

2C10 補償溶質エクトインによるタンパク質近傍水分子の拡散低下 (名古屋大学大学院情報科学研究科) ○優 乙石 長岡 正隆

【目的】

近年、ある種の低分子は化学的シャペロンとして、病気の原因となるタンパク質のフォールディング不全を修正することが明らかになり、生体高分子周囲に共存する低分子(cosolvents)が、タンパク質などの立体構造やダイナミクスに与える影響が注目されている[1,2]。このような cosolvents のなかで、エクトインは、好塩性細菌が細胞内に蓄積する補償溶質の代表である環状アミノ酸であり[3,4](図 1)、水溶液中では双性イオンとして存在する。補償溶質はタンパク質に直接作用せずに、溶質周囲の水分子の性質を変化させることで、熱や塩からタンパク質の立体構造を保護すると考えられている[5,6]が、分子レベルのメカニズムは明らかになっていない。このような背景の下、我々は、いまだ不明な点の多いその作用機構の解明を目的に、分子動力学(MD)法を用い、分子レベルの解析を行った。

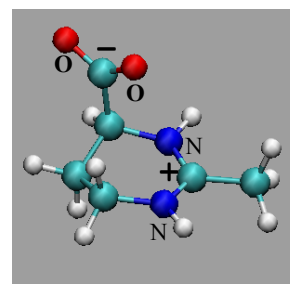


図 1 エクトインの立体構造

【方法】

全ての分子力学、分子動力学計算は AMBER 7 を用いて行った。(系内の分子力場関数は AMBER の param99 を使用した。)エクトインモノマーの初期構造と、部分電荷は当グループで以前に行った、量子化学計算による値[7]を採用した。モデルタンパク質として、キモトリプシンインヒビター 2 (CI2)を用い、均一に分散したエクトイン 227 個と水分子 6903 個の周期的境界条件による溶媒ボックスに溶質を浸した系 (MD1) でのシミュレーションを行った。さらに、補償溶質添加の影響を比較分析するために、CI2 が水分子のみに取り囲まれた系(MD2)によるシミュレーションも並行して行った。水分子のモデルには TIP3P を使用し、MD1 と MD2 共に、時間刻み幅 2fs の分子動力学計算を繰り返し、それぞれ 2 ns のシミュレーションを、温度 300K および 370K にて行った。計算によって得られた各時刻における原子の位置座標データから、溶質や溶媒分子のダイナミクスを解析した。

【結果と考察】

当グループによる現在までの解析の結果、エクトインはタンパク質表面から選択的に排除されており、タンパク質近傍の水和構造を本質的に変化させない事が明らかになった[8]。一方、溶媒分子の動的性質に着目して調査を行った結果、タンパク質近傍において第一水和層を形成している水分子(図 2)は、水素結合ネットワークの強化したエクトイン-水二成分相に取り囲まれることによって、著しくバルク相への拡散が遅れることを新たに発見した[8]。このようなタンパク質を取り囲む水和層の動的安定化は、熱や塩などのストレスから溶質の立体構造を保護する重要な要因の一つであると考えられる。本研究のシミュレーションにおいても、温度 370K の高温で、補償溶質の存在によってタンパク質立体構造の局所的な揺らぎが抑制され、動的な安定性が強化されている事が確認された。

さらに現在は、溶媒分子の動的挙動に与えるエクトインの影響について、より詳細な情報を得るため、CI2 の各ドメインにおける溶媒分子の局所的なダイナミクスを解析中であ

る。一例として、図 3 に温度 300K において、CI2 を構成する各原子 α を中心とした半径 $3\text{ \AA}$ 以内の空間を訪れた水分子の平均滞在時間 T_{α}^W を示した。解析の結果、エクトイン溶液中では純水中と比較して、CI2 を構成する全てのドメインにおいて水分子の平均滞在時間に増加がみられるなかで、CI2 の各原子がおかれている環境によって、エクトインの効果（平均滞在時間の比 $T_{\alpha}^{W_1}/T_{\alpha}^{W_2}$ ）に大きな差が生じている事が判明した(図 3)。特に、 β -sheet のようなタンパク質のフォールディング構造を保持するために、最も重要な疎水性コアを構成している部分において、水分子平均滞在時間の大幅な増加が確認された。この結果は、エクトインが、これらタンパク質内部の水分子の易動度を大きく低下させることで、熱などのストレスを受けても、疎水性コアを安定的に保持させる働きがあることを示唆している。

