

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

ペプチドの凝集性はアミノ酸の親水性や疎水性、総電荷、部分電荷によって決まる。これらはアミノ酸側鎖の種類による性質であると考えられている。分子動力学シミュレーション (以下 MD) 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解析する事で、メカニズムを裏付ける手法として用いられる。しかし、現在、凝集の MD シミュレーションはアミロイド形成の解析が中心で、複数の分子を用いたアモルファス凝集の解析に焦点を絞ったシミュレーションは、計算量の問題などにより行われていない。そこで本研究では MD 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

Gly, Cys を除く 18 種類のアミノ酸を用いて、同一アミノ酸 4 残基から構成されるモデルペプチドを作成し、C 末端を N-メチル化、N 末端をアセチル化した。モデルペプチドを 1 辺約 104 Å の立方体の中に等間隔で 27 分子配置し、約 30,000 個の水分子で満たした系 (濃度約 40 mM) を初期状態とした。

計算は MD 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 シミュレーション専用計算機 MD-GRAPE3 を使用した。1 atom、300 K の条件下のもとでシミュレーションを 100 ns 行い、10 ps 毎に出力される座標データやエネルギーデータの解析を行った。また、アミノ酸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間の距離が互いの原子の van der Waals 半径以下の場合、両ペプチドがクラスターを形成すると定義した。

## 3. 結果

I, V, L, N, Q, F, Y, W, M, H からなるペプチドは 23 ~ 27 分子のクラスターを形成した。一方、E, D, R, K はクラスターを形成せず、T, A, P, S は一部のペプチドがクラスターを形成していた (図 1)。クラスター形成メカニズムを解析すると、R, K, D, Q では静電エネルギーによる反発が大きく、N, Q, S, T では側鎖が関与するペプチド間の水素結合が確認され、結合による安定化がクラスター形成へ影響していると考えられる。さらに二次構造の解析により、ほとんどのペプチドがランダムコイルであることから、このクラスターはアモルファス凝集であることが確認された。これらのことから電荷の有無や側鎖の構造といったアミノ酸による違いがクラスター形成に影響を及ぼしていることが示唆された。

また、本計算結果を実験的な溶解性の値と比較した。図 1 において、クラスター形成が安定する 80 ~ 100 ns 間のクラスターサイズの平均を本研究の溶解性の指標とした。図 2 より、本計算の指標を Hydrophobicity (Nozaki, 1971) と比較すると、全てのアミノ酸で同様な傾向が見られた。その他の溶解性の指標との比較でも、I, V, L や P, Y, W などと同様な傾向が確認できた。この結果は、本計算の指標を裏付けることに加え、アミノ酸の溶解性が本シミュレーションによって再現できたことを示唆する。

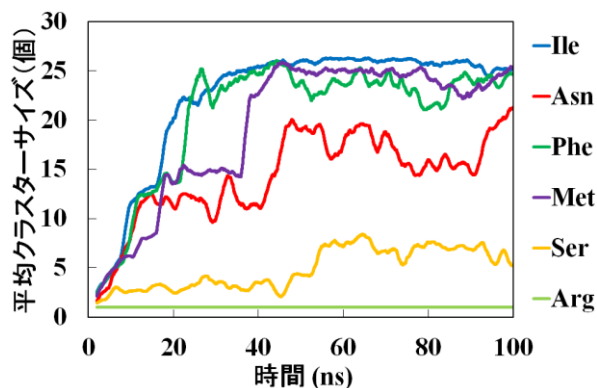


図 1 各アミノ酸の平均クラスターサイズ

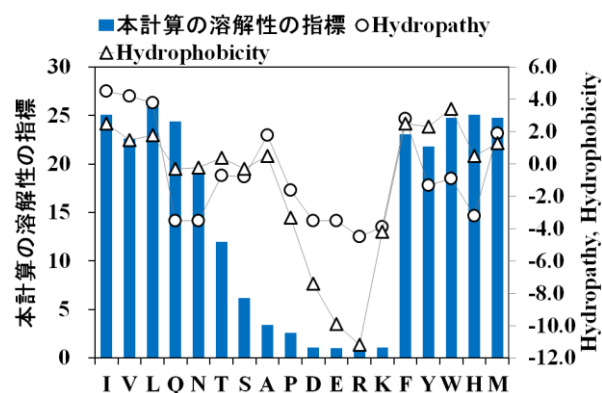


図 2 実験的なアミノ酸溶解性の指標との比較

#### 4. まとめ

本研究から、MD シミュレーションを用いてアミノ酸の種類による分子間静電エネルギーや水素結合の違いがクラスター形成に寄与していることが分子レベルの解析により確認できた。また、本計算の結果と実験的な溶解性の指標との比較により、アミノ酸間での同様な傾向が見られたことから、このクラスター形成は親水性や疎水性といった性質をよく反映していることが明らかとなった。

#### 5. 今後の計画・展望

今後は、配列のパターンや温度、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、単一アミノ酸 4 残基ではなく、配列に複数のアミノ酸を混ぜたモデルや、同じ系内に正と負の電荷を混ぜたモデルなどを作成す

るなどして、より多くの条件を計算する必要がある。また、験的な解析としては 4 残基ペプチドを合成し溶解度を測定することで、シミュレーションによる凝集性の評価と照らし合わせ、より効果的な凝集性の解析が可能になると考えられる。

平成 26 年度 RICC 利用研究成果リスト

第 14 回日本蛋白質科学会年会

発表者：佐藤 雄士

発表形式：ポスター

演題名：All atom molecular dynamics simulation of short tetra-peptides shed insights into amino acid's amorphous aggregation propensities

発表日：6 月 25 日(水)

ポスター番号：1P-115

会場：ワークピア横浜/横浜産賀ホール マリネリア

情報処理学会第 40 回バイオ情報学研究会

発表者：佐藤 雄士

発表形式：口頭発表

演題名：短いテトラペプチドの全原子シミュレーションによるアミノ酸のアモルファスな凝集性の洞察

発表日：12 月 18 日(火)

会場：産業技術総合研究所 臨海副都心センター別館