

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2021

課題番号：17K00418

研究課題名（和文）筋疾患に関係したタンパク質のシミュレーションによる研究

研究課題名（英文）Simulation study of protein related to myopathy

研究代表者

高須 昌子（Takasu, Masako）

東京薬科大学・生命科学部・教授

研究者番号：50202148

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：FHL1 タンパク質は筋肉の機能発現と成長に関わるタンパク質であり、変異によって遺伝性筋疾患を引き起こすことが報告されている。本研究では、野生型および変異型(C104Y, H123Y, C150Y, C153Y) のFHL1 からLIM2 ドメインを切り出したモデルにMD シミュレーションを行い、その結果を解析した。C104Y の非結合モデルやC150Y の結合モデルにおいて、ZF の大きな構造変化が見られた。また、C150Y の非結合モデルではZF 自体は大きく構造を変えていないが、両方のZFでのRMSD は大きく増加することがあり、両ZFの位置関係が変化することがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋疾患はタンパク質のアミノ酸変異と関係しており、特にFHL1遺伝子に変異が見られる場合がある。そのように重要なFHL1に関して、実際に症例が報告されている変異型のタンパク質に関して基礎的なシミュレーションを行うことは意義がある。本計算の結果により、実験研究者や医学の研究者に役立つ可能性がある。またFHL1はzinc fingerを持っており、他の同種のタンパク質の物性研究に役立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：FHL1 proteins are important for the function and growth of muscle. In our study, with wild type and mutant types (C104Y, H123Y, C150Y, C153Y) of FHL1, we have performed molecular dynamics simulation for the models of LIM2 domain. In the non-bonding model of C104Y and bonding model of C150Y, we found a large structural changes of zinc fingers. Moreover, in the non-bonding model of C150Y, the RMSD of zinc fingers becomes large and the model shows the relative positions of zinc fingers.

研究分野：生物物理

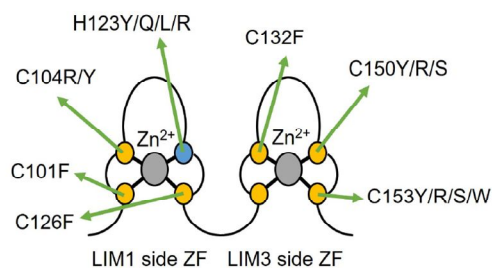
キーワード：シミュレーション タンパク質 筋疾患

## 1. 研究開始当初の背景

FHL1 タンパク質は筋肉の機能発現と成長に関わるタンパク質であり、変異によって遺伝性筋疾患を引き起こすことが報告されている。このタンパク質は2つのジンクフィンガー(ZF)をもつ LIM ドメイン 4.5 個が直列につながった構造を持ち、遺伝性筋疾患が報告されている変異の多くで LIM2 ドメインの配位残基が変異している。

## 2. 研究の目的

LIM2 ドメインの野生型 (PDBID: 1X63) と変異型 (C104Y, H123Y, C126Y, C150Y, C153Y) について分子動力学シミュレーションを行い、その構造を研究する。

