

2P079

分子動力学法によるインスリン分子のダイナミックスの解析

(東大生研¹、東大工²、東大情報基盤センター³) ○恒川直樹¹、伊藤宏比古²、佐藤文俊^{1,3}

【導入】

インスリン分子は生体内で重要な役割を果たすホルモンであり、すい臓内に六量体として保存され、単量体として細胞表面にある受容体と会合し機能すると考えられている。このインスリンは環境によって六量体、二量体、単量体と変化することが知られており、これらの構造はよく研究され、糖尿病の製剤として多くの解離速度が異なるアナログが開発されている。しかしながら、これらの会合・解離のダイナミックスは未だに明らかではない。

ヒトインスリンの単量体は

21 残基から成る A 鎖と 30 残基から成る B 鎖で構成されている (図 1)。この 2 つの鎖は 2 つのジスルフィド結合 (A7-B7、A20-B19) で結ばれて

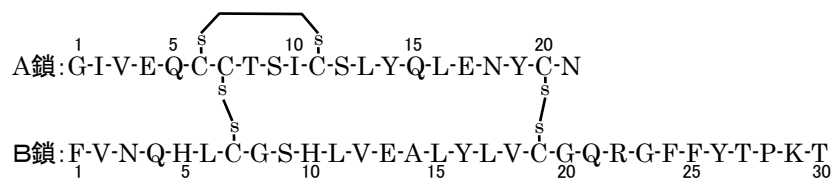


図 1: ヒトインスリンの一次構造。3 つのジスルフィド結合を持つ。

いる。インスリン分子の二次構造として A 鎖の N 末端と C 末端および B 鎖の中央付近に α ヘリックスが形成される。インスリン分子同士はそれぞれの B 鎖の C 末端が引き合い会合して、B24~B26 の部分が逆平行の並びの β シートを形成する。この β シートの安定性がインスリン二量体の安定性に大きく寄与しており、インスリン分子の解離速度に影響を与えていると考えられる。

B 鎖の C 末端部位の Pro^{B28} を Lys に、さらに Lys^{B29} を Pro に変換したヒトインスリン・リスプロは超速効型インスリンアナログ製剤である。このリスプロは野生型のヒトインスリンより短時間で血糖値を下げる効果があり、より短時間に六量体から単量体へ解離する性質を持つと考えられている。しかしながら、Pro^{B28} と Lys^{B29} の置換が単量体への解離をどのように促進させているか明らかではない。このような、タンパク質分子の一次構造と会合・解離のダイナミックスの関係を明らかにすることが本研究の目的である。

【方法】

野生型ヒトインスリンおよびそのアナログの二量体の分子動力学法 (MD) シミュレーションを実行した。MD シミュレーションは AMBER¹⁾ の MD プログラムを使用し、原子レベルの PARM03 力場を採用した。インスリン二量体と溶媒としての水モデル TIP3P 分子 6600 個ほどを直方体の箱 (≒64.7 Å × 54.3 Å × 62.1 Å) に含め、周期境界条件で温度 300K および圧力 1.0 atm の NPT 一定のシミュレーションを行った。水素原子が関わる結合長は SHAKE 法により固定した。静電相互作用は Particle Mesh Ewald 法を用いて計算した。時間刻みが 0.002 ps のベルレ法により系の時間発展を行った。

初期構造として、Protein Data Bank (PDB)²⁾ に登録されている構造を採用した。これらの構造は二量体を形成しており、B24~B26 の部分が β シートの状態のものである。インスリン分子には 2 つのヒスチジン (His^{B5} と His^{B10}) が含まれ、これらの側鎖の δ 位および ϵ 位の窒素に水素原子を付加し、インスリンの各モノマーの電荷を 0 にした。

最初に、二量体を固定して溶媒の水分子のみの部分 MD シミュレーションを温度 300K および圧

力 1.0atm で 400ps 実行し、溶媒の平衡化を行った。次に、二量体の固定を解き、10ns の MD シミュレーションを実行した。

【結果】

野生型のヒトインスリンは 10ns のシミュレーションの間 β シート構造を保ち、二量体の状態を維持することが確認できた。それに対してリスプロは二量体としての会合状態を保ちつつもシミュレーションを始めて直ちに (80ps ほどで) β シート構造を崩した状態に至った (図 2)。

