

1. 序論

生体内に存在するタンパク質は分子サイズに伴う揺らぎを持ち、その高次構造を巧みに変化させ、さまざまな機能を発現している。局所的な構造変化が、機能発現に重要な高次構造変化を誘起していると考えられるため、この構造変化の伝播を詳しく解析することができれば、タンパク質の働くしくみにせまることが可能である。タンパク質の構造変化と機能発現機構の関係に対しては実験理論の両面から多くのアプローチが試みられているが、理論的手法では、分子動力学(Molecular Dynamics: MD)法が有効である。一般的にタンパク質に対するMD計算には、計算資源・計算時間の制限から経験的・半経験的力場がよく用いられる。しかし、これらの力場ではタンパク質の高次構造の決定に重要な水素結合や疎水結合などの弱い結合を正しく表現するのは困難である。結合力としては弱いものの、これらの水素結合や疎水結合などの局所的残基間相互作用が、本質的なタンパク質の高次構造変化を引き起こしている。そこで本研究では、分子内水素結合の生成・切断に伴う動的な構造変化を理論的に追跡するために、タンパク質のプロトタイプサンプル分子系に対して、全電子を考慮した非経験的MD計算を行った。

実際の計算は、対象化合物の全電子状態を非経験的分子軌道(*ab initio* Molecular Orbital: MO)法で1stepごとに解き、エネルギー勾配法によって解析的に算出された力場を用いて、高次元アルゴリズム(Hamiltonian Algorithm: HA)^[1]に基づくMD計算を実行した。

2. 計算方法

2-1. 初期構造の決定

対象化合物は4種類のアミノ酸、グリシン(Gly)・アラニン(Ala)・アスパラギン酸(Asp)およびグルタミン酸(Glu)の5量体オリゴペプチドを用いた。初期構造は α -helix構造のうち共通の主鎖骨格を使用し、側鎖部分のみを入れ替えて構造最適化を行い、決定した。

全ての構造最適化計算は Gaussian98 を用いて

HF/3-21G レベルで実行した。

2-2. HA法に基づくMO-MD計算

ab initio MO-MD計算には、高次元アルゴリズムを組み込んだ GAMESS を使用し、HF/3-21G レベルで実行した。実際のMD計算における運動方程式の解法にはヴェルレ法を用いた。

初期エネルギーは、0.01 a.u. タイムステップは1stepを1fsとし、原子運動間のカップリングパラメータは0.02 a.u.とした。

3. 結果と考察

3-1. エネルギートラジェクトリー

4種類のアミノ酸についてのエネルギー変化をそれぞれ(Gly)₅、(Ala)₅では15psまで1ps(1000steps)ごと、(Asp)₅、(Glu)₅においては3psまで0.5ps(500steps)ごとに求めた。使用した計算機はPetium4 2.2GHzで2~8台のCPUを並列化して行った。主な計算時間は、(Gly)₅は4CPUで約18時間、(Ala)₅では6CPUで約15時間、(Asp)₅は6CPUで約30時間、(Glu)₅は7CPUで約39時間を要した。計算時間は並列化するCPU数によっても大幅に異なるが、対象分子のサイズに依存する。

(Gly)₅のエネルギートラジェクトリーを図1に示す。

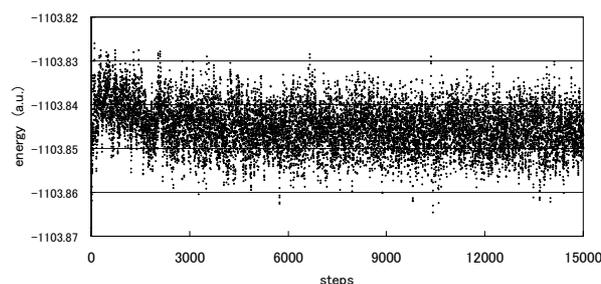


図1. (Gly)₅のエネルギートラジェクトリー

中性アミノ酸であるGlyおよびAlaは、エネルギー振幅はあまり大きくなかった。初期構造として、エネルギー的に安定な α -helix構造を用い、それに初期エネルギー(0.01 a.u.)を与えてMD計算したため、5psまではエネルギーは上昇するが、それ以降は2~3psの間でほぼ一定のトラジェクトリーを繰り返した。

(Ala)₅は(Gly)₅と類似したトラジェクトリーを

*tokiwa@chem.rikkyo.ac.jp

示した。一方、酸性アミノ酸から構成される(Asp)₅と(Glu)₅は、(Gly)₅と(Ala)₅とは異なったトラジェクトリーを示した。5 ps までは一定のエネルギーで安定したが、その後一度エネルギーが高くなり、0.5~1 ps 付近で大きく揺らいで、その後安定した。(Glu)₅のエネルギーは、他の3つのアミノ酸と異なり、大きなエネルギーの上昇は見られず、徐々に安定化した。

