

蛋白質移相自由エネルギーの空間分布に与える溶質表面特性の影響：  
オスモライトによる分子クラウディング環境下の場合

(青山学院化学・生命<sup>1</sup>, 名大院情報科学<sup>2</sup>, JST-CREST<sup>3</sup>)

優 乙石<sup>1,3</sup>, 中田 恭子<sup>1</sup>, 長岡 正隆<sup>2,3</sup>

Influence of Solute Surface Property on the Spatial Distribution of Protein Transfer  
Free Energy: A Case of the Molecular Crowding Condition with Osmolyte

(Aoyama Gakuin University<sup>1</sup>, Nagoya University<sup>2</sup>, JST-CREST<sup>3</sup>)

Isseki Yu<sup>1,3</sup>, Kyoko Nakada<sup>1</sup>, and Masataka Nagaoka<sup>2,3</sup>

**【概要】** 細胞内は水以外の分子が体積の 3 割ほどを占める分子クラウディング環境である。特に極限環境生物は、オスモライトと呼ばれる有機低分子を高濃度蓄積している。アポミオグロビンの純水からオスモライト水溶液への移相自由エネルギー (Transfer Free Energy TFE : 溶質をある溶媒から別の溶媒に移相した時に変化する溶質の自由エネルギー) を、分子動力学法とカークウッド-バフ積分法によって調査した。オスモライトは深海魚細胞中に高濃度で存在する TMAO (トリメチルアミン *N*-オキシド) を用いた。TFE の理論値とその空間分布を明らかにするとともに、溶質の表面特性 (疎水性や幾何学的形状など) が TFE 発現量に与える影響を解析した。

**【方法】** カークウッド-バフ (KB) 積分  $G_{\alpha s}$  は、溶質  $\alpha$  周囲における溶媒原子  $s$  の (1 に規格化された) 数密度  $g_{\alpha s}(\mathbf{r})$  の揺らぎ ( $g_{\alpha s}(\mathbf{r})-1$ ) を、全空間で積分したものである (式 1)。

$$G_{\alpha s} = \int [g_{\alpha s}(\mathbf{r}) - 1] d\mathbf{r}. \quad (1)$$

TFE ( $\Delta \mathcal{F}_a^{\text{tr}}$ ) は各成分の数密度  $\rho$ 、および MD 法で得られた上記  $G_{\alpha s}$  を用いて式 2 で計算できる [1]。(添え字 a、t、w はそれぞれ蛋白質 (アポミオグロビン)、TMAO、水を表している。 $k$  はボルツマン定数、 $T$  は温度である。)

$$\Delta \mathcal{F}_a^{\text{tr}} = kT \frac{2V_w(\rho_t + \rho_w) - 1}{\rho_t(G_{tw} - G_{tt}) - 1} \rho_t (G_{at} - G_{aw}) \quad (2)$$

ここで、 $V_w$  は水分子一個の部分モル体積であり、次の式 3 から得られる。

$$V_w = \frac{1 + \rho_t (G_{tt} - G_{tw})}{\rho_w + \rho_t + \rho_w (G_{tw} - G_{tt})} \quad (3)$$

本研究では  $G_{at}$ 、 $G_{aw}$  を空間分解することで、TFE の三次元分布  $\Delta \mathcal{F}_a^{\text{tr}}(\mathbf{r})$  を得た (式 4)。

$$\Delta \mathcal{F}_a^{\text{tr}}(\mathbf{r}) = \langle \Delta \mathcal{F}_a^{\text{tr}}(\mathbf{r}, t) \rangle_T = kT \xi \rho_t \langle G_{at}(\mathbf{r}, t) - G_{aw}(\mathbf{r}, t) \rangle_T. \quad (4)$$

ここで  $\xi$  は式 2 中の、 $\{2V_w(\rho_t + \rho_w) - 1\} / \{\rho_t(G_{tw} - G_{tt}) - 1\}$  をまとめたものである。

$G_{at}(\mathbf{r}, t)$  および  $G_{aw}(\mathbf{r}, t)$  は MD シミュレーションから得られた、溶媒成分の微小領域における瞬間的な KB 積分である (式 5)。

$$G_{\alpha s}(\mathbf{r}, t) = \int_x^{x+\Delta x} \int_y^{y+\Delta y} \int_z^{z+\Delta z} \left\{ \frac{\rho_s(x, y, z, t)}{\rho_s} - 1 \right\} dx dy dz, \quad (5)$$

**【結果 1: TFE の三次元分布】** TFE の理論値は+10.1 (kcal/mol)を示し、対応する実験値を定量的に再現した[1]。さらに、式 4, 5 に基づき TFE を 1.0 ( $\text{\AA}^3$ )の解像度で計算し、その3次元的な分布を映像化した(図 1)。その結果、TFE は蛋白質周囲で均一に発生するのではなく、蛋白質表面を塗りつぶすように発生する正の TFE 領域(a)と、球状に点在する負の TFE 領域(b)が混在している様子が明らかになった[1]。

