

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 30 日現在

機関番号：32659  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2012～2014  
課題番号：24540442  
研究課題名(和文) ペプチドとゲルの統計力学的性質の比較と応用

研究課題名(英文) Statistical Properties of Peptide and Gel

## 研究代表者

高須 昌子 (Takasu, Masako)

東京薬科大学・生命科学部・教授

研究者番号：50202148

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ペプチドやタンパク質は、アミノ酸が鎖状に結合してできる高分子であり、生体内で特異的な働きをする。一方、ポリマーは同じ種類のモノマーが結合して、役立つ素材を作ることができる。この両者の違いは統計力学的に興味深い。本研究では、主に分子動力学の手法を用いて、ペプチド、タンパク質、ゲルの構造や動きを研究した。ペプチドとしては、細胞接着に関連したEF1、EF2や糖尿病に関連したペプチドを対象とした。またタンパク質の繊維化に関しては、どのような変異を導入すると結合しやすくなるかを計算して実験の指標とした。ゲル化の計算を行い、ペプチドとの違いを議論した。

研究成果の概要(英文)：We study the statistical properties of peptides and gel. Peptides consist of amino acids and take particular conformation in solvent. Polymers and gels are usually made from monomers and can take different conformations and are useful material for industrial purposes. Peptides related to cell attachment, and the peptides related to diabetics are studied using molecular dynamics simulation. We use all-atom model or coarse grained model for our study.

研究分野：1 生物物理・化学物理

キーワード：ペプチド ゲル シミュレーション 分子動力学

### 1. 研究開始当初の背景

ペプチドやタンパク質は、アミノ酸が鎖状に結合してできる高分子であり、生体内で特異的な働きをする。一方、ポリマーは同じ種類のモノマーが結合して、役立つ素材を作ることができる。この両者の違いは統計力学的に興味深い。

### 2. 研究の目的

本研究では、タンパク質やペプチドの構造や動きを研究すると同時に、同一のモノマーから成るポリマーやゲルと比較し、統計力学的性質を議論する。

### 3. 研究の方法

対象となるペプチド、タンパク質、ゲルに対して、分子動力学の方法を用いて研究した。ペプチドに対しては全原子モデルを用いた。タンパク質に対しては、全原子モデルを中心に一部、粗視化モデルを用いた。ゲルに関しては粗視化モデルを使っている。

### 4. 研究成果

本研究費により、次の4つの研究を行った。

#### (1) タンパク質の繊維化のシミュレーション

タンパク質に対して、ユニット天然構造を維持したまま繊維化させることをめざし、疎水性相互作用を反映させて自発的に重合する繊維を設計している。繊維のユニットとなるタンパク質として、大腸菌 Lac repressor のC末端を模倣した人工タンパク質 LARFH、超好熱菌由来のタンパク質スレリスリン、そして3-イソプロプルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH)を用いた。荷電アミノ酸の変異を導入することにより、繊維の伸長方向を固定することを試みた。たとえば、LARFH においては、疎水コアの外側のタンパク質表面にロイシンおよび正(負)電荷を持つリジン(グルタミン酸)の変異を導入したものをを用いた。本研究では、実験では確認できないミクロな挙動を、計算機的手法を用いて解析し、ナノ繊維として安定性の高い条件(変異の導入法、タンパク質の組み合わせ、溶媒など)を探索した。

全原子モデルの分子動力学シミュレーションを行い、アンブレラサンプリング法により、野生型においては疎水性相互作用が、変異型においては静電相互作用が安定性に寄与していることがわかった。

また、全原子の分子動力学シミュレーションの結果から、インターフェース内の疎水性アミノ酸が多いほど、また、電荷アミノ酸の数が多いほど、タンパク質結合がよく起こる傾向が見られた。また導入したロイシンが結合によって分子間内側に埋没していく時間変化が追跡できた。

