

DPC ミセルの分子動力学シミュレーション

(豊橋技術科学大学*, コンフレックス株式会社**) ◦長井 昭太郎*, 大田 一男**, 後藤 仁志*

【緒言】複雑な生命現象を司る基本的な物質であるタンパク質の多くは膜タンパク質であると言われている。膜タンパク質は一部が生体膜内に取り込まれ細胞内外の物質輸送と密接に関わっており、その構造と機能を解明することは医学的のみならず創薬の観点からも極めて重要である。と

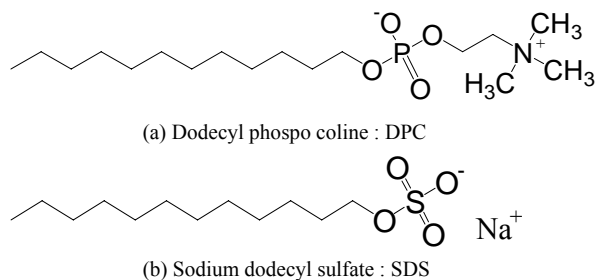


Fig. 1 NMR 測定で用いられる界面活性剤

ころが、膜タンパク質は生体膜中あるいは膜表面に存在するため、通常の測定方法で構造解析を行うには多くの困難を伴う。このため、膜タンパク質を解析するには水溶液中でミセル構造を形成する界面活性剤 (Fig. 1) を膜タンパク質に対して会合させ、生体膜内から水中に遊離することによって解析することが多い。ここで、

界面活性剤が会合した膜タンパク質の構造は、必ずしも生体膜内における構造であるとは限らないことに注意しなければならないが、最近では比較的小さな膜タンパク質 (50 残基以下) に対し、界面活性剤を生体膜と近い状態にあるとして NMR 解析が盛んに行われている。

本研究では、分子シミュレーションを用いて、界面活性剤を用いた膜タンパク質の NMR 解析と同様に生体膜内の膜タンパク質の構造と近い状態を解析するために、まずは界面活性剤の一つである DPC (Fig. 1a) のミセル構造の真空中モデル、水キャップモデル、周期境界による水溶液中モデル、連続媒体モデルでの分子動力学シミュレーションを行った。ここでは、真空中モデルと水キャップモデルでの結果を比較検討する。

【方法】配座空間探索プログラム CONFLEX[1]による構造最適化により DPC 分子の初期構造を決定した。このときの分子ポテンシャルは、高精度分子力場の一つとして知られる MMFF94s[2]を用いた。次に、Gaussian03 を用いて、HF 法(6-31G*)による電荷計算を行い、求められた Mulliken 電荷 (Table 1) を適用した。ミセルモデルの作成にはフラーレン C₆₀ の座標を用いた。フラーレンの重心と炭素原子を結ぶ軸に、アルキル鎖の末端となる C12 からアルキル鎖と親水基頭部をつなぐエーテル酸素までを結んだ軸を重ね、C12 と重心との距離を van der Waals 相互作用が最も小さくなる距離 (10.5560Å) とした。また、作成したミセルモデルを半径 45Å の水球の中に配置し、中心空間の水を除去した。このときの配置された水分子の数は 9305 個となった。

真空中モデルと水キャップモデルを、AMBER8 を用いてエネルギー勾配の RMS 値が 1.0 kcal/(mol·Å) よりも小さくなるまで最急降下法による構造最適化を行った。その後、weak-coupling アルゴリズム[3]により温度を 0K から 298K まで上昇させ、温度が平衡に達した後、温度 298K、ステップサイズ 1fs で 4ns の分子動力学シミュレーションを行った。カットオフは、真空中は 1000Å、水球中では 12Å とした。

