

タンパク質間の解離過程における  
自由エネルギー地形に関する理論的研究

(金沢大院・自然) ○松井貴寛, 川口一朋, 齋藤大明, 長尾秀実

Theoretical study on the free energy landscape  
in the dissociation process of proteins

(Nat.Sci. Kanazawa Univ.) ○ Takahiro Matsui, Kazutomo Kawaguchi,  
Hiroaki Saito, and Hidemi Nagao

**【序】** タンパク質間の解離自由エネルギーを調べることは、タンパク質複合体の構造、熱力学的特性、折りたたみ過程などを解明する上で重要である。これまでに、タンパク質とリガンドの解離自由エネルギーは分子動力学シミュレーションと熱力学的積分法により計算されており、自由エネルギー曲線では結合状態で1つの極小点が見られた[1]。溶媒中のタンパク質間の相互作用は、タンパク質分子間の相互作用だけでなく、溶媒和自由エネルギーも重要である。溶媒和自由エネルギーは溶媒露出面積(SASA)に大まかに比例することが経験的に示唆されている[2]。本研究では、タンパク質間の解離過程におけるシミュレーションを行い、解離過程の様子について調べた。SASAの異なるタンパク質において、分子動力学シミュレーションと熱力学的積分法により、解離自由エネルギーを計算し、SASAと解離自由エネルギーの相関を調べる。また、解離自由エネルギーと溶媒和自由エネルギーはどのような相関があるのかも調べる。

**【方法】** 理論的、実験的に広く研究されているタンパク質である、BPTI、Lysozyme、 $\alpha$ -Lactoglobulin A について、分子動力学シミュレーションを行った。それぞれタンパク質の重心間距離を拘束してシミュレーションを行った。温度  $T=300$  K、時間刻み  $dt=2.0$  fs、カットオフ距離は  $12\text{\AA}$ 、アンサンブルは NPT、圧力制御はアンダーセンの方法、温度制御は Nose-Hoover chain、クーロン力計算は PME 法で行った。力場は CHARMM27 を使い、水分子には TIP3P を用いた。BPTI を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $80\text{\AA} \times 80\text{\AA} \times 80\text{\AA}$ 、水分子は 15166 個配置し、全原子数は 47294 個、カウンターイオンに  $\text{Cl}^-$  を 12 個付加した。Lysozyme を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $85\text{\AA} \times 85\text{\AA} \times 85\text{\AA}$ 、水分子は 18665 個配置し、全原子数は 59931 個、カウンターイオンに  $\text{Cl}^-$  を 16 個付加した。 $\alpha$ -Lactoglobulin A を溶媒中に 2 個配置する場合は、セルサイズは  $105\text{\AA} \times 105\text{\AA} \times 105\text{\AA}$ 、水分子は 34632 個配置し、全原子数は 109104 個、カウンターイオンに  $\text{Na}^+$  を 18 個付加した。計算プログラムには MODYLAS[3]を用いた。

シミュレーションにより求める平均力を  $F$  とし、熱力学的積分法により自由エネルギー変化  $\Delta G$  を求める。重心間距離を  $r$  とし、系のポテンシャルが距離  $r$  に依存し  $V(r)$  と書けるとすると、2 個のタンパク質間の解離の自由エネルギー  $\Delta G(r)$  は以下の式により求められる。

$$\Delta G(r) = \int_{r_0}^r \left\langle \frac{\partial V(r')}{\partial r'} \right\rangle_{r'} dr' \quad (1)$$

