

タンパク質膜透過装置 Sec トランスロコンの分子動力学シミュレーション

森貴治^{1,2}、石谷隆一郎³、塚崎智也³、濡木理³、杉田有治^{1,2,4}

¹理研、²BIRD, JST、³東大医科研、⁴CREST

t.mori@riken.jp

概要：細胞内で合成されるタンパク質は、膜透過装置 Sec トランスロコンの働きにより、膜を通過して細胞外に移動したり、正しい方向で膜中に埋め込まれる。本研究では、Sec トランスロコンの分子動力学シミュレーションを行い、トランスロコンの構造・ダイナミクスを解析し、タンパク質膜透過機構の原子レベルでの解明を目指す。

1 はじめに

細胞内で合成されるタンパク質は、各々決まった場所に正しく移動することで、はじめてその機能を発揮することができる。セントラルドグマの一連の流れで、DNA にコードされた遺伝情報は、mRNA へと転写され、リボソーム上でタンパク質が合成される。分泌タンパク質の場合、その後小胞体やゴルジ体へと運ばれ、最終的に各オルガネラまたは細胞外へ運搬され、膜タンパク質の場合、ある決まったトポロジーで細胞膜に埋め込まれる。しかしながら、水溶性タンパク質は親水性であるため疎水性の高い細胞膜を単純には通過することができず、また膜タンパク質は細胞内外との物質輸送やシグナル伝達を行うため、必ずある決まった方向で埋め込まなければならない。タンパク質がどのように膜を通過し、膜に埋め込まれるのかという問題は、生命現象を理解する上で極めて重要である。

タンパク質の膜輸送の過程では、タンパク質を透過させる装置トランスロコン（タンパク質チャンネル）が重要な役割を担っている。トランスロコンは Sec と呼ばれる膜タンパク質複合体から構成され、進化の過程で高度に保存されたアミノ酸配列を有している。図 1 に古細菌 *Methanococcus jannaschii* から発見されたトランスロコン SecYEβ の X 線結晶構造を示す [1]。SecYEβ は 3 つの異なるサブユニット α, β, γ から構成され、α サブユニットは 10 本の膜貫通ヘリックス (TM 1-10) からなり、TM 1-5 と TM 6-10 の 2 枚貝が重なったような構造、そして内部には砂時計様の空洞を形成する。

通常、トランスロコンは単体で存在するときはチャンネルとして機能することができず、リボソ-

ムやシャペロン、SecA などのタンパク質と結合することで、タンパク質膜透過の駆動力を獲得する。トランスロコンには生物種によりいくつかの異なる膜透過機構が存在することが分かっており、図 2 に真核生物の代表的なメカニズムを示す。小胞体膜において、リボソームと Sec 複合体が結合すると、チャンネルに「栓」をしていたヘリックスが別の場所に移動し、新生ペプチドがリボソーム上での合成を駆動力としてチャンネルを通過する。分泌タンパク質と膜タンパク質の場合で大きくメカニズムが異なり、前者の場合は膜を横切って小胞体内へと移動、後者はチャンネルの前方側面が開くことで、脂質膜へ埋め込まれる [2]。

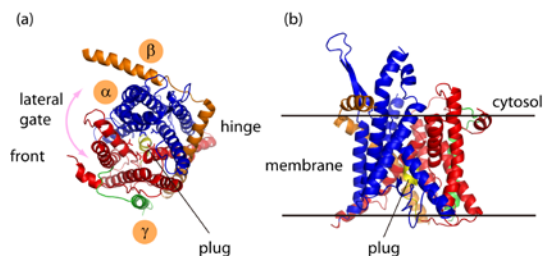


図 1 古細菌 *Methanococcus jannaschii* のトランスロコン SecYEβ の X 線結晶構造. (a)細胞質側, (b)側面から見た様子

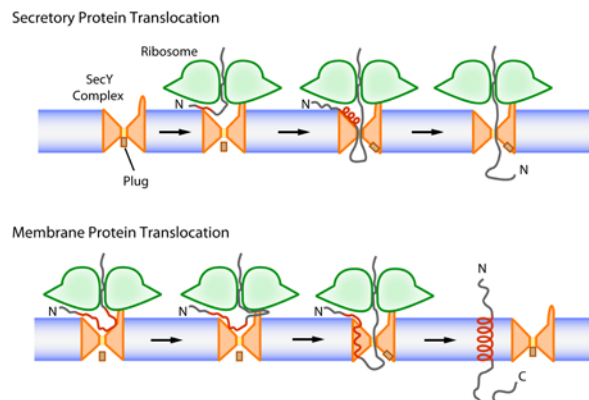


図 2 タンパク質膜透過機構の概略図.

