

マルチカノニカル MD 法から得られた小ペプチドのエネルギー地形とフォールディング機構

肥後 順一 1、伊藤 暢聡 2、小野 聡 3、

中島 伸介 4、黒田 正孝 5、中村 春木 4

1 東京薬科大学生命科学部、2 生物分子工学研究所、3 三菱東京製薬、4大阪大学蛋白質研究所、5田辺製薬

タンパク質の分子構造は、極めて多くの可能な状態から限られたものが選ばれている。私たちは、それら多くの安定構造をマルチカノニカル分子動力学法によって探索し、自由エネルギー地形を眺めることによって、その特定の構造が選ばれるメカニズムを理解しようと試みている。

ここでは、ペプチド分子 (Ace-Lys-Gln-Cys-Arg-Glu-Arg-Ala-Nme) に対し、その水溶液中における自由エネルギー地形を算出し、アミノ酸配列に依存した二次構造形成のメカニズムについて考察した。ちなみにこのペプチドは、DNA 結合蛋白質 cMyb のリピート 2、第 3 ヘリックスの配列に由来する。このヘリックスは蛋白質が DNA に結合する上で重要なものであり、recognition helix と呼ばれている。

マルチカノニカル分子動力学では、ペプチドを十分な量の水分子の球の中心に置き、AMBER C96 力場を用いて系のエネルギーを計算した。分子動力学を始めるにあたり、その出発構造はランダム構造とした。そして、常温でのカノニカルアンサンブルを得て、自由エネルギー地形を描いた。我々は、合わせて実験 (CD スペクトルの測定) も行い、このペプチドの水中での安定構造を調べた。その際、

構造間の違いを主鎖原子の RMSD として定義し、得られた多数の構造の違いを主成分分析によって解析した。主軸の上で得られる構造の分布がエネルギー地形である。

計算の結果、このペプチドは、室温では主にランダム構造を取ることが分かった。これは実験的結果とよく一致する。しかし、ランダム構造に対応するクラスターとは分離される形で、アルファ・ヘリックスのクラスターも得られた。その存在確率は1%以下であり、実験的には測定不可能な量であった。ヘリックス構造は、不完全なヘリックスと完全なそれが得られ、これらはエネルギー地形上別々に分離されていた。二つのヘリックスのクラスターを分離させているのは、水分子との水素結合であった。すなわち、不完全なヘリックスでは、ペプチドの主鎖の一部が水分子と水素結合をしている。一方、完全なそれでは主鎖の間にきれいな水素結合が形成されていた。カノニカルアンサンブルから解析したところ、不完全なヘリックスを安定化しているのはエントロピー（つまり、構造の不完全性が揺らぎを大きくしている）であり、完全なそれを安定化しているのはエンタルピー（揺らぎは小さいが、水素結合が構造を安定化している）であった。不完全なヘリックスは完全なヘリックスに成長するには、水との水素結合を断ち切りペプチド内水素結合を形成する必要があると、それが、自由エネルギーの障壁をもたらしていると考えられる。

はじめに述べたように、このペプチドは蛋白質の中に埋め込まれているときはヘリックス構造をとっている。この研究で、確率的には小さいがヘリックス構造も準安定であったことは、もともとこのペプチドがヘリックスになりやすい傾向をもち、蛋白質に埋め込まれた時にその傾向が発揮されることを示唆している。

さらに得られたアンサンブルには、ベータ・ヘアピンも含まれていた。こちらの存在

確率も数%であり、実験では測定不可能な含量であった。なお、ベータ・ヘアピンは、ヘリックスの場合と異なり、エネルギー地形の上ではランダム構造のクラスターに埋もれていた。このことは、このペプチドがランダム構造からベータ・ヘアピン構造に変化するのに、エネルギー障壁を超える必要がないことを示している。ベータ・ヘアピンに関する研究は、他のペプチド(室温である程度安定なベータ・ヘアピンを形成するペプチド)と合わせて考察しているので、そちらを参考にしていきたい。

ペプチドのエネルギー地形を求めるには、効率の良いサンプリング法を用いてかつ信頼性のある力場を採用する必要がある。我々の一連の研究で、10残基程度のペプチドであれば、実験結果を説明しうる計算が行える状況になってきた、といえる。

Junichi Higo, Nobutoshi Ito, Masataka Kuroda, Satoshi Ono, Nobuyuki Nakajima, and Haruki Nakamura. "Energy landscape of a peptide consisting of alpha-helix, 3(10)-helix, beta-turn, beta-hairpin, and other disordered conformations" *Protein Science*, in press.

Jucichi Higo, Oxana V. Galzitskaya, Satoshi Ono and Haruki Nakamura
Energy landscape of a -hairpin peptide in explicit water studied by
multicanonical molecular dynamics.

Chemical Physics Letters, 337 (1-3) (2001) pp. 169-175