$$= - \int_{r_0}^r \langle F(r') \rangle_{r'} dr' \quad (2)$$

ここで、 $r_0$  は自由エネルギーの基準点とする。

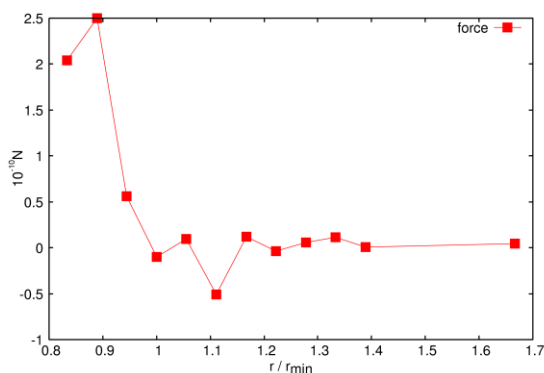


図 1. BPTI 間の平均力

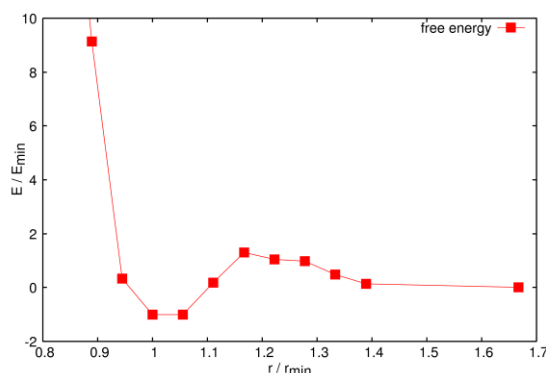


図 2. BPTI 間の自由エネルギー

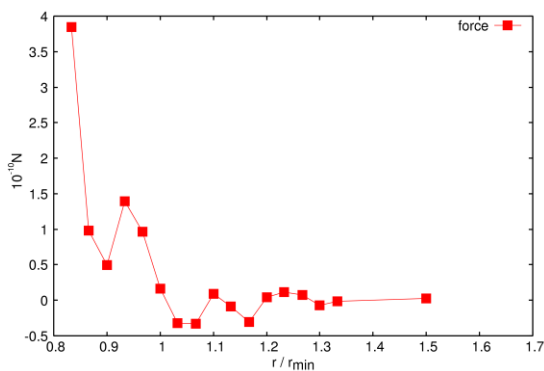


図 3. Lysozyme 間の平均力

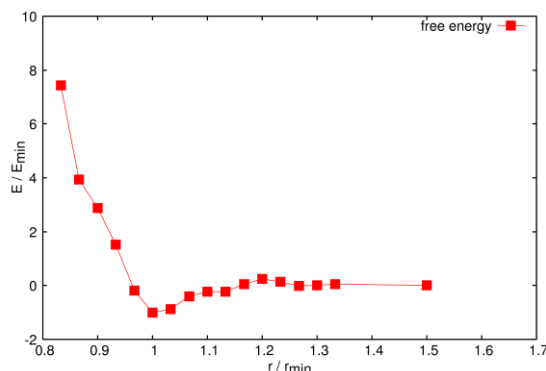


図 4. Lysozyme 間の自由エネルギー

**【結果と考察】** 図1~4にBPTIとLysozymeの重心間距離に対する平均力と自由エネルギー変化を示す。グラフの横軸は重心間距離  $r$  を自由エネルギー最小の時の重心間距離  $r_{min}$  で割って規格化した。BPTIでは  $r_{min} = 18\text{\AA}$ 、Lysozymeは  $r_{min} = 30\text{\AA}$ であった。図2,4の縦軸の値も、自由エネルギーの最小値  $E_{min}$  で割って規格化した。重心間距離が一番離れている点、BPTIでは  $30\text{\AA}$ 、Lysozymeでは  $45\text{\AA}$  のとき、平均力の値はそれぞれ、 $0.04 \times 10^{-10}\text{N}$ 、 $0.03 \times 10^{-10}\text{N}$ であり、ほぼ0であるから、この点を  $r_0$  とし、積分の基準とする。 $r_0$ でのエネルギーと  $E_{min}$ との差を解離自由エネルギーとする。

どちらのタンパク質も  $r_{min}$  よりも重心間距離が近づくほど平均力の値は大きくなっている。これは、タンパク質同士が接触する距離よりも近づいたため、分子同士で大きな斥力がはたらいたためと考えられる。解離エネルギーの値はどちらも正の値をとった。溶媒和自由エネルギーは負の値であり、SASAが大きくなると、溶媒和自由エネルギーは低くなる。Lysozymeの方が解離エネルギーは大きな値をとるので、SASAが大きい方が解離にエネルギーが必要であり、複合体が安定して存在すると考えられる。

他のタンパク質の計算結果は当日発表予定である。

表1. タンパク質の残基数、電荷、SASA、溶媒和自由エネルギー、解離エネルギー

| タンパク質                    | 残基数 | 電荷 | SASA[ $\text{\AA}^2$ ] | 溶媒和自由エネルギー<br>[kcal/mol] | 解離自由エネルギー<br>[kcal/mol] |
|--------------------------|-----|----|------------------------|--------------------------|-------------------------|
| BPTI                     | 58  | +6 | 4037                   | -124                     | 0.25                    |
| Lysozyme                 | 129 | +8 | 7098                   | -241                     | 0.998                   |
| $\beta$ -Lactoglobulin A | 162 | -9 | 8256                   | -175                     |                         |

#### References

- [1] K. Kawaguchi et al. CPL **588**, 226-230 (2013).
- [2] H.Saito et al. CPL **497**, 218-222 (2010).
- [3] Y. Andoh et al. JCTC **9**, 3201-3209 (2013).