立命館大学生命科学部生命情報学科

2016年度　卒業論文

分子動力学(MD)シミュレーションによる

アスパラギン酸カルボキシル基syn/anti配座に関する検討

計算構造生物学研究室

担当教員 高橋卓也 笠原浩太

生命科学部 生命情報学科

学籍番号 2713130052-8

宮脇 聖大

目次

[**ⅰ[序論]** 3](#_Toc470171249)

[**ⅱ[方法]** 4](#_Toc470171250)

[**モデルと条件** 4](#_Toc470171251)

[**レプリカ交換分子動力学(REMD)シミュレーション** 5](#_Toc470171252)

[**アスパラギン酸カルボキシル基のエネルギー曲線** 5](#_Toc470171253)

[**Amberの二面角相互作用の関数** 5](#_Toc470171254)

[**ⅲ[結果]** 7](#_Toc470171255)

[**ⅳ[考察]** 7](#_Toc470171256)

[**[謝辞]** 7](#_Toc470171257)

[**[参考文献]** 7](#_Toc470171258)

**ⅰ[序論]**

　タンパク質やDNAをはじめとする生体高分子の動的な構造変化が、生命現象に密接に関連している。中でもカルボキシル基は生体分子化合物や薬剤などに見られ、超分子モチーフを形成する際に重要な役割を果たす。カルボキシル基は水素の結合角度により規定される二面角(O=C-O-H)の違いにより、配座はsynとantiに分けられ、synの方が安定した構造をとる。カルボキシル基の二量体及びカルボキシルモチーフ形成の際には、水素の結合におけるsyn / anti配座が関与している。これらの、原子や分子などの動きをコンピューター上でシミュレートする手法として分子動力学 (Molecular Dynamics: MD) シミュレーションが用いられ、代表的なソフトウェアの一つとしてAmberが挙げられる。

しかしAmberで使用される特定の力場(ff99SB, ff14SB, ff03)において算出されるカルボキシル基のsyn / anti配座の割合は、実験値と異なる値を示す。ポリグルタミン酸のレプリカ交換分子動力学(Replica Exchange Molecular Dynamics: REMD)シミュレーションをff14SBの力場を使用して行うと、側鎖に存在するカルボキシル基は9割以上の存在比率でantiの配座を取り、実験値とは異なる結果を示すことを確認できた。上述したように、Amber上でアミノ酸等の生体分子の挙動を正確に再現できていないことは問題視されるべき点である。また、Amberでカルボキシル基のエネルギー曲線を算出し、先行研究における量子計算により算出したエネルギー曲線と比較を行ったところ、大きな差異が確認でき、両者の曲線は不整合な形をとった。MDシミュレーションにおけるカルボキシル基配座の割合はAmberの二面角を規定する関数、そのパラメータに依存するため、そのパラメータに問題があると考えられる。Amberのパラメータを変更して、MDシミュレーションの結果が実験値と同様の結果を示すようにすることを本研究の目的とした。

そこで本研究では一残基のアスパラギン酸を使用して、Amberにおける二面角を規定しているパラメータを共同研究者の山上様が量子計算により算出した数値を用いて改変を施し、REMDシミュレーションを行って存在比の観察を行った。また、カルボキシル基二面角を-180°～180°の範囲で1°刻みで変えた360構造の一残基アスパラギン酸を用いて算出したエネルギー曲線を精察し、より高度にMDシミュレーション結果を実験値に近づけるための探索を行った。

**ⅱ[方法]**

**モデルと条件**

tleapを使用してACE(アセチル)とNME(ヌクレオチド)でキャップした1残基のアスパラギン酸(ASH)を作成し、REMDシミュレーションに用いた。アスパラギン酸の初期構造はいずれもsynで、レプリカ数は6、交換ステップ数は10、各系の温度は300-900Kで等比数列を用いて設定した。時間刻みは1fsで、10nsのシミュレーションを行った。総ステップ数について、ff14SBの力場においてのみ総ステップ数108のREMDシミュレーションも行った。以下の表1にREMDシミュレーションの計算条件をまとめた。

表1：REMDシミュレーションの計算条件

|  |  |
| --- | --- |
| レプリカ数 | 6個 |
| 温度(K) | 300, 373, 465, 579, 722, 900 |
| 力場 | ff99SB, fff03, ff14SB |
| 交換ステップ数 | 10 |
| 総ステップ数 | (a)107, (b)108 |
| 刻み幅 | 1fs(0.001ps) |

**カルボキシル基配座の規定**

カルボキシル基(O=C-O-H)は水素の結合角度により規定される二面角によって、

syn / antiに配座が分けられる。本研究では以下の表２のように、-90°～90°の時はsyn, -180°～-90°, 90°～180°の時はantiと配座を規定した。

表2：二面角に対応する配座の規定

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 二面角 | -90°~ 90° | -180°～ -90°, 90°～ 180° |
| 配座 | syn | anti |

**レプリカ交換分子動力学(REMD)シミュレーション**

REMDシミュレーションは温度のみが異なる系のレプリカをそれぞれ独立かつ、同時にMDシミュレーションを走らせている。指定した交換ステップ数に従って、詳細釣り合い条件に基づくメトロポリス判定により、それぞれの系の間で構造の交換が行われる。

レプリカiとレプリカjで交換を行うとすると遷移確率ρは以下のようになる。

ρ = min [1, exp (ΔβΔΕ)]

ここで、Δβ = 1/(kBTl)‐1/(kBTm)、ΔΕ = Ei‐Ejで、 kBはボルツマン定数、Eはレプリカi、jにおける交換を行う前のポテンシャルエネルギーに対応している。系の温度Tlはレプリカiの温度に、Tmはレプリカjの温度に対応している。

従来のMDシミュレーションでは構造がエネルギー障壁のために準安定構造にとらわれてしまい最安定構造にたどり着けないという問題点があった。REMDシミュレーションでは温度交換を行うことでエネルギー障壁を越えることができ、高温状態における構造の自由化が可能になるため、幅広くサンプリングすることができる。

## **アスパラギン酸カルボキシル基のエネルギー曲線**

　1残基のアスパラギン酸をtleapで作成し、側鎖のカルボキシル基の二面角(O=C-O-H)を-180°～180°で1°刻みで変えた360構造に対して、MDシミュレーションを行った。それぞれ1ステップずつシミュレーションを行い、ポテンシャルエネルギー、二面角相互作用、静電相互作用などのエネルギー曲線を描写した。また、計算条件を以下の表2にまとめた。

表2：計算条件

|  |  |
| --- | --- |
| ツール | Amber |
| 温度(K) | 300 |
| 溶媒 | GB-OBC(Ⅱ) |
| 力場 | ff99SB, ff03, ff14SB |

**ⅲ[結果]**

**ⅳ[考察]**

**[謝辞]**

　本研究は、立命館大学 生命科学部 生命情報学科 計算構造生物学研究室にて行いました。本研究を行うにあたり、ご指導、ご鞭撻いただきました、高橋卓也教授、笠原浩太助教に厚く御礼を申し上げます。また、同研究室の皆様に感謝を申し上げます。

**[参考文献]**

[1] Y. Sugita and Y. Okamoto, “Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding,” *Chemical Physics Letters* **314**, 141‐151, (1999).

[2]D.J.Sindhikara, Y.Meng and A.E.Roitberg, ”Exchange frequency in replica exchange molecular dynamics,” J. Chem.Phys. **128,** 024103, (2008).

[3]