Table 1 DPC の Mulliken 電荷

number	charge
1	-0.744199
2	1.607793
3	-0.748302
4	0.016563
5	-0.731458
6	-0.172244
7	-0.565717
8	-0.373435
9	-0.352466
10	-0.323088
11	-0.882236
12	0.026955
13	-0.321245
14	-0.321458
15	-0.300749
16	-0.302978
17	-0.302819
18	-0.303032
19	-0.302822
20	-0.303251
21	-0.300605
22	-0.302268
23	-0.478151

また、分子ポテンシャルとして、DPC に対しては gaff (general amber force field)[4]を、溶媒となる水に対しては TIP3P[5]を適用した。

【結果と考察】水キャップモデルでの系全体のポテンシャルエネルギーの変化を Fig. 2 に示した。これを見ると、開始後 100ps 間においてはエネルギーが徐々に低下していくが、それ以降は大きな変化は見られないため平衡状態に達しているといえる。これに対して、真空中モデルにおいてはわずか 6ps ほどで DPC 分子が拡散し、ミセル構造が崩壊した。これらの結果から、疎水基同士の小さな静電相互作用ではミセル構造を保つことは困難であり、水分子と親水基の静電相互作用や van der waals 相互作用による圧力効果が重要であると考えられる。

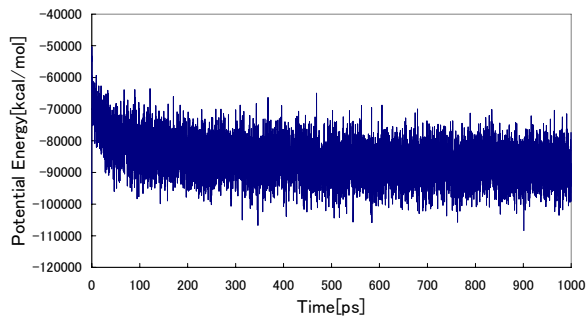


Fig. 2 水キャップモデルのエネルギー変化

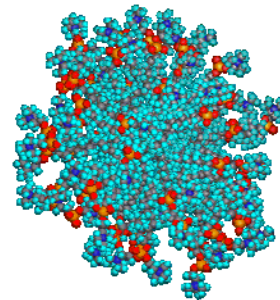
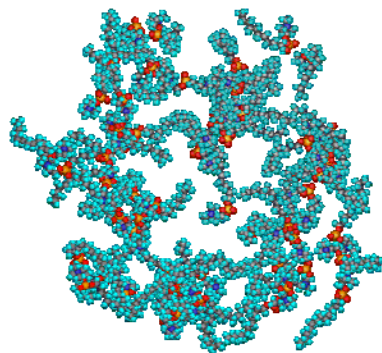
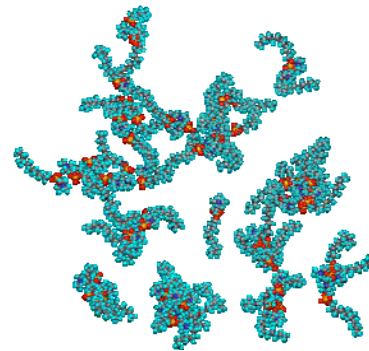


Fig. 3 水キャップモデルの DPC ミセル(4ns)



(a) 4 ps



(a) 6 ps

Fig. 4 真空中における DPC ミセルの形状の変化

【謝辞】

本研究の一部は日本学術振興会科学研究費補助金、および埼玉県地域結集型共同研究事業の援助を受けて行われています。

【参考文献】

- [1] H. Goto, E. Osawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111, 8950-8951; H. Goto and E. Osawa., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1993, 187-198.
- [2] T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.*, 1996, 17, 490; T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.*, 1999, 20, 720.
- [3] H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren, A. DiNola & J.R. Haak. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.* 81, 3684-3690 (1984).
- [4] J. Wang, R.M. Wolf, J.W. Caldwell, P.A. Kollamn and D.A. Case. Development and testing of a general Amber force field. *J. Comput. Chem.* **25**, 1157-1174 (2004).
- [5] W.L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. Madura & M.L. Klein. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. *J. Chem. Phys.* 79, 926-935 (1983).