

TSUBAME 共同利用 令和 2 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 分子動力学シミュレーションを用いた膜輸送タンパク質の分子機構の解明  
英文: Analysis of transmembrane transporters by molecular dynamic simulation

利用課題責任者 木下賢吾  
Kengo Kinoshita

所属 東北大学大学院情報科学研究科  
Graduate School of Information Sciences, Tohoku University  
URL <http://www.sb.ecei.tohoku.ac.jp/>

膜輸送タンパク質は栄養物質や薬剤などの分子を細胞内に輸送する重要な役割を果たしている。しかし多くのタンパク質ではその詳細な分子機構は明らかになっていない。本研究では塩化物イオン膜輸送タンパク質 SLC26A9 の野生型および疾病関連変異型の分子動力学シミュレーションを行い、基質輸送の機構の解明を試みた。変異型のシミュレーションでは基質分子の結合の阻害が観測され、また変異がタンパク質の動的挙動にも影響を与えていたことから、基質輸送のために重要な分子の運動の仕組みが明らかになった。また、この分子機構は生体内で SLC26A9 が他の膜輸送タンパク質に動的な影響を受けて共同的に働くことを示唆している。

Transmembrane transporters play an important role in transporting molecules such as nutrients and drugs into cells. However, the detailed molecular mechanism of many proteins has not been clarified. In this study, we performed molecular dynamics simulations of the wild-type and a pathological mutant of the chloride ion transmembrane transporter SLC26A9 to elucidate the mechanism of substrate transport. In the mutant simulation, inhibition of substrate binding was observed, and mutations also affected the dynamic behavior of the protein. From these results, the mechanism of molecular motion, which is important for substrate transport, was clarified. This molecular mechanism also indicates that SLC26A9 collectively functions the dynamics influence of the other transmembrane transporter in living cells.

*Keywords:* Membrane protein; Transporter; Molecular dynamics; Pathological mutation; Ligand binding;

## 背景と目的

細胞膜内への分子の輸送は、栄養物質の取り込みや薬剤の細胞内への輸送に代表されるように、生体に重要な役割を果たしている。しかしその詳細な分子メカニズムについては、未だ明らかになっていないタンパク質も数多い。

本プロジェクトでは、SLC トランスポーターに着目し、分子動力学シミュレーションを用いることにより、分子の輸送に関わる分子運動および疾患関連変異による輸送形態の変化を分子レベルで明らかにした。

## 概要

本プロジェクトでは塩化物イオン膜輸送タンパク質である SLC26A9 を対象とした分子動力学シミュレーションを行った。SLC26 ファミリータンパク質は肺や胃上皮に発現し、嚢胞性線維症の原因分子として知られる CFTR と共同的に塩化物イオンの輸送を行うことが知

られている。近年のクライオ電子顕微鏡による構造解析により、SLC26 タンパク質がドメイン運動を伴って基質輸送を行うことはわかってきたが、イオン輸送や CFTR との共同的な働きの詳細な分子メカニズムは未だに不明である。本研究では野生型および疾病関連変異として報告されているグルタミン 88 変異型(Q88A)双方の分子動力学シミュレーションを行ってその挙動を比較することにより、イオン膜輸送の機構や CFTR との共同性のトリガーの仕組みの解明を試みた。

## 結果および考察

SLC26A9 の野生型および Q88A 変異型それぞれの全原子モデルで 1 マイクロ秒平衡分子動力学シミュレーションを行った。その結果、野生型のシミュレーションでは基質である塩化物イオンが一時的に基質結合サイトと推定される疎水性ポケットに位置するイベントが複数回確認された(図 a)。一方、Q88A 変異型では塩化物イオンは疎水性ポケットのやや外側までしか浸入する

