

# 1B13

トロンビンの Na<sup>+</sup>結合空洞が基質結合ポケットの脱水和に果たす役割

○栗崎以久男<sup>1,2</sup>, Chantal Barberot<sup>1,2</sup>, 高柳昌芳<sup>1,2</sup>, 長岡正隆<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>名大院情報, <sup>2</sup>JST-CREST

kurisaki@ncube.human.nagoya-u.ac.jp

タンパク質-基質会合反応において、タンパク質の基質結合ポケットの脱水和は、反応の律速過程となりうる。一方、その重要性に比して、脱水和の微視的メカニズムは殆ど分かっていない。例えば、セリン・プロテアーゼの一種であるトロンビンでは、基質結合ポケットと Na<sup>+</sup>結合空洞が隣接している[1]。これらの二つの領域はチャンネルを形成している(下図・左)が、このチャンネルが実際に脱水和に関与するかは議論が定まっていない。近年、全原子分子動力学シミュレーションによる会合反応過程の観測が可能となってきた。そこで、トロンビンとモデル基質分子の会合反応をシミュレートし、チャンネル内水分子の移動を直接観測することで、チャンネルが脱水和に果たす役割の検証を試みた[2]。

140 mM NaCl 水溶液中にトロンビンと基質を配置した。基質のモデル分子として Ace-Pro-Arg-Nme を用いた。500 ns の分子動力学シミュレーションを行い、トロンビン-基質会合反応が自発的に起きた分子運動トラジェクトリを得た。複合体形成の初期過程である基質分子の ArgP1 とトロンビンの Asp189 の特異的水素結合形成過程に注目し、トロンビンの基質結合ポケットおよびチャンネルでの水分子の移動を解析した。

基質分子の基質結合ポケットへの侵入直後では、ArgP1 と Asp189 はポケット内の水分子によって隔てられていた。そこで、ArgP1-Asp189 間の水素結合形成が起こる際に、これらの水分子が ArgP1 と Asp189 の間から移動する経路を調べた。興味深いことに、水分子はポケットから直接、溶媒中へ移動するのではなく、Na<sup>+</sup>結合空洞などの他の空洞へ移動してから、溶媒中に放出されることが分かった(下図・中央および右)。このことは、チャンネルが基質結合ポケットの脱水和に関与していることを示している。さらに、トロンビンのチャンネル内では、水分子の移動が定常的に起こっていた。水素結合形成の直前に ArgP1 と Asp189 を隔てていた水分子は、シミュレーションの最初からその位置にあったわけではなく、系の時間発展に伴い溶媒からチャンネルの中に侵入し、これらの残基の間に移動していたことが確認された。以上の結果から、チャンネル内での水分子の移動の頻度が、基質会合の効率に影響することが示唆される。

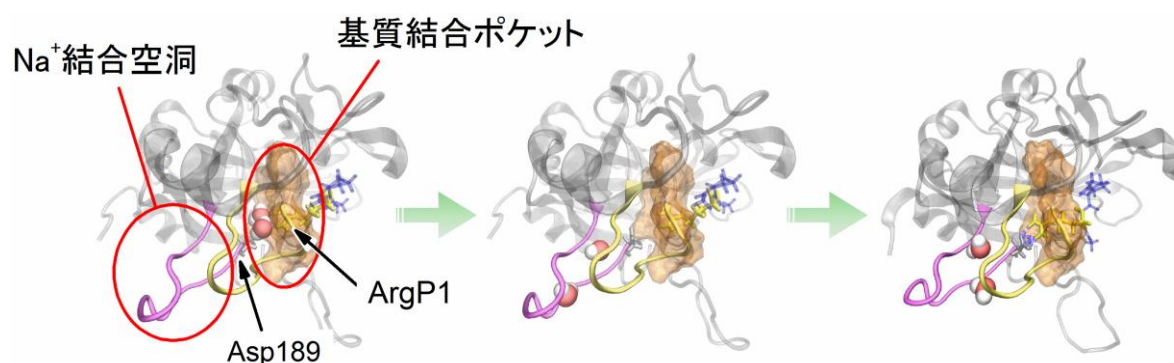


図. ArgP1-Asp189水素結合形成に伴う基質結合ポケットの脱水和過程。左から、基質の侵入、ポケットの脱水和、ArgP1-Asp189間の水素結合形成を表す

[1] Krem, M. M. and Di Cera, E. *Proteins: Struct., Funct., Genet.* 1998, **30**, 34–42.

[2] Kurisaki, I. et al., *J. Phys. Chem. B*, 2015, **119**, 15807-15812.