

## 補償溶質エクトイン水溶液中のタンパク質溶媒和構造に関する分子論的考察

(名大院情報科学) 優 乙石, 神藤 洋一, 長岡 正隆

**【背景、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いる。現在までに我々のグループで、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：キモトリプシンインヒビター-2(CI2)近傍の水分子の拡散を大幅に低下させることが判明した[1]。さらに、水溶液中において一定の構造をもたない小ペプチド：メチオニンエンケファリン(M-Enk) ( Tyr-Gly-Gly-Phe-Met ) のダイナミクスに及ぼすエクトインの添加効果について、合計100nsにおよぶ長時間のMDシミュレーションによって調査した結果、エクトイン添加によって、ペプチドの構造揺らぎが純水中に比べて強く抑制されることが示された。これらの変化を生み出す微視的要因を調査するために、溶質周囲の溶媒原子の分布を詳細に解析し、2つの溶質に対するエクトインの作用機構を分子レベルで考察した。

**【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。CI2およびM-Enk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。濃度1.6Mエクトイン水溶液中にCI2とM-Enkを浸した溶媒モデル(図1)を構築し、それぞれについて、温度300Kで充分平衡化した後、カノニカルアンサンブルの下、時間刻み幅2fsのMD計算を繰り返し、CI2系については2ns、M-Enk系については50nsのシミュレーションを行った。得られた原子座標の時系列データを元に、溶質 $a$ ( $c=CI2$ ,  $m=M-Enk$ )の表面から、 $r$  Å の距離にあり、 $0.05$  Å の厚さを持つ溶媒和層(図2のグレー領域)の体積  $\delta V_a(r,t)$  を計算し、その中に含まれる、溶媒分子 $s$ ( $=w$ (水),  $=e$ (エクトイン))を構成する溶媒原子の数密度の時間平均  $\rho_a^s(r)$  を算出した。

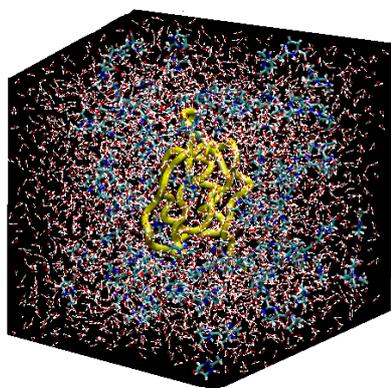


図1 1.6Mエクトイン水溶液中のタンパク質CI2 (黄色)。

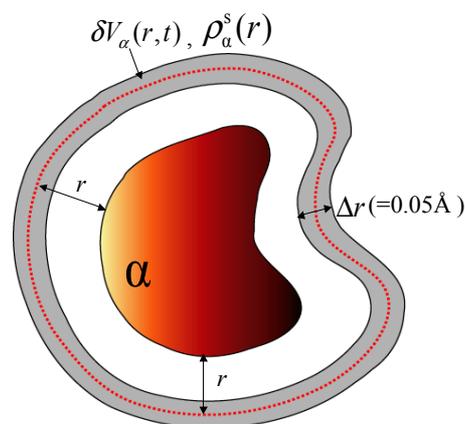


図2 溶質  $\alpha$  の表面から、 $r$  Å の距離にある溶媒和層 (グレー領域) の模式図。

【結果と考察】 図3に溶媒原子数密度  $\rho_{\alpha}^s(r)$  のプロファイルを示した。CI2 近傍の水和層は、M-Enk のそれよりも、より密に構造化している事が判明した。これとは対照的に、M-Enk 周囲ではエクトイン原子が CI2 周囲よりも密に配向していた。図4に水原子数に対するエクトイン原子数の存在比  $\rho_{\alpha}^e(r)/\rho_{\alpha}^w(r)$  を、溶質表面からの距離の関数として示した。CI2 周囲では3 Å 付近まで、エクトイン原子の存在比はバルク相中のそれよりも低かった。これに対し、M-Enk 周囲では5 Å 付近まで、エクトインの存在比は、バルク相中の値よりも高く、2.2 Å と 4.0 Å 付近に強いピークを示した。