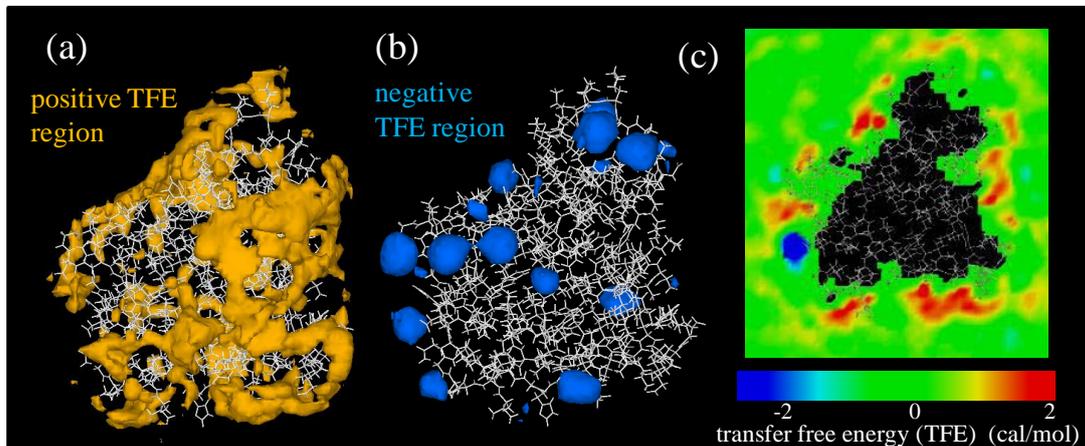


図 1. アポミオグロビンの(純水から TMAO 水溶液中(濃度 2.2 M)への) TFE 三次元分布。(a) 正の TFE 領域 (TFE が 1.2 cal/mol 以上)。(b) 負の TFE 領域 (TFE が -2.0 cal/mol 以下)。(c) TFE の断面図。MD 計算から得られた 3000 個のスナップショットを用いて可視化した。

**【結果 2: TFE の残基依存性】** 式 4 で得られた TFE の空間分布のうち、溶質表面から 8.0  $\text{\AA}$  以内のものを、最近接溶質原子にマッピングした後にアミノ酸毎に集計し、どのようなアミノ酸周囲で TFE が発現しているかを解析した。一例として、アミノ酸の疎水性指標 (hydropathy index) のプロファイルと重ね合わせた結果を図 2 に示した。正の TFE が強く発現する領域は、hydropathy index の低い、すなわち極性の高いアミノ酸が形成する蛋白質表面であることが示唆された。TFE 発現量と、その他の蛋白質表面特性(幾何学的特性や表面電荷など)との相関は当日発表する。

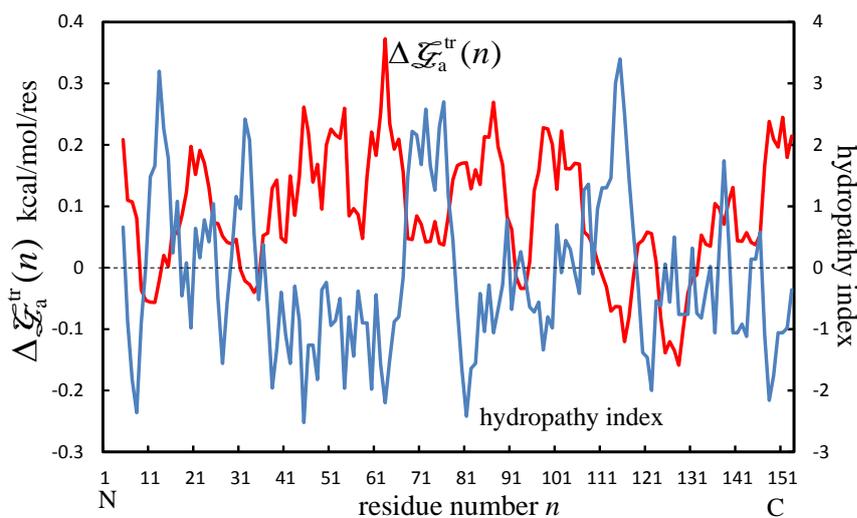


図 2. TFE 発現量のアミノ酸残基依存性  $\Delta \mathcal{G}_a^{\text{tr}}(n)$  (赤) と疎水性指標 (hydropathy index) (青)。各プロファイルは連続する 5 残基ごとの移動平均値によってスムージングした。MD シミュレーションによって得られた 3ns トラジェクトリから 300 個のスナップショットを 10 ピコ秒ごとに抽出し時間平均量の算出に用いた。

**【参考文献】**

[1] Yu, I; Nakada, K.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 4080-4088.