

生体分子の状態遷移と機能の動力学

(九大先導研¹・九大総理工²) ○森 俊文^{1,2}

Role of dynamics in conformational transitions and functions of biomolecules (¹*Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University*, ²*Interdisciplinary Graduate School of Engineering Sciences, Kyushu University*) ○Toshifumi Mori¹

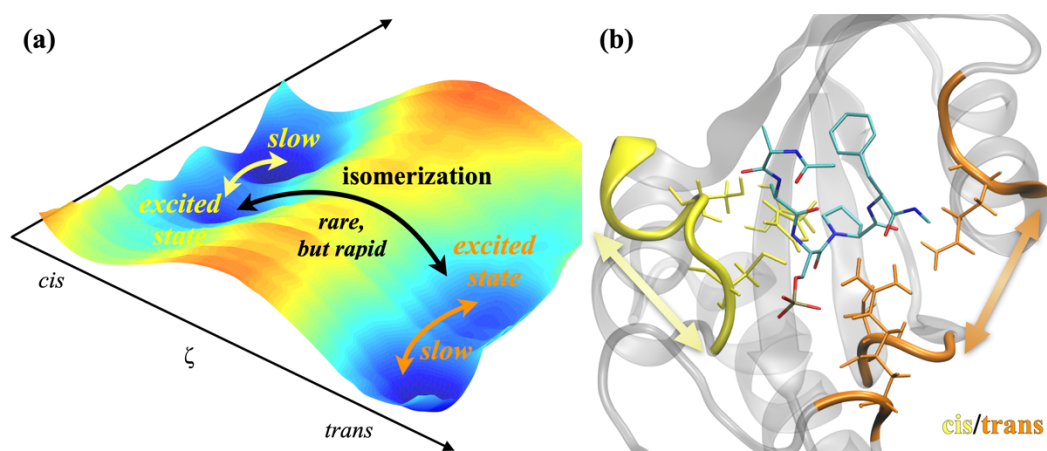
Structural fluctuations and conformational transitions of proteins have been realized to be essential for protein functions. Yet, how these dynamic aspects of proteins contribute to functions often remains elusive. We have been working towards understanding how enzymes adapt to different stages of the catalytic cycle by adjusting their conformations, and have been focusing on unveiling the conformational dynamics of enzymes. In this talk, by mainly focusing on the peptidyl-prolyl isomerization reaction catalyzed by Pin1, we discuss the molecular mechanism of catalytic reaction from two perspectives. Molecular dynamics simulations with replica exchange umbrella sampling and transition path sampling methods are applied to reveal the static and dynamic mechanisms of the reaction, respectively. From a static view, enzyme lowers the free energy barrier of isomerization with rearrangements in ligand-enzyme interactions along the reaction coordinate^{1,2}. From the dynamic view, on the contrary, the isomerization occurs in a short timescale, which turns out to be too rapid for the ligand-enzyme interactions to reorganize to equilibrium². These results indicate that the dynamics of the enzyme plays a role prior to the reaction step by preparing a reactive environment, i.e., as *conformational excited states*. The origin of these slow protein dynamics, which has also been discussed by an NMR experiment³, and how it seemingly couples to the enzymatic reaction cycle will also be discussed.

Keywords : Reaction dynamics; Free energy; Conformational transition; Enzyme catalysis; Molecular dynamics simulation

生体分子の構造揺らぎや状態遷移は生体分子の機能に不可欠であることが、近年の一分子測定をはじめとした実験より明らかになってきた。ところが、このような運動が実際にどのように生体分子機能や酵素反応に寄与するかに関しては、多くの場合あまりよく分かっていない。我々は、特に酵素反応を対象として、分子シミュレーションなど理論化学手法を用いることによって、酵素の構造変化や状態遷移が酵素反応サイクルに沿ってどのように調整され、酵素反応が成り立っているかを、ダイナミクスに特に着目して調べている。本発表では、プロリン異性化酵素の一つである Pin1 を例に、反応機構を静的および動的側面から詳しく調べた。そのために、分子動力学シミュレーションのサンプリング手法である replica exchange umbrella sampling 法および transition path sampling 法を用いた反応経路の探索を行った。

静的側面の解析からは、異性化反応の自由エネルギー面に対する酵素の影響について調べることで、酵素によって反応の自由エネルギー障壁が下がり、反応が促進されている機構が得られた。また、反応座標（異性化の二面角の変化）に沿って、基質-酵素相互作用が徐々に変化していくのが確認された^{1,2}。それに対して、実際に反応

がどのように進行するかを遷移トラジェクトリに基づく反応ダイナミクスの解析から調べたところ、基質の異性化反応自体はごく短時間で進行するため、基質-酵素相互作用がその時間内に追従することはできないことが分かった²⁾。そのため、異性化反応の遷移状態を安定化するのに必要な基質-酵素相互作用は、基質の反応座標の変化が始まる前に、あらかじめ準備されている必要があることが示唆された。以上の結果から、酵素の構造ダイナミクスは、異性化反応そのものが起こる前に、「構造励起状態」として反応が起きやすい環境を準備するために重要であることが示された。本発表ではさらに、酵素の遅い状態遷移の分子起源と、これが NMR 測定などで見られる遅い運動³⁾とどう関係し、さらに酵素反応サイクルと見かけ上どのように相関しているかを議論する。



- 1) Conformation-Directed Catalysis and Coupled Enzyme-Substrate Dynamics in Pin1 Phosphorylation-Dependent Cis-Trans Isomerase. H.A. Velazquez, D. Hamelberg, *J. Phys. Chem. B*, **2013**, 117, 11509.
- 2) Conformational Excitation and Nonequilibrium Transition Facilitate Enzymatic Reactions: Application to Pin1 Peptidyl-Prolyl Isomerase. T. Mori, S. Saito, *J. Phys. Chem. Lett.* **2019**, 10, 474.
- 3) Structure and Dynamics of Pin1 During Catalysis by NMR, W. Labeikovsky, E.Z. Eisenmesser, D.A. Bosco, D. Kern, *J. Mol. Biol.* **2007**, 367, 1370.