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](#_Toc471766324)

[**ⅱ[方法]** 4](#_Toc471766325)

[**本実験において使用したモデルと条件** 4](#_Toc471766326)

[**カルボキシル基syn, anti配座の規定** 5](#_Toc471766327)

[**レプリカ交換分子動力学(REMD)シミュレーション** 5](#_Toc471766328)

[**1°刻みにおけるアスパラギン酸カルボキシル基のエネルギー曲線** 6](#_Toc471766329)

[**ⅲ[結果]** 7](#_Toc471766330)

[**ⅳ[考察]** 7](#_Toc471766331)

[**[謝辞]** 7](#_Toc471766332)

[**[参考文献]** 7](#_Toc471766333)

**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。例えば、胃液中で作用する消化酵素ペプシンに関して、ペプシンの触媒中心で見られるセリン及びスレオニン残基は、アスパラギン酸側鎖への水素結合により、化学反応に寄与するという事例が挙げられる。(1)本実験で扱ったアスパラギン酸中には、カルボキシル基が存在し、上述したような化学反応において重要な役割を果たす。カルボキシル基における構造の特徴の一つとして、図1のように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に分けられる。低分子のデータベースであるThe Cambridge Structural Database (CSD)のデータからカルボキシル基を調べると、synの割合がantiに比べ非常に大きく、自然界におけるカルボキシル基はsynのほうが安定した構造をとることが分かる。(2)

しかし、分子動力学 (Molecular Dynamics: MD) シミュレーションにおける代表的なソフトウェアの一つであるAmberにて用いられる、使用頻度の高い力場(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、antiの割合を大きく算出する。上記の事実は、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の配座を取ったことにより確認できた。これは、Amberでは真空中の構造に対してパラメータを最適化しているため、溶媒中においては正確なシミュレーションを行うことが現状では不可能であることが理由として挙げられる。先述したような酵素の反応過程を再現するにあたり、正しい力場を用いてシミュレーションを行うことは重要であり、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。そこで、溶媒中においてもAmberを使用して正確なシミュレーションを行えるように、Amberのパラメータを変更し、最適化することを本研究の目的とした。

そこで本研究では1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に改変を施し、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、より正確な溶媒中におけるMDシミュレーション結果を得るための探索を行った。

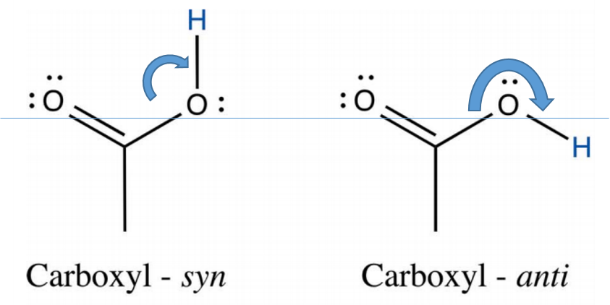


図 : カルボキシル基の水素結合におけるsyn, antiの配座

**ⅱ[方法]**

**本実験において使用したモデルと条件**

1残基のアスパラギン酸(ASH)を対象に、REMDシミュレーションを行った。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である。総ステップ数については、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。また、以下の表1にREMDシミュレーションの計算条件の詳細をまとめた。

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syn, anti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る。(3)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。

## **1°刻みにおけ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対象に、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1ステップずつ行い、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3にまとめた。

表3：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] Dunn, *Chem Rev* , *102*, 4431, (2002)

[2] Luigi D’Ascenzo, Pascal Auffinger, Acta Cryst B71, 164-1675 (2015)

[3] 大平智広, “8残基のポリアラニンを用いたレプリカ交換法の最適な計算条件の探索”, 05, (2015)