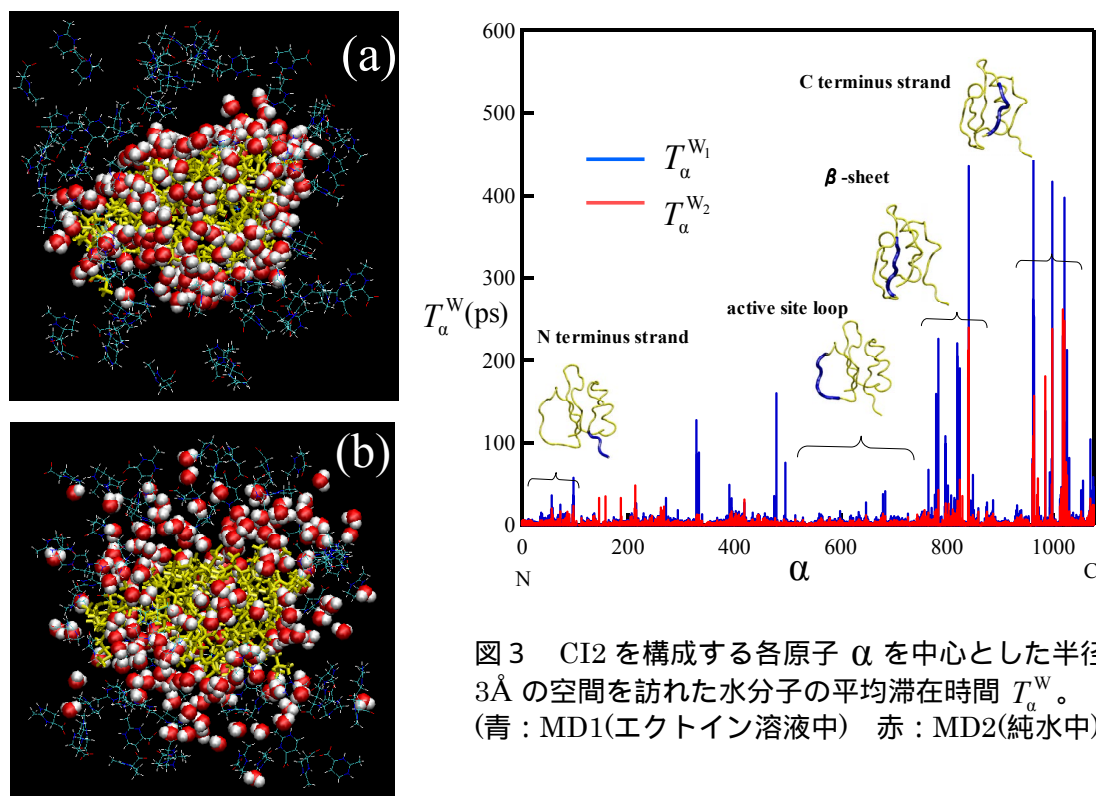


図 3 CI2 を構成する各原子 α を中心とした半径 $3\text{ \AA}$ の空間を訪れた水分子の平均滞在時間 T_{α}^W 。
(青：MD1(エクトイン溶液中) 赤：MD2(純水中))

図 2 (a) エクトイン溶液中において CI2 の第一水和層を形成する水分子。(b) 25ps 経過後、バルク相へと拡散した水分子。

参考文献

- [1] C. R. Brown, L. Q. HongBrown, J. Biwersi, A. S. Verkman, W. J. Welch, *Cell Stress Chaperones* **1** (1996) 117.
- [2] C. R. Brown, L.Q. HongBrown, W. J. Welch, *J. Clin. Invest.* **99** (1997) 1432.
- [3] E. A. Galinski, *Experientia* **49** (1993) 487.
- [4] E. A. Galinski, *Adv. Microb. Physiol.* **37** (1995) 273.
- [5] P. H. Yancey, M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowlus, G. N. Somero, *Science* **217** (1982) 1214.
- [6] R. L. Foord, R. J. Leatherbarrow, *Biochemistry* **37** (1998) 2969.
- [7] K. Suenobu, M. Nagaoka, T. Yamabe, S. Nagata, *J. Phys. Chem. A* **102** (1998) 7505.
- [8] I. Yu, M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.* **388** (2004) 316.

本研究の一部は科学技術振興事業団の計算科学技術活用型特定領域研究開発事業「配列から機能への蛋白質ダイナミカルモデリング」に基づいて遂行された。