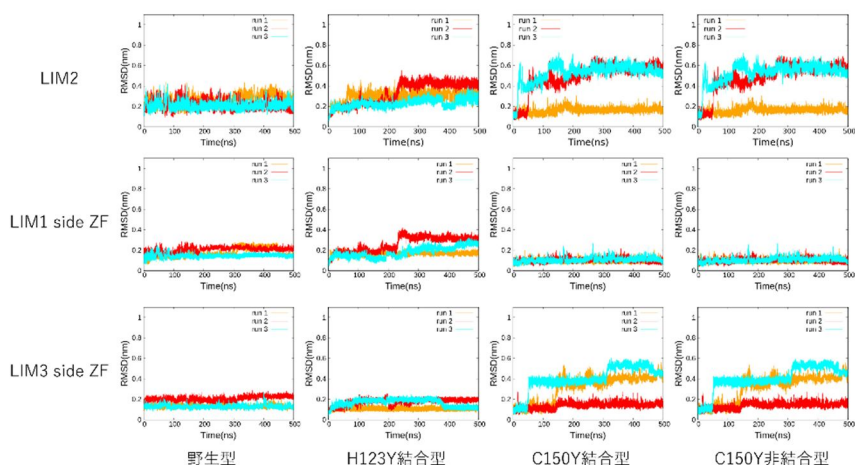


## 3. 研究の方法

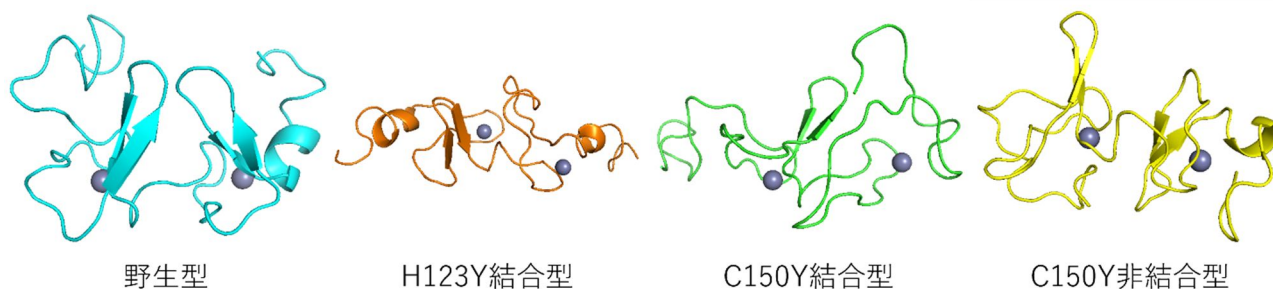
変異によって配位結合が形成されない可能性を考慮して、量子化学計算を用いて変異残基が ZF と結合する結合モデルと結合しない非結合モデルについて亜鉛とその結合残基の力場を作成した。その他のアミノ酸残基には AMBER99SB-ILDN 力場を使用した。それぞれのモデルについて、500 ns の MD シミュレーションを行った。各モデルのトラジェクトリの RMSD と RMSF を求めた。RMSD は、MD の最初の時点からタンパク質の構造がどのくらい変化したかを表し、RMSF はある区間でのタンパク質の各残基がどのくらい揺らいているのかを表す。

## 4. 研究成果

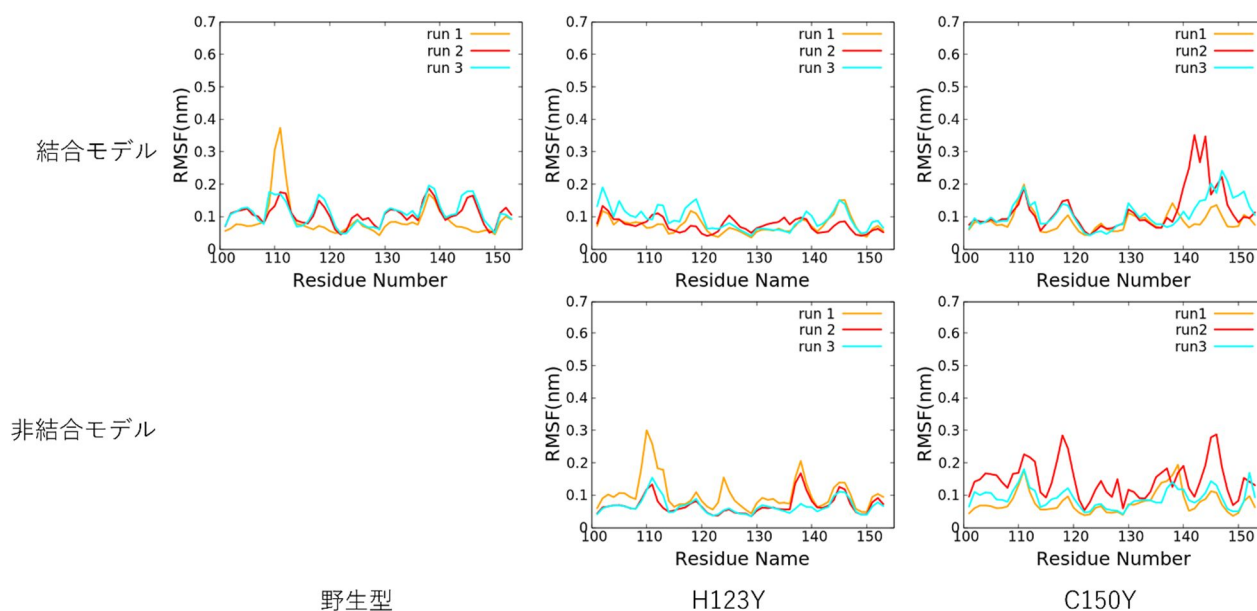
計算を行ったモデルのうち、野生型と特に構造の変動が大きかった H123Y 結合モデル・C150Y 結合 / 非結合モデルについて、解析を行った。C150Y の結合モデルではシート構造が大きく広が



