

粗視化分子動力学シミュレーションを用いたタンパク質表面電荷が凝集性に与える影響の検討		
黒田研究室	学籍番号: 19261065	野村 竜聖

**[背景・目的]**

近年、タンパク質の細胞内凝集や液-液相分離が注目される中、当研究室の先行研究において、タンパク質に見立てた粒子の凝集を、格子モデルを用いて調べた結果、総電荷がゼロになるように作られた粒子でも、その表面電荷分布が異なることで、凝集性が変化するという結果が得られた。しかしこのモデルを実際のタンパク質の挙動を示すものとして扱うには疑問が残っていた。その理由として、先行研究で使用された粒子が単純な立方体で表現されていたため解像度が低いことに加え、分子間相互作用が簡略化された静電相互作用のみであった。本研究では分子動力学ソフトとして GROMACS を、また力場として Martini 粗視化力場を用いることで、より現実の系に近づくように詳細化すること、さらに凝集性に関わるパラメータとして重要な要素を明らかにすることを目的とした。

**[手法]**

ウシ脾臓由来トリプシン阻害剤(以下 BPTI)の野生型(PDB ID:3TGI)の pdb ファイルから、タンパク質のホモロジーモデリングソフトの MODELLER を使用し、変異体構造を作成した。凝集すると考えられる変異体(ポジティブコントロール群、以下 zero)として、総電荷ゼロであり、かつ電荷をもつと考えられるアミノ酸(本研究では Lys, Arg, Asp, Glu)を全て Ala に置換した。またネガティブコントロール群として、負電荷(以下 minus)、正電荷(以下 plus)のどちらか一方に偏るようにした変異体構造を作成した。それらを粗視化粒子に変換し、その力場情報をもとに GROMACS で計算を行った。また得られた結果は、python で書いたプログラムで分析した。本研究では一貫して平均クラスターサイズ(以下 MCS)に基づいて現象を分析した。それに加えて、粗視化粒子のファンデルワールス半径から算出した距離を接触判定距離( $r$ )として、タンパク質同士の接触判定をした。

**[結果・考察]**

コントロール群をイオン濃度 100mM の 40nm 四方の系に配置したところ図 1 のような結果になった。ポジティブコントロールとして用意したサンプル(zero)の MCS が上昇したことは想定通りの結果であったが、ネガティブコントロールとして用意した二種類の内、plus の MCS が増加するという結果になった。原因として、電荷の大きさ(plus が 3、minus が 10)があり、その差が影響した可能性、イオンによる電荷遮蔽による静電的反発の抑制、構造上の要因の三種類を考え検証した。電荷をそろえたサンプル(+10,-10,+4,-4)に対して、イオン無しで検証した(図 2)。また plus(+10)サンプルの残基ペア総接触回数を、分子間コンタクトマップにまとめた結果(図 3)から、C 末端の周りの残基の接触回数が多いことが分かったため、C 末端のチャージを中和し計算した結果、plus の MCS が minus と同程度に落ち着いた。今後、plus のみ C 末端の電荷が影響した原因をより詳細に解析し、コントロール群の条件を検討し、総電荷 0 で、かつ表面電荷分布を様々に変化させたサンプルを用いて、凝集性と表面電荷分布の関連性を明らかにしたい。

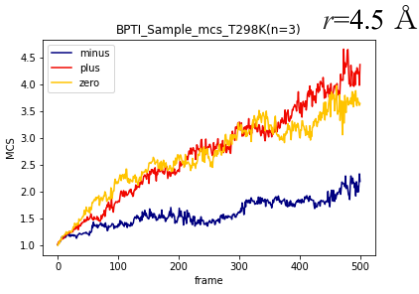


図 1)測定結果(n=3), イオン濃度 100mM

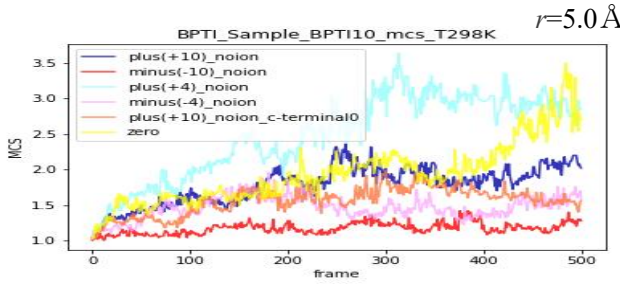


図 2)測定結果(n=1),イオン濃度 0mM

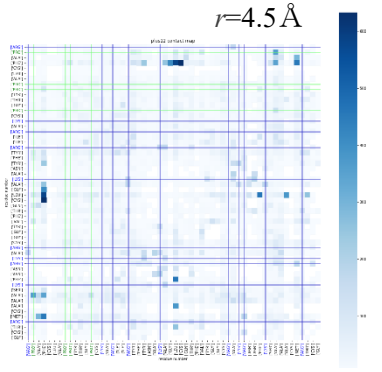


図 3)plus(+10),イオン濃度 0mM の残基ペア接触マップ