

課題名 (タイトル) :

細胞環境における生体高分子ダイナミクスのシミュレーション研究

利用者氏名 : ○安藤格士\*、宮下尚之\*、柏原裕美\*

所属 : \*生命システム研究センター 分子機能シミュレーション研究チーム

原子、分子のレベルから細胞全体の振る舞いに至るまでを記述するためには、従来の理想的環境下ではなく、細胞環境という場における生体高分子の動的振る舞いを理解する必要がある。そこで、本研究では、1) 生体膜中での膜タンパク質の相互作用 (柏原)、2) アルツハイマー病関連タンパク質の構造への脂質分子が与える影響 (宮下)、3) 細胞内混雑環境でのタンパク質間相互作用 (安藤)、の3つの課題に対して分子シミュレーションにより解析を行った。

課題 1 : 生体膜での膜タンパク質の相互作用の解析 (柏原)

2015 年 6 月に退職したため、利用がなかった。

課題 2 : アルツハイマー病関連タンパク質の構造への脂質分子が与える影響 (宮下)

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

アルツハイマー病は神経細胞が壊れてしまう事で認知症が進行する疾患である。アルツハイマー病初期段階で鍵となるアミロイド前駆体タンパク質 (APP) は、 $\beta$  切断酵素、 $\gamma$  切断酵素によって順に切断される事により、老人斑の原因となるアミロイド  $\beta$  ペプチドとなる。本課題では APP の構造の脂質分子からの影響をレプリカ交換分子動力学法を用いて確かめ、環境が APP に与える影響を調べる。

2. 具体的な利用内容、計算方法

NAMD/REIN もしくは GENESIS を用いたレプリカ交換分子動力学法を用いたシミュレーションを実施した。特に APP の両端を生体膜面に垂直方向

に引っ張る事で、従来おこった膜タンパク質が膜中に倒れ込む現象を防いだ (図 1)。

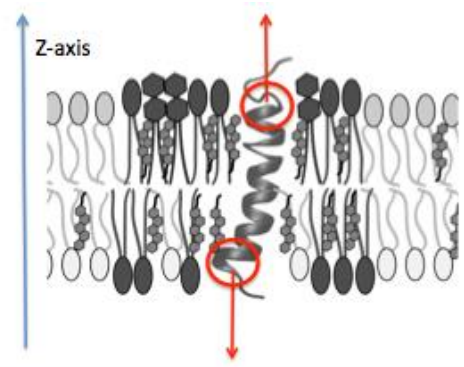


図 1 膜タンパク質を膜面に垂直に引っ張る。

3. 結果

現在 POPC 膜及び DOPG 膜中の APP のシミュレーションについて、それぞれ 40 レプリカ x 4000 交換 (1 回の分子動力学計算は 4 ps) までの計算が完了した。

4. まとめ

今後はこの解析を実施する。

5. 今後の計画・展望

本課題での解析および論文作成を実施する。

6. 利用がなかった場合の理由

今年度は異動初年度により学務などで思うように利用できなかった。

課題 3 : 細胞内混雑環境でのタンパク質間相互作用 (安藤)

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

細胞内部は、その 30-40% の空間が生体高分子で占められた、非常に混み合った環境である (図 2A)。この混雑環境中でタンパク質、核酸等の生体高分

子は拡散、結合を繰り返し、機能を発揮している。しかし、これまでの分子間相互作用に関する研究の多くは希薄溶液中でのものであり、周りの分子の混雑が与える影響についての研究は、未だ不明な点が多い。特に、細胞内のように様々な大きさの分子が混在する環境における分子混雑効果は、ほとんど解析例がない。そこで、ブラウン動力学法と細胞内環境を模倣した粗視化モデル (図 2 B) を用いて、分子混雑が分子間の結合反応にあたる影響を解析した。

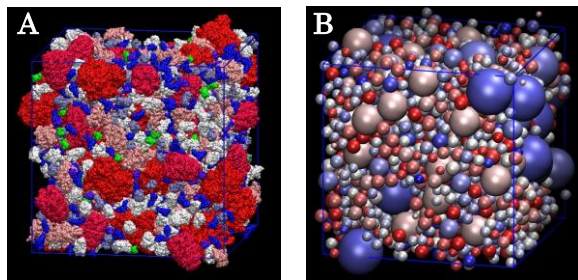


図 2 (A) 細胞内混雑環境の模式図。各高分子 (タンパク質、RNA、リボソームなど) を、異なる色で表示。(B) 本研究で用いた粗視化モデル。各高分子をそのストークス半径をもつ球で表した。

具体的には、図 3 で示す分子結合のモデルにおいて、周りの分子の存在により、複合体の安定性がどの程度変化するかを自由エネルギー計算により算出した。さらに、その結果を既知の剛体球流体の理論と比較した。剛体球流体の理論は、細胞内のような複雑な環境を仮定してはいない。シミュレーションと理論とで良い一致を示すことができれば、これは、この理論により様々な細胞内分子混雑の影響を容易に見積可能であることを示しており、今後の分子混雑の研究に非常に有用である。

