

## ヒトコラーゲンプロリル 4-ヒドロキシラーゼの触媒ドメインの立体構造変化に関する分子動力学的研究

(兵庫医大医) ○福島 和明・江寄 啓祥

Molecular Dynamics Study on Conformational Change of Human Collagen Prolyl 4-Hydroxylase. (*Faculty of Medicine, Hyogo Medical University*) ○Kazuaki Fukushima, Hiroyoshi Esaki

Collagen is one of the major proteins in the human body and is a chain protein with a repeating structure containing glycine and proline. In collagen, proline residues are hydroxylated to form a stable triple helical structure. Human collagen prolyl 4-hydroxylase (C-P4H) is an enzyme that catalyzes hydroxylation of proline residues in collagen synthesis in the human body. The catalytic domain of human C-P4H is difficult to adopt a constant conformation due to the large proportion of flexible loops. Therefore, X-ray analysis of the catalytic domain of C-P4H has only been reported for a low-activity isoform II.

In this study, we investigated the structural differences in the catalytic domain of the highly active isoform I of human C-P4H with and without collagen peptide substrate by molecular dynamics calculations. The input structure used in the calculations was generated based on the X-ray structure of algal C-P4H, which has a high sequence similarity, and three 500-ns simulations were performed using Gromacs. The calculation results show that in the presence of substrate, the hairpin loop and  $\beta$ II- $\beta$ III loop encapsulate the substrate and anchor it near the catalytic center, whereas in the absence of substrate, the hairpin loop fluctuates significantly, and adopts different conformations. We also report the results compared to simulations based on the structure of human C-P4H predicted by AlphaFold2.

**Keywords :** *Prolyl 4-Hydroxylase; Collagen Synthesis; Molecular Dynamics; Catalytic Domain; Conformational Change*

コラーゲンは人体を構成する主要なタンパク質の一つであり、グリシンとプロリンを含む繰り返し構造をもつ鎖状タンパク質である。コラーゲンではプロリン残基が水酸化されて安定な三重らせん構造を形成している。ヒトコラーゲンプロリル 4-ヒドロキシラーゼ (C-P4H) は、人体におけるコラーゲン合成でプロリン残基の水酸化を触媒する酵素である。ヒト C-P4H の触媒ドメインは、柔軟性の高いループが大きな割合を占めるために一定の立体構造をとりにくい。そのため C-P4H 触媒ドメインの立体構造については、低活性なアイソフォーム II の X 線解析が 1 件報告されているのみである。

本研究では、コラーゲンペプチド基質の有無によるヒト C-P4H の高活性なアイソフォーム I の触媒ドメインの立体構造の違いを分子動力学計算により調べた。計算に用いた入力構造は、配列の類似性が高い藻類 C-P4H の X 線構造を元に作成し、Gromacs を用いて 500 ns のシミュレーションを 3 回行った。計算結果から、基質が存在する場合にはヘアピンループと  $\beta$ II- $\beta$ III ループが基質を包み込み触媒中心付近に固定するが、基質が存在しない場合にはヘアピンループは大きく揺らぎ、多様なコンフォメーションをとることが分かった。AlphaFold2 で予測されたヒト C-P4H の構造をもとにしたシミュレーションと比較した結果も併せて報告する。