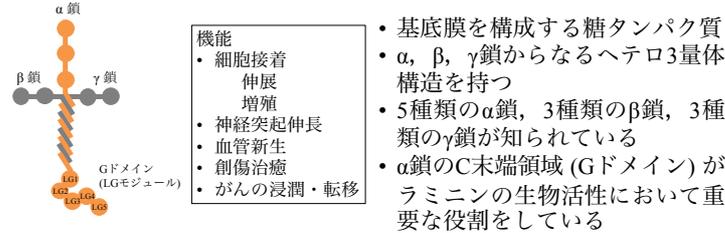
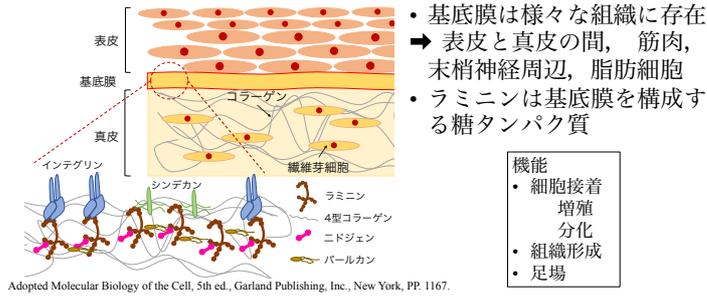


# 細胞接着活性を有するラミニン由来ペプチドの分子動力学法を用いた構造解析

○山田寛尚<sup>1,2</sup>, 宮川毅<sup>2</sup>, 森河良太<sup>2</sup>, 片桐文彦<sup>3</sup>, 保住建太郎<sup>3</sup>, 吉川大和<sup>3</sup>, 野水基義<sup>3</sup>, 高須昌子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>統数研・データ同化研究開発センター, <sup>2</sup>東京薬科大学・生命, <sup>3</sup>東京薬科大学・薬

## 1. 背景: 基底膜とラミニン



## ラミニンα鎖由来ペプチド

### EF1ペプチド

・α2β1インテグリンと相互作用することで**細胞接着**と細胞伸張を促進  
Suzuki, N., et al. (2003) J. Biol. Chem., 278, 45697-45705.

### sEF1ペプチド

・EF1の最小活性配列であるsEF1は細胞接着活性が低下  
・sEF1のN末とC末をジスルフィド結合で**環化することにより**, 活性が回復  
Suzuki, N., et al. (2003) J. Biol. Chem., 278, 45697-45705.

### EF2ペプチド

・EF2は, EF1の相同配列であるが細胞接着活性を持たない  
Katagiri, F., et al. (2014) Biochemistry., 53, 3699-3708.

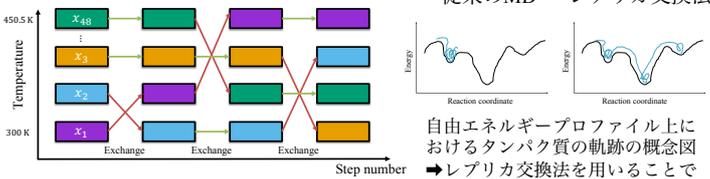
	EF1	EF2	sEF1	cyc-sEF1
細胞接着活性	◎	×	△	○
α1 (2747-2765)	EF1	DYATLQLQEGRLHFMDLGL		
	sEF1	LQLQEGRLHFMD		
α2 (2808-2826)	EF2	DFATVQLRNGFPYFYSYDLG		

## 2. 目的

分子動力学 (MD) シミュレーションを用いて, ラミニン由来ペプチドであるEF1とEF2の構造の違いを明らかにする

## 3. 方法

### ① レプリカ交換法分子動力学シミュレーションによるEF1とEF2の構造探索



ある状態 $x_i$ から状態 $x_j$ に遷移する確率

$$w(x_i \rightarrow x_j) = \begin{cases} 1 & \text{for } \Delta \leq 0 \\ \exp(-\Delta) & \text{for } \Delta > 0 \end{cases} \quad \Delta = \left( \frac{1}{k_B T_i} - \frac{1}{k_B T_j} \right) (E_i - E_j)$$

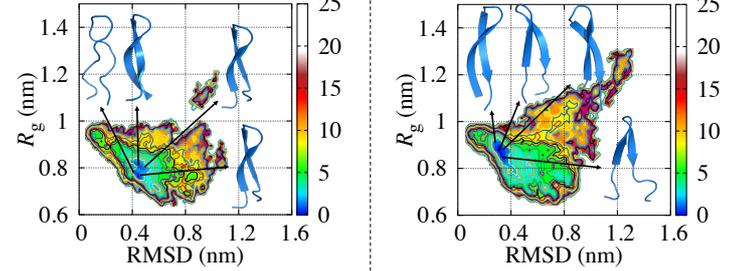
$T_i, T_j$ : 状態 $x_i, x_j$ の温度  
 $E_i, E_j$ : 状態 $x_i, x_j$ の系のポテンシャルエネルギー

