

タンパク質の長時間シミュレーションにおいて 観測された遅い構造緩和

(横浜市大院・生命ナノシステム¹, 理研・次世代計算科学²)

○ 瀧上 壮太郎¹, 成富 佑輔¹, 池口 満徳¹, 木寺 詔紀^{1,2}

【序】タンパク質の分子動力学シミュレーションを行う際、事前に系の平衡化を行うことは必須の過程である。この平衡化は、タンパク質表面と水分子との相互作用を最適化することが第一の目的であるが、それと同時にタンパク質の構造を平衡状態へと緩和させる役割もある。しかし、初期構造として用いられる結晶構造は一般に平衡状態のものと大差なく、実際、平衡化によって立体構造が大きく変化することはほとんどない。ただし、系が平衡状態に達しているかどうかを定量的に判断することは難しく、RMSDの時間発展などをもとに主観的に決定されることが多い。そこで本研究では、リジン／アルギニン／オルニチン結合タンパク質(LAO)を対象として、300 nsの分子動力学シミュレーションを実行し、非線形最小二乗法によるフィッティングを用いて平衡化が十分に達成されたかどうかの定量的な判定を試みた。

【分子動力学シミュレーション】基質が結合していない LAO の結晶構造(PDB ID: 2LAO, 図1)を初期構造として、水を陽に含んだ全原子分子動力学シミュレーションを行った。系の総原子数は約 8 万である。シミュレーションの実行には Ikeguchi により開発された高精度・高効率な分子動力学シミュレーションソフトウェア MARBLE を使用し、力場は CHARMM22/CMAP を用いた。系に周期境界条件を課し、静電相互作用の計算には Particle Mesh Ewald (PME) 法を用いた。作成した初期構造をエネルギー最小化し、等温等圧(NPT)アンサンブルを用いた平衡化を行った後、ミクロカノニカル(NVE)アンサンブルで本計算を 300 ns 行った。すべての計算において時間刻みは 2 fs とした。

【平衡化達成の定量的判定】得られた 300 ns のシミュレーション結果について、結晶構造との RMSD の時間発展を図2に示す。この図より、LAO の構造が結晶構造から有意に変化したことがわか

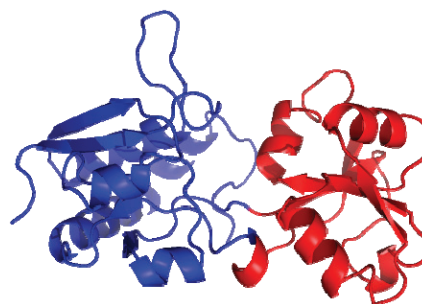


図1: リジン／アルギニン／オルニチン結合タンパク質の立体構造。2つのドメイン(青, 赤)から成る。

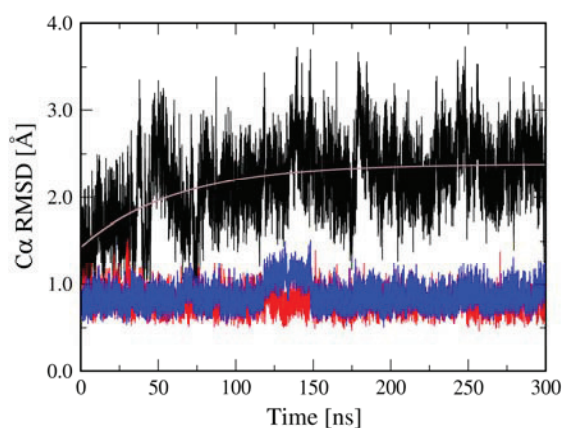


図2: 結晶構造との RMSD の時間発展。全体: 黒, フィッティングカーブ: 茶, 各ドメイン: 青, 赤。

る。一方、LAO の2つのドメインの RMSD は十分に小さく留まっており、ドメインの構造は安定であることがわかる。つまり、全体を用いた RMSD の時間発展に見られる構造緩和はドメイン運動に依ると考えられる。非線形最小二乗法によるフィッティングを用いて、その緩和時間を見積もったところ、61 ns と非常に遅いものであった。一方、100~200 ns および 200~300ns の部分を用いて同様な解析を行ったところ、いずれにおいても有意な構造緩和は検出されず、RMSD が一定値の周りに揺らいでいると判定された。これより、100 ns 以内に LAO は平衡状態に到達したと考えられる。