粗視化モデル(MARTINI 力場)のシミュレーションを行い、野生型の方が比較的早い段階で凝集体を形成することがわかった。また、

スレリスリンには金属イオンが含まれているが、これらの金属イオン近傍における電子状態をMOを用いて計算した。

またこれと関連して、ペプチドにおける電子状態の計算、およびタンパク質における金属イオンの周辺力場の計算や、水分子の影響に関しても計算した。特に、抗がん作用をもつ環状ヘキサペプチドに関して、コンフォーマーに注目し研究を行った。分子動力学シミュレーションの結果から、コンフォーマーごとに水素結合の形成割合が異なることが分かった。また、がん原遺伝子 Hras の生成物 Hras タンパク質に関して分子動力学法を用いて研究した。シミュレーションの軌道から switch 1 周辺の水分子の配向場の時間変化と個々の水分子の水素結合を解析、GTP と GDP に関して比較した。

#### (2) 細胞接着ペプチドのシミュレーションによる研究

ラミニンは細胞接着に関係したタンパク質であるが、このラミニンの一部を取り出した配列を持つペプチドに関して、シミュレーションを行った。その結果、この A2G80 ペプチドは、水和状態で比較的安定した構造を維持することがわかった。エネルギー最小状態の構造は、シート様構造をとることがわかった。

またこのペプチドのアミノ酸をアラニンに置換してシミュレーションを行った所、Tyr9 を置換した Y9 ペプチドに大きな変化が生じることがシミュレーションでわかった。Y9 ペプチドは A2G80 と同様に、シート様構造を形成する一方で、N、C末端が反り返り、

ヘリックスを内包する構造を形成することが分かった。さらに、シートを形成する水素結合に着目し、A2G80 およびアラニン置換ペプチドにおける水素結合間距離を解析したところ、Y9 ペプチドは、どの水素結合距離も大きな値を示した。これから、Tyr9 が A2G80 の構造決定に重要であることがわかった。

このように、1個のアミノ酸を変えることにより、ペプチドの性質が大きく変わる点、高分子とは異なる性質である。

ラミニン由来の接着ペプチドである EF1 の構造解析と受容体との結合を評価した。EF1 はシート構造をしており、その維持には水素結合だけでなく疎水性残基の重要性が示唆された。また、受容体との結合においては、疎水性相互作用と水素結合の両方が重要であり、水素結合は強度に関わってくると考えられる。

#### (3) 糖尿病関連ペプチドのシミュレーション

糖尿病に関連したペプチドである GLP-1(glucagon-like peptide-1) の溶液中の構造に関して分子動力学シミュレーションを用いて解析した。DPC 脂質と水の混合溶

媒中では GPL-1 は ヘリックスとなるが、純水中では ヘリックスになりにくい。そこで、DPC のミセルの近くで GLP-1 がどのような振る舞いをするかを計算した。GLP-1 は脂質ミセル環境下で C 末端からミセル表面に結合し、親水性の頭部を掻き分けて張り付くことを明らかにした。また、GLP-1 と同様の作用を示す GLP-1 受容体アゴニストの Exendin-4 と比較して、GLP-1 は受容体細胞外ドメインとの水素結合形成率が低いことが分かった。

#### (4) 化学ゲルの形成過程のシミュレーション

人工関節などに用いられるゲルの 1 つとして、正四面体や三角形の構造を持つモノマーを結合させた化学ゲルが注目を集めている。三角形型のモノマーから構成されるゲルに関して分子動力学シミュレーションを行った。反応の比較的初期にゲル化し、その後も反応が進むことがわかった。正四面体型の場合に比べて、ゲル化点での反応率が高いことがわかった。また反応の途中でダブルリンクの割合を計算して、ゲル化を妨げる要因を分析した。線形緩和弾性率の計算も行った。ペプチドやタンパク質の繊維化とポリマーのゲル化を比較した。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 24 件)

1) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Mizukami, T., Kawaguchi, K., Saito, H. and Nagao, H., The Potentials of the Atoms around Mg<sup>2+</sup> in the H-ras GTP and GDP Complexes, *Prog. Theor. Chem. Phys.* 26 (2012) 525-543.

