トピックス

疎水コアと α -ヘリックスを含む小タンパク質の
フォールディングシミュレーション

依田隆夫 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部

杉田有治 理研・基幹研

岡本祐幸 名古屋大学大学院理学研究科

1. タンパク質のフォールディングと
シミュレーション

タンパク質分子が生理的機能を発揮する立体構造へ折りたたまれる現象をプロテインフォールディングという。試験管内で pH, 温度, 圧力などの条件を適切に調節すれば, 多くのタンパク質分子が自発的にフォールドすると広く信じられている。よって, 分子動力学シミュレーションでフォールディングを再現できることが期待される。近年の計算機能力の向上によって, これがついに実現可能になってきた。ここでは, 最近われわれが行った villin headpiece subdomain HP36 (HP36) という小タンパク質の折れたたみシミュレーション¹⁾についておもに述べる。

2. villin headpiece subdomain HP36

HP36 は, トリ villin に含まれる headpiece ドメインの C 末端近傍 35 残基に N 末端のメチオニンを付加した分子である²⁾。ドメインの「半分」でありながら内部に埋もれた疎水コアをもち, 安定な天然構造へフォールドすることが実験的に示された²⁾。また, 分子量が小さく, 速くフォールドする (5 から 10 μ 秒) ため, フォールディングシミュレーションのターゲットとして魅力的である³⁾。

3. MUCAREM で立体構造空間を効率的に探索

われわれは完全に伸びた HP36 を初期構造として, マルチカノニカルレプリカ交換法 (MUCAREM)⁴⁾ によるフォールディングシミュレーションを実行した¹⁾。MUCAREM の詳しい説明は省くが, 同手法によって構造空間を効率よく探索できる。また, 得られるシミュレーションデータを分析すると, 温度一定の条件における立体構造の分布について議論できる。

HP36 分子の周囲に陽溶媒 (水) を配置して行ったシミュレーションのデータ (合計約 2 μ 秒分) を分析した。その結果, X 線結晶構造解析により求められた構造にたいへん近い (非末端残基の主鎖 RMSD の最小値 = 1.1 Å) 構造へフォールドしたことが明らかになった (図 1 参照)¹⁾。

4. 力場選択の重要性

われわれは少し前に, MUCAREM などの手法によってタンパク質系の力場の比較を行い, 2 次構造の形成されやすさが力場の選択に依存することを示した⁵⁾。たとえば, AMBER94 力場では α -ヘリックスがかなり形成されやすく, GROMOS96 (43a1), AMBER96 (C96) 力場では β ストランドが形成されやすい。

現実にはヘリックスを含まないタンパク質にもターン構造があり, ヘリカルなタンパク質である HP36 にもペプチド鎖の伸びている領域がある。したがって, あ

図 1
シミュレーションで観察された天然類似構造 (緑)。X 線構造 (PDB ID: 1YRF, 灰色) を重ねて表示した。

Folding Simulation of a Mini Protein with a Hydrophobic Core and α -helicesTakao YODA¹, Yuji SUGITA² and Yuko OKAMOTO³¹Nagahama Institute of Bio-Science and Technology²RIKEN Advanced Science Institute³Graduate School of Science, Nagoya University

る特定の2次構造ばかりが形成される力場を選択するとタンパク質が天然構造にフォールドしにくくなると考えられる。つまり、異なる種類の2次構造の形成能がバランスしていることが望ましい。そのために、量子化学計算あるいは実際のタンパク質の天然構造データを参照して⁶⁾、主鎖二面角に依存するエネルギー項(のパラメータ)を調節することが行われている。

今回われわれが行ったHP36のシミュレーションでは、そのような力場の1つであるCHARMM/CMAP力場⁷⁾を使用した。これは、主鎖二面角のエネルギーを補正するために、 ϕ と ψ の交差項を含む関数(双3次補間によって求める)を用いるものである。

