

分子動力学法による球状タンパク質の水和特性評価

(金沢大院・自然¹, 北陸先端大院・マテリアル², 京都大・化研³)○齋藤大明¹, 松本圭介¹, 中村力¹, 水上卓², 松林伸幸³, 西川清¹, 長尾秀実

【序】

生体内におけるタンパク質の生体機能理解にはタンパク質の自由エネルギー変化が最も重要な物理量である。たとえばタンパク質-リガンドの分子会合過程では、分子会合により分子構造や水和構造は大きく変化し、これに伴い溶質の水和エネルギーも大きく変化する[1]。この自由エネルギー変化は複合体形成のための結合エネルギーと等価であり、複合体間の分子親和性や熱的安定性の評価にも有用である。このような結合エネルギーの評価を高精度に行うことができれば、コンピュータによるタンパク質複合体の構造予測にブレークスルーがもたらされると期待される。しかしながら、これら水和自由エネルギーの正確な評価は実験・理論共に困難な現状にある。本研究では5種類の球状タンパク質（BPTI, RNase A, Lysozyme, β -lactoglobulin A, α -chymotrypsinogen）の分子動力学(MD)シミュレーション、及び溶媒和自由エネルギー計算を実行し、各々のタンパク質の溶液中における水和特性を評価する。

【方法】

本研究に用いる5種類のタンパク質は、いずれも実験・理論等に多くの検証がされている代表的な球状タンパク質である（表1）。これらのタンパク質構造を用いて始めに定温・定圧 MD 計算 ($T=300\text{K}$, $P=1\text{atm}$) を実行し、各々のタンパク質の溶媒和された平衡構造を作成する。MD と自由エネルギー計算に用いた分子力場は CHARMM27 を用い、水分子のモデルは TIP3P を用いた。図1に各々のタンパク質の初期構造からの根平均二乗変位(RMSD)の時間推移の様子を示す。いずれのタンパク質も 30ns までに構造が十分に平衡化している様子が示されている。自由エネルギー計算は系が平衡化した 30ns 以降のデータを用いて行った。

タンパク質の水和特性評価には松林等が開発したエネルギー表示法を用いて評価を行う[2-4]。エネルギー表示法は、溶質の溶媒和自由エネルギーを高速に評価する手法であり、タンパク質のような大きな分子への適用も可能な手法として注目を集めている。具体的には溶質が溶媒に水和した系における溶質-溶媒間の相互作用のエネルギー分布関数 $\rho(\epsilon)$ と、溶媒に溶質を挿入した系におけるエネルギー分布関数 $\rho_0(\epsilon)$ の値から、次に示す表式に従って化学ポテンシャル $\Delta\mu$ を評価する、

	PDB ID	残基数	原子数	総電荷量
BPTI	5pti	58	892	+6
RNase A	8rat	124	1864	+4
Lysozyme	1hel	129	1960	+8
β -lactoglobulin A	1bsy	162	2595	-9
α -chymotrypsinogen	2cga	245	3577	+4

表1. タンパク質構造データ

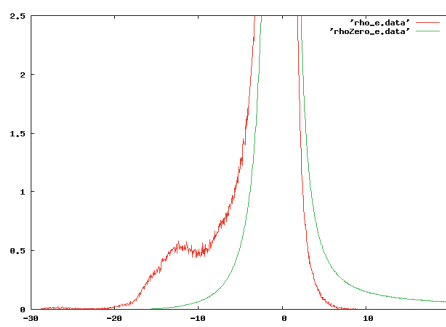
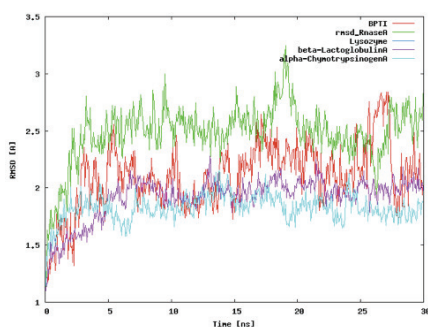


図1. タンパク質の根平均二乗変位推移 図2. BPTI のエネルギー分布関数, $\rho(\epsilon)$:緑線, $\rho_0(\epsilon)$:赤線

$$\Delta\mu = \int d\epsilon \epsilon \rho(\epsilon) - k_B T \int d\epsilon \left[(\rho(\epsilon) - \rho_0(\epsilon)) - \rho(\epsilon) \log \left(\frac{\rho(\epsilon)}{\rho_0(\epsilon)} \right) - \left\{ \alpha(\epsilon) F(\epsilon) + (1 - \alpha(\epsilon)) F_0(\epsilon) \right\} (\rho(\epsilon) - \rho_0(\epsilon)) \right]$$

関数 $F(\epsilon)$, $\alpha(\epsilon)$ や具体的な計算方法については文献を参考にされたい[2-4]。相互作用計算のための実空間のカットオフ長は 12\AA とし、クーロン相互作用にはエwald法を用いた。また、本計算では各タンパク質の溶媒露出面積(SASA)の評価に加え、計算された溶媒和自由エネルギーの内訳として、 $\Delta\mu$ を 20kcal/mol 以内の相互作用領域とそれ以外の排除体積領域に分割して評価した。これによりタンパク質の溶媒の排除体積エネルギーを簡易的に評価した。

【結果と考察】

図2に BPTI のエネルギー分布関数 $\rho(\epsilon)$ と $\rho_0(\epsilon)$ の計算結果を示す。いずれのタンパク質でも、 $\rho(\epsilon)$ のエネルギー分布はおよそ $-30 \sim 20 \text{ kcal/mol}$ に分布する結果が示された。これらの分布関数を用いて前述の5種類のタンパク質の $\Delta\mu$ を計算した結果を表2に示す。このうち、BPTI, RNaseA, Lysozyme, β -lactoglobulin A のなかでは β -lactoglobulin A が最も低い $\Delta\mu$ を示した。球状タンパク質は親水性残基がタンパク質表面の溶媒露出部位に存在している事から、一般的に SASA の増加に従って溶媒和自由エネルギーも増加することが考えられており、本計算結果でも同様の特性が示された。一方、 α -chymotrypsinogen ではさらに大きな SASA を有しているにも関わらず、全体の $\Delta\mu$ は β -lactoglobulin A よりも高い値を示した。これはタンパク質の体積の増加に伴い、溶媒の排除体積エネルギーも大きく増加していることが影響していると考えられる。

	BPTI	RNase A	Lysozyme	β -lactoglobulin A	α -chymotrypsinogen
SASA [\AA^2]	4304.3	7674.6	6852.0	8280.4	11006.3
$\Delta\mu$ (全体) [kcal/mol]	-527.1	-840.0	-564.4	-1398.4	-614.2
$\Delta\mu$ (相互作用領域)	-993.7	-1796.0	-1643.7	-2753.9	-2635.4
$\Delta\mu$ (排除体積領域)	+466.6	+956.0	+1079.3	+1355.5	+2021.14

表2. 各タンパク質の溶媒露出面積, 溶媒和自由エネルギー $\Delta\mu$ [kcal/mol]

【参考文献】

- [1] Massova, I., Kollman, P.A., *J.Am.Chem.Soc.*, **121**, (1999) 8133-8143.
- [2] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **113**, (2000) 6070-6081.
- [3] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **117**, (2002) 3605-3616.
- [4] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **119**, (2003) 9689-9702.