

# 12-6-4 Lennard-Jones 力場を用いた金属タンパク質の分子動力学計算

## Molecular Dynamics Simulation of Metalloprotein Using 12-6-4 Lennard-Jones Force Field

物理学専攻 湯浅 拓也

Dept. of Phys. Takuya Yuasa

### 1. 要約

分子動力学計算において従来用いられてきた非結合相互作用を表すポテンシャルパラメータは、分極効果をうまく考慮できていないため、金属タンパク質の配位構造を再現できない可能性があった。そこで、分極効果を考慮する計算項を加えた改良型力場を用いて金属タンパク質の分子動力学計算を行った。そして、改良型力場が金属イオンの配位の強さを変えることで、金属タンパク質の結晶構造中の配位構造をうまく再現することを示し、改良型力場の優位性を示唆する結果を得ることができた。

### 2. 導入

#### 2.1. 分子動力学計算の概要

分子動力学計算 (MD 計算; Molecular Dynamics Simulation) は、多数の原子や分子の集団系である液体、固体、ガラス、タンパク質などの構造やダイナミクスの研究に用いられる。MD 計算はこの集団系を構成している全ての原子 1 つ 1 つの運動について Newton の運動方程式を逐一解くことにより、その軌跡を追跡するものである。このためには、系全体の自由度の数だけ運動方程式を解く必要があるが、解析的に解くことは不可能であるため時間に沿って数値的に解く。運動方程式を解くには原子に作用する力を求めることが必要である。もしこの力の評価が十分な精度で正しいものであり、かつ運動方程式に関しても十分に精度の高い数値解が得られるとすれば、系の全自由度に対して得られた分子の軌跡は自然界で観測されるものと同等であると考えられる。MD 計算を実行する際には、系の性質を表すポテンシャルエネルギーの決定が重要である。第一原理に従い量子力学計算から求めることもできるが、計算時間が莫大になり実用上不可能である。その代わりに一般的に用いられている方法は、古典力学に基づく経験的なポテンシャルエネルギーの関数形を予め与えて、それを基に MD 計算を行う方法である。また、本研究のターゲットである金属タンパク質は、生体中のタンパク質の約半数を占め、また生体機能の重要な役割を担っており、これらの構造や挙動の解析は創薬分野での急務となっている。

#### 2.2. 先行研究

従来、MD 計算における分子間の非結合相互作用を表すポテンシャルエネルギーとして、 $r^{-12}$  項と  $r^{-6}$  項からなる 12-6 Lennard-Jones (LJ) モデル (eq.1) が用いられてきた。

$$U(r_{ij}) = \varepsilon_{ij} \left[ \left( \frac{R_{min,ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left( \frac{R_{min,ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + k \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (1)$$

ここで  $R_{min,ij}$  は平均原子間距離、 $\varepsilon_{ij}$  はポテンシャルパラメータ、 $k$  は Coulomb 定数、 $q$  は粒子の持つ電荷である。しかし、このモデルは分極効果に由来する相互作用を過小評価してしまうため、金属タンパク質における金属イオンの

配位構造を正確に表現できない可能性がある。

最近、この欠点を克服するため、Merzらは電荷-誘起双極子、双極子-双極子間相互作用を考慮する  $r^{-4}$  項を加えた 12-6-4 LJ モデル (eq.2) を提案し、金属イオンに対しパラメータを決定した。

$$U(r_{ij}) = \epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{R_{min,ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left( \frac{R_{min,ij}}{r_{ij}} \right)^6 - 2\kappa R_{min,ij}^2 \left( \frac{R_{min,ij}}{r_{ij}} \right)^4 \right] + k \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2)$$

そして、このモデルを用いて水中の金属イオンに対する MD 計算を実行し、従来のポテンシャル関数より溶媒和自由エネルギー(HFE)、イオン-水分子間距離(IOD)、配位数(CN)をよく再現することを示した。

