

1Da01 AFM カンチレバーのメカニズムを利用した タンパク質の機械的延伸に関する理論研究

(岡崎機構計算セ¹・東工大院総合理工²・東工大院生命理工³)
○岩橋建輔¹、三上泰治²、猪飼篤³、岡崎進¹

【序論】

近年、原子間力顕微鏡(AFM)を使った様々なナノスケールの実験が行われるようになってきた。それらの実験の一つに、AFM の探針と固定基板表面の二箇所で固定したタンパク質一分子を人為的に延伸し、AFM カンチレバーで制御される印加張力に対する分子の延伸距離を測定する実験がある。得られた力-延伸曲線からタンパク質の立体構造に関する情報が得られることが期待されているが、実験からその詳細な分子論的解釈に限界がある。そこで、本研究では、分子動力学法を用いて、タンパク質一分子が人為的に延伸されるときのメカニズムの解明を目指した。

【方法】

シミュレーションは、水 1500 分子の中に 26 残基からなるポリアラニン分子またはポリグルタミン酸分子の入った系で行った。分子動力学法は、エワルド法や時間刻み 0.5fs の RESPA 法などを用いて、密度 1.0g/cm³、温度 300K の NVT アンサンブルで行った。溶質分子のすべての水素原子の共有結合は、SHAKE-RATTLE 法で固定した。力場には CHARMM22、水分子のモデルには TIP3P を用いた。

溶質分子の C 末端と N 末端はそれぞれ脱プロトン化とプロトン化させたものを用いた。ポリグルタミン酸分子は酸性条件でないと α -ヘリックスを形成しないため、側鎖のカルボキシル基は脱プロトン化していないもの用いた。溶質分子の 5-C_αと 22-C_αで固定し、22-C_αを強制的に動かし、それぞれの原子にかかる力を求めた。

溶質分子の延伸は 200psかけて 2 倍長になるまで等速に延ばし、その速度は 12.86m/s であった。いくつかの延伸過程を取り出し、それぞれ各延伸率の初期配置とし、両端を固定したまま 1ns の分子動力学シミュレーションを行った。

【結果・考察】

図 1 は、水中で延伸率 0%(平衡長のまま)から 100%(平衡長の 2 倍)までのそれぞれのポリアラニンの初期構造と 1ns 後の構造のスナップショットである。初期構造では遠心率が小さいときほど α -ヘリックス構造を残している。1ns 後の構造では遠心率 1%のときを除くすべての遠心率でポリアラニンは、 α -ヘリックス構造を構成する水素結合がばねのように均等に伸びていたり、部分的に切れていたりするのではなく、ほぼ全部切れ、 α -ヘリックス構造を残さなかった。

図 2 は、延伸率を 3%に保ったときのトラジェクトリーのスナップショットで、溶液中のポリアラニンの崩壊過程を示している。80ps でポリアラニン分子の部分的な α -ヘリックス構造の崩壊を引き起こし、その後の崩壊につながっていることがわかった。

ポリアラニン分子はその形状から分子レベルの大きさのばねに見えるので、ばねとしての性質があるのか調べた。 α -ヘリックスが壊れるまでのトラジェクトリーで、固定された原子方向のそれぞれの原子にかかる平均力を延伸距離に対してプロットしたものが図 3 である。黒丸と白丸はそれぞれ、5-C_α、22-C_αにかかる軸方向の平均力である。延伸距離に対して平均力は比例関係があるので、フックの法則が成り立ち、ばね定数は、2.5N/m であった。ばねとして機能する範囲は狭く、-2%から 2%であった。

図 4 はポリアラニンの力-延伸曲線である。この曲線は、3 つの段階からなっている。最初の段階は、延伸が平衡長から 0.05nm 伸ばすまでの α -ヘリックスがばね的に働く段階である。けれども、 α -ヘリ