2) Komatsu, Y., Yamada, H., Kawamoto, S., Fukuda, M., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Akanuma, S., Yamagishi, A.: Designing the Binding Surface of Proteins to Construct Nano-Fibers, *Prog. Theor. Chem. Phys.*, 26 (2012) 555-567.

3) Komatsu, Y., Fukuda, M., Yamada, H., Kawamoto, S., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Yokojima, S., Akanuma, S., Yamagishi, A., Constructing Protein Nano-Fiber and Estimation of the Electronic State Around Metal Ions, *Int. J. Quant. Chem.* 112 (2012) 3750-3755

4) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., and Nagao, H., A Molecular Dynamics Study of Hras-GTP and GDP Complexes: the Properties of Water Molecules around Guanine Nucleotide, *AIP Conf. Proc.* 1518 (2013) 594-597.

5) Fukuda, M., Komatsu, Y., Morikawa, R.,

Miyakawa, T., Takasu, M., Akanuma, S., and Yamagishi, A., Simulation Study of Protein-protein Interfaces Based on the 4-helix Bundle Structure, *AIP Conf. Proc.* 1518 (2013) 606-609.

6) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Mizukami, T., Kawaguchi, K., Saito, H., and Nagao, H., Molecular Dynamics Simulations of the Hras-GTP Complex and the Hras-GDP Complex, *Int. J. Quant. Chem.*, 113, (2013) 2333-2337.

7) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Dobashi, A., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., Nagao, H., Analysis of Water Molecules in the Hras-GTP and GDP Complexes with Molecular Dynamics Simulations, *Prog. Theor. Chem. Phys.* 27, (2013) 351-360.

8) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., and Nagao, H., Analysis of water molecules around GTP in Hras-GTP complex and GDP in Hras-GDP complex by molecular dynamics simulations, *Mol. Phys.* 112 (2014) 526-532.

9) Fukuda, M., Komatsu, Y., Yamada, H., Morikawa, R., Miyakawa, T., Takasu, M., Akanuma, S., and Yamagishi, A., Evaluation of the protein interfaces that form an intermolecular four-helix bundle as studied by computer simulation, *Mol. Sim.* 40 (2014) 498-503.

10) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, T., Saito, H., Nagao, H., Network of Water Molecules Around Guanine Nucleotide in the Hras-GTP and -GDP Complexes by MD Simulations, *JPS Conf. Proc.* 1(2014) 016006.

11) Hirata, Y., Komatsu, Y., Fukuda, M., Yamada, H., Miyakawa, T., Morikawa, R., Akanuma, S., Yamagishi, A., Takasu, M., Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulation of IPMDH Proteins, *JPS Conf. Proc.* 1 (2014) 016010.

12) Yamada, H., Fukuda, M., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Conformation Analysis of Peptides Derived from Laminin Alpha 1-2 Chain Using Molecular Dynamics Simulation, *JPS Conf. Proc.* 1(2014) 016016.

13) Fukuda, M., Yamada, H., Morikawa, R., Miyakawa, T., Takasu, M., Akanuma, S.,

Yamagishi, A., Computer Simulation Analysis of the Protein Binding Interfaces that Form a 4-Helix Bundle Motif, JPS Conf. Proc. 1(2014) 016020.

14) Fukasawa, Y., Kumai, J., Katagiri, F., Kikkawa, Y., Hozumi, K., Nomizu, M., Mori, S., Yamada, H., Fukuda, M., Miyakawa, T., Morikawa, R. and Takasu, M., Conformation Analysis of the A2G80 Peptide Derived from Laminin 2 Chain by Molecular Dynamics Simulation, Peptide Science (2014), 289-292.

15) Mori, S., Yamada, H., Fukuda, M., Fukasawa, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Watanabe, T., Structure Analysis of GLP-1 by Molecular Dynamics Simulation, Peptide Science (2014), 285-288.

16) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., Nagao, H., Solvent Site-dipole Fields around Guanine Nucleotides in the Hras-GTP Complex and in the Hras-GDP Complex, AIP Conf. Proc. 1599 (2014) 322-325.

17) Ozawa, A., Yamada, H., Mori, S., Noguchi, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Molecular Dynamics Simulation of S-WT and S-G18V, JPS Conf. Proc. 5 (2015) 011003.

18) Ogawa, S., Waide, S., Takasu, M., Miyakawa, T., Morikawa, R., Sakai, T., Chung, U., Molecular Dynamics Simulation of a Coarse Grained Model of Tetra-PEG Gel with Monomers of 5 and 9 particles, JPS Conf. Proc. 5(2015) 011006.

19) Mori, S., Yamada, H., Noguchi, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Watanabe, T., Takasu, M., Structure Analysis of GLP-1 in DPC Micelle, Pep. Sci. (2015) 213-216.

20) Noguchi, Y., Yamada, H., Mori, S., Miyakawa, T., Morikawa, R., Yokojima, S., Hitotsuyanagi, Y., Takeya, K., Takasu, M., Quantum Chemical Calculations of Structure of Antitumor Cyclic Hexapeptide RA-VII, Pep. Sci. (2015) 165-168.

21) Takasu, M., Sugiyama, S., Hirata, Y., Yamada, H., Miyakawa, T., Morikawa, R., Molecular Dynamics Simulation of Coarse Grained Models of Gel and Proteins, to be published in AIP Proc. (2015).

〔国際会議発表〕(計 16 件)

1) Takasu, M., Sugiyama, H., Hirata, Y., Yamada, H., Miyakawa, T., Morikawa, R., Molecular Dynamics Simulation of Coarse Grained Models of Gel and Proteins (招待講演), Computational Chemistry Symposium in 11th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering 2015, 2015/3, Athens, Greece.

2) Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., Nagao, H., Solvent Site-dipole Fields around Guanine Nucleotides in the Hras-GTP Complex and in the Hras-GDP Complex, 7th International Conference on Times of Polymers Composites, 2014/6, Ischia, Italy.

3) Ozawa, A., Yamada, H., Mori, S., Noguchi, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Molecular Dynamics Simulation of S-WT and S-G18V, Computational Science Workshop 2014, 2014/8, Tsukuba.

4) Ogawa, S., Waide, S., Takasu, M., Miyakawa, T., Morikawa, R., Sakai, T., Chung, U., Molecular Dynamics Simulation of a Coarse Grained Model of Tetra-PEG Gel with Monomers of 5 and 9 particles, Computational Science Workshop 2014, 2014/8, Tsukuba.

〔国内会議発表〕(計 56 件)

1) 小澤愛, 山田寛尚, 森咲季子, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 分子動力学法による白内障関連タンパク CRYGS の構造変化, 日本物理学会秋季大会, 2014/9, 中部大学

2) 森咲季子, 山田寛尚, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 渡部琢也, 高須昌子, GLP-1 および GLP-1 受容体作動薬の構造解析, 日本物理学会秋季大会, 2014/9, 中部大学

3) 野口瑠, 山田寛尚, 森咲季子, 宮川毅, 森河良太, 横島智, 一柳幸生, 竹谷孝一, 高須昌子, 抗腫瘍活性ペプチド RA-VII の構造活性相関, 日本物理学会秋季大会, 2014/9, 中部大学

4) 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 片桐文彦, 保住建太郎, 吉川大和, 野水基義, 高須昌子, ラミニン由来ペプチドと受容体との結合シミュレーション, 日本物理学会秋季大会, 2014/9, 中部大学

5) 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 杉森公一, 川口一朋, 齋藤大明, 長尾秀実, Hras-GTP の GTP 周辺での溶媒水と複合体の水素結合の分子動力学法による研究, 日本物理学会秋

季大会, 2014/9, 中部大学

6) Mori, S., Yamada, H., Noguchi, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Watanabe, T., Takasu, M., Structure Analysis of GLP-1 and Exendin-4 by Molecular Dynamics Simulation, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9, 札幌

