

課題名 (タイトル) :

分子動力学によるタンパク質凝集性の分析

利用者氏名 : 佐藤 雄士

所属 : 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、それらの分布によって起こると考えられており、これらはすべてアミノ酸の種類による性質である。

本研究で用いた分子動力学シミュレーションは一般的に分子凝集体の熱力学量や時間依存性に関する様々な物理量を分子レベルで計算でき、メカニズムを裏付ける役割で用いられる場合が多い。しかし、現在、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、非アミロイド系での凝集の解析に焦点を絞ったシミュレーションは極めて少ない。そこで本研究では分子動力学シミュレーションを用いてアミノ酸の種類による性質の違いが凝集に及ぼす影響を分子レベルで解析することを目的とした。

2. 具体的な利用内容、計算方法

10 種類のアミノ酸を用いて、同一のアミノ酸 4 残基で構成されるペプチドのモデルを作成した。用いたアミノ酸は、疎水性のアミノ酸であるイソロイシン (Ile)、バリン (Val)、アラニン (Ala)、荷電側鎖をもつアルギニン (Arg)、リシン (Lys)、アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)、親水性であるアスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)、セリン (Ser) である。側鎖の違いによる結果を詳細に解析するため、全てのモデルペプチドにおいて、C 末端を N-メチル化、N 末端をアセチル化し、主鎖電荷の影響をなくした。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 1 辺約 104 Å の立方体の内に同一のモデルペプチドを 27 分子配置した。そして、約 30,000 個の水分子で系を満たし、濃度を約 40 mM 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 Amber 8.0 を用い、理化学研究

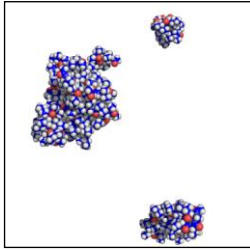
所の MD-GRAPE3 を使用することにより高速化が可能となった。気圧 1 atom、温度 300 K の条件を設定し、全モデルで 50 ナノ秒行った。0.01 ナノ秒ごとに出力される座標データやエネルギーデータから解析を行った。また、ペプチドの凝集性を評価するために、各ペプチド間の最も近い原子ペアの距離が互いの原子の van der Waals 半径の和以内にあるペプチドをクラスターと定義した。

3. 結果

各時間においてクラスターサイズ (クラスターを形成しているペプチドの数) の平均をグラフ化したところ、Ile は全ペプチドが 1 つのクラスターを形成していたことから、高い凝集性が見られた。次いで、Val、Asn、Gln においても大きさに変動はあるが、凝集性を確認することができた。一方、Arg、Lys、Asp、Glu では終始凝集が確認されず、疎水性と電荷が及ぼす影響が現れた結果となった (図 1、2)。しかし、電荷をもたない Ser、加えて疎水性でもある Ala では小さなクラスターを形成しており、強い凝集性は確認できなかった。このことから、疎水性や親水性、電荷の存在だけでなく側鎖の大きさも凝集に影響を及ぼしていることが示唆された。

確率モデルの 1 つであるマルコフモデルを用いてクラスター形成経路の解析を行った。各アミノ酸で多量体の割合に差が見られ、特に Gln では単量体から 2 量体を形成するよりも 3 量体を形成する割合が高かった。また、Ile、Val、Asn において多量体の形成が早い段階で見られたことから、形成速度の違いが現れていることが予想された。このように、クラスター形成経路においてもアミノ酸側鎖の影響が示唆された。

Ile



Arg

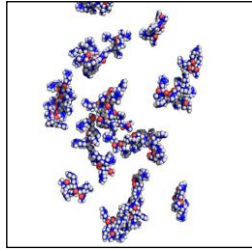


図 1 10ns におけるスナップショット

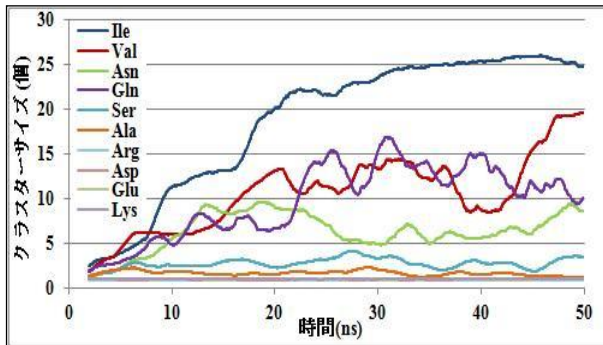


図 2 平均クラスターサイズ

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、側鎖の大きさ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解析で確認できた。また、マルコフモデルを用いた解析によりクラスター形成経路にも違いが見られた。これにより、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や実験的な解析を行うこと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、10種類のアミノ酸を使用したか、今後は更に使用するアミノ酸の種類を増やし、構造のパターンや温度、濃度といった項目を変えていくなど、様々な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部分電荷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により効果的な凝集性の解析が可能になることが考えられる。