って ZF の形状が大きく変化した。また、C150Y の非結合モデルでは ZF 自体は大きく構造を変えていないが、両方の ZF での RMSD は大きく増加することがあり、両 ZF の位置関係が変化することがわかった。大半の変異モデルで変異のある ZF で RMSD の上昇が確認されている中、H123Y の結合モデルでは、変異のある LIM1 側の ZF だけでなく、変異のない LIM3 側の ZF にも大きな構造変化が見られた。



RMSF に注目すると、野生型では各 ZF に含まれるループと シートのおり返し部分に揺らぎのピークがある。これに対して H123Y では、結合モデルにおいて LIM3 側の揺らぎのピークに変化が見られた。一方 C150Y では、結合モデルで、LIM1 側の揺らぎのピークが小さくなっていることや、LIM3 側のループ部分の揺らぎが消失していることが確認された。



またヒトの FHL1 に加えて、Zebrafish の FHL1 の計算が進行中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 H. Takeuchi, H. Okajima, H. Itoga, K. Nobuoka, H. Yamada, T. Miyakawa, R. Morikawa, Y. K. Hayashi, and M. Takasu	4. 巻 2186
2. 論文標題 Molecular dynamics simulation of myopathy-related mutant FHL1 in water and analysis of structure stabilization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 AIP Conf. Proc.	6. 最初と最後の頁 30012
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1063/1.5137923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takeuchi Hiroki, Okajima Hiroki, Yamada Hironao, Miyakawa Takeshi, Morikawa Ryota, Takasu Masako, Hayashi Yukiko K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Simulation Study for Wild-Type and C101F Mutant of LIM2 Domain in FHL1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proc. 8th Int. Conf BioSci, Biochem, Bioinf.	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1145/3180382.3180386	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 中島基邦, 野口瑠, 山田寛尚, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 FHL1タンパク質におけるLIM2ドメイン変異体の動的な解析
3. 学会等名 日本物理学会、第76回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川井俊祐, 野口瑠, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 分子シミュレーションによる筋疾患関連タンパク質FHL1の野生型とLIM2ドメインにおける変異型の構造とダイナミクスの解析
3. 学会等名 日本物理学会、第76回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川井俊祐, 山田寛尚, 野口瑠, 宮川毅 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションで示す筋疾患関連タンパク質 FHL1 のダイナミクス
3. 学会等名 第 34 回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Takeuchi, H. Okajima, H. Itoga, K. Nobuoka, H. Yamada, T. Miyakawa, R. Morikawa, Y. K. Hayashi, and M. Takasu
2. 発表標題 Molecular dynamics simulation of myopathy-related mutant FHL1 in water and analysis of structure stabilization
3. 学会等名 5th Computational Chemistry (CC) Symposium, ICCMSE 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 2. 竹内裕紀, 岡嶋大樹, 糸賀響, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 筋疾患関連タンパク質FHL1における分子動力学シミュレーションと構造安定性の解析
3. 学会等名 日本物理学会2018年秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 4. 竹内裕紀, 岡嶋大樹, 糸賀響, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 筋疾患関連タンパク質FHL1における分子動力学シミュレーションと構造安定性の解析
3. 学会等名 第32回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内裕紀, 岡嶋大樹, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 筋疾患関連タンパク質FHL1のLIM2ドメインにおける分子動力学シミュレーションと構造安定性の解析
3. 学会等名 日本物理学会第74回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeuchi, H., Okajima, H., Yamada, H., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Hayashi, K. Y.
2. 発表標題 Simulation Study for wild-type and C101F mutant of LIM2 domain in FHL1
3. 学会等名 8th International Conference of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹内裕紀, 岡嶋大樹, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 林由起子
2. 発表標題 筋疾患関連タンパク質FHL1のLIM2ドメインを中心とした野生型及び変異型における水溶液中での分子動力学シミュレーション
3. 学会等名 日本物理学会第73回年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高須昌子, 岡嶋大樹, 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 林由起子
2. 発表標題 筋疾患に関連したタンパク質の分子動力学シミュレーションによる研究
3. 学会等名 第6回医薬工3大学包括連携推進シンポジウム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森河 良太  (Morikawa Ryota)  (70266899)	東京薬科大学・生命科学部・准教授   (32659)	
研究分担者	宮川 毅  (Miyakawa Takeshi)  (40287462)	東京薬科大学・生命科学部・助教   (32659)	
研究分担者	野口 瑶  (Noguchi Yoh)  (60848836)	東京薬科大学・生命科学部・助教   (32659)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------