約 40 年もの間、タンパク質の膜透過メカニズムの解明という課題に対し、多くの生物化学・物理化学的実験がなされ、近年トランスロコンの詳細な構造・機能がようやく明らかになってきた。一方、トランスロコンが原子・分子レベルでどのような相互作用により構造変化を起こし、タンパク質の膜透過にまで至るのかといったメカニズムは未だよく分かっていない。近年、生体分子系における解析手法としてコンピュータ・シミュレーションが大きく注目され、今日の計算機技術の革新的な発展は、タンパク質のような複雑な立体構造の予測や数十万原子にも及ぶ大規模系での分子ダイナミクス解析を可能にし、また創薬や医療などの応用基盤分野にも大きく貢献してきた。本研究ではコンピュータ・シミュレーションによるトランスロコンの分子動力学計算を行い、タンパク質膜透過機構の原子レベルでの解明を目指す。

2 方法・結果

古細菌 *Methanococcus jannaschii* や他のバクテリア種から発見されたトランスロコンを対象に、分子動力学シミュレーションを行い、Sec 複合体の構造変化の様子を解析した。分子動力学法とは、ニュートン方程式を数値的に解くことで系の時間発展を計算する手法である。図 3 に今回行ったシミュレーションの系を示す。X 線結晶構造解析で得られた SecYE β 複合体の周りに POPC 脂質二重膜および水を配置し、NaCl の濃度を細胞の環境に近い 150mM とした。セルのボックスサイズは 100 Å × 100 Å × 127 Å で原子数は約 12 万である。系の温度は 300 K とし、35 ns のシミュレーションを行った。なお、1ns のシミュレーションにクラスタ PC (64CPU) を用いて実時間で 7 時間要する。

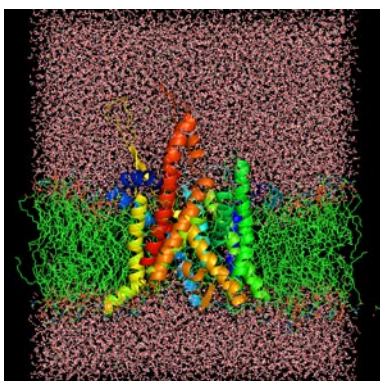


図 3 本研究で行ったシミュレーションの系

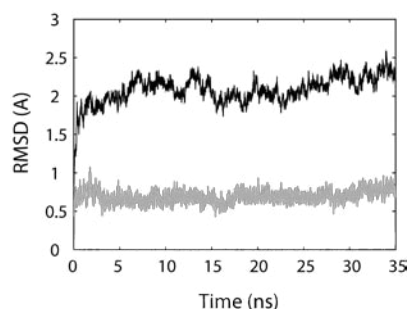


図 4 X 線結晶構造との RMSD (C α 原子) の時間変化。黒 : SecYE β 全体、灰色 : 膜貫通ヘリックス部位

図 4 に SecYE β の X 線結晶構造の C α 原子とシミュレーション中の各ステップでの構造との Root-mean-square deviation (RMSD) の時間発展を示す。タンパク質全体では ~ 2.5 Å 程度揺らいでいるのに対して、膜貫通ヘリックス部分は初期構造からあまり構造変化せず安定していることが分かる。また、他種の SecY 複合体では機能に関係するような細胞質ドメインの大きな構造変化を観察した。現在、100 ns までの長時間計算を行っており、詳細な解析結果はポスター発表にて報告する予定である。

3 まとめ

タンパク質透過装置トランスロコンの全原子モデルでの長時間分子動力学計算を行い、ダイナミクスを解析した。特に生体分子の大規模なシミュレーションを行う場合、生体内での反応のタイムスケールを考慮すると、大型計算機を利用した長時間計算が必要不可欠である。今後、他種のトランスロコンの長時間シミュレーションを行い比較することで、トランスロコンの分子レベルでの機能解明を目指す。

参考文献

- [1] B. van den Berg, W. M. Clemons, I. Collinson, Y. Modis, E. Hartmann, S. C. Harrison, and T. A. Rapoport, X-ray structure of a protein-conducting channel, *Nature*, **427**, 36-44 (2004).
- [2] T. A. Rapoport, Protein translocation across the eukaryotic endoplasmic reticulum and bacterial plasma membranes, *Nature*, **450**, 663-669 (2007).