

生体系タンパク質の動的解析
Dynamic analysis on biological proteins

京都大学大学院エネルギー科学研究科 陳友晴

研究成果概要

接着性細胞は基板表面の形状やひずみ、剛性等の機械的特性を読み取って、増殖や分化といった様々な生理的機能へと反映する“メカノセンシング”機能を有する。基板の機械的情報は、インテグリンと呼ばれる膜貫通タンパク質を介して細胞内に伝達され、生体シグナルに変換されたのち核内 DNA へと作用する。インテグリンは α , β 鎖と呼ばれる二つのサブユニットが非共有的に結合したヘテロ二量体タンパク質であり、24 種類の相同体が存在する。これらは、 α I ドメインと呼ばれる挿入ドメインが α 鎖に存在するかに応じて、2 タイプ(α I/ α I-less インテグリン)に大別される。当研究室では、特定のタイプのインテグリンを阻害剤により不活性化させた上で、ナノポーラス金アクチュエータを用いた周期的なひずみを基板に加えることで、機械的刺激を感受するインテグリンの種類を特定することを試みた。結果として、 α I-less インテグリンのみが、機械的刺激を伝達することが可能であるという事実が示唆された。本研究では、この仮説を分子レベルで裏付けし、その機構を解明するために α I/ α I-less インテグリンそれぞれに対して、分子動力学(MD)計算を実行した。

α I インテグリンの代表として $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを、 α I-less インテグリンの代表として $\alpha_2\beta_1$ インテグリンのモデルを作成した。 $\alpha_2\beta_1$ インテグリンに関しては、結晶構造が実験的に得られていないため、MODELLER によるホモロジーモデリングにより、完全な結晶構造を作成した。また、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンの β A ドメインにフィブロネクチンIII₁₀ドメインを、 $\alpha_2\beta_1$ インテグリンの α I ドメインにコラーゲン分子を結合させ、これら細胞外マトリクス分子を介して周期的な外力を垂直に印加した。外力の大きさは 0 pN, 250 pN, 500 pN, 750 pN の 4 種類で設定し、1 ns の周期で印加した。MD 計算は NAMD ソフトウェアを使用し、2 fs の時間刻みで 50 ns 間計算を行った。最終的に、各インテグリンが外力に依存して、構造が活性化するかどうかを分析した。

MD 計算で得られた経時的な構造変化を分析した結果、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは外力が大きくなるにつれて活性化が促進されたが、 $\alpha_2\beta_1$ インテグリンは外力の大きさに依存せず活性化しなかった。この計算結果は、 α Iドメインを有さない(α I-less)インテグリンのみが機械的感受性を有するという実験事実と一致している。 α Iドメインを有さない場合、細胞外マトリクスが直接 β 鎖に外力を伝達し、局所的な構造変化を誘導する。具体的には、 β 鎖の頂上に作用した外力は、インテグリンに配位した 2 価金属イオンを介して α I ヘリックスの折れ曲がりが生じる。この変化は、T-junction と呼ばれる Leu¹³⁴-Leu³³³ 間の疎水性結合を誘導し、最終的にグローバルな構造変化(β A-hybrid swingout)に発展する。一方で、 α Iドメインを有するインテグリンでは、外力が α Iドメインを伝達する間に減衰してしまい、T-junction や続く巨視的構造変化が生じないことが明らかとなった。

参考論文 : S. Deguchi et al., *Acta Biomaterialia*, **121** (2021), 418-430.