

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 9 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		X 線構造解析と分子シミュレーションの連携による電位依存性膜タンパク質 VSOP、VSP の輸送機構	
研究代表者	氏名	米澤康滋	
	所属機関名・部局名	近畿大学・先端技術総合研究所	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		☐	共同研究員
		☐	超高磁場NMR 共同利用研究課題
		☐	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
		☐	客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		中川敦史教授	
研究背景 電位依存性膜タンパク質である VSOP、VSP は共に大阪大学の岡村グループによってその機能と存在が明らかにされ、蛋白質研究所の中川グループによってその構造解析が成された。電位依存性膜タンパク質は、筋収縮・神経伝達及び心臓拍動などに重要で精力的に機能解明の研究が続けられている。VSOP (Voltage-Sensor Only Protein) は電位センサー部分のみを持ち小孔を持たない新規プロトンチャネル分子が同定され、単量体で機能を持ち、膜電位変化を膜貫通セグメント S4 が感知して静止状態と活性状態間の構造変化でプロトン通過を制御する事が実験的に示唆されている (藤原, et al, Nature Comm.)。 VSOP は今までで最小の電位依存性イオンチャネルで、シンプルな構造を持ち、基本機能である電位依存的イオン選択性及びゲーティング機構の解明に理想的な日本発のモデルタンパク質として研究進展が期待されている。 VSP (Voltage-Sensing Phosphatase) は電位依存的に細胞内のイノシトールリン酸の脱リン酸化酵素を活性化して細胞内情報伝達に寄与する重要な膜タンパク質でありその機能詳細の解明が待たれている。本研究のシミュレーションから得られるオープン構造及びクローズド構造に特徴的な塩橋対の実験的な検証には中川グループの協力が不可欠でまた塩橋対について得られた知見から適切な変異を導入した open 構造及び closed 構造の生化学実験や構造決定を行う際にも中川研究室の実験技術と実験設備が必要である。 研究目的 応募者が開発したアミノ酸側鎖原子間のエン트로ピー相関を計算して構造の主要な側鎖の振動モードを抽出しプロトン移動に関わる重要な揺らぎ成分の特定を目指すこと、併せて米澤の開発したアミノ酸側鎖の集団運動周期の相関を計算する新規な解析手法によって、VSOP 及び VSP 分子全体に及ぼすアミノ酸側鎖の集団運動の特性を明らかにする。得られた知見を基にプロトン透過のゲーティング機構等の解明等を推進し、膜イオン輸送機構の研究基盤を格段に進展させること等を目的とする。 研究の方法と結果 VSOP の open 構造と closed 構造に関して長時間分子動力学シミュレーションを実施して、プロトン移動に寄与する側鎖の特定とその性質を調査した。研究年度後半は VSP の分子動力学シミュレーションデータを蓄積した。計算で得られたトラジェクトリーデータを、AI を含むベイズ推定等の機械学習及び多変量解析法で数理解析した。VSOP のプロトン移動に関わる側鎖の特定とその運動性の特徴を抽出する為の新たな方法を開発しその有用性を確認した所、VSOP タンパク質の動的性質の低次元特徴量とその時間依存性について大きなインパクトのある結果が得られた。現在、この結果を元に方法論と応用例に関する学術論文を作成中である。 将来への展望 (問題点、今後の見通し、など) VSOP に関しては、特にプロトン授受に関わるアミノ酸側鎖間の原子レベルでのエン트로ピー相関解析 (分子内情報伝達機構) からアロステリックに制御されるプロトン移動制解明が重要であり、今後その解明を全力で進める予定である。VSP の膜貫通部分とこれに繋がる脱リン酸化酵素分はフレキシブルなリンカーで繋がっており現時点では膜貫通部分の構造変化による脱リン酸化酵素の活性制御機構は全く明らかにされていないが、分子動力学シミュレーションによる膜貫通部分と脱リン酸化酵素部分の多変量解析を駆使した動的エン트로ピー相関を詳しく研究する事でアミノ酸毎の活性に対する寄与を抽出してその分子機構を詳細に解明できると考えている。動的エン트로ピー効果を定量的に解析するアイディアは既に発案済みであり、早急にプログラム化してその性能評価と応用解析を進めて行く予定である。			