

粗視化したシミュレーションによる アクチン重合過程と多量体の相図 (名古屋大学工学研究科) ○山田達矢、美宅成樹

1. 背景と目的

アクチンフィラメントは、物質の輸送路や、骨格筋の一部を形作るタンパク質であり、単量体のアクチンが規則正しく螺旋状の二本鎖に重合して形成される。この重合過程について塩濃度、温度依存性等が既に詳しく実験されており[1,2]、アクチン間の結合エネルギーなどが統計熱力学的に説明されている[4]。更なるメカニズムの解明のためには、計算機によるシミュレーションが重要であるが、分子動力学法では、複数のタンパク質が数 ms～数 s をかけて反応する様子を扱うのは難しく、新しいアプローチを考えなければならない。

そこで我々は、アクチンの構造を剛体球とし、アクチン間の相互作用を剛体球状に配置した結合表面間の引力、斥力とする事で粗視化し(Fig.1)、水中を熱運動するコロイド粒子のように扱うシミュレーション法を考案した。

この手法を使って、アクチンの重合のシミュレーションを行ったところ、高塩濃度でアクチンが重合を起こすという実験結果が再現された。さらに、このシミュレーションにおいて、結合面の結合エネルギー及び力の働く距離が、二本鎖の形成に大きな影響を及ぼす事に気づいた。むしろ、規則正しい二本鎖に重合する事と細胞内でのアクチン濃度でフィラメントが形成されるという事から、実際のアクチンの結合エネルギーが決まっているように思われた。つまり、アクチンの重合過程において、アクチンの原子的な相互作用というより、結合エネルギーや結合面の引き合う距離等が、規則正しいフィラメント形成の要因ではないだろうか。

そこで本研究では、粗視化したシミュレーションによりアクチンフィラメントの形成過程の塩濃度依存性を再現する事にした。さらに、シミュレーション上で疎水性面の大きさや局所的な電荷の大きさ、力の働く距離、温度を変化させ、二本鎖が形成されるか、またはどのような多量体が形成されるか、その相図を描いて考察を行う。

2. 実験方法、結果と考察

粗視化シミュレーションプログラムでは、表面間力として疎水性相互作用、静電気力、ファンデアワールス力を考慮し、塩のイオンによる静電遮蔽効果をデバイ長さとして取り入れた。既に、Holmes らによって[3]、アクチンフィラメントの構造は調べられている(Fig1.c)。また、アミノ酸の配列から、G-アクチン全体の電荷は約 $-4e$ である事もわかっている。以上

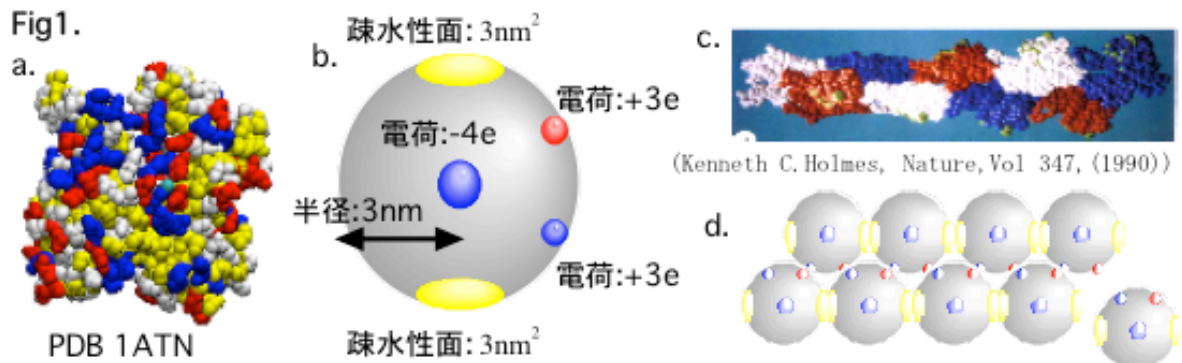
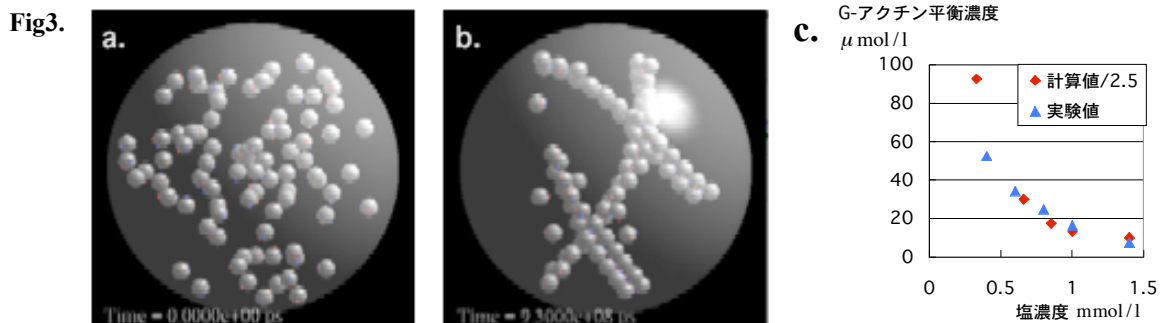


