

天然変性タンパク質の溶解性に ATP が与える影響の分子メカニズム解析

會田 勇斗 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 原田 隆平 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

細胞内で「ATP がエネルギーの通貨としての役割を担う」ということは、生物学における通説である。ATP のエネルギーを利用する ATP 依存性酵素は μM 単位の濃度で十分に機能するが、実際の細胞内では ATP が 1-10 mM の濃度で保たれている。基質として過剰な量の ATP を高いエネルギーコストで細胞内に維持している理由は長年不明であった。しかし、近年の報告で高濃度の ATP はタンパク質の溶解性を増加させることが明らかになった。先行研究では、試験管内で高濃度の ATP がアミロイド β の凝集体や液-液相分離で形成される液滴を分解することが確認された。このように、タンパク質の溶解性の制御は、細胞内の現象として注目されている「液-液相分離」において重要な役割を担う。

細胞内における液-液相分離は数多く報告されており、酵母のストレス応答や線虫の P 顆粒の形成など、幅広い生命現象で役割を担う。液-液相分離はタンパク質や核酸などの生体分子が膜のない「液滴」という区画を形成する現象である。液滴内には液滴を構成する分子が高濃度で存在するため、酵素反応の効率化や分子の局在化を可能にする。しかしながら、液-液相分離の物理化学的な駆動力は非常に複雑であるため、各分野で活発な議論が行われている。液滴形成に関わる詳細な分子メカニズムを理解することは、液-液相分離の物理化学的な性質を理解する上で重要である。

タンパク質の機能を原子レベルの分解能で解析する際、X 線結晶構造解析などの実験手法が強力であるが、X 線結晶構造解析で得られるタンパク質が静止した構造情報であり、実際の機能に関わる「ダイナミクス」の情報を得ることは困難である。

分子動力学(MD)シミュレーションでは、個々の原子を質点として取り扱い、分子力場に基づき運動方程式をコンピュータで数値的に解くことにより、生体分子のダイナミクスを明らかにする (Fig 1)。液-液相分離は溶液中のタンパク質ダイナミクスにより駆動されるため、MD シミュレーションによる解析が有効である。

タンパク質可溶性における ATP の特徴的な相互作用を原子レベルの分解能で明らかにすることは、液滴をターゲットとした次世代の創薬や生物学的な相分離現象の根本的な理解に有用である。本研究では、MD シミュレーションを用いて液-液相分離を引き起こす天然変性タンパク質の一種である Fused in Sarcoma (FUS)

の相互作用を解析した。更に、FUS 混雑環境に ATP を添加した条件での MD シミュレーションにより、ATP が FUS を水に対して安定化させる特徴的な相互作用を抽出した。

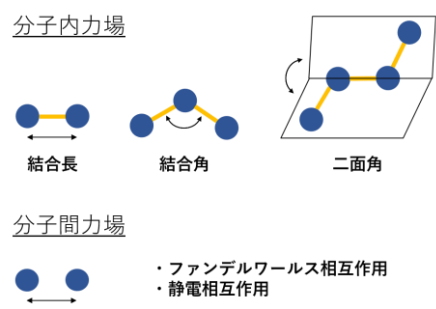


Fig 1. MD シミュレーションで使用される力場

【計算方法】

FUS の Low-Complexity (LC) 領域のコアとなる固体 NMR 構造 (FUS-LC-core, PDB id: 5W3N) の単量体を 1 atm, 300 K の条件で MD シミュレーションを実行し、安定構造を得た。FUS-LC-core の安定構造を 8 分子配置し、ATP-Mg を 0, 6, 12 分子配置させ、上述の計算条件で 2 μs の MD シミュレーションを実行した (Fig 2)。得られた原子座標トラジェクトリから、ATP とタンパク質の相互作用や ATP と水の相互作用を解析した。

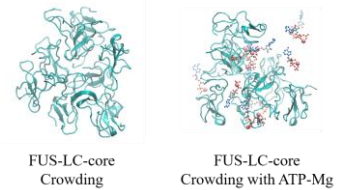


Fig 2. FUS のモデリング構造

【結果・考察】

1. ATP-Mg が FUS-LC-core の分子間相互作用に与える影響

ATP-Mg の量を変えた際の FUS-LC-core の分子間相互作用の変化を Fig 3 にプロットした。Fig. 3 より、ATP-Mg の量が増すことで分子間相互作用が非局在化されていることが分かった。更に、ATP の分布を解析すると FUS-LC-core 同士の分子間相互作用の強い部位に ATP が局在していた。以上の解析結果より、ATP が FUS-LC-core の凝集しやすい部位に分布することで、局所的な凝集性の相互作用をカバーしていると考えられる。

2. ATP 周囲の水の分布

ATP と水の相互作用を明らかにするため、ATP の O 原子、N 原子から見た水の確率分布を解析したところ、リン酸基を主に構成する O 原子は水和されているのに対し、アデニン環を構成する N 原子は水和が弱いことが分かった。解析結果は、アデニン環のタンパク質への配向とリン酸基の水和によって、タンパク質が水に対し安定化されていることを示唆している。

以上の解析結果より、ATP はタンパク質の凝集しやすい部位にアデニン環の配向によって局在し、外側を向いたリン酸基が水和を促進することにより、タンパク質同士の相互作用を非局在化させていると考えられる。結果的に、タンパク質同士の凝集に関わる相互作用が弱まり、ATP がタンパク質の溶解性を向上させる。

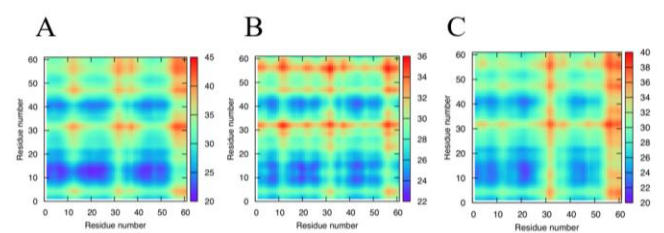


Fig 3. MD シミュレーション初期における FUS-LC-core の分子間コンタクトマップ

A-C) 縦軸と横軸は残基番号を、色は分子間コンタクトの平均距離であり、コンタクトの強さを示す。A) ATP-Mg 0 分子, B) ATP-Mg 6 分子, C) ATP-Mg 12 分子