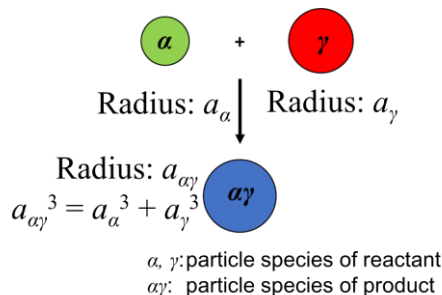


図 3 分子結合反応のモデル。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

粒子間には half-harmonic 関数で表される反発の相互作用のみを考えた。すなわち、ここでは分子の排除体積効果のみを考えている。シミュレーションにはブラウン動力学法を用いた。ブラウン動力学法で得られるトラジェクトリーを使用し、Bennet Acceptance Ratio 法により、粒子が希薄溶液から細胞内混雑環境に移行する際の自由エネルギーを算出した。また、剛体球流体の理論の 1 つである BGHLL 理論 (Santos and Rohrmann, Phys Rev E. 2013, **87**, 052138) を用い、同様の移動自由エネルギーの理論値を計算した。

分子間の結合反応にあたる分子混雑の影響は以下の式により評価した。

$$\Delta\mu_{\alpha\gamma} = \mu_{\alpha\gamma} - (\mu_{\alpha} + \mu_{\gamma})$$

ここで、 $\mu_x$  は粒子  $x$  の移動自由エネルギーであり、シミュレーション、及び BGHLL 理論により算出される。

## 3. 結果

シミュレーションと BGHLL 理論から得られた分子混雑が分子の結合反応に与える影響 (それぞれ  $\Delta\mu_{\alpha\gamma}^{\text{simul}}$ ,  $\Delta\mu_{\alpha\gamma}^{\text{theory}}$ ) の比較を図 4 に示した。分子混雑は、分子の結合反応を安定化している。また、大きな粒子間の  $\Delta\mu_{\alpha\gamma}^{\text{simul}}$  では数値誤差が大きいものの、シミュレーション結果と理論値でよい一致を示した。この結果は、細胞内のような複雑な分子混雑環境においても、BGHLL 理論を適用し、様々な熱力学量を算出することが可能であることを示している。

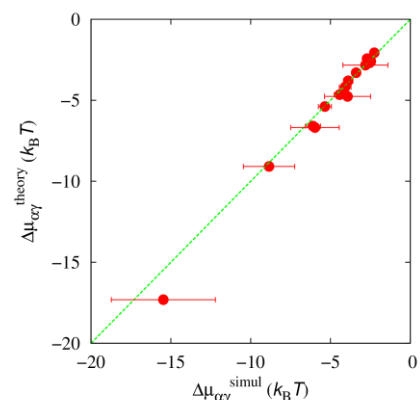


図 4 シミュレーションから得られた分子の結合反応に与える分子混雑効果 ( $\Delta\mu_{ay}^{\text{simul}}$ ) と BGHLL 理論から得られた値 ( $\Delta\mu_{ay}^{\text{theory}}$ ) との相関。ここでは、図 2 B で示した系において、粒子の半径  $a = 16.26, 26.2, 34.9, 45.25, 84.89 \text{ \AA}$  の全ペアについて  $\Delta\mu_{ay}$  を評価した。グラフ左下に行くほど、結合する粒子の半径が大きい。

#### 4. まとめ

粗視化モデルを用いた分子シミュレーション、及び、剛体球流体の理論の 1 つである BGHLL 理論により、細胞内混雑が分子の結合反応に与える影響を評価した。両者の結果は数値誤差以内でよい一致を示した。この結果は、球体近似のレベルであれば、細胞内のような複雑な環境においても、BGHLL 理論により、様々な分子混雑効果を見積もることが可能であることを示している。

#### 5. 今後の計画・展望

現在、上記結果をまとめ、学術誌に投稿する準備をしている。今後は、球状近似から分子の形状を表現できるモデルへと変え、細胞内混雑が各種生化学反応に与える影響をシミュレーションにより評価する予定である。

平成 27 年度 利用研究成果リスト

**【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】**

なし

**【国際会議などの予稿集、proceeding】**

Tadashi Ando, Isseki Yu, Michael Feig, and Yuji Sugita “Coarse-graining approaches for elucidating crowding effects in cells”, The Sixth AICS International Symposium, February 22-23, 2016, Kobe, JAPAN  
(予稿集の字数制限により、HOKUSAI 利用の記載ができなかった)

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

安藤格士、“All-atom and coarse-grained molecular simulations of a bacterial cytoplasm”、RIKEN Symposium “ペタスケールシステム HOKUSAI GreatWave とアプリケーションの研究開発への針路”、2015 年 6 月 19 日、和光

安藤格士、“生体高分子の動態と水”、第一回ウォーターフロンティアサイエンスシンポジウム、2015 年 12 月 5 日、東京

**【その他（プレスリリース、学術会議以外の一般向けの講演など）】**

Tadashi Ando, Michael Feig, and Yuji Sugita, “On thermodynamics of macromolecular association in an intracellular environment: Theoretical and simulation studies with a simplified model”, 第 54 回日本生物物理学会年会、2015 年 9 月 13 日-15 日、金沢 (ポスター発表)