

2P087

蛋白質の二次構造に関する相互作用の理論解析  
(大阪大学蛋白質研究所) ○鷹野優、草鹿あゆみ、中村春木

Theoretical Analysis of Molecular Interactions of  
Secondary Structures in Proteins

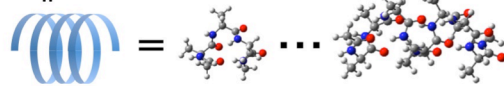
(Institute for Protein Research) ○Yu Takano, Ayumi Kusaka, Haruki Nakamura

**【序】** 蛋白質は、それぞれの特異な機能に適した三次元構造を形成している。 $\alpha$ ヘリックスや $\beta$ シートなどの二次構造はそのような三次元構造を構成する重要な基本ブロックであり、その形成には水素結合などの相互作用が強く関わっている。このような相互作用を定量的に見積もることは蛋白質の三次元構造形成原理の理解を深めるのに加えて、蛋白質のふるまいを正確に記述する分子力場の開発にも役立つ。そこで、代表的な二次構造である $\alpha$ ヘリックスと平行 $\beta$ シート、反平行 $\beta$ シートの形成に関わる相互作用を密度汎関数法、分子力学法により調べた。

**【計算方法】** 二次構造のモデルとしては、ポリアラニンの N 末端をアセチル基で、C 末端を N-メチル基でキャップしたモデルペプチド(ACE-Ala<sub>n</sub>-NME)を用いた。 $\alpha$ ヘリックスとしてはアラニン 3 量体~8 量体を、平行、反平行 $\beta$ シートに関してはアラニン 1 量体~5 量体のダイマーを用いた (図 1)。これらはそれぞれ二次構造形成に重要である水素結合を、 $\alpha$ ヘリックス型モデルペプチドでは 1 個から 6 個、 $\beta$ シート型モデルペプチドでは 2 個から 6 個形成する。これらのモデルに対して、まず密度汎関数法である B97D/6-31+G(d)法を用いて、 $\alpha$ ヘリックスと平行 $\beta$ シート、反平行 $\beta$ シート構造を保つように二面角を固定して構造最適化を行った ( $\alpha$ ヘリックス： $\psi = -47^\circ, \phi = -57^\circ$ 、平行 $\beta$ シート： $\psi = 113^\circ, \phi = -119^\circ$ 、反平行 $\beta$ シート： $\psi = 135^\circ, \phi = -139^\circ$ )。得られた最適化構造に対して、MP2 法、密度汎関数法 (B97D、BLYP、B3LYP、CAM-B3LYP、B98、PBE0、M06、M06-2X、LC- $\omega$ PBE)、分子力学法 (AMBERff99SB、AMBERff96、FUJI force-field) により相互作用を計算した。基底関数には 6-31+G(d)を用いた。より精度の高い 6-31++G(d,p)を用いたテスト計算も実施したが、ACE-Ala<sub>16</sub>-NME の二量体からなる平行 $\beta$ シートでは、相互作用エネルギーが B97D/6-31+G(d)法では 51.57 kcal/mol、B97D/6-31++G(d,p) 法では 52.34 kcal/mol とほぼ同じになることを

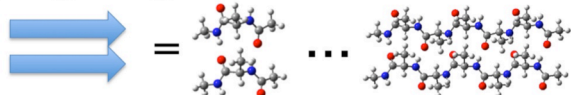
$\alpha$ -helix

ACE-(ALA)<sub>n</sub>-NME: n = 3-8



parallel  $\beta$ -sheet

(ACE-(ALA)<sub>n</sub>-NME)<sub>2</sub>: n = 1-5



antiparallel  $\beta$ -sheet

(ACE-(ALA)<sub>n</sub>-NME)<sub>2</sub>: n = 1-5

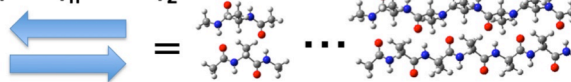


図 1. 二次構造のモデル

確認している。

相互作用の計算には、平行、反平行 $\beta$ シート型モデルペプチドに関しては相互作用エネルギー( $\Delta E_{\text{int}}$ )をモデルペプチドの二量体のエネルギーと構成する単量体のエネルギーの差として、

$$\Delta E_{\text{int}} = E_{\text{monomer1}} + E_{\text{monomer2}} - E_{\text{sheet}} \quad (1)$$

