

課題名(タイトル):

Computational design and molecular dynamics simulations of biomolecules

利用者氏名:○新津 藍(1)、Tiezheng Pan(1)

理研における所属研究室名:

(1) 生命機能科学研究センター 生体分子動態デザイン研究チーム

De novo 設計膜貫通ペプチド会合体の安定性評価

1. 本課題の研究の背景、目的、関係する課題との関係
自然界に存在しないタンパク質をゼロから理論設計する「タンパク質 de novo デザイン」は、アミノ酸配列-立体構造相関をボトムアップに検証しタンパク質の折り畳みや複合体形成の分子機序を理解する有効な手段である。さらに、設計した新しいタンパク質は生体分子材料としての応用が期待される。しかしながら、膜タンパク質の設計は依然として非常に挑戦的な課題である。その理由の一つは、従来のタンパク質設計法では、膜タンパク質分子の折り畳みに関わる水・脂質・タンパク質鎖間の動的相互作用や、折り畳みと協奏して生じる分子同士の会合メカニズムが考慮されていないためである。そこで本研究では、最もシンプルな機能性タンパク質として人工設計膜貫通 α ヘリックスの会合体からなるイオンチャネルについて、特にアミノ酸配列と会合数の相関を解明することを目的として、分子動力学計算によるペプチド会合体構造モデルの安定性評価を行った。これまで本研究に関連した計算については HPCI「富岳」課題 (hp210107、hp230090) の資源を用いて実施してきた。

2. 具体的な利用内容、計算方法

本課題では計算機を用いた de novo 設計により得た、コイルドコイル 5 量体を形成することが実験で確認されている膜貫通ペプチドについて計算を実施した。分子動力学計算による安定性評価が実験結果と一致するかを検証することを目的として、同じアミノ酸配列を持つペプチドの会合数を4~8量体としたペプチド会合体のコイルドコイル構造モデルをソフトウェア ISAMBARD によって作成し、N 末端に可溶化タグとなる KKKKGS 配列を付加した初期構造を準備した(図)。力場は CHARMM36 を用い、実験条件と同様条件の脂質 DPhPC とイオン 1M KCl、水は TIP3P モデルを用い、ペプチド会合体が脂質二重膜中に配置された計算ボックスを CHARMM-GUI を利用して作成した。MD 計算ソフトウェアは GENESIS を用いた。計算はコン

ベンショナル MD については 300K、外部電場を用いた膜電位+200 mV 存在下での計算では 353K でそれぞれ 200 ns 実施した。

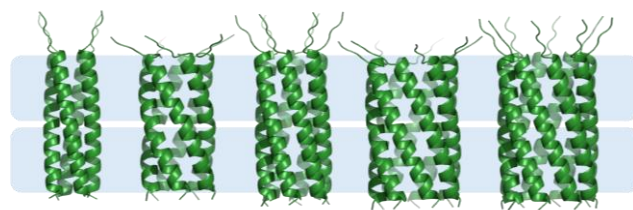


図 本課題で計算を実施したペプチド会合体の初期構造モデル

3. 結果

4 量体から 8 量体まで計 5 個の会合体構造モデルについて、コンベンショナル MD および正の膜電位存在下での MD 計算を行い、それぞれ初期構造を基準とした骨格 Ca の RMSD 値を安定性の指標として算出した。その結果、どの会合数においても顕著な安定性の違いは見られなかった。一方で分析超遠心実験の結果からはこのペプチドが 5 量体を形成することが明らかになっている。このことから、短い MD 計算を用いてペプチドの会合数を予測することは困難であると結論づけられた。

4. まとめ

本課題の結果から、分子動力学計算から膜ペプチドの会合数の予測を行うことは挑戦的であり、より長い計算時間もしくは enhanced sampling 等を用いる必要があることが示唆された。そこで実験的にペプチドのアミノ酸配列を改変して会合数を計測し、さらにイオンチャネルとしての機能計測を行った結果と合わせて論文化し国際誌へ投稿した。

5. 今後の計画・展望

本研究結果を元に今後より効率的に構造サンプリングを行うことができる分子動力学計算を適用することでペプチド会合数の予測が可能となれば、膜ペプチド de novo 設計の精度向上が期待される。

2024 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

“Rational design principles for de novo α -helical peptide barrels with dynamic conductive channels”

Ai Niitsu*, Andrew R Thomson, Alistair J Scott, Jason T Sengel, Jaewoon Jung, Kozhinjampara R Mahendran, Mikiko Sodeoka, Hagan Bayley, Yuji Sugita, Derek N Woolfson*, Mark I Wallace*

J. Am. Chem. Soc., *in press*

【口頭発表】

国際会議

1. “Membrane peptide assemblies towards dynamic, designed proteins”

A. Niitsu

The 3rd International Symposium on Biofunctional Chemistry, Aichi, 24th April 2024

国内会議

2. “De novo designed peptide channels: exploring sequence-to-structure-to-function relationships”

A. Niitsu

Protein Trajectories 2024, Earth Life Science Institute, Institute of Science Tokyo 16th December 2024

3. “De novo peptide and protein design: bridging classical and modern strategies”

A. Niitsu

蛋白研セミナーBiosimtalk#9, 大阪大学 6th December 2024

4. “膜輸送タンパク質の de novo デザイン戦略”

A. Niitsu

第47回日本分子生物学会年会, 福岡, 7th November 2024

5. “動的膜ペプチド会合体のデザインに向けて”

A. Niitsu

第 23 回日本蛋白質科学会年会, 北海道, 11th June 2024