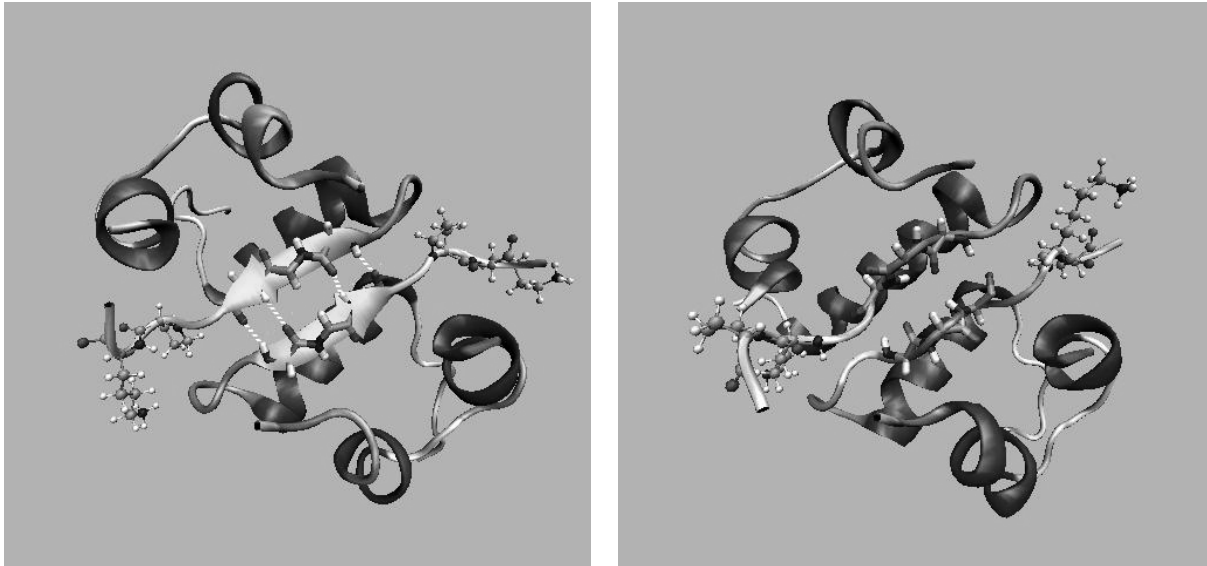


図 2: (左側) 野生型ヒトインスリンの MD シミュレーションで得られたスナップショット。濃色の帯状の部分は α ヘリックス構造を、白色の帯状矢印の部分は β シート構造を示す。 β シートの部分には 4 つの水素結合が形成されている。CPK で表示されたアミノ酸残基は $\text{Pro}^{\text{B}28}$ と $\text{Lys}^{\text{B}29}$ である。(右側) ヒトインスリンアナログ・リスプロの MD シミュレーションで得られたスナップショット。 $\text{Phe}^{\text{B}24}$ と $\text{Tyr}^{\text{B}26}$ の間には水素結合が構成されず、B24~B26 の構造は不安定になっていると考えられる。CPK で表示されたアミノ酸残基は $\text{Lys}^{\text{B}28}$ と $\text{Pro}^{\text{B}29}$ である。

β シート部分の水素結合は $\text{Phe}^{\text{B}24}$ と $\text{Tyr}^{\text{B}26}$ の間に形成されているため、 $\text{Pro}^{\text{B}28}$ と $\text{Lys}^{\text{B}29}$ の置換が水素結合の崩壊に直接関わっているとは考えにくい。しかし、結果的にこれらの水素結合の不安定化に寄与していると言える。このメカニズムの解明を中心に、二量体の構造およびダイナミックスの解析・比較を当日報告する予定である。

本研究は、文部科学省次世代 IT 基盤構築のための研究開発「革新的シミュレーションソフトウェアの研究開発」プロジェクトにおいて実施された。

【参考文献】

- 1) D.A. Case, *et. al.*, AMBER8, University of California, San Francisco (2004)
- 2) H.M. Berman, *et. al.*, The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, **28**, 235 (2000)