

TSUBAME 共同利用 令和3年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 蛋白質天然変性領域の動力学特性に関する計算科学的検討
英文: Computational study on dynamics of intrinsically disordered proteins

利用課題責任者

Kota Kasahara

所属

立命館大学生命科学部

独自の拡張アンサンブル分子動力学法である Virtual-system canonical coupled molecular dynamics 法 (VcMD) の改良を行い、転写因子 TGIF-1 の天然変性領域 (Intrinsically disordered region; IDR) の動的特性の解析を行った。VcMD の改良により反復計算の過程で得られたすべてのアンサンブルを reweighting し、カノニカル分布を近似的に得ることができるようになった。TGIF-1 では IDR がリン酸化を受けることで構造ドメインの DNA 認識ヘリックス上の Arg と塩橋を形成し、DNA 結合を競争的に阻害するメカニズムが示唆された。

We have developed a new version of our original extended-ensemble molecular dynamics method, named virtual-system coupled canonical molecular dynamics (VcMD). In this method, all the conformational ensembles obtained in the iterative simulations can be reweighted to estimate the canonical ensemble. This method was applied to investigate dynamic properties of an intrinsically disordered region (IDR) of the transcription factor, TGIF-1. As a result, representative structures in the simulated ensemble show salt-bridge formation between DNA recognition helix and phosphorylated IDR, suggesting that interactions between them competitively inhibit recognition of DNA recognition.

Keywords: 5つ程度

背景と目的

蛋白質の天然変性領域 (intrinsically disordered regions; IDRs) は特定の立体構造を持たないにも関わらず様々な重要な機能を担っている。その構造は常に揺れ動いているため、従来の構造生物学的手法ではその分子機構を解析することが困難である。これに対し、分子動力学法 (molecular dynamics; MD) による動力学特性の解析が、分子機構解明に向けた有効な手段となる。一方で、IDRs の極めて高い構造自由度は、サンプリングすべき構造アンサンブルを膨大なものとするため、MD による計算も容易ではない。そこで本プロジェクトでは独自の手法である Virtual-system coupled canonical molecular dynamics 法 (VcMD) のさらなる開発を行い、この手法を活用することで IDRs の動力学特性の解明を目指す。

概要

VcMD は我々のグループで考案し開発を行ってきた

手法であり、本プロジェクトでは IDRs の広大な構造空間を効率よくサンプリングするために方法論のさらなる改良を行った。これを応用し、転写因子 TGIF-1 の IDR がリン酸化を受けて DNA 結合ドメインの機能を制御するメカニズムを調べた。IDR の一部をペプチドとしてモデル化し、DNA 結合ドメインとの相互作用を解析した。IDR についてはリン酸化状態と非リン酸化状態の 2 状態のモデルについて計算を行った。

結果および考察

VcMD 法では任意の構造パラメータ (collective variables; CVs) を設定し、バイアスポテンシャルによって CVs に沿った構造変化を促す。バイアスポテンシャルは直接的に構造変化を促すように印加されるのではなく、望まない構造変化を起こした際にそれを妨げるように働く。従来法のように人工的なポテンシャルによって構造変化を積極的に引き起こすのではなく、望ましい構造変化が起こる確率を高めるという方針で構造変化を促

す。このため得られたアンサンブルには人工的な構造変化(ゆがみ)が少なく、より自然に近いアンサンブルが得られるものと期待できる。

本研究ではさらなる方法論の開発を進め、状態密度分布の推定方法などについて改良を行った。VcMD 法では反復計算によって状態密度分布を推定するが、反復計算の過程で得られたアンサンブルは最終的には用いることはできず、反復計算で得られた状態密度を固定して production run を改めて実行する必要があった。この点を改良し、反復計算で得られたすべてのアンサンブルを再重み付けしてカノニカルアンサンブルを近似的に算出する方法論を考案し、実装を行った。

次に VcMD 法を用いて転写因子 TGIF-1 における IDR の動力学特性の解析を行った。TGIF-1 はホメオドメインによって DNA を認識する転写因子であり、がんなどの疾患との関連も高く医学・薬学の観点から重要な転写因子である。ホメオドメイン近傍に IDR を有しており、IDR の存在によって DNA 結合能が制御されることが示唆されている。特に IDR がリン酸化されることで転写活性が阻害される。本研究では TGIF-1 ホメオドメインおよび IDR の一部を切り出したペプチドの 2 分子を含むモデルを構築し、ホメオドメインとペプチドの距離を CV として設定して計算を行うことで、IDR がホメオドメインに対してどのように作用するのか、その分子メカニズムを調べた。特に IDR についてリン酸化状態と非リン酸化状態の両方について計算を行い、リン酸化による影響を調

べた。

その結果得られた構造アンサンブルより、特に安定だった代表構造を図 1 に示す。リン酸化状態では IDR が認識ヘリックスと直接相互作用している。特に負電荷を帯びたリン酸期が、kink 周辺の Arg 残基と塩橋を形成していた。この部位は本来負電荷を帯びた DNA と相互作用するべき部位であり、リン酸化した IDR は DNA と競争的に結合するものと考えられる。一方非リン酸化体では IDR は認識ヘリックスとは逆側の表面へと接触しており、DNA 結合に干渉しないことが示唆された。

すなわち TGIF-1 では IDR におけるリン酸化、脱リン酸化サイクルによって、DNA 結合ドメインと IDR の相互作用が制御されているものと考えられる。すなわち、IDR の動的な構造変化によって転写因子の機能制御が行われていることが示唆された。

まとめ、今後の課題

独自の拡張アンサンブル法である VcMD の改良と、転写因子 TGIF-1 における IDR の動的特性解析への応用を行った。リン酸化が IDR の動的特性を変化させ、転写因子の機能制御を行うメカニズムが示唆された。一方で IDR の広大な構造空間のうちどの程度がサンプリングされたのか、その解釈や妥当性の評価は不十分である。今後さらなる詳細な解析を行っていくことが望まれる。

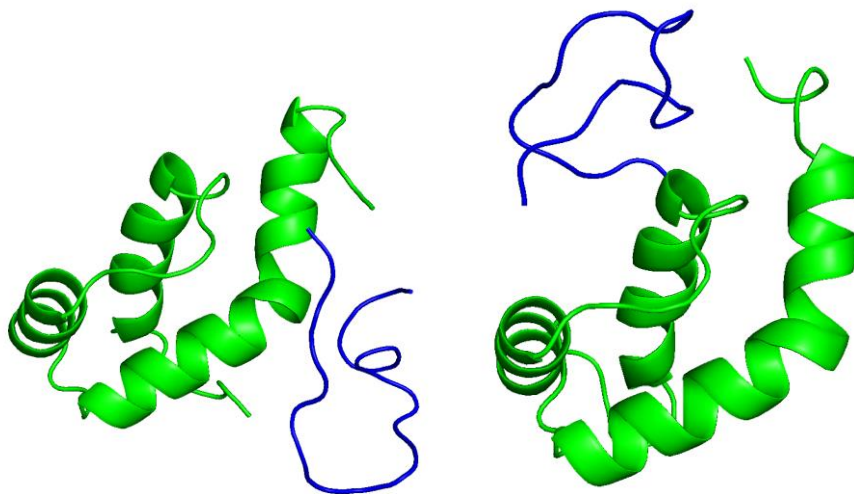


図 1. 計算より得られた代表構造。(左)リン酸化状態、(右)非リン酸化状態。DNA 結合ドメイン(ホメオドメイン)を緑で、IDR を青で示した。図中右側の kink したヘリックスが認識ヘリックスである。