

分子動力学計算で解明する TGF- β 受容体の多量体形成メカニズム

佐藤 紘歌 (筑波大学 生物学類)

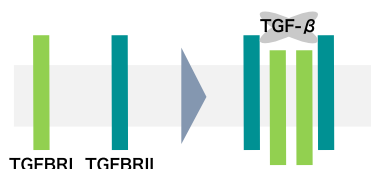
指導教員：原田 隆平 (筑波大学 計算科学研究センター)

【導入】

我々の生体は数多くの細胞から成り立っている。細胞が分化・増殖することで、さまざまな機能を有する細胞が産生され、生体内の組織は正常にはたらき、生体の恒常性が維持される。しかし、細胞増殖が無秩序に繰り返されると、いわゆる「がん化」と呼ばれる状態になり、腫瘍の形成など生体へ悪影響を及ぼす。そのため、細胞増殖は厳密に制御される必要がある。

形質転換増殖因子- β (TGF- β) は、細胞増殖の抑制にはたらく分泌性のタンパク質である。TGF- β は、リガンドとして細胞膜に存在する受容体に受容され、細胞内へシグナルが伝達されることで、その役割を果たす。この一連のシグナルの伝達を TGF- β シグナル伝達と呼ぶ。TGF- β は TGFBR1、TGFBR2 の二種類の

受容体と結合することが知られている。TGF- β は二量体で活性をもち、TGFBR1:TGFBR2 = 2:2 の四量体 (以下、受容体四量体) と六量体を形成し、細胞内へシグナルを伝達する。(図 1)

図 1. TGF- β /受容体多量体

BAMBI は、TGF- β シグナル伝達の阻害因子の一つである。細胞増殖の制御は、細胞増殖の促進と抑制のバランスで保たれている。TGF- β シグナル伝達を抑制し、細胞増殖を促進する因子もまた重要である。BAMBI は膜タンパク質であることから、TGF- β シグナル伝達において、同じく膜タンパク質である受容体に作用し、受容体多量体形成を阻害することでシグナル阻害をすることが考えられている。しかし、BAMBI が TGFBR1、TGFBR2 のどちらに作用しているのかといった阻害機序は未解明である。そこで、本研究では、BAMBI による受容体多量体形成の阻害機序の解明を目的とした。

TGF- β 受容体の構造は、細胞内および細胞外ドメインと細胞膜中に存在する膜貫通ドメインに分けられる。生物学的実験から、TGFBR1、TGFBR2 の膜貫通ドメインを他の受容体のものに置換するとシグナル伝達効率が変化することが示された。[1] これにより、受容体四量体の形成に膜貫通ドメインが寄与することが示唆される。したがって、TGFBR1、TGFBR2、BAMBI 間の結合について検討するには、膜貫通ドメインの結合親和性を比較する必要がある。そこで本研究では、膜貫通ドメインの結合・解離プロセスを観測できる分子動力学シミュレーション (MD) を用いて、膜貫通ドメインの結合親和性の比較および BAMBI による阻害機序の解明を進めた。

【方法】

本研究では、タンパク質の結合・解離プロセスを原子レベルで観測できる MD を使用した。MD は、原子間にはたらく力を計算しながら原子の位置と速度を更新することで、タンパク質の構造変化 (ダイナミクス) を時系列データ (トラジェクトリ) として観測できる。また、トラジェクトリを解析することで、タンパク質のダイナミクスや構造安定性などを評価できる。

はじめに、タンパク質の立体構造予測できるプログラムである AlphaFold 2 (AF2) を用いた。AF2 は、単量体の構造だけでなく複合体の構造も予測できる。そこで、TGFBR1 と各タンパク質からなる三種類について二量体構造を予測した。

TGFBR1 + {TGFBR1/TGFBR2/BAMBI}

次に、生成した三種類の二量体構造を膜環境に埋め込み、MD を実施することで、膜内における安定構造を入手した。(図 2)

最後に、三種類の二量体について以下の二段階の操作を実施した。

- (1) 各タンパク質間の距離を変更し、複合体が結合している状態から、解離している状態までの構造を均一に作成した。(図 3)
- (2) 作成した構造すべてに短時間の MD を実施した。

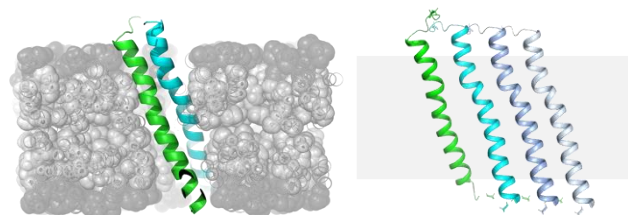


図 2. 膜内における安定構造

図 3. 複数距離の構造

【結果】

MD により得られたトラジェクトリの解析結果から、二量体の結合および解離状態のエネルギー差 (ΔW) を算出できる。三種の二量体について ΔW を比較し、どの二量体が優先的に結合するかを推察する。その結果、BAMBI と TGFBR2 の結合親和性は小さく、BAMBI は TGFBR1 と結合することが示唆された。また、TGFBR1 に対する BAMBI および TGFBR2 の結合親和性は同程度であることが示された。また、各二量体の膜内における安定構造を比較することで、二量体が膜貫通ドメインの α ヘリックスのどの面で結合しているか調べた。その結果、TGFBR1 の TGFBR2 および BAMBI に対する結合面が同じであることが示された。MD および結合面の解析から導かれる結論として、BAMBI は TGFBR1 と結合し、TGFBR1-TGFBR2 の結合面をブロックし結合を競合的に阻害することで、受容体四量体の形成を阻害し、シグナル伝達を阻害することが考えられる。(図 4)

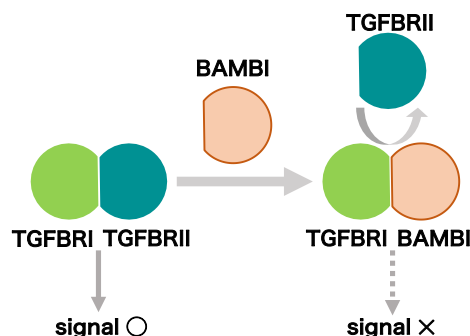


図 4. BAMBI による阻害機序仮説

【参考文献】

1. Onichtchouk D. et al., *Nature*, **401**, 480-485(1999)