Fig1. a. 実際のアクチンの原子モデル荷電残基は赤、青で、疎水性残基は黄色で示してある。 b. 粗視化したアクチンのモデル。アクチンは全体的に負に帯電しているのだが、それを中心に $-4e$ の電荷を置く事で表した。 c. アクチンフィラメントのモデル。 d. 粗視化したモデルによるアクチンフィラメント。

をふまえ、G-アクチン(Fig1.a)は Fig2.b のように粗視化した。

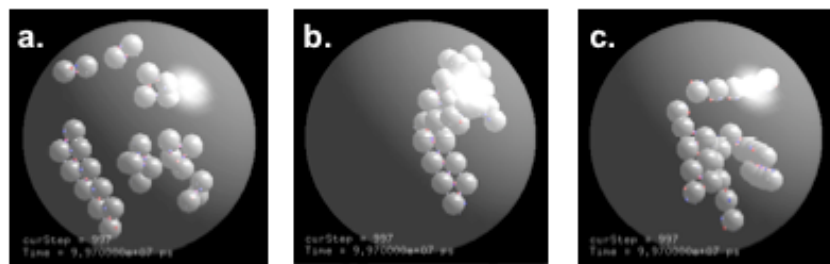
シミュレーションの初期設定として、G-アクチンを、容器となる球殻内に無造作に配置し(Fig2.a)、温度 300K、水中、塩濃度[MgCl₂]=1.0mM かつ二本鎖が形成されるアクチンのパラメータで計算を行った。すると、G-アクチン5個程度から成るフィラメントの断片がいくつか形成され、そのフィラメントは時間が経つにつれ成長していった。1ms 程度の時間で、長いアクチンフィラメントが形成された(Fig2.b)。

この過程については、塩濃度が上がると静電遮蔽の効果が強まり、互いに負電荷を持つ G-アクチン間の反発力が弱まって接近しやすくなり、フィラメント形成が促進されるのだと考えられている[2]。そこで、塩濃度のパラメータを変えてシミュレーションを行い、フィラメントが形成され、系が平衡状態に達したときの G-アクチンの濃度を求め、文献値[2]と比較した。すると、G-アクチン平衡濃度の塩濃度依存性が、ほぼ一致した(Fig2.c)。よって、高塩濃度でフィラメント形成が促進される理由は、G-アクチン間の静電反発力の減少だという事が確かめられた。



次に、パラメータを変化させたシミュレーションを行った。まず、局所的な電荷の結合力だけを、上記のシミュレーションと比べて2倍以上に大きくすると、不規則な数個の固まりとなり、フィラメントが形成されなかった(Fig3.a)。また、ファンデルワールス力だけを4倍以上強くすると、全体が一つの固まりになるように凝集を起こした(Fig3.b)。また、疎水性結合のエネルギーだけを2倍程度に強めると、一本鎖のフィラメントが形成された(Fig3.c)。逆に結合力を弱めた場合は、いつまでもフィラメントが形成される事はなかった。口頭発表ではこれらの結果を相図にまとめ議論する予定である。

Fig3. a.局所的な電荷が大きいとき。 b.ファンデルワールス力が大きいとき。 c.疎水性相互作用が大きいとき。



本研究の結果から、アクチンの結合の仕方や、濃度、力の働く範囲によって、実際のアクチンの結合エネルギーについては結合面の大きさや電荷の大きさが決まっている、という見方が出来る。これは、タンパク質の多量体形成において、原子レベルの見方とともに、粗視化した見方も有効であるという事を示している。

参考文献

- [1] 今堀和友 大沢文夫, 「生体高分子」, 昭和40年 朝倉書店
- [2] FUMIO OOSAWA et al, Journal of polymer science vol.XXXVII, p323-336 (1959)
- [3] Kenneth C.Holmes et al, Nature vol 347,6 september,1990.
- [4] Harold P. Erickson, J. Mol. biol.(1989),206,465-474