### ② 従来のMDシミュレーションによる動的構造の解析

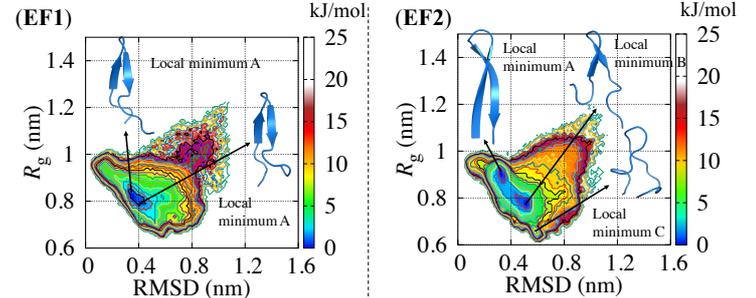
条件	ソフトウェア: GROMACS, 力場: AMBER99SB-ildn	従来のMD法
レプリカ交換MD法	レプリカ数: 48, 温度間隔: 2.5-4 K	圧力制御: Parrinello-rahman
温度制御: Nosé-Hoover	box size: 約 6 × 6 × 6 nm	温度制御: Nosé-Hoover
体積一定: 約 216 nm <sup>3</sup>	水分子数: 6997 (EF1), 7009 (EF2)	box size: 約 6 × 6 × 6 nm
水モデル: TIP3P	シミュレーション時間: 60 ns	水分子数: 7118 (EF1), 7100 (EF2)
交換率: 約 0.2-0.3	交換率: 約 0.2-0.3	水モデル: TIP3P
		シミュレーション時間: 2 μs

## 4. 結果

レプリカ交換法より得られた頻度分布から求めた自由エネルギー地形



従来のMDより得られた頻度分布から求めた自由エネルギー地形



### 従来のMDによる水素結合の解析

下記に示す水素結合のペアについて解析した

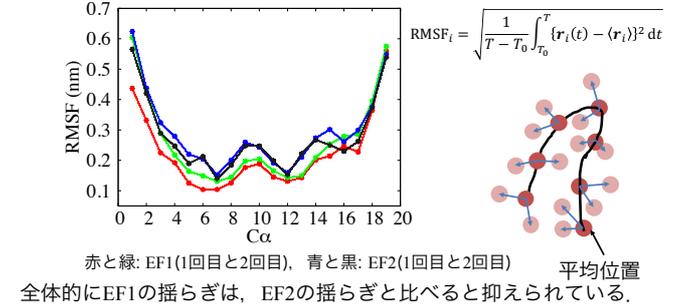
Item	Pairs of H-bonds (EF1)	Pairs of H-bonds (EF2)
HB1	TYR <sub>2</sub> -NH ... OC-ASP <sub>17</sub>	PHE <sub>2</sub> -NH ... OC-ASP <sub>17</sub>
HB2	TYR <sub>2</sub> -CO ... HN-ASP <sub>17</sub>	PHE <sub>2</sub> -CO ... HN-ASP <sub>17</sub>
HB3	THR <sub>4</sub> -NH ... OC-MET <sub>15</sub>	THR <sub>4</sub> -NH ... OC-SER <sub>15</sub>
HB4	THR <sub>4</sub> -CO ... HN-MET <sub>15</sub>	THR <sub>4</sub> -CO ... HN-SER <sub>15</sub>
HB5	GLN <sub>6</sub> -NH ... OC-HIS <sub>13</sub>	GLN <sub>6</sub> -NH ... OC-TYR <sub>13</sub>
HB6	GLN <sub>6</sub> -CO ... HN-HIS <sub>13</sub>	GLN <sub>6</sub> -CO ... HN-TYR <sub>13</sub>
HB7	GLN <sub>6</sub> -NH ... OC-ARG <sub>11</sub>	ARG <sub>8</sub> -NH ... OC-PHE <sub>11</sub>
HB8	GLN <sub>6</sub> -CO ... HN-ARG <sub>11</sub>	ARG <sub>8</sub> -NH ... OC-PHE <sub>11</sub>

### 水素結合の自己相関関数よりわかること

- ・EF1は8個中5個, 水素結合を形成する距離を維持 (HB4-HB8)
- ・EF2は8個中3個が維持 (HB6-HB8)
- ・EF1との違いは黄色と橙色で示されたペア (HB4とHB5)

### RMSF (根平均二乗揺らぎ) を用いた揺らぎの解析

構造の揺らぎの指標となる。



## 5. 結論

レプリカ交換MD法からわかること (構造を大域的にサンプリングできる)

- ・EF1およびEF2はヘアピン様構造をもつ。
- ・EF2はヘアピン様構造も含むが, 出現頻度が高いエネルギー地形域が広い。

従来のMDからわかること (構造を時間に沿って正確に解析することができる)

- ・EF1はEF2と比べ, 安定したβシート構造を持っており, 揺らぎが小さい。
- ・構造を維持する要素として水素結合があり, 特にHB4とHB5の位置にある水素結合が維持されていることが重要である。

レプリカ交換MD法および従来のMDからわかること

- ・EF2は構造が変化しやすい (末端が変化しやすい) ことが示唆された。