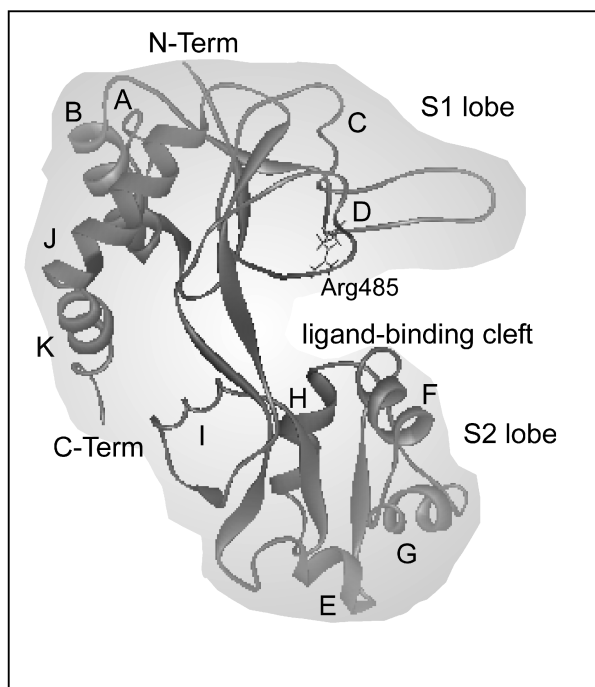
三次構造からタンパク質の構造変化を予測するための理論の確立

●伊藤 悦朗^{1,2)}

1) 北海道大学大学院理学研究科 2) 北海道大学創成科学共同研究機構

〈研究の目的と進め方〉

多量なゲノム情報から多くのタンパク質の一次構造が推定され、現在、その三次構造の決定に力が注がれている。ゲノム研究の次の発展として、われわれは、「タンパク質の三次構造からそのタンパク質の機能を予測するシステム」を開発する必要がある。本研究では、受容体タンパク質に的を絞り、受容体の活性化機構解明のための理論を「振動励起・緩和ダイナミクス」に着目して構築することを目的とした。



〈研究開始時の研究計画〉

イオンチャンネル型グルタミン酸受容体をモデルに研究を進めることにした。グルタミン酸受容体の結晶構造は、近年ArmstrongらによってGluR2サブユニットのリガンド結合領域について明らかにされている。この結晶構造から、アゴニストのGluR2への結合にはArg485が重要であることが示唆されていた。

(1) 水中におけるグルタミン酸の電荷分布と静電ポテンシャル。

グルタミン酸の電荷分布やそれがつくる静電ポテンシャルを水中で正確に求めておく必要がある。これを *ab initio* 量子化学計算で求める。

(2) グルタミン酸とグルタミン酸受容体との間の静電相互作用。

GluR2サブユニットをモデルとして用い、リガンドの認識機構においてどのような力が重要になるのかを量子化学計算で求める。

(3) グルタミン酸受容体活性化の引き金。

受容体の活性化の引き金は、リガンドとの振動相互作用

用ならびにそれによる受容体Arg485の振動励起エネルギーが利用されている可能性があるため、その機構を定式化し、振動励起確率を量子力学から計算する。

(4) リガンド結合後の受容体内での振動エネルギー移動。

GluR2サブユニットをモデルとして用い、振動励起・緩和のダイナミクスが受容体の構造変化（すなわち活性化）に及ぼす影響を、分子動力学を用いて明らかにする。

(5) 細胞膜内の構造変化。

GluR2サブユニットをモデルとして用い、振動励起・緩和のダイナミクスが細胞膜内のタンパク質領域に対してどのような変化を及ぼすのかを検討する。

〈研究期間の成果〉

(1) 水中におけるグルタミン酸の電荷分布と静電ポテンシャル。

グルタミン酸ならびにそれよりカルボキシル基が1つ少ないガンマアミノ酪酸において、それらの電荷分布や静電ポテンシャルを水中の状態に計算した（論文1）。グルタミン酸は4種の構造をとることがわかった：Type 1 (an extended form), Type 2 (a rounded form), and Types 3 and 4 (twisted forms of Type 1)。

(2) グルタミン酸とグルタミン酸受容体との間の静電相互作用。

グルタミン酸とGluR2とは強い静電相互作用によって引力を及ぼし、それがリガンドの認識機構を決めていることが明らかとなった（論文2）。

(3) グルタミン酸受容体活性化の引き金。

量子力学計算によって、アゴニストがArg485に結合するときに、Arg485側鎖の変角振動がサブピコ秒で振動励起することを明らかにできた。そこで、この振動励起エネルギーが、受容体活性化のトリガーになると予想した（論文3）。

