

エクトイン水溶液中のタンパク質および小ペプチド表面における選択的水和

(名大院情報科学)○優 乙石, 長岡 正隆

【背景と目的】 近年、生体の細胞内に存在する、補償溶質と呼ばれる低分子が生体高分子のダイナミクスや機能に与える影響が、注目されている。その中でも、耐塩性細菌が細胞内に蓄積する補償溶質「エクトイン」(図1) [1]は、水分子と強く相互作用し、その水溶液は、熱や塩から蛋白質の立体構造を保護する事が知られている。エクトイン水溶液中のタンパク質表面においては、エクトイン分子が排除される一方で、水分子が選択的に水和していると考えられている。我々は、選択的水和発現の微視的要因を調査するために、小ペプチド：メチオニンエンケファリン(M-Enk) (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met) と、タンパク質：キモトリプシンインヒビター2(CI2)をモデル溶質として、分子動力学(MD)法を用いた解析を行った[2,3]。両溶質周囲の溶媒和構造を、カークウッド-バフ(KB)理論[4]を用いて定量的に比較する事で、タンパク質表面上における選択的水和の発現量と発現機構を分子レベルで調査した。

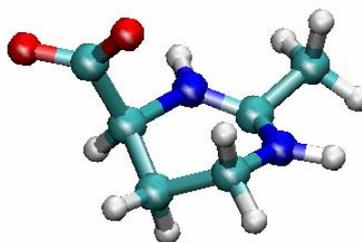


図1.エクトインの分子構造 (赤：酸素、青：窒素、水色：炭素、白：水素)

【方法】 全ての分子力学(MM)、MD計算にはAMBER7プログラムを用いた。系内のMM力場関数はAMBER Parm99を使用した。CI2およびM-Enkは、X線結晶回折より得られた構造にエネルギー最小化を施したものを初期構造として使用し、水分子はTIP3Pモデルを用いた。濃度1.5Mエクトイン水溶液中にCI2とM-Enkとをそれぞれ浸した二つの水溶液モデルを構築し、各々について平衡化した後、時間刻み幅2fsのMDシミュレーションを、CI2系については2ns、M-Enk系については50nsに亘って実行した。系の温度は300Kに設定した。これらとは別に、両溶質を、温度300Kの純水中に浸した系についても、同様のMDシミュレーションを実行した。

【解析方法】 KBパラメータ[4]を用い、水分子の選択的水和の定量的な評価を行なった。溶質 α 周囲の溶媒成分 s のKBパラメータ $G_{\alpha s}$ は、溶質の任意のサイト k と溶媒成分 s との相関関数 $c_{ks}(\mathbf{r})$ を用いて、

$$G_{\alpha s} = \rho_s(\infty) \int [c_{ks}(\mathbf{r}) - 1] d\mathbf{r} \quad (1)$$

で定義される。ただし、 $\rho_s(\infty)$ は、 s のバルク数密度である。また積分は無限遠(バルク相)までの全空間で行なう。タンパク質周囲の選択的水和が生じている領域では、換言すれば、エクトインの選択的排除が発現している。上述のKBパラメータを用いると、溶質 α 周囲のエクトインの選択的排除パラメータ $v_{\alpha e}(R)$ [4]は、

$$v_{\alpha e}(R) = \rho_e(\infty) \{G_{\alpha e}^S(R) - G_{\alpha w}^S(R)\} \quad (2)$$

で定義される[3]。ここで、 $\rho_e(\infty)$ は、バルク相中のエクトイン原子の数密度である。また、表面KBパラメータ $G_{\alpha e}^S(R)$ と $G_{\alpha w}^S(R)$ は、溶質 α 周囲の溶媒(e : エクトイン分子、

w: 水分子) に対して、溶質表面からの距離 R の関数として定義したKBパラメータであり、これを用いることで、大きさや形状の異なる溶質周囲の溶媒分布状態を系統的に比較することが可能となる[3]。 $v_{ae}(R)$ は、正の値を持つ場合、溶質表面から距離 R までは、エクトインが（水分子と比較して）選択的に溶質に結合し、負の値を持つ場合は、逆に、エクトインが選択的に排除されている事を示す。本研究では、MDシミュレーションによって得た、各瞬間における原子配置から、(2)式の $v_{ae}(R)$ を算出し、その差分

$$\delta v_{ae}(r) = v_{ae}(r + \Delta r/2) - v_{ae}(r - \Delta r/2) \quad (3)$$

を時間平均する事で、 $\delta v_{ae}(r)$ のプロファイル、すなわちエクトインの選択的排除パラメータの空間分布を得た。

【結果と考察】 図2(a)と(b)に、それぞれ M-Enk と CI2 の周囲の、 $\delta v_{ae}(r)$ のプロファイルを示した。図中の黒色部分は、エクトインが選択的に排除されており、その領域において水分子の選択的水和が発現している事を示している。

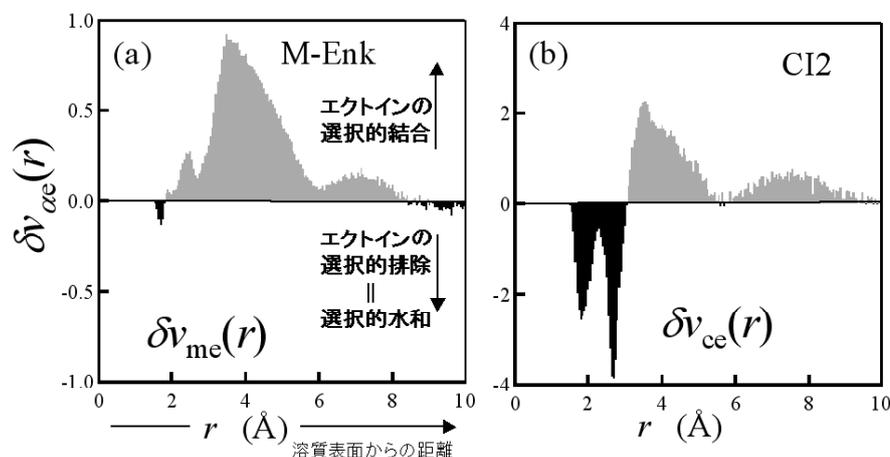


図2. $\delta v_{ae}(r)$ のプロファイル (m, c はそれぞれ M-Enk, CI2 を示している)

解析の結果、CI2 表面近傍では、エクトイン分子が排除され、選択的水和が明確に発現している一方で、M-Enk 表面近傍では、エクトインと溶質が強く相互作用しており、選択的水和がほとんど発現していないことが分かった。このような選択的水和発現量の差異を生む原因を理解するために、純水中、およびエクトイン水溶液中における、溶質表面近傍の水和層の性質を比較した。その結果、CI2 の第一水和層水分子は、M-Enk のそれに比べて、より高密度で構造化した水和層を形成している事が明らかになった[3]。これは、エクトイン水溶液中におけるタンパク質表面が、エクトイン分子を排除し、選択的水和を発現する分子レベルでの要因の一つと考えられる。

【文献】

- [1] E. A. Galinski, *Experientia* **49** 487-4961(993).
- [2] I. Yu, M. Nagaoka, *Chemical Physics Letters* **388** 316-321 (2004).
- [3] I. Yu, Y. Jindo, M. Nagaoka, *Journal of Physical Chemistry B* (in press).
- [4] A. Ben-Naim, *Statistical Thermodynamics for Chemist and Biochemist.*; Plenum Press: New York, 1992.