

## シナプス足場タンパク質 PSD-95 の局在を調節するメカニズムの計算科学研究

今村 彩子 (筑波大学 生物学類)

指導教員：原田 隆平 (筑波大学 計算科学研究センター)

### 【背景・目的】

脳内では、数千億個の神経細胞がシナプスを介して互いに結合している。シナプスでは、情報を伝える神経細胞から神経伝達物質が放出され、情報を受け取る細胞の膜（シナプス後膜）上に存在する受容体に結合することで情報が伝えられる。また、シナプス後膜の直下には postsynaptic density (PSD) とよばれる部位があり、様々な受容体や機能を制御する足場タンパク質が集まっている。その中でも PSD-95 (postsynaptic density protein 95) は PSD の主な構成成分であると同時に、受容体を介したシナプス伝達機能に重要な足場タンパク質である。シナプス伝達の際、受容体は神経伝達物質を受け取るために、細胞膜に局在していることが重要である。受容体は PSD-95 と結合することで、シナプス後膜に局在することが報告されている。[1]

また、PSD-95 は N 末端の 2 つのシステイン残基 (C3 と C5) でパルミトイル化されており、シナプス後膜への局在に必要である。更に、Ca<sup>2+</sup>の流入によりカルモジュリン (CaM) の構造変化が誘起され、PSD-95 の N 末端に結合することが報告されている。[2] CaM は Ca<sup>2+</sup>結合タンパク質であり、2 つの球状ドメインが柔軟な結合部分 (リンカー) でつながれ、ダンベルのような構造をとる。CaM が PSD-95 と結合し、パルミトイル化を阻害することによって、PSD-95 が膜から解離する (図 1)。このイベントにより、シナプス後膜での受容体量は減少する。実験的には、CaM と PSD-95 の N 末端 (αヘリックス) 複合体の結晶構造が得られている。[2] しかしながら、CaM 結合により引き起こされる PSD-95 の N 末端の構造変化を通して、シナプス後膜への局在がどのように制御されるのかについて明らかになっていない。本研究では、分子動力学シミュレーション (MD) を用いて PSD-95 の N 末端が CaM と結合するメカニズムを調べ、シナプス後膜への局在化制御メカニズムを明らかにする。

注目しているタンパク質のダイナミクスや構造安定性を高い時間・空間分解能で評価することができる。

### 【結果・考察】

#### PSD-95 の N 末端の 2 次構造予測

PSD-95 の N 末端は αヘリックスのまま構造変化しないのかを明らかにするため、CaM と PSD-95 の N 末端複合体の結晶構造 (PDB ID: 2MES) [2] を用いて 2 次構造を予測した。予測結果より、αヘリックスではなくランダムコイルの可能性が高いことが示唆された (図 2)。

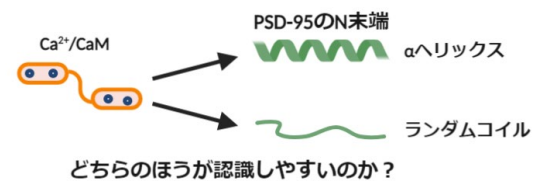


図 2 PSD-95 N 末端の構造による認識し易さの違い

#### PSD-95 の N 末端部分の安定構造

2 次構造の予測結果をもとに PSD-95 の N 末端の安定構造を得るため、N 末端部位 (αヘリックス) に関して 1atm, 300 K の条件で 800ns の MD を実行した。得られたトラジェクトリを主成分分析により解析し、出現頻度が高い安定構造を抽出した。

#### PSD-95 と Ca<sup>2+</sup>結合型 CaM の複合体構造

PSD-95 の N 末端の 2 構造 (αヘリックス構造と MD により得られた安定構造) と Ca<sup>2+</sup>結合型 CaM (Ca<sup>2+</sup>/CaM, PDB ID: 1cll) [4] の複合体構造を得るため、ドッキングシミュレーションを実行した。次に、得られた複合体構造に関して、1atm, 300 K の計算条件で、それぞれ 250 ns の MD を実行した。得られたトラジェクトリをもとに、CaM の 2 つの球状ドメインおよびリンカーの中央の 3 点の角度を解析した。解析の結果、PSD-95 の N 末端が αヘリックスの場合と比較してランダムコイルの場合の方が CaM の 3 点の角度がより 90 度に近づくことが分かった。つまり、Ca<sup>2+</sup>/CaM は PSD-95 の N 末端がランダムコイルの場合に認識し易く、CaM は PSD-95 を抱え込むように結合することが示唆された。X 線結晶構造として決定された CaM と PSD-95 の複合体構造 [2] も、CaM の 3 点の角度が 90 度に近い状態で PSD-95 を認識しており、解析結果と良い一致を示している。しかし、PSD-95 と Ca<sup>2+</sup>/CaM の複合体結晶構造では PSD-95 は αヘリックスであることから、複合体形成プロセスにおいて、CaM との相互作用を介して αヘリックスに構造変化すると考えられる。今後は、Ca<sup>2+</sup>/CaM が PSD-95 を標的タンパク質として認識した後、互いにどのように構造変化して認識プロセスを完了させるのか、詳細なメカニズムに迫りたい。

### 【参考文献】

1. Chen, Lu et al. *Nature*, **408** (6815), 936-943 (2000)
2. Zhang, Y et al. *EMBO J.*, **33** (12), 1341-1353 (2014)
3. Frauenfelder, H et al. *Science*, **254** (5038), 1598-1603 (1991)
4. Chattopadhyaya, R et al. *J. Mol. Biol.*, **228**, 1177-1192 (1992)

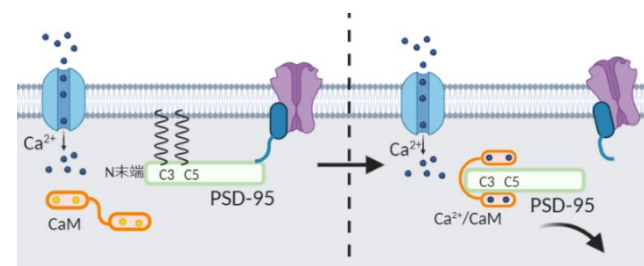


図 1 Ca<sup>2+</sup>/CaM による PSD-95 の解離モデル

### 【方法】

生体内においてタンパク質は外部からの熱揺らぎに晒され、絶えず動いている。タンパク質の構造変化は、機能発現に深く関与している。[3] 故に、構造変化と機能の関連性を明らかにすることは、生体機能の解明に重要である。タンパク質の構造変化を解析するうえで MD は強力な研究手段である。MD は、コンピューター上でニュートンの運動方程式を数値的に解き、タンパク質の動きを追跡する計算手法である。具体的には、MD を実行することでタンパク質の動きを原子座標の時系列データ (トラジェクトリ) として生成できる。トラジェクトリを解析することで、