3-2. 構造変化

(Gly)₅と(Ala)₅の α -helix型である初期構造においては1-4および2-5残基間O \cdots H-N水素結合が形成していた。これらの水素結合距離はトラジェクトリーと共に柔軟に変化した。(Gly)₅における変化を図2に示す。

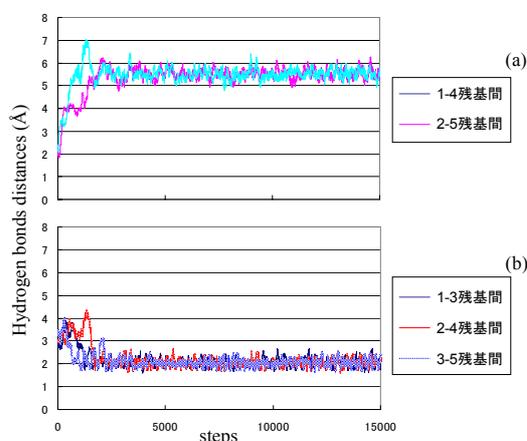


図2. (Gly)₅における水素結合距離の変化

- (a)初期構造に存在する2つの水素結合長
(b)3 ps 以降に生成した3つの水素結合長

α -helix 構造を保っていた2つの1-4および2-5残基間O \cdots H-N水素結合が3 ps までに切断され、異なる新たな3つの残基間(1-3, 2-4および3-5)にO \cdots H-N水素結合が形成された。原子運動間のカップリングを考慮したHA法に基づくMD計算では、このように比較的短い時間に水素結合の生成・切断に伴う構造変化を再現することができる。このような水素結合の生成・切断は他のオリゴペプチドにおいても同様なタイムステップで観測され、特に(Ala)₅においては1-3および2-4残基間O \cdots H-N結合と1-5残基間O \cdots H-O水素結合を形成され、構造変化が起こることが分かった。

(Asp)₅と(Glu)₅は初期構造で強い2つの水素結合を持ち、これらの水素結合は殆ど切断されることなく基本骨格を保ち続けた。

一般に、生体内におけるタンパク質やオリゴペプチドは周囲の水分子と水素結合を生成し安定構造を形成するため、親水基の多くを外側に向けてるように構造変化するが、孤立分子系では、分子内水素結合を多く形成しようとする。

図3に三次元空間における(Gly)₅の特徴的な水素結合位置の分布を示した。初期構造Aを含む領域B~Eの4つの異なる水素結合様式に対応する空間構造を得た。水素結合様式は、領域A~Eの順で、時間的に変化していく。領域Bは初期構造において形成されていた1-4および2-5残基間O \cdots H-N水素結合が切断されていく過程に対応し、領域Cは、1-4および2-5残基間の水素結合が切断された後の構造変化を示す。領域Dは、2-4残基間O \cdots H-N水素結合が、形成する過程の構造に対応する。その後、3-5残基間水素結合の形成までに、再び領域CおよびBを通り最後に領域Eに到達する。領域Eでは、1-3, 2-4および3-5残基間のO \cdots H-N水素結合が全て形成されている。

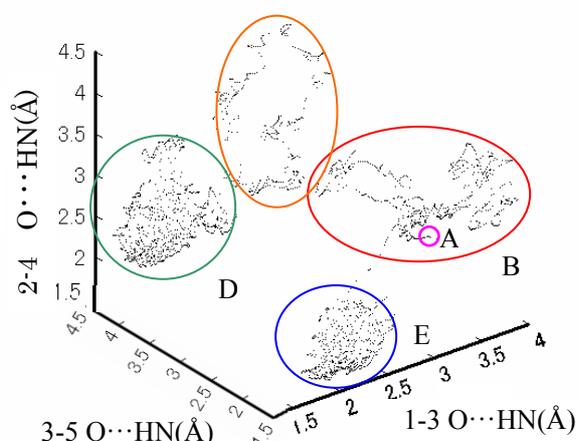


図3. (Gly)₅のコンホメーション変化の水素結合依存性

一般的にGlyは、フォールディング過程において、helix構造を破壊しやすい。^[2]3 ps以降、(Gly)₅の構造は、 β -strand構造に近い2つの局所安定点に落ち込んだ。2つの局所安定点に対する停留は、 α -helix構造が壊れた後に、新たな安定な分子内水素結合の形成に起因する。これは、Glyを多く含むペプチドは、一旦、安定化すると他の構造に移りにくいという性質に対応している。^[3]他のアミノ酸も(Gly)₅と同様に分子内水素結合による構造の安定化がみられた。(Ala)₅、(Asp)₅および(Glu)₅量体の結果については当日発表する。

参考文献

- [1] K. Ohtawara, and H. Teramae, *Chem. Phys. Lett.*, **390**, 84 (2004).
- [2] *Current Protocols in Protein Science*. Coligan, J. et al. Jhon Wiley, Chichester. (1998).
- [3] T. Ishimoto, H. Tokiwa, H. Teramae, and U. Nagashima, *Chem. Phys. Lett.*, **387**, 460 (2004).