

## マルチカノニカル法によるタンパク質の自由エネルギー地形の解析

生物分子工学研, 京大理<sup>^</sup> 中島伸介, 白井宏樹, 黒田正孝, 木寺詔紀<sup>^</sup>  
肥後順一, 中村春木

一見枚挙的に思われるタンパク質分子構造を物理の観点で理解するため、常温における様々な構造をその取りうる確率と伴に広くサンプリングすることができれば、算出されたPotential of Mean Force から、反応座標に沿って定義された複数の状態間の自由エネルギー差が見積もれると期待される。我々は、タンパク質立体構造を効果的にサンプリングする方法として、マルチカノニカル分子動力学法を開発し(1)、さらに水中での計算を実現するため、エネルギーを分割し選択的に構造探索を行う手法を開発した(2, 3)。これらの手法によって、タンパク質の局所領域のモデリング、基質とのドッキング、ペプチド・ターンの自由エネルギー地形の解析を行っているので、以下に紹介する。

## 【1】抗体分子の抗原認識部位(CDR)の重鎖ループ3(CDR-H3)部位構造の解析(4)

抗体の6ヶのCDRのうちCDR-H3を除く5つのループ構造は、それほど多様なわけではないが、CDR-H3はその長さでアミノ酸配列の多様なことによって、アミノ酸配列だけから帰納的にモデル構造を推定すること困難である。そこで、帰納的に確実である部分の立体構造は固めておき、常温でCDR-H3部位が取りうる立体構造をサンプリングする計算機実験を行った。その結果、(i) ループの初期構造によらず再現性良く広い構造空間の探索ができたこと、(ii) 単独のループのみの場合においても、そのアミノ酸配列に応じて取りうる立体構造は比較的限定されていること、(iii) CDR-H3ループだけでなく周囲を取り囲むペプチドも計算に取り入れることによって、CDR-H3ループのX線結晶構造を再現することができたこと、を示した。

## 【2】タンパク質・基質の flexible docking (5)

タンパク質・基質複合体形成は、複合体としての自由エネルギーの低い状態が実現される。従来のドッキング計算のように片方の分子を固定せず、SH3 タンパク質とその基質であるプロリン・リッチ・ペプチドの2つの分子に自由度を与えたまま複合体形成をさせるシミュレーション計算を行ったところ、X線結晶解析で観測される複合体と類似の複合体構造が、安定な一つの構造として現れた。ビデオでその様子を示す。

## 【3】ペプチド・ターン構造の自由エネルギー・プロファイルの解析

水中でのN末とC末とをそれぞれアセチルおよびN-メチルでブロックした2残基のペプチドは、アミノ酸配列に応じて種々のβ-ターン構造を形成する。ターン構造を記述する2つのパラメータによって2次元の自由エネルギー・プロファイルを描き、各準安定状態での自由エネルギー、エンタルピー、エントロピーを算出した。アミノ酸配列に応じて観測される各β-ターン構造は、経験則による傾向性と良く一致していた。また、水和に伴う各熱力学量を算出したところ、分子の溶媒露出表面積による解析との良い相関を得た。

## 【文献】

- (1) Nakajima, N. *et al.* (1997) Multicanonical ensemble generated by molecular dynamics simulation for enhanced conformational sampling of peptides. *J. Phys. Chem. B* **101**, 817-824.
- (2) Higo, J. *et al.* (1997) Two-component multicanonical Monte Carlo method for effective conformation sampling. *J. Comput. Chem.* **18**, 2086-2092.
- (3) Nakajima, N. (1998) Selectively enhanced multicanonical molecular dynamics method for conformational sampling of peptides in realistic water molecules. *Chem. Phys. Lett.* **288**, 319-326.
- (4) Shirai, H. *et al.* (1998) Conformational sampling of CDR-H3 in antibodies by multicanonical molecular dynamics simulation. *J. Mol. Biol.* **278**, 481-496.
- (5) Nakajima, N. *et al.* (1997) Flexible docking of a ligand peptide to a receptor protein by multicanonical molecular dynamics simulation. *Chem. Phys. Lett.* **278**, 297-301.