5. MUCAREMで観察したHP36のフォールディング

タンパク質がフォールドするときには、分子サイズのコンパクト化、天然の2次構造の形成、内部に埋もれる部位の脱水和が起こる。これらがHP36分子のどの部位でいつ起こるのかについて調べた。ここでは折れたたみの度合いを表す指標として、1次構造上離れた側鎖間の天然コンタクト数を用いた。

図2は、疎水コアとturn2部位の側鎖(図中にスティック表示で示した)の脱水和がいつ起こるかを調べた結果である。疎水コアの脱水和はフォールディングの後のほうの段階で起こることがわかった。

図2 疎水コア(細線)とturn2部位(太線)の側鎖に接している水分子の個数が天然状態のシミュレーション結果と同程度以下である確率。大きな値は、その部位の脱水和が進んだことを表す。実線は300 K、破線は350 Kの温度一定条件における期待値。横軸は1次構造上離れた側鎖間の天然コンタクト数/2であり、大きな値は天然構造に近いことを表す。図中下部に示したHP36の構造はX線構造。

図2からは、turn2部位の側鎖の脱水和が比較的早い段階で起こったことも読み取れる。別の解析結果から、turn2部位では天然類似の部分構造が早期に形成されることも示された。

また、2次構造については、フォールディングの初期においてhelix 3が安定に形成されるものの、helix 1とhelix 2の形成度は低いことがわかった¹⁾。

6. おわりに

以上、われわれが行ったフォールディングシミュレーションについて簡単に紹介した。シミュレーションがタンパク質のフォールディングを「見てきたように」理解する助けになると思っていたけたなら幸いである。今後は、「京」コンピュータなどの高速な計算機資源が使用可能になり、力場などのパラメータや手法の開発/改良とともに、シミュレーションによるフォールディング研究は相当の勢いで進むと期待される。

文 献

- 1) Yoda, T. *et al.* (2010) *Biophys. J.* **99**, 1637-1644.
- 2) McKnight, C. J. *et al.* (1996) *J. Mol. Biol.* **260**, 126-134.
- 3) Duan, Y., Kollman, P. A. (1998) *Science* **282**, 740-744.
- 4) Sugita, Y., Okamoto, Y. (2000) *Chem. Phys. Lett.* **329**, 261-270.
- 5) Yoda, T. *et al.* (2004) *Chem. Phys. Lett.* **386**, 460-467.
- 6) Sakae, Y., Okamoto, Y. (2010) *Mol. Sim.* **36**, 159-165.
- 7) MacKerell, Jr., A. D. *et al.* (2004) *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 698-699.

依田隆夫

依田隆夫(よだ たかお)

長浜バイオ大学バイオサイエンス学部講師、2000年東京大学理学系研究科博士課程修了、博士(理学)、分子科学研究所非常勤研究員を経て03年から現職。

研究内容: 生体分子構造形成の分子シミュレーション

連絡先: 〒526-0829 滋賀県長浜市田村町 1266

E-mail: t_yoda@nagahama-i-bio.ac.jp

杉田有治

杉田有治(すぎた ゆうじ)

理化学研究所基幹研究所准主任研究員、1998年京都大学大学院理学研究科博士課程修了、博士(理学)、理化学研究所奨励研究員、分子科学研究所助手、東京大学講師を経て2007年から現職。

研究内容: 計算機シミュレーション

連絡先: 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

E-mail: sugita@riken.jp

岡本祐幸

岡本祐幸(おかもと ゆうこう)

名古屋大学大学院理学研究科教授、1984年コーネル大学大学院博士課程修了、Ph.D.、奈良女子大学理学部助手、助教授、分子科学研究所助教授、総合研究大学院大学助教授(併任)などをを経て2005年から現職。

研究内容: 計算機シミュレーション

連絡先: 〒464-8602 愛知県名古屋市中種区不老町

E-mail: okamoto@phys.nagoya-u.ac.jp