

### 3A15

#### 補償溶質エクトイン添加による水溶液中メチオニンエンケファリンの構造安定化

(名大院情報科学<sup>a</sup>・滋賀大教育<sup>b</sup>) 優 乙石<sup>a</sup>, 神藤 洋一<sup>a</sup>, 水上 善博<sup>b</sup>, 長岡 正隆<sup>a</sup>

**【目的】** 近年、生体の細胞内に共存する、補償溶質と呼ばれる低分子が、生体高分子のダイナミクスや機能に与える影響が注目されており、分子レベルの作用機構解明が期待されている。現在までに我々のグループは、安定な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、耐塩性細菌が細胞内に蓄積する補償溶質「エクトイン」の添加効果を解析した。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[1]。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(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met)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添加効果について、MD法を用いて考察した。合計200ナノ秒におよぶ長時間の全原子シミュレーションの結果、エクトイン添加によって、Met-エンケファリンの構造揺らぎが強く抑制されることが示された。

**【方法】** 全ての分子力学、分子動力学計算はAMBER7プログラムを用いて行った。系内の分子力場関数はAMBER 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[2]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)を配置させた混合溶媒タイプ(MDm)(図1)と水分子(1178 個)のみを配置させた純溶媒タイプ(MDp)の2種類を作成した。MDm, MDp 共に温度300Kにおいて充分平衡化した後、カノニカルアンサンブルにおいて時間刻み幅2fsのMD計算を繰り返し、それぞれ50 ns(計200ns)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。

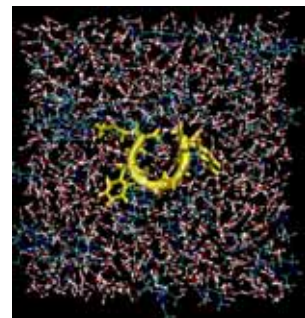


図1エクトイン水溶液中のMet-エンケファリン

**【結果と考察】** 図 2 に温度 300K,370KにおけるMet-エンケファリンの末端間距離 $d$  ( $=d$  (Tyr1C -Met5C ))の時間変化を示した。ペプチドは両溶媒中において様々なアンフォールド構造( $d \approx 11\text{\AA}$ )と主鎖が丸く折れ曲がったフォールド構造(single bent 構造)( $d \approx 5\text{\AA}$ )間を遷移していた。室温 300Kのエクトイン水溶液中では、純水中と比較して、フォールド構造に遷移するまでに、より長い時間を要するが、その後安定的にフォールド構造を維持してい

た。温度を370Kにした場合、純水中ではより激しく溶質の構造が揺らいでいるのに対して、エクトイン水溶液中では、フォールド状態とアンフォールド状態に長くとどまり、状態間の遷移が強く抑制されていた。

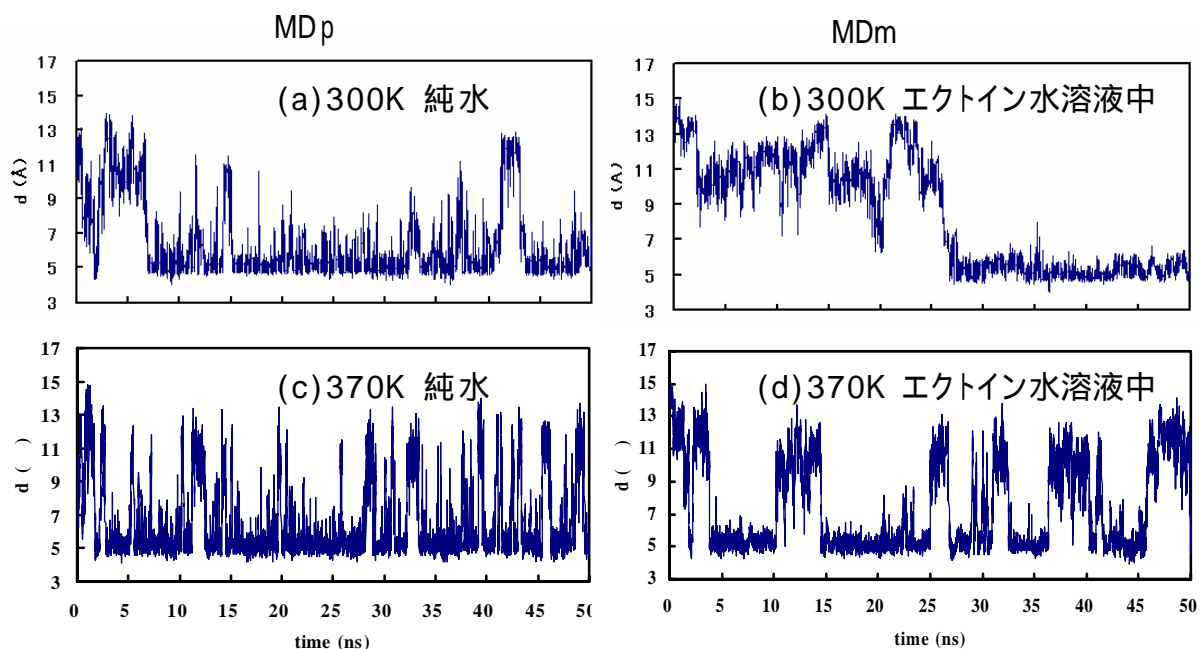


図2 末端間距離dの時間変化

一方、我々の以前の研究では、エクトイン添加によって、水分子の拡散係数が大幅に低下する事が判明している[1]。このような効果に加え、本シミュレーションでは、エクトイン1分子が溶質に長時間配向している時間領域も確認された。これらの事実から、ペプチドの構造揺らぎの安定化は、エクトイン添加による、溶媒分子の拡散係数低下がもたらすランダム力の減少や、エクトインとペプチドとの複合体形成による安定化効果などがありまざった結果と考えられる。発表当日は、状態間の遷移に伴って、溶媒分子の配向がどのように変化するかについて触れる予定である。

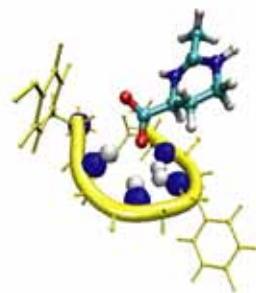


図3 エクトイン酸素がペプチドのアミドプロトンを架橋するように配向していたスナップショット。フォールド構造安定化の一要因と思われる。

本研究は、21世紀COEプログラム  
計算科学フロンティアの支援のもと  
に行なわれた。



[1] I. Yu, M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.* **388** (2004) 316.

[2] K. Suenobu, M. Nagaoka, T. Yamabe, S. Nagata, *J. Phys. Chem. A* **102** (1998) 7505