

## Met-エンケファリン立体構造に及ぼす補償溶質エクトインの尖鋭化効果

(名大院情報)

神藤 洋一, 優 乙石, 長岡 正隆

【目的】水溶液中で双性イオンとして存在する環状アミノ酸エクトインは、好塩性細菌内に蓄積され、外部浸透圧に対抗する働きをもち、熱や塩などのストレスからタンパク質の立体構造を保護する働きをもつ代表的な補償溶質である。補償溶質は、生体高分子に直接作用せずに、周囲の水分子の性質を変化させることで溶質の立体構造を保護すると考えられているが、その作用機構には多くの不明な点がある[1]。現在までに我々のグループは、一定のフォールディング構造をもつタンパク質キモトリプシンインヒビター2(残基数 65)をモデルとし、分子動力学(MD)法を用いてエクトインの効果解析した。その結果、エクトインはバルク相における水分子に加え、タンパク質近傍の水分子の拡散を大幅に低下させることがわかった[2]。本研究では、これとは対照的に水溶液中において一定の構造をもたないフレキシブルな小ペプチド Met-エンケファリン(図 1)のコンフォメーションや構造ゆらぎに及ぼすエクトインの効果について、MD 法を用いて考察した。

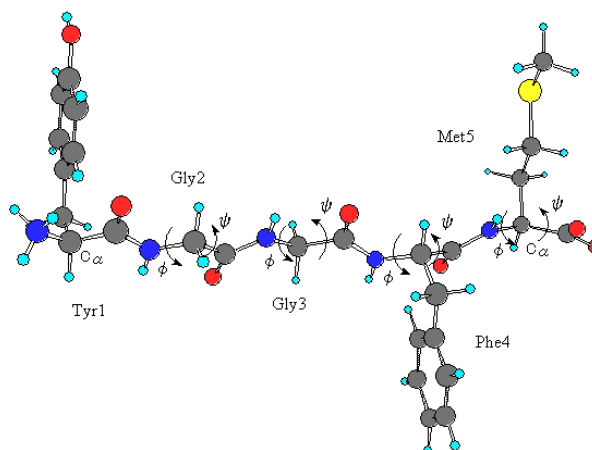


図 1 Met-エンケファリンの分子構造および各残基ペプチド結合二面角

【方法】全ての分子力学、分子動力学計算は AMBER7 を用いて行った。系内の分子力場関数は AMBER の Parm99 を使用した。Met-エンケファリンは、X線結晶回折より得られた構造[3]にエネルギー最小化を施したものを初期構造として使用した。水分子は TIP3P モデルを用い、エクトインの部分電荷と初期構造は、当グループで行った量子化学計算による値[4]を用いた。モデル系として、Met-エンケファリンの周囲に、水分子 1072 個とエクトイン 59 個(約 2.2M)を配置させた溶媒タイプ(MD1)と水分子(1178 個)のみを配置させた溶媒タイプ(MD2)の 2 種類を作成した。MD1、MD2 共に温度 300K において充分平衡化した後、NVT 一定条件下で時間刻み幅 2fs の MD 計算を繰り返し、それぞれ 50ns のシミュレーションを行った。同様の手順を用いて温度 370K におけるシミュレーションも並行して行った。

【結果と考察】図 2 に、温度 300K における Met-エンケファリンの Tyr1C - Met5C の末端間距離  $d$ (図 1 参照)の時間変化を示した。MD1、MD2 の双方では、主鎖が伸びている構造( $d \approx 11\text{\AA}$ )と主鎖が丸く折れ曲がった構造( $d \approx 5\text{\AA}$ )を遷移しているが、MD1(エクトイン溶液中)では、より長時間折れ曲がった構造を保持していることがわかった。Met-エンケファリンの立体構造の変化を定量的に解析するため、各残基間のペプチド結合二面角 (図 1 参照)の分布を解

析した。図 3 に、1ps おきに取り出した、MD1 と MD2 各々 50000 個のサンプルを用いて解析したの分布を示した。MD1、MD2 共に二面角が  $330^\circ$  から  $360^\circ$  付近に多く分布していたが、MD2 では  $130^\circ$  から  $180^\circ$  付近にも比較的大きなピークを示していた。一方、MD1 においては、主に Gly2 の分布では  $330^\circ$  付近に、Met5 の分布が  $300^\circ$  付近にピークを示しており、より構造が尖鋭化していることが明らかとなった。温度を 370K に上昇させたシミュレーションについても同様に解析をおこなった結果、MD2(純水中)では、温度 300K において見られた特徴的な末端間距離  $d$  の保持は見られず、頻繁に伸縮を繰り返していた。一方 MD1(エクトイン溶液中)では、温度 300K の場合と同様に長時間主鎖が折れ曲がった構造を安定的に保持しており、MD2 と比較してより強い構造の尖鋭化を示した。現在は、このようなペプチドのコンフォメーション変化を生み出すエクトインの Met-エンケファリンに対する直接的、および間接的影響を分子レベルで解析中である。