ツクスは自由エネルギー的に安定ではあるが解けた状態と自由エネルギー差が小さいため、ばねとして機能する時間は短く、統計平均をとる時間に対して短いため長時間平均ではピークは消える。第二の段階は、延伸に必要な力が 50pN 以下の領域である。これは、 α ヘリックスの大部分が解けたポリアラニン分子の弱い疎水性相互作用やコンフォメーション由来のエントロピーが現れている状態のときである。たるみがあるため、延伸に対して、大きな力を必要としない。4.8nm までゆるやかに力が大きくなるので、非常に弱いばねと見ることもできる。第三の段階は、延伸-力曲線が急上昇する領域である。この領域ではたるみがなくなっているため、溶媒からのランダム力は即座に延伸力に反映する。また、たるみがなくなると、ポリアラニン分子の変角の自由度に起因する力も働いている。

図 1 と図 4 に相当するポリグルタミン酸のときの計算結果をそれぞれ図 5、図 6 に示す。ポリグルタミン酸のときの特徴は、長時間の分子動力学計算を行っても、 α ヘリックス構造を保っていることがある。このことが、延伸に必要な力が大きいことの原因であると考えられる。

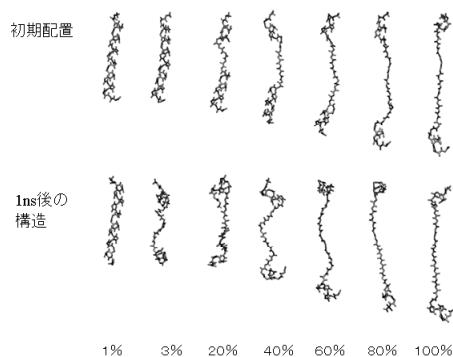


図 1 溶液中のポリアラニンの初期構造と 1ns 後の構造

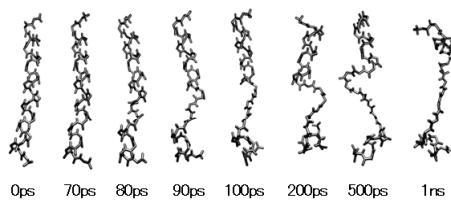


図 2 溶液中のポリアラニンの延伸率 3% のときのスナップショット

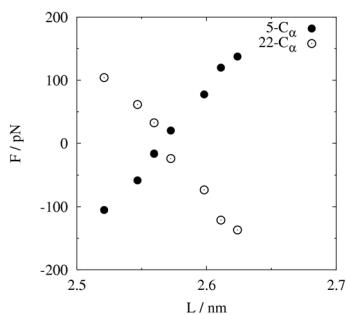


図 3 溶液中のポリアラニンのばねとしての性質

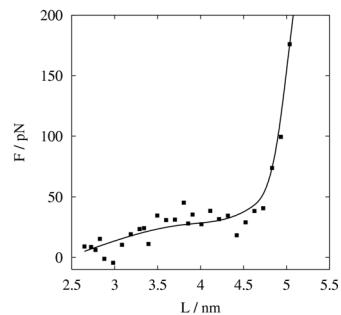


図 4 溶液中のポリアラニンの力-延伸曲線

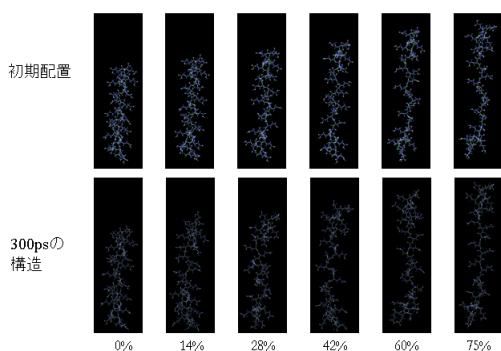


図 5 溶液中のポリグルタミン酸の初期構造と 300ps 後の構造

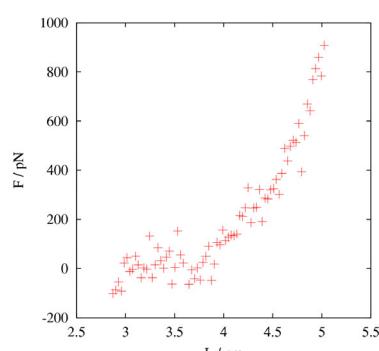


図 6 溶液中のポリグルタミン酸の力-延伸曲線