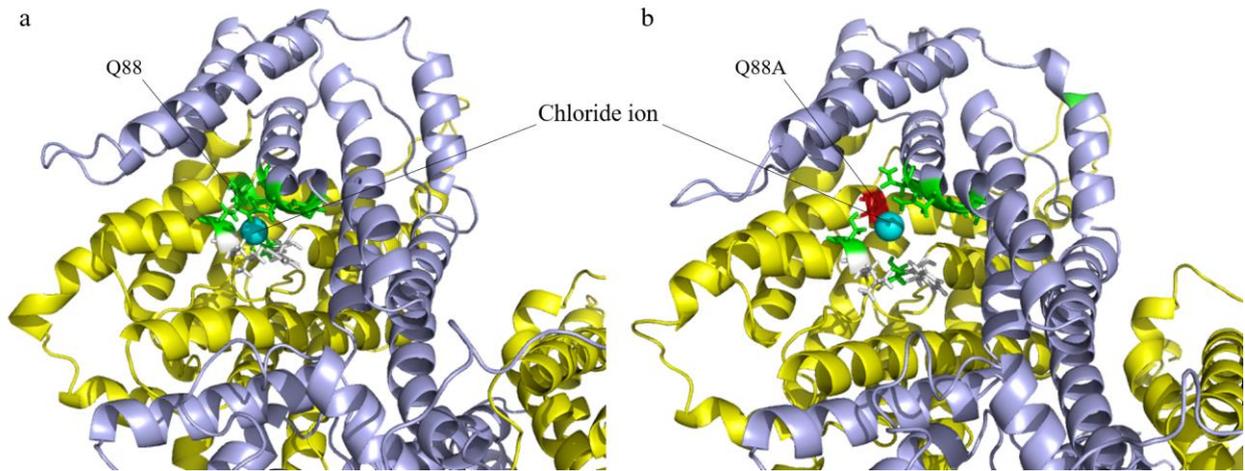


図 SLC26A9 分子動力学シミュレーションに於ける基質結合サイトのスナップショット

a: 野生型 b: グルタミン 88 変異(Q88A)型

塩化物イオン(水色 VDW 球), 疎水性ポケット(白スティック), 極性アミノ酸クラスター(緑スティック), Q88A 変異サイト(赤スティック), コアドメイン(黄色リボン), ゲートドメイン(薄青リボン)

野生型では塩化物イオンの疎水性ポケットへの一時的な結合が観測されたが、変異型ではポケットのやや外側までしか浸入できなかった。野生型と変異型では基質結合サイトの形状に違いが現れた。

ことができなかった(図 b)。この時、結合サイトに於いて疎水性ポケットの反対側に位置する極性アミノ酸のクラスターの形状の変化が観測された(図 a, b)。これは、極性アミノ酸の一つであるグルタミン 88 が疎水性アミノ酸であるアラニンに置き換わることによって、荷電物質である塩化物イオンが誘引されにくくなるという従来の仮説に加えて、変異の影響が SLC26A9 の動的性質にまで及ぶという知見であり、SLC の基質輸送がドメイン運動に伴われるという実験的観察事実とも合致する。この結合サイトを形成する極性アミノ酸の一部は CFTR との共同性を受け持つゲートドメインに位置しており、CFTR が結合サイトの動的挙動に影響を及ぼして SLC26A9 のイオン輸送を制御していることが示唆される。

まとめ、今後の課題

SLC26A9 トランスポーターの分子動力学シミュレーションにより、疾病関連変異がトランスポーターの動的挙動にまで影響して基質イオンの結合サイトへの結合が阻害されることが観測された。この結果から、膜輸送におけるイオンの結合に必要なトランスポーターの運動が明らかになった。しかしながら、CFTR が SLC26 に作用してその挙動に影響を与える仕組みの詳細には未だにわかっていないことも多

い。今後は著者によって並行して行われている SLC26A9 全長モデルの分子シミュレーションから得られた知見も併せて SLC26A9 の基質輸送のメカニズムの全体像を明らかにすることが課題である。