(4) リガンド結合後の受容体内での振動エネルギー移動。

Arg485側鎖の変角振動のみを振動励起させたGluR2を初期状態に選んで、その振動エネルギーの再配分過程を分子動力学法を用いてシミュレーションした。受容体リガンド結合ドメインにおけるArg485の振動励起エネルギーの移動過程を調べたところ、Arg485の振動励起エネルギーは0.5 ps以内にLys730へと移動し、続いてJヘリックスへと移動した。その結果、約3 psでJヘリックスの原子にサブオングストロームの変位が起こることがわかった。Jヘリックスは、サブユニット間の結合部位に位置している。サブユニット間の結合部位に起こる原子変位は、サブユニット間の会合に摂動を与える効果があると考えられる。したがって、この変位が構造緩和を導き、サブユニットの回転によってイオンチャンネルを開口へと導くと予想された（論文4）。

(5) 細胞膜内の構造変化。

リガンド結合領域は、膜貫通領域と3本のリンカーペ

プチドで連結されている。GluR2リガンド結合領域の結晶構造は、リンカーペプチドのアミノ酸残基を含んでいる。シミュレーション中のリンカーペプチドの動きに着目し、リンカーペプチドの動きが膜貫通領域をどれくらい変位させる力を生むのかを、膜貫通領域をシリンダーにモデル化し、脂質膜の粘性を考慮に入れて古典力学的に考察した（論文5と6）。

〈国内外での成果の位置づけ〉

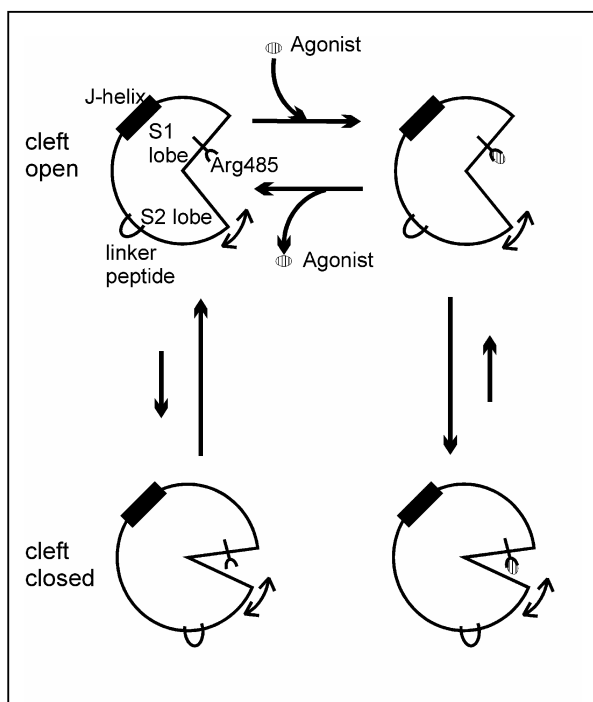
本研究において、世界で初めて、アゴニストの結合によって起こる受容体の振動ダイナミクスが検証された。受容体の特定振動モードの励起が、受容体活性化のトリガーとなるという理論的考察は、人工タンパク質設計や創薬にブレークスルーをもたらすと、国内外で期待されている。ただし、このアイデアを実験的に検証する術はない。つまりGluR2のArg485のみを振動励起できないので、実証できないことがよく指摘されている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

おおむね計画通りに研究は達成できたと考えている。ただし膜の取り扱いについては今後の課題と考えている。

〈今後の課題〉

細胞膜内の正確な解析は、今後も継続して行かなければならない。細胞膜はその構成分子の原子数が多すぎることから、そのままの形では計算することができない。したがって、リン脂質2重膜を粗視化するプログラムを作成し、システムティックに分子動力学計算に取り込む方法を開発して行きたい。



〈研究期間の全成果公表リスト〉

1) 論文

1. 308151402

Odai, K., Sugimoto, T., Kubo, M., and Ito, E., Theoretical research on structures of gamma-aminobutyric acid and glutamic acid in the aqueous condition, *J. Biochem.*, 133, 335-342 (2003).

2. 308151342

Kubo, M., Shiomitsu, E., Odai, K., Sugimoto, T., Suzuki,

H., and Ito, E., Quantum chemical study of ligand-receptor electrostatic interactions in molecular recognition of the glutamate receptor, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 634, 145-157 (2003).

3. 308151349

Kubo, M., Shiomitsu, E., Odai, K., Sugimoto, T., Suzuki, H., and Ito, E., Agonist-specific vibrational excitation of glutamate receptor, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, 639, 117-128 (2003).

4. 308151354

Kubo, M., Shiomitsu, E., Odai, K., Sugimoto, T., Suzuki, H., and Ito, E., Picosecond dynamics of the glutamate receptor in response to agonist-induced vibrational excitation, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 54, 231-236 (2004).

5. 408231741

Kubo, M. and Ito, E., Structural dynamics of an ionotropic glutamate receptor, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 56, 411-419 (2004).

6.

Odai, K., Kubo, M., Shiomitsu, E., Sugimoto, T., and Ito, E., Theoretical study of molecular recognition and activation mechanism of the glutamate receptor, *Information*, 9, 75-82 (2006).