で計算した。その際、基底関数重なり誤差(Basis set superposition error)はBoysとBernardiのCounterpoise法により補正した。

また、 $\alpha$ ヘリックス型モデルペプチドの相互作用の計算には、延びきった構造( $E_{\text{extend}}$ )とヘリックス構造( $E_{\text{helix}}$ )のエネルギー差を相対エネルギー( $\Delta E_{\text{rel}}$ )として

$$\Delta E_{\text{rel}} = E_{\text{extend}} - E_{\text{helix}} \quad (2)$$

で計算した。

**【結果・考察】** まずは、二次構造の相互作用の計算に適した汎関数を決定するため、MP2法との比較をおこなった。dispersionや長距離補正をいれたB97D法やCAM-B3LYP法はMP2法に近い相互作用エネルギーを与えた。特にDFT-D法のひとつであるB97D法はMP2法とほぼ同じであった。このことから、これ以降はB97D法を用いて進めていくことにした。

次に、 $\alpha$ ヘリックス型ペプチドモデルと平行、反平行 $\beta$ シート型ペプチドモデルの相互作用エネルギーに関して、分子力場(AMBERff99SB)と密度汎関数法(B97D法)の比較を行った(図2)。

平行、反平行 $\beta$ シート型ペプチドモデルに関しては過大評価するもののそのずれは小さいものであった。しかしながら、 $\alpha$ ヘリックス型ペプチドモデルに関しては、分子力学法は密度汎関数法の結果に比べて大きく過大評価をしており、水素結合の数が増えるにつれて、ずれが大きくなっていくことが明らかとなった。このことは、現在の分子力場において蛋白質の折り畳みシミュレーションを実施した時に、 $\alpha$ ヘリックスが強く安定化される傾向があり、本来なら $\beta$ シートをつくるものも $\alpha$ ヘリックスになってしまうということと合致している。以上から、分子力場の改良に関しては、 $\alpha$ ヘリックス形成に関わる相互作用(特に水素結合)の記述を改善する必要性を示唆している。

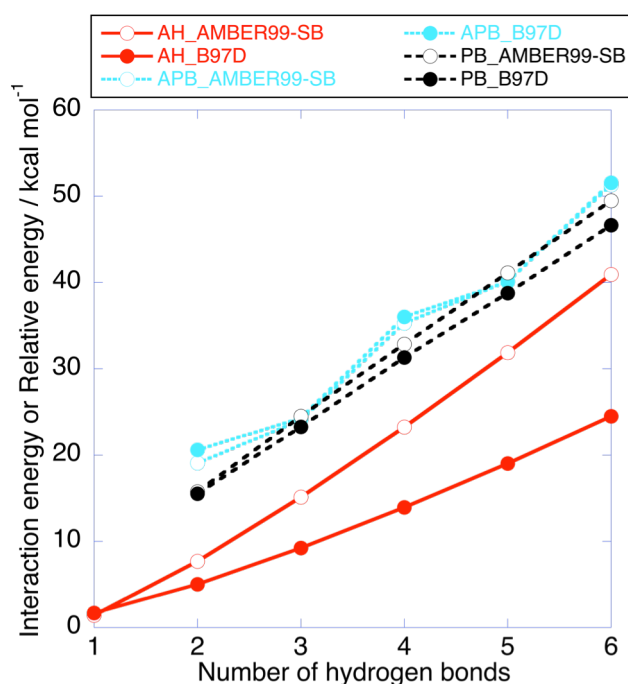


図2.  $\alpha$ ヘリックス、平行、反平行 $\beta$ シート型ペプチドモデルの水素結合の数と相互作用エネルギーとの関係

$\alpha$ ヘリックスを赤色、平行 $\beta$ シートを黒色、反平行 $\beta$ シートをシアンで示している。○は分子力学法、●は密度汎関数法による結果をあらわす。