

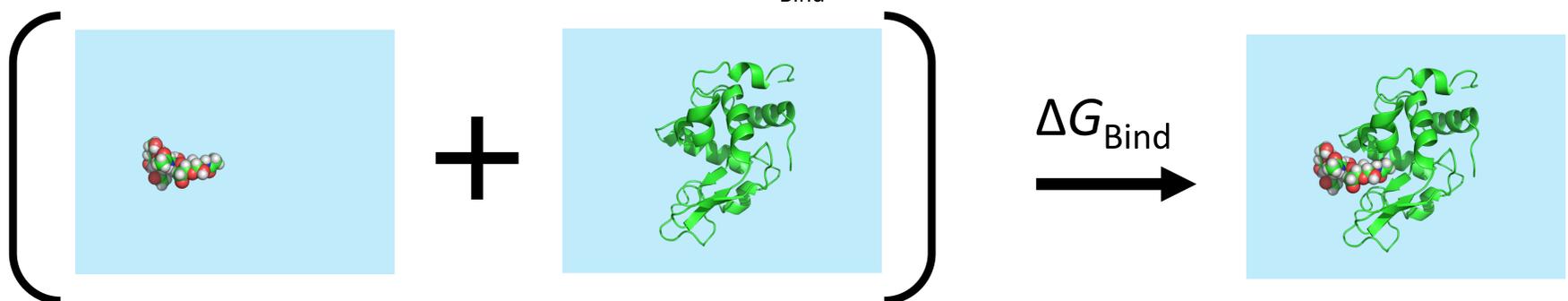
タンパク質-リガンド結合自由エネルギーにおける共溶媒濃度依存性の解明

1. イントロダクション: 全原子分子動力学 (MD) シミュレーションを用いた共溶媒添加効果の解析

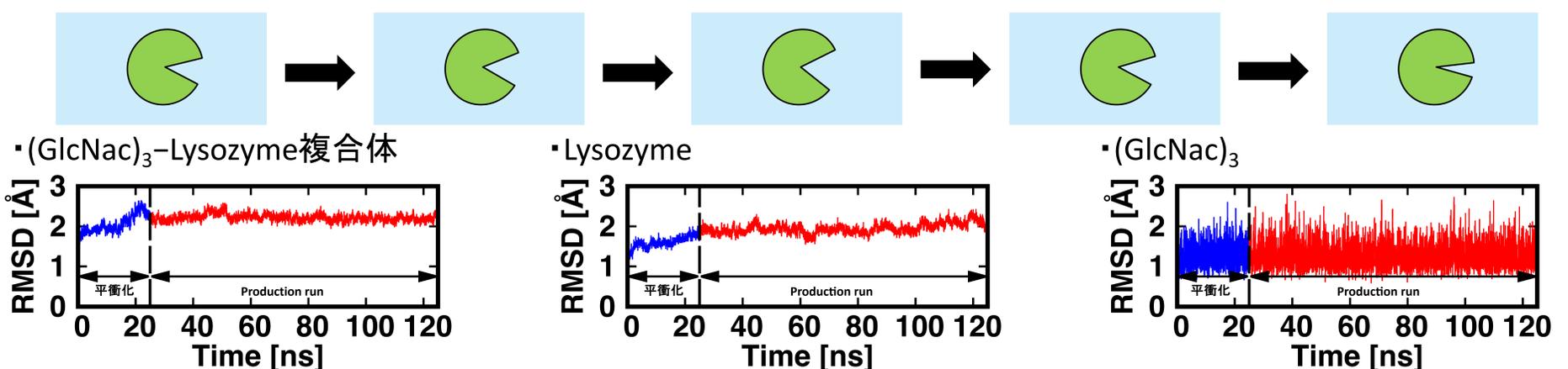
生体分子の自己組織化過程(タンパク質の折り畳み, 会合, 凝集及びタンパク質による低分子認識等)を理論的に解析する方法が求められている。特にタンパク質-リガンド結合に伴う自由エネルギー変化(結合自由エネルギー)は、結合親和性の指標であり、創薬への応用が期待されることから、重要な熱力学量である。MDにより熱力学量を計算する際、着目する分子(水溶性タンパク質, 膜タンパク質及びこれらに結合する低分子等)の周りを囲む溶媒として、水分子や脂質二重膜分子のみが考慮されることが多い。一方で、生体内(または試験管内)は多種多様な分子が入り乱れる空間である。そのため、水分子や脂質二重膜以外の分子(共溶媒分子)の効果を取り入れた結合自由エネルギー計算が求められている。

2. 本研究の目的: 共溶媒濃度依存的な結合親和性低下の物理起源を全原子レベルで解明

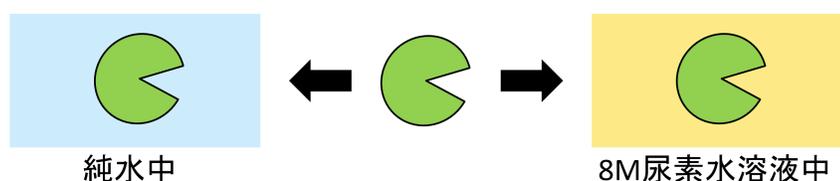
タンパク質-リガンド結合に影響を与える共溶媒分子及びその濃度依存性に着目し、結合親和性変化の物理起源を全原子レベルで明らかにすることを目的とする。MDとエネルギー表示理論(ER)とを組み合わせた結合自由エネルギー(ΔG_{Bind})の計算を行い、その共溶媒濃度依存の変化を実験値と比較し定性及び定量性を検討、その後、添加効果における物理因子の解析を実施する。対象として、8M尿素添加による(GlcNac)₃-Lysozyme結合親和性低下(実験において ΔG_{Bind} が ~ 1.6 kcal/mol 上昇)に着目し、まずこの共溶媒濃度における ΔG_{Bind} 差の計算値がどの程度実験値と一致するか検討を行う。



共溶媒を添加することで結合の親和性つまり ΔG_{Bind} が変化 \Rightarrow どのような物理起源なのかを求める

3. 研究内容の紹介: MDによる ΔG_{Bind} の差は実験値をどこまで再現する?a. 溶質((GlcNac)₃-Lysozyme複合体, Lysozyme及び(GlcNac)₃)構造のサンプリングMDを実施(純水中)

b. 溶質代表構造(20ns毎の構造)を純水及び8M尿素水溶液へ挿入し溶媒和構造をMDでサンプリング



溶媒和構造のサンプリングの際、溶質の構造を固定

両溶媒において溶質の構造が共通

溶質の構造エネルギー及びエントロピーが共通

ΔG_{Bind} の差($\Delta\Delta G_{\text{Bind}}$)を溶媒和自由エネルギーから求めることが可能

c. ER法による溶媒和自由エネルギー(SFE)計算

- 各溶質のSFEの値(単位はkcal/mol)

	純水中	8M尿素水溶液中
(GlcNac) ₃ -Lysozyme複合体	-1103.64 ± 5.14	-1315.54 ± 7.27
Lysozyme	-1066.90 ± 5.44	-1280.47 ± 4.84
(GlcNac) ₃	-58.78 ± 0.57	-76.18 ± 0.67

- $\Delta\Delta G_{\text{Bind}}$ を見積もると19.07 kcal/molであり、尿素添加効果を定性的には再現
- $\Delta\Delta G_{\text{Bind}}$ の計算値が実験値よりも1オーダー高いこと、及びSFEの計算誤差が高いことが課題
- 代表構造を用いた計算結果であるので、SFE計算に用いる溶質構造を増やすことで、定量性の改善が期待