【平衡状態への緩和】300 ns のシミュレーションのうち最後の 100 ns を平衡状態と見なし平衡構造を求めた。得られた平衡構造を結晶構造と比較すると、図3に示したように、平衡状態への緩和過程においてドメインのねじれ運動が生じたことがわかる。平衡構造との RMSD の時間発展について緩和時間を求めたところ、前より2倍以上も遅い 138 ns であった。この違いは、LAO の大きな揺らぎの挙動が、データによって異なることに起因すると考えられる。いずれにしても、50 ns 程度の時間スケールの遅い緩和が起きたことは間違いない。ただし、ドメインのねじれ運動が遅い緩和として実現されたかどうかは別途確認する必要がある。

そこで、平衡状態 100 ns のトラジェクトリを用いて、主成分分析を行った。LAO の平衡揺らぎは第1~3の主成分(PC1, PC2, PC3)で近似でき、緩和過程で見られたドメインのねじれ運動は PC3 に対応していた。トラジェクトリを PC1~3 に射影し、緩和時間を見積もったところ、それぞれ 58 ns, 1.7 ns, 28 ns であった(図4)。ドメインのヒンジ運動に対応する PC1 から遅い緩和時間が得られたが、緩和による変化が小さいことから有意な緩和ではないと考えられる。一方、PC3 は多少緩和時間が短いものの有意な緩和を示しており、構造緩和の主要原因がドメインのねじれ運動であることが確認できる。

平衡状態への緩和が観察されたことは、LAO の結晶構造が溶液中では不安定であり、平衡構造と異なることを意味する。しかし、その真偽は実験によって確認する必要がある。

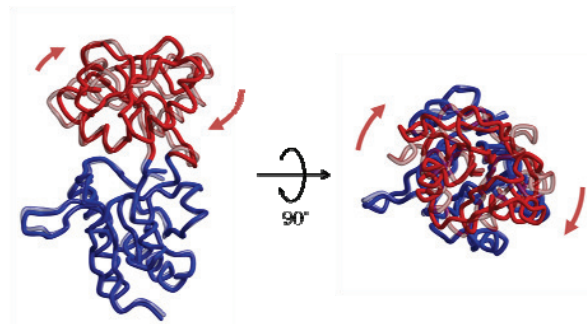


図3: LAO の結晶構造(透明)と平衡化で得られた平衡構造(不透明)の比較。2つの構造を青色で示したドメインで重ね合わせた。矢印の向きにねじれ運動が生じた。

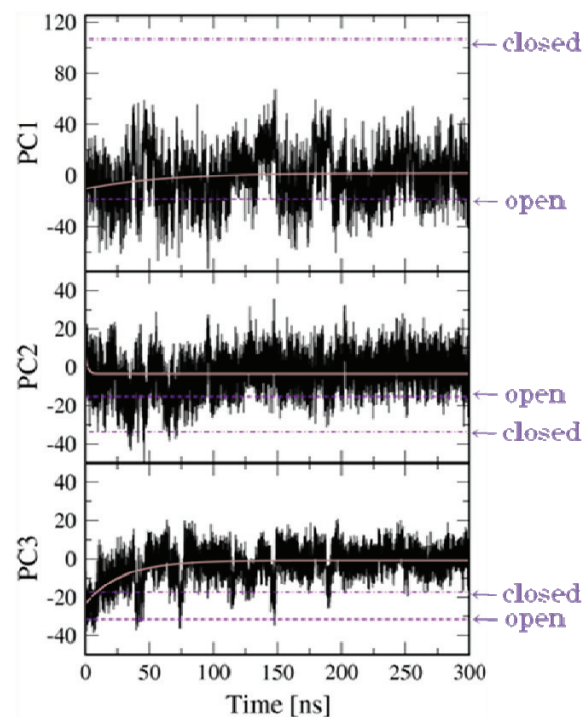


図4: 主成分 PC1, PC2, PC3 へ射影したトラジェクトリ。茶線はフィッティングカーブ。open は基質なしのオープン構造を、closed は基質ありのクローズ構造を示している。