### 3. 研究目的

本研究では、改良型 (12-6-4LJ) ポテンシャルと従来型 (12-6LJ) ポテンシャルを用いて、金属タンパク質 Parvalbumin (PV) (Fig.1) に対する MD 計算を実行し、金属イオンの配位構造を比較するものである。そして、改良型ポテンシャルの妥当性を検証することを目的とした。

### 4. 方法

ラット由来  $\beta$ -PV (PDB entry: 1rr0) の結晶構造を出発構造として、 $\text{Ca}^{2+}$  配位型、 $\text{Mg}^{2+}$  配位型におけるポテンシャル関数の差を比較した。PV は細胞内に局在する  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  結合性の低分子量タンパク質である。分子量は 10-12.5 kDa であり、その分子量の低さと構造の安定性から、分子シミュレーションの標的に広く用いられる。また、カルモジュリンなどと共通の 2 つの EF ハンドモチーフを持つ。

本研究で使用したポテンシャルパラメータおよび MD プログラムはそれぞれ、Amber.ff14SB, GENESIS である。Table 1 に MD 計算の詳細を示す。水溶液中の PV に対して温度 300 K 一定の MD 計算を 10 ns 実行した。

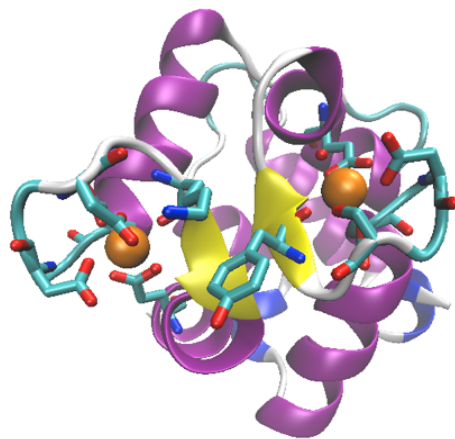


Fig. 1 Parvalbumin の結晶構造

Table 1 MD 計算における系の詳細

配位型	全原子数	タンパク質原子数	水分子数	イオン	Box size
$\text{Ca}^{2+}$	47,273	1,730	1,5181	51 $\text{K}^+$ / 44 $\text{Cl}^-$	padding = 20 Å
$\text{Mg}^{2+}$	47,273	1,730	1,5181	51 $\text{K}^+$ / 44 $\text{Cl}^-$	padding = 20 Å

## 5. 結果

Fig.3 に本研究で得られた MD 計算における代表的な構造を示す。Fig.4 にそれぞれの金属イオン-配位子間距離の時間発展を示す。Ca<sup>2+</sup>配位構造においては、改良型力場はサンプリング中に7配位および8配位構造をとったのに対し、従来型力場では8配位構造のみをとった。また、Mg<sup>2+</sup>配位構造においては、改良型力場は6配位構造のみをとったのに対し、従来型力場では6配位および7配位構造をとった。X線結晶構造における金属イオンの配位構造は、Ca<sup>2+</sup>は7配位構造、Mg<sup>2+</sup>は6配位構造をとる。したがって、従来型に比べて改良型は金属タンパク質の配位構造をよく再現したと言える。