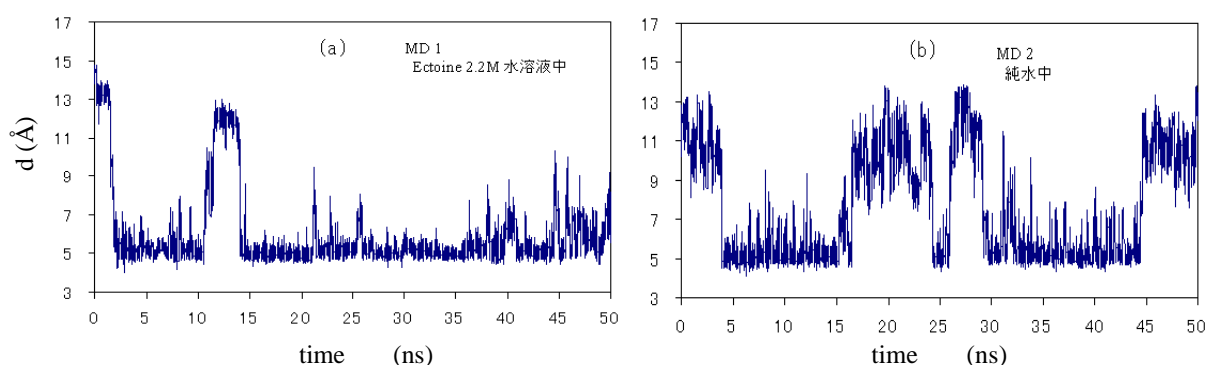


図 2 300K での Tyr1C - Met5 C の末端間距離 ((a)はエクトイン約 2.2M 水溶液中、(b)は純水中)

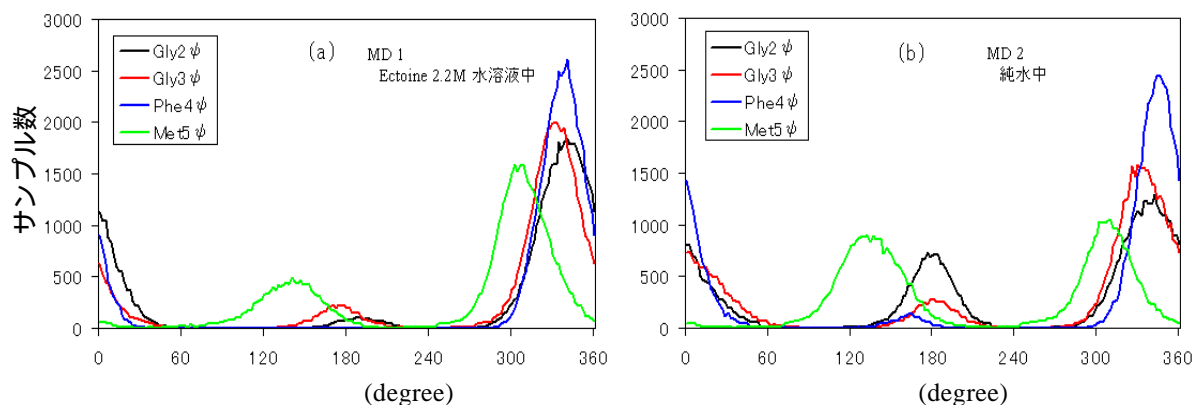


図 3 300K における残基ごとのねじれ角の分布 ((a)はエクトイン約 2.2M 水溶液中、(b)は純水中)

## 【参考文献】

- [1] P. H. Yancey, M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowlus, G. N. Somero, *Science* **217** (1982) 1214.
- [2] I. Yu, M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.* **388** (2004) 316.
- [3] J. Griffin, D. Langs, G. Smith, T. Blundell, I. Tickle, S. Bedarkar, *Proc Natl Acad Sci USA* **83** (1986) 3272
- [4] K. Suenobu, M. Nagaoka, T. Yamabe, S. Nagata, *J. Phys. Chem. A* **102** (1998) 7505