

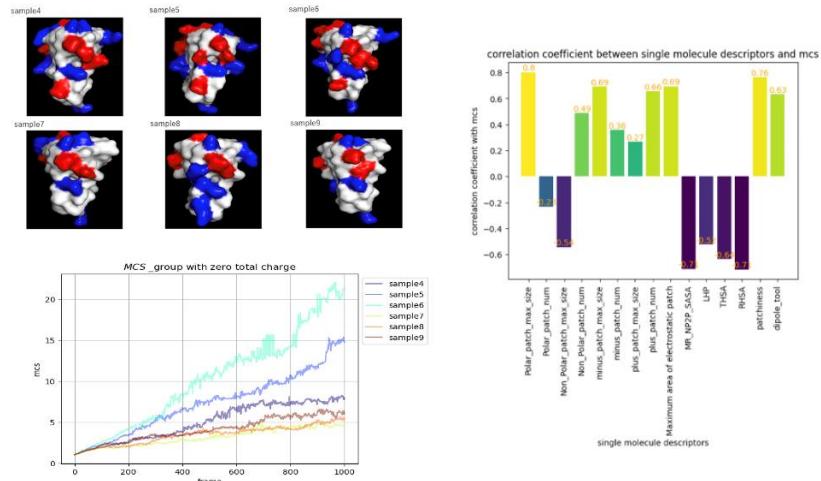
L1211-2	MARTINI 粗視化モデルと GROMACS ソフトウェアを用いたタンパク質の表面電荷分布と凝集性の関係の探索					
	氏名	野村 龍聖	主査	黒田	副査	野口・平田・Vavricka

【目的】タンパク質の凝集は様々な分野で問題になっている。凝集には大別してアモルファス凝集とアミロイド凝集があり、前者では白内障、後者ではパーキンソン病やアルツハイマー病といったような神経疾患に関わっていると言われている。抗体医薬においても、温度変化や生産・運搬工程での外部からの刺激により凝集を起こし収率の低下や機能を失う問題がある。pH や温度といった環境要因がタンパク質間の相互作用に影響を与えてこれらの現象が起こっている。我々は特に静電相互作用、それを駆動する表面電荷分布に注目した。表面電荷をパッチとみたて様々な指標に定量化し、凝集度合い(MCS, Mean cluster size)との関係性を検討した。

【方法】BPTI(Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor)を野生型として、modeller を使用して総電荷が 0、荷電性アミノ酸の個数を 7/7(酸性アミノ酸(-)個数、塩基性アミノ酸(+)個数)、4/4(前者と同様)になるように変異体構造を作成した。MARTINI 粗視化力場を使用して粗視化モデルに変換し、GROMACS ソフトウェアで MD(Molecular Dynamics)シミュレーションを行った。系は一辺が 40nm の立方体で、その内部に水分子と 100 分子の変異体構造を一種類ずつ計算した。得られた結果は、14 種類の單一分子記述子と 2 種類のクラスタートレンド分析記述子、1 種類のクラスター特徴記述子の項目に分けて python プログラムで分析した。また、力場の妥当性を評価するためリゾームを始めとした標準タンパク質五種類を、pH 緩衝液と硫安を加え、Nanodrop で上清画分の濃度測定を行い、同様のシミュレーション条件で得られた MCS との相関を解析した。

【結果・考察】

sample4~6 は (7/7) 、 sample7~9 は (4/4) の配分で分布している。正電荷を青、負電荷を赤で表示すると図のように表される。シミュレーション時間は 1us で各サンプル 5 回ずつ計算した MCS をフレーム毎に平均したものをグラフにプロットした。結果か



ら分かるように荷電性アミノ酸が同数であっても表面電荷分布が異なることで凝集度合い(MCS)に明らかな差ができることが示された。これをタンパク質の特徴を表した 15 種類の單一分子記述子という定量的な指標で表現し、MCS との相関を見た結果が右の棒グラフである。結果 Polar_patch_max_size(極性アミノ酸の最大連結表面積)や Minus_patch_max_size(負電荷の最大連結表面積)、patchiness(表面電荷の位置情報と符号情報の合算値)が比較的強い相関があった。これらは、表面電荷分布に関連する記述子であり、表面電荷分布の凝集性への影響を裏付けるものとなった。先行研究においても、表面電荷が寄り集まっているほど凝集性が上がることや patchiness と凝集性が正の相関があるといった結果が示唆されており、今回の研究と一致した。5 種類のタンパク質溶液の溶解度とシミュレーション結果の MCS が逆の相関を示したことから、MARTINI 粗視化力場の妥当性が確認できた。本研究は正味電荷の影響を無くし、表面電荷のみの影響を先行研究より現実に近い MD シミュレーションを用いて示した点で新規性がある。