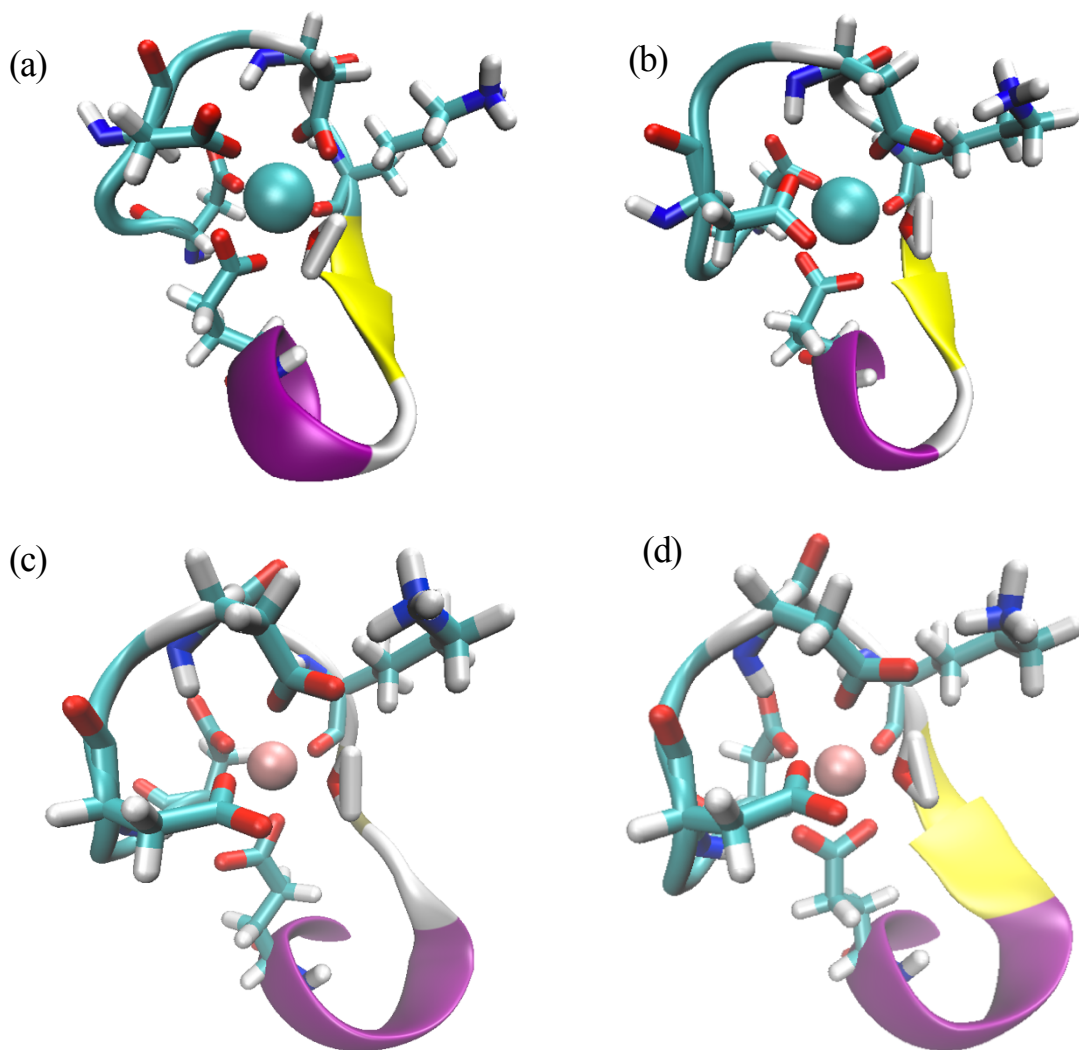


Fig. 2 本研究で得られた、金属タンパク質 PV の loopB における配位構造

- (a) Ca<sup>2+</sup>の7配位構造    (b) Ca<sup>2+</sup>の8配位構造  
(c) Mg<sup>2+</sup>の6配位構造    (d) Mg<sup>2+</sup>の7配位構造

