

TSUBAME 共同利用 令和2年度 学術利用 成果報告書

アミロイド形成ペプチドの安定構造に関する自由エネルギー解析
Free energy analysis on stable structures of amyloid-forming peptide

水口 朋子

Tomoko Mizuguchi

京都工芸繊維大学 材料化学系

Faculty of Materials Science and Engineering, Kyoto Institute of Technology

分子動力学シミュレーションで自由エネルギーを計算することにより、アミロイド形成ペプチドの安定構造を定量的に評価したい。タンパク質は複数の構造を取りうるため、まずは手法の有効性を確かめるために、構造がより明確な生体分子である DNA の断片を用いて引っ張りシミュレーションを行い、必要な仕事を計算した。その結果、塩基間の水素結合数が最も少ないアデニン-チミン(A-T)塩基対のみの鎖が、二本鎖をほどくための仕事が最も大きくなるという予想に反する結果が得られた。水素結合数の変化は、実際に A-T 塩基鎖が最も小さいため、水素結合以外の寄与が効いていると考えられる。

I would like to quantitatively evaluate the stable structure of amyloid-forming peptides by calculating the free energy in simulations. Since proteins can take on multiple conformations, I first performed steered molecular dynamics simulations using a fragment of DNA, a biomolecule with a clearer structure, to verify the effectiveness of the method by calculating the work to unwind the double strand. As a result, I obtained the unexpected result that a chain with only adenine-thymine base pairs, which has the lowest number of hydrogen bonds between bases, requires the most work. Since the change in the number of hydrogen bonds is actually the smallest for the adenine-thymine base chain, it is likely that contributions other than hydrogen bonds are in effect.

Keywords: タンパク質、DNA、SMD、仕事、自由エネルギー

背景と目的

アルツハイマー病やプリオン病に代表されるアミロイド病は、アミロイド線維の形成・沈着によって細胞が破壊されることが原因と考えられている。アミロイド線維形成は、タンパク質のミスフォールディングに始まると考えられているが、モノマー単独では変性状態で安定に存在することは難しく、凝集することが重要であると言われている。素過程であるモノマーの構造変化、およびダイマーの形成過程を調べることは実験では難しく、シミュレーションで明らかにすることによって、線維形成のメカニズム解明に貢献できるものとする。本研究では、モノマーやダイマーの構造安定性を調べるために、ジャルチンスキー等式を用いて、自由エネルギーを計算することを目指した。しかしながら、タンパク質は複数の構造を取りうるため、まずは手法の有効性を確かめるために、構造がより明確な生体分子である DNA の断片を用いて引っ張りシミュレーションを行い、必要な仕事を計算した。

概要

アルツハイマー病やプリオン病に代表されるアミロイド病は、アミロイド線維の形成・沈着によって細胞が破壊されることが原因と考えられている。アミロイド線維形成は、タンパク質のミスフォールディングに始まると考えられる。その後、核となる構造ができる一気に成長して線維化すると考えられているが、初期の成長過程は実験的に捉えることが難しく、計算機シミュレーションに期待が寄せられている。本課題では、分子動力学シミュレーションで自由エネルギーを計算することにより、アミロイド形成ペプチドの安定構造を定量的に評価したい。タンパク質は複数の構造を取りうるため、まずは手法の有効性を確かめるために、構造がより明確な生体分子である DNA の断片を用いて引っ張りシミュレーションを行い、必要な仕事を計算した。

結果および考察

DNA の二本鎖をほどくための酵素ヘリカーゼが結合する塩基配列を取りだし、Steered Molecular Dynamics (SMD) シミュレーションで長軸方向と垂直に引っ張ることによって、二本鎖がほどけるのに必要な仕事を計算した。比較のために、A-T 塩基対(アデニンとチミン)のみの鎖と、G-C 塩基対(グアニンとシトシン)のみの鎖も、同様に引っ張って仕事を計算した。A-T 塩基対は水素結合を2つ持ち、G-C 塩基対は3つ持つので、G-C 塩基鎖が一番仕事が大きくなると予想される。また、ヘリカーゼ結合部位は、そこから DNA がほどけるのであるから、仕事は小さいと考えられる。計算結果は、ヘリカーゼ結合配列が最も仕事が小さくなった。これは、予想を裏切らない結果であった。一方で、予想に反して A-T 塩基鎖が最も仕事が大きくなった。水素結合数の変化は、実際に A-T 塩基鎖が最も小さかったので、仕事の内訳は他の寄与が効いているということになる。

まとめ、今後の課題

タンパク質の安定性を調べる目的に向けて、まずは手法の有効性を確かめるために、より構造が明確な DNA 断片を用いて引っ張りシミュレーションを行い、仕事を計算した。10サンプルで仕事を計算したので、ジヤルチンスキー等式を使い、自由エネルギーを算出する予定である。タンパク質については、どの構造を採用し、どのように引っ張るかの選択肢が多いので、まずはダイマーをモノマーにするために必要な仕事を計算したいと考えている。