

2P087

Photoactive Yellow Protein の溶媒和自由エネルギー計算

○水上 卓¹、齋藤 大明²、長尾 秀実^{1,2}
(北陸先端大院・マテリアル¹、金沢大院・自然²)

【序】

PYP(photoactive yellow protein)は *Ectothiorhodospirahalophila* のもつ残基数 125 の球状タンパクで、青色感受性の光走性をつかさどる。発色団パラ-クマル酸の *trans-cis* 光異性化をトリガーとして蛋白質が構造変化し、複数の中間体を生成することにより機能発現する。PYP の中心モチーフは PAS ドメインと呼ばれ、ファミリーが全ての界に広く分布することから、生命の情報伝達機構において重要な位置を占めると考えられる。この機能発現に向けた構造変化のメカニズムを解明することは、生物学的にも大きなテーマのひとつである。

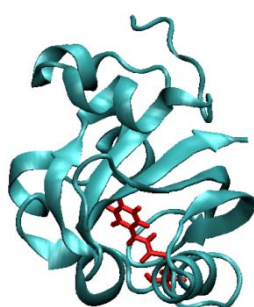


図 2. PYP モデル

化学反応において、その方向を決定づけるのは、自由エネルギーである。特に近年、タンパク質の構造変化や反応における溶媒効果の寄与の重要性が指摘されてきた。我々は、タンパク質の反応過程における溶媒和の影響をみつめることを目的に、エネルギー表示法[1-3]による溶媒和自由エネルギー計算を行ってきた。今回、PYP にその方法を適用し、溶媒和自由エネルギーの計算を行った。

【方法】

初期構造は PDBID:2PYP を用いた。分子動力学シミュレーションに用いた力場は

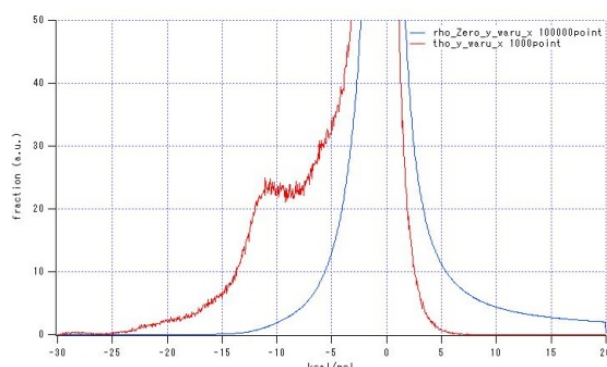


図 2. PYP のエネルギー分布 $\rho(\epsilon)$; 赤線、 $\rho_0(\epsilon)$; 青線

Amber03、および発色団である *p*-クマル酸周辺の電荷分布を Gaussian03 による量子力学計算(B3LYP/6-31+G(d,p))によって決定し、それから見積もった力場を採用した。TIP3P 剛体水分子を蛋白質周辺に約 2×10^4 個配置し、周期境界条件にて 300K にて NVT アンサンブル

で分子動力学シミュレーションを行った。トータルのランタイムは現在 13 ns である。

エネルギー表示法による自由エネルギー計算は文献[1-3]に従った。

【結果と考察】

得られたトラジェクトリデータから予備実験として、時刻 500ps の立体構造を選び、この構造を元にして自由エネルギー計算を行った。まず、蛋白質構造をロックしかつ周辺の TIP3P 溶媒分子を自由に動ける条件下において MD を行い、50 ps のトラジェクトリから 1000 点のスナップショットのサンプリングを行った。それぞれのスナップショットにおいて溶媒-溶質間の相互作用エネルギーを Amber03 力場によって見積もり、エネルギーの分布 $\rho(\epsilon)$ を算出した。

次に、同数の溶媒分子のみを含む系で同様の MD を行い、1000 点のスナップショットを得、それぞれのスナップショットに乱数を用いて任意のポジションに蛋白質のインサーションを行った。このときに計算した相互作用のエネルギー分布を $\rho_0(\epsilon)$ と呼ぶ。

エネルギー分布 $\rho(\epsilon)$, $\rho_0(\epsilon)$ を図 2 に示す。 $\rho(\epsilon)$ [赤]は 0kcal/mol 付近に強いピークと -10kcal/mol 付近にサテライトピークをもつ。0kcal/mol の分布はタンパクと相互作用していない溶媒の寄与であるが、-10kcal/mol 付近の分布はタンパク質表面と水素結合をしている溶

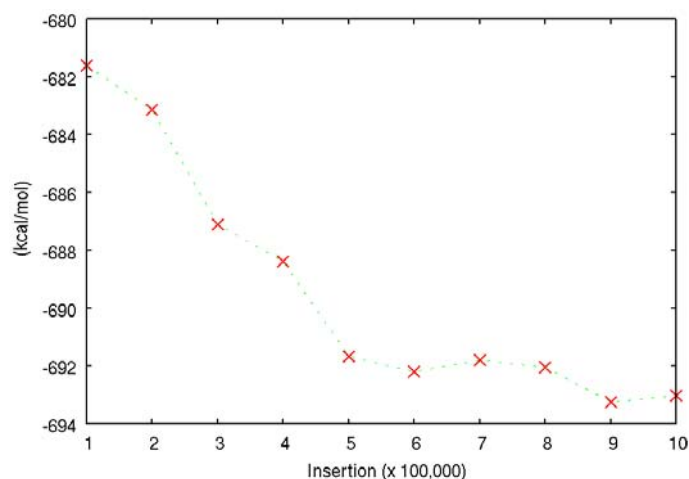


図 3. $\rho_0(\epsilon)$ のインサーション回数による算出 $\Delta\mu$ の収束

媒の寄与であると考えられる。一方 $\rho_0(\epsilon)$ は >10kcal/mol のエネルギー領域に長く伸びた分布を示すが、これはタンパク表面近傍にて近距離に分布しタンパク質と強い相互作用を行う溶媒の寄与である。次にこれらの分布関数を用いてタンパクの溶媒和自由エネルギー $\Delta\mu$ を計算した。インサーションの回数と算出された $\Delta\mu$ を図3に示す。約 5×10^4 回付近のインサーションで収束をはじめ、最終的に -693kcal/mol を算出した。

同様の計算をトラジェクトリの他の時刻に対して行い、タンパク質の構造変化と溶媒和自由エネルギーが関連していることが示された。詳細については当日報告する。

[参考文献]

- [1] N. Matsubayashi, and M. Nakahara, J. Chem. physics, 113, (2000) 6070-6081.
- [2] N. Matsubayashi, and M. Nakahara, J. Chem. physics, 117, (2002) 3605-3616.
- [3] N. Matsubayashi, and M. Nakahara, J. Chem. physics, 119, (2003) 9689-9702.