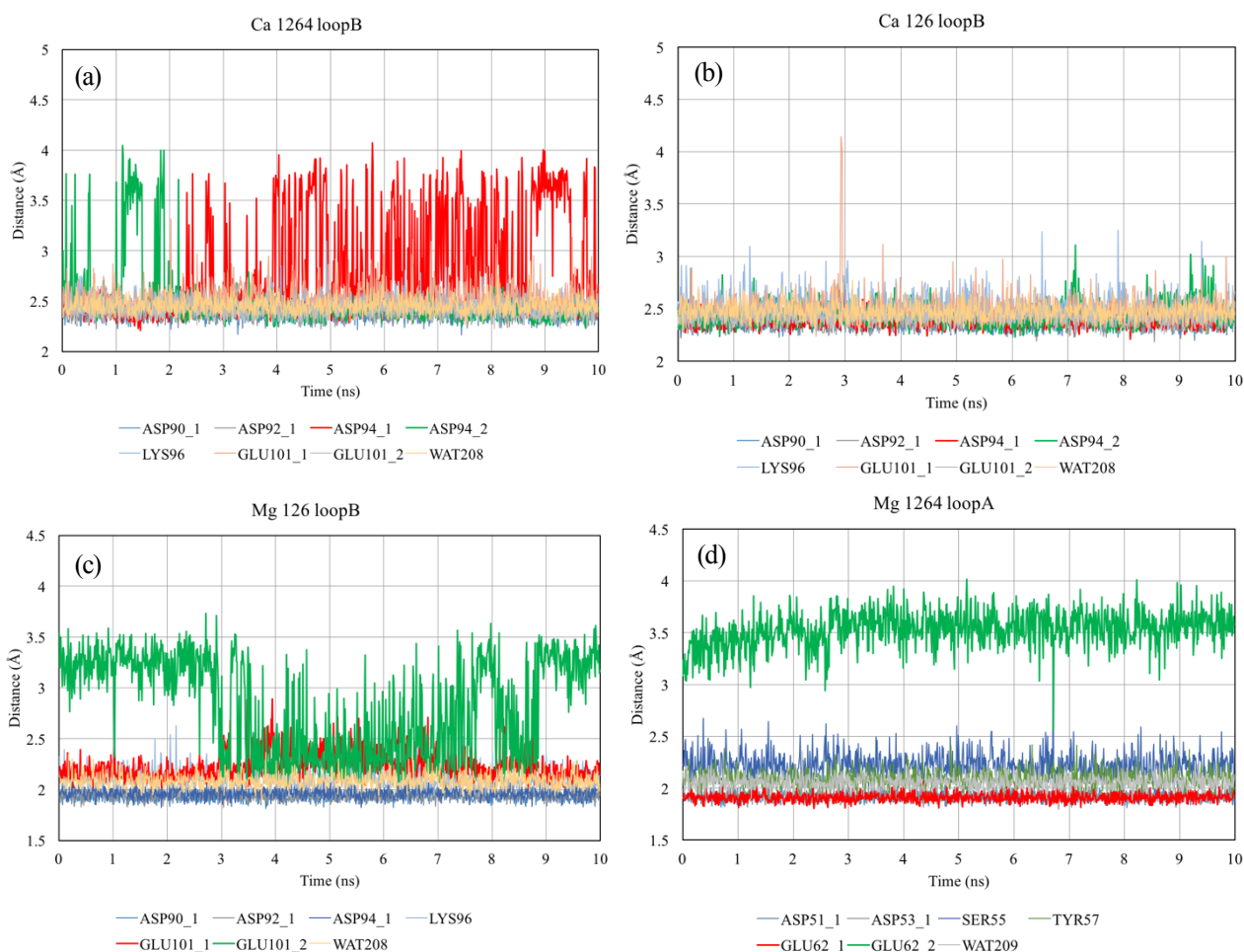


Fig. 3 金属タンパク質 PV の loopB における金属イオン-配位子間距離の時間発展

- (a) 従来型力場による Ca<sup>2+</sup>配位構造の計算結果 (b) 改良型力場による Ca<sup>2+</sup>配位構造の計算結果  
(c) 従来型力場による Mg<sup>2+</sup>配位構造の計算結果 (d) 改良型力場による Mg<sup>2+</sup>配位構造の計算結果

## 6. 考察・まとめ

本研究で得られた結果から、改良型力場は金属イオンの配位を強くすることで配位構造を安定化し、結晶構造における金属タンパク質 PV の配位構造をうまく再現することが明らかになった。すなわち、改良型力場の金属タンパク質の配位構造における優位性が示唆された。

## 参考資料

- [1] M. P. Allen, D. J. Tildesley, "Computer Simulation of Liquids" Oxford Science, Oxford (1987)
- [2] Pengfei Li and Kenneth M. Merz, Jr., JCTC. **10**, 289–297 (2014)
- [3] Pengfei Li, Lin Frank Song, and Kenneth M. Merz, Jr., JPCB. **119**, 883-895 (2015)
- [4] M. Susan Cates, et al., Biophysical Journal, **80**, 1133-1146 (2002)