

課題名 (タイトル) :

分子動力学によるタンパク質凝集性の解析

利用者氏名 : 圖師 健太

理研での所属研究室名 :

神戸研究所 生命システム研究センター 生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

ペプチドの凝集は親水性や疎水性、総電荷やその分布によって決まっており、これらの性質はアミノ酸側鎖由来である。しかしアミノ酸側鎖がペプチドの凝集に与える影響は未だ解明されていない。

分子動力学シミュレーションは一般的に分子、原子レベルでのメカニズムを裏付ける役割で用いられる場合や、エネルギー的な解釈のために用いられる場合が多いので、ペプチドの凝集もシミュレーションの対象となり得る。しかし凝集のシミュレーションはアミロイド形成の解析が中心で、非アミロイド系の凝集の解析に焦点を絞ったシミュレーションは行われていない。そこで本研究ではアミノ酸側鎖の違いが凝集に与える影響を分子レベルで解析することを目的とした分子動力学シミュレーションを行った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

疎水性のアミノ酸であるイソロイシン、荷電側鎖をもつアミノ酸であるアルギニン、アスパラギン酸、親水性であるアスパラギン、以上 4 つのアミノ酸を用い、PC 上にて 4 残基ペプチドのモデルを 6 種類作成した (I-I-I-I、R-R-R-R、D-D-D-D、N-N-N-N、I-I-R-R、I-I-I-R)。全てのモデルペプチドにおいて、末端電荷の影響をなくするために C 末端をメチル化、N 末端を N-メチル化した。各モデルペプチドにおけるシミュレーションの初期構造は、系の大きさが一辺約 104Å の立方体の内に同一のモデルペプチドを 27 分子配置し約 30,000 分子の水モデルで系を満たし、濃度を約 40mM とした。

計算は分子動力学シミュレーションソフトウェアパッケージ Amber8.0 を用い、MD-GRAPE3 を

使用することにより高速化が可能となった。気圧 1atom、温度 300K (I-I-I-I のみ 300K と 313K) の条件を設定した。シミュレーション時間は主鎖の動きが確認できるとされる 10 ナノ秒オーダーを目標とし、全モデルで 50 ナノ秒間以上行った。

3. 結果

下図より I-I-I-I は 30ns 付近から 27 ペプチド全てが 1 つのクラスターに凝集し、R-R-R-R、D-D-D-D の荷電アミノ酸をからなるペプチドは終始凝集がみられなかった。I-I-I-R、I-I-R-R を含めて疎水性と電荷の影響が予想通りの結果となった。荷電側鎖はもたず親水基をもつ N-N-N-N は、疎水性の I-I-I-I より小さいクラスターを形成していた。電荷より影響は小さいが、親水基にも凝集を抑える働きがあると考えられる。I-I-I-I と I-I-I-I (313K) の結果より、温度を上げると運動エネルギーが大きくなるためクラス

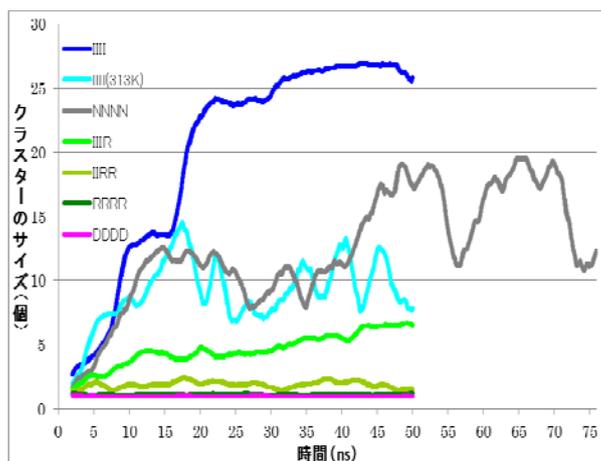


図 平均クラスターサイズ

各ペプチド間の最も近い原子ペアの距離が、互いの原子のファンデルワールス半径以内に収まっているものを 1 つのクラスターと定義した。系全体のクラスターのサイズの平均を 0.01ns (ナノ秒) 毎にプロットし、2ns 分の平均線を示した

ターサイズは小さくなることが確認された。

電荷の影響がクラスターの形成に大きく関わっていることが予想されたため、凝集に関わるエネルギーの解析を進めた。総エネルギーはクラス

ターの形成と共に減少していた。ファンデルワールスエネルギーとクラスターサイズはクラスターを形成した全てのモデルペプチドでその相関を確認できた。静電エネルギーとクラスターサイズとの相関は I-I-I-I、I-I-I-I (313K) では確認できたが、N-N-N-N ではほとんど見られなかった。I-I-I-I の静電エネルギーは主鎖の電荷の偏りのみ関係しているが、N-N-N-N は側鎖にも電荷の偏りが存在し、側鎖の電荷が主鎖の静電的安定を妨げたと考えられる。また I と R を含むモデルペプチドは静電エネルギーとクラスターサイズの相関が弱くなり、荷電側鎖も主鎖の静電的安定を妨げた。これらの結果より主鎖の静電的安定がクラスター形成に大きく関わっていることが示唆された。

4. まとめ

シミュレーションを用いて親水性や疎水性、電荷といったアミノ酸の特徴によるペプチドの凝集性の違いを、クラスターの形成という分子レベルの相互作用の解析で確認でき、シミュレーションによるメカニズム解明がアミノ酸の違いによる凝集性の解析というテーマに対しても有効であることが示された。このテーマは更なるシミュレーション、また実験的な解析を進めるに値すると評価することができた。

5. 今後の計画・展望

本研究ではイソロイシン、アルパラギン酸、アスパラギン、アルギニンの4種類のアミノ酸のみ使用したが、今後は更に使用するアミノ酸の種類と構造のパターンを増やし、その他の条件を検討しシミュレーションを進める必要があると考えている。

解析においては、主鎖と側鎖に分けてファンデルワールス結合や水素結合の存在を解析するなど、本研究で明らかとなった静電エネルギー及びファンデルワールスエネルギーの影響を踏まえた解析を進めることが有効であると考えられる。また実験的解析としては4残基ペプチドを合成し溶解度を測定することにより実験値として溶解度を比較し、シミュレーショ

ンによる凝集性の評価と照らし合わせることにより効果的な凝集性の解析が可能になることが予想された。

6. 一般利用で演算時間を使い切れなかった理由

本研究では MD-GRAPE3 を使用し分子動力学計算を高速化することが目的だったため、他のスーパーコンピュータを使用することがほとんどなかった。MD-GRAPE3 は演算時間に含まれないため簡易利用での演算時間でさえ使い切ることがなかった。

7. 利用研究成果が無かった場合の理由

本研究で行なった凝集のシミュレーションというテーマは研究の立ち上げであったために1年間で成果をあげるまで進めることができなかった。しかし更なる研究を進めることによって利用研究成果をあげることができると考えている。