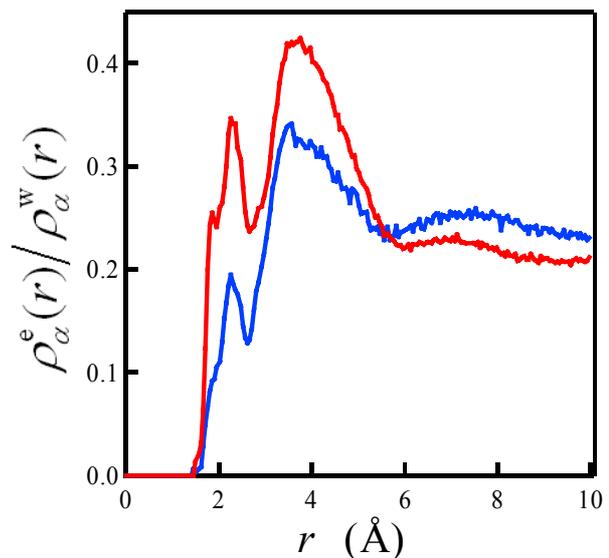
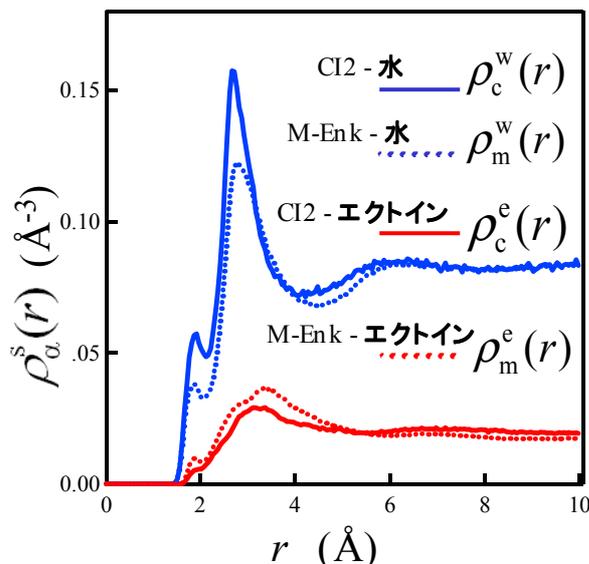


図3 溶媒原子数密度  $\rho_{\alpha}^s(r)$  のプロファイル 図4 水原子とエクトイン原子の存在比  $\rho_{\alpha}^e(r)/\rho_{\alpha}^w(r)$

現在までに、エクトインのような補償溶質は、タンパク質の表面から選択的に排除される事によって、間接的にその安定性を高めている事が現象論的に示されている。一方、小ペプチド M-Enk を比較対象とした本研究によって、共存する溶媒分子の選択的排除の程度は、溶質の性質に大きく影響される事が示唆された。エクトインの選択的排除が弱い M-Enk の場合、エクトインとの直接的な相互作用が、より効果的に溶質のダイナミクスを改変している可能性が考えられる。この事を裏付けるように、末端残基の塩橋によって環状に曲がったペプチドの立体構造を、安定化するような、長時間のエクトイン分子の配向(図5)が、MD シミュレーション中の随所で確認された。現在は、溶質の大きさや、溶質近傍の水和層の性質に注目し、選択的排除発現の微視的要因を調査している。



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。

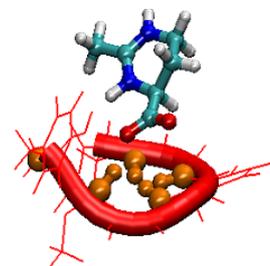


図5 M-Enk に直接相互作用するエクトイン分子。

[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.