

分子動力学計算による1残基アラニン置換体の熱安定性の計算		
黒田研究室	学籍番号 01251025	木下 啓太

【はじめに】

蛋白質の立体構造形成に必要な情報全てがそのアミノ酸配列に書き込まれていることが、C.B.Anfinsenにより提唱された。しかし、類似性の低いアミノ酸配列が非常に似た立体構造へと折り畳まれること、あるいは、蛋白質中の多くの部位がアミノ酸置換に対して寛容であることなどから、立体構造形成に寄与しないであろうアミノ酸が配列中に多く存在すると予測されている。

また、BPTI (牛脾臓トリプシンインヒビター)については、1残基アラニンスキャニング法によりBPTIの1残基アラニン置換による熱力学的安定性(自由エネルギー)の変化を調べることによって、実験的に配列中の個々の残基がどれほど立体構造形成に寄与しているかということが報告されている。本研究では、BPTIを用いて分子動力学計算(MDシミュレーション)および自由エネルギー計算法により、実験結果がどの程度再現できるか調べた。

【方法】

『BPTI[5-55]の天然状態』『BPTI[5-55]の変性状態』『アラニン置換体の天然状態』『アラニン置換体の変性状態』の4つの初期構造を設定した。天然状態の構造の座標にはPDBに登録される7PTを用い、アラニン変異体の構造もその座標を基に構築した。また、それぞれの変性状態は、置換残基を中心とした、計11残基の直鎖状のペプチドとし、N末端とC末端をそれぞれアルキルとNメチルでキャッピングしたものを初期構造とした。MDシミュレーションは、孤立境界条件の液滴モデルを使用し、タイムステップを1fsとして、1ns間行った。このとき、MDシミュレーションにかかる時間は天然状態で5日、変性状態で7日であった。自由エネルギー計算法は、Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area(MM-PBSA)とNormal-MODE analysis(N-mode)を使用し、710-1000psの10psごとの構造(計30構造)に対して行った。

【結果と考察】

実験と計算からの $\Delta\Delta G$ の比較を図①に示す。相関が見られるものを青ドットで示した。これら(3個中9個)の相関係数は0.8であった。回帰直線から離れているものが、F33A・N44A(ピンクドット)とR1A・G56A(グリーンドット)の2グループあった。R1AとG56Aはそれぞれ、BPTI[5-55]の末端近くの残基を置換したものであり、今回の変性状態の取り方から引き起こされたと考えられる。F33AとN44Aについては、同様の実験値が得られているN43AやY21Aと比較すると、分子内ポテンシャルエネルギー(結合・結合角・回転エネルギー)の項の値が極端に小さかった。また、各初期状態からのRMSD(図②)を見ると、MDシミュレーション中の振幅が小さいことがわかる。これらのことから、F33A・N44Aは局所的な安定状態から抜け出せなかったためと考えられる。

