

インスリン 2 量体間の平均力ポテンシャル

(東大生研¹, 東大院工²)

○恒川直樹¹, 伊藤宏比古^{2*}, 湯川英宜², 平野敏行¹, 佐藤文俊¹

ヒトインスリンの単量体は21残基のA鎖と30残基のB鎖で構成され、この2つの鎖はジスルフィド結合で結ばれている。生体内の環境により、6量体や2量体に会合した状態や単量体に解離した状態に変化することが知られている。また、多くのアナログが開発されており、それらの単量体への解離速度はそれぞれ異なると考えられている。

単量体同士はそれぞれのB鎖の24番目~26番目が逆平行に並んだ β シートを形成して、図1に示すような2量体となる。その安定性は β シートの水素結合だけではなく、解離基間の塩橋や周りの水にも影響を受けていると考えられる。また、B鎖のC末端部位のアミノ酸残基を僅かに変えたアナログでは、 β シートの水素結合の安定性や、各塩橋の形成、および周辺の水分子の構造が変わることが分子動力学法シミュレーション(MD)により確認されている^{1,2)}。しかしながら、そのメカニズムが解明されたわけではない。

2量体の安定性やその会合や解離のメカニズムを知る上で、平均力ポテンシャルを

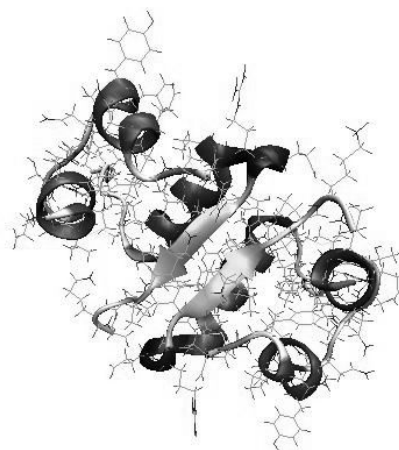


図1 ヒトインスリン2量体の立体構造
カートゥーン表示とライン表示を併せて示す。2量体の安定性は β シートの部分や解離基間の相互作用に依存している。

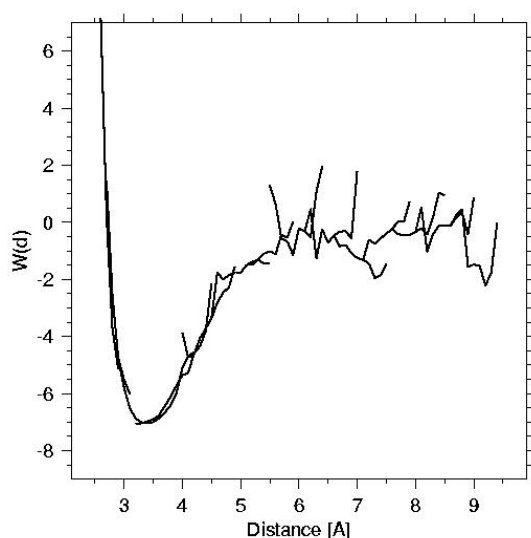


図2 単量体間距離に対する平均力ポテンシャル
2量体を様々な距離に解離させたMDからの各平均力ポテンシャルを重ねて表示している。

初めとした自由エネルギー解析は重要である。図2に β シートを構成している2つのB鎖の距離(B25:C_α間距離)に対する平均力ポテンシャルを示す。この結果は、距離が2.0から9.0Åの間になるよう制御ポテンシャルを付加して1.0ns実行した15種のMDから導出したものである³⁾。このプロットから平均力ポテンシャルの大まかな振る舞いは分かるが、誤差も大きいことが分かる。また、制御ポテンシャルのために2つの単量体の構造に歪みが生じて十分に緩和されていないといった懸念が残る。さらなる長時間のシミュレーションが必要と思われる。

2 量体の安定性には塩橋や周りの水の構造が重要な要因であると考えられるが、これらの要因は 2 量体の電荷分布に大きく影響を受けるであろう。特に、1 次構造が僅かに異なるアナログとの違いを分析する場合は、力場の精度が重要となる。*ab initio* MD によるサンプリングは理想的であるが、溶媒中のインスリンのような大きな系では、現在、非現実的である。

目標とするアナログの違いに対しての 2 量体の平均力ポテンシャルの比較には、長時間シミュレーションによる十分なサンプリングと系の様々なコンフィグレーション(構造)に対する第 1 原理的手法から導き出された正確なエネルギーが必要となる。インスリン 2 量体のような大規模系に対してもこの 2 つの問題を克服することが課題となる。

ab initio MD のように正確な力場のシミュレーションによる自由エネルギー解析は現実的ではない。しかし、長距離力を無視したような古典力場でのシミュレーションであれば十分なサンプリングが可能となる。そして、サンプリングされたコンフィグレーションに対する正確なエネルギーを後に計算することで、2 つの課題を解決した大規模系の正確な自由エネルギー計算は可能と考えられる。この手法では、正確なエネルギー計算は各コンフィグレーションに対して独立に実行できるメリットがある。

正確なエネルギーでの物理量の平均値はヒストグラム法⁴⁾のような手法を用いることにより得られる。たとえば、粗悪な力場 H^{coarse} を用いて温度 β^{sim} でシミュレーションを実行したとき、正確な力場 H で得られるはずの分布は、

$$P(\beta, d) = \frac{\sum_i \delta[d(\mathbf{q}_i) - d] \exp\{-\beta H(\mathbf{q}_i) + \beta^{sim} H^{coarse}(\mathbf{q}_i)\}}{\sum_i \delta \exp\{-\beta H(\mathbf{q}_i) + \beta^{sim} H^{coarse}(\mathbf{q}_i)\}}$$

で得られる。ここで d は任意の物理量である。 d が単量体間の距離であるならば、その距離に対する平均力ポテンシャルは、

$$W_\rho(d) = -\beta^{-1} \ln g(\beta, d), \quad g(\beta, d) = \frac{P(\beta, d)}{4\pi d^2 \rho}$$

と見積もることができる。ここで ρ は単量体の数密度である。

現在、インスリン 2 量体の電子状態計算は実行可能な時代であるが⁵⁾、膨大なコンフィグレーションに対して計算するほどには至っていない。しかし、電子状態計算から得られる点電荷を古典力場に反映させることにより、従来の力場よりは正確な自由エネルギー計算が期待できる。

当発表では、先に述べた手法の正当性や実効性について検証し、ヒトインスリンおよびそのアナログに対しての平均力ポテンシャルの見積もりを報告する予定である。

1) 伊藤宏比古、恒川直樹、佐藤文敏、第 1 回分子科学討論会、4P117 (2007)

2) 恒川直樹、伊藤宏比古、佐藤文敏、第 1 回分子科学討論会、2P041 (2007)

3) 恒川直樹、伊藤宏比古、佐藤文敏、日本物理学会 2007 年年次大会、22aRJ-3 (2007)

4) S. Kumar, J.M. Rosenberg, D. Bouzida, R. Swendsen, P.A. Kollman, J. Comput. Chem., **13**, 1011 (1992)

5) T. Inaba, N. Tsunekawa, T. Hirano, T. Yoshihiro, H. Kashiwagi, F. Sato, Chem. Phys. Lett., **434**, 331 (2007)

*現所属: NEC C&C イノベーション研究所