7) Noguchi, Y., Yamada, H., Mori, S., Miyakawa, T., Morikawa, R., Yokojima, S., Hitotsuyanagi, Y., Takeya, K., Takasu, M., Structure analysis of antitumor peptide RA-VII from *Rubia Cordifolia*, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9, 札幌

8) Ozawa, A., Yamada, H., Mori, S., Noguchi, Y., Miyakawa, T., Morikawa, R., Takasu, M., Structural changes of S-WT and S-G18V studied by molecular dynamics simulation, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9, 札幌

9) Miyakawa T., Morikawa, R., Takasu, M., Sugimori, K., Kawaguchi, K., Saito, H., Nagao, H., Analysis of hydrogen bonds between solvent water and atoms in the Hras-GTP complex by molecular dynamics simulations, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9, 札幌

10) Yamada, H., Miyakawa, T., Morikawa, R., Katagiri, F., Hozumi, K., Kikkawa, Y., Nomizu, M., Takasu, M., Docking simulation of cell adhesion peptide and  $\alpha 2 \beta 1$  integrin I domain, 第 52 回日本生物物理学会, 2014/9, 札幌

11) 杉山拓, 和出沙弥香, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 酒井崇匡, 鄭雄一, 正三角形型モノマーによるゲル形成過程のシミュレーション, 第 28 回 分子シミュレーション討論会, 2014/11, 仙台

12) 小澤愛, 山田寛尚, 森咲季子, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 野生型 S-クリスタリンと変異体 S-G18V の分子動力学シミュレーションによる構造比較, 第 28 回 分子シミュレーション討論会, 2014/11, 仙台

13) 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 片桐文彦, 保住建太郎, 吉川大和, 野水基義, 高須昌子, ラミニン由来細胞接着ペプチドと  $\alpha 2 \beta 1$  インテグリン I ドメインの結合シミュレーション, 第 28 回 分子シミュレーション討論会, 2014/11, 仙台

14) 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 杉森公一, 川口一朋, 齋藤大明, 長尾秀実, 水溶媒中の Hras-GTP 複合体の溶媒水との水素結合の解

析, 第 28 回 分子シミュレーション討論会, 2014/11, 仙台

15) 森咲季子, 山田寛尚, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 渡部琢也, 高須昌子, 分子動力学シミュレーションによる GLP-1 の構造解析, Supercomputer Workshop 2015, 2015/1, 岡崎

16) 杉山拓, 和出沙弥香, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 酒井崇匡, 鄭雄一, 正三角形型モノマーによるゲル形成過程のシミュレーション, 日本物理学会 2015 春季大会, 2015/3, 早稲田大学

17) 小澤愛, 山田寛尚, 森咲季子, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 高須昌子, 白内障関連タンパク質 S-クリスタリンとその変異体の構造比較, 日本物理学会 2015 春季大会, 2015/3, 早稲田大学

18) 森咲季子, 山田寛尚, 野口瑠, 宮川毅, 森河良太, 渡部琢也, 高須昌子, ミセル中での GLP-1 の分子動力学シミュレーション, 日本物理学会 2015 春季大会, 2015/3, 早稲田大学

19) 野口瑠, 山田寛尚, 森咲季子, 宮川毅, 森河良太, 横島智, 一柳幸生, 竹谷 孝一, 高須昌子, 抗腫瘍環状ペプチド RA-VII の構造解析, 日本物理学会 2015 春季大会, 2015/3, 早稲田大学

20) 山田寛尚, 宮川毅, 森河良太, 片桐文彦, 保住建太郎, 吉川大和, 野水基義, 高須昌子, 細胞接着ペプチドと受容体との結合の解析, 日本物理学会 2015 春季大会, 2015/3, 早稲田大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高須昌子 (TAKASU, Masako)  
東京薬科大学・生命科学部・教授  
研究者番号: 50202148

### (2) 研究分担者

森河良太 (MORIKAWA, Ryota)  
東京薬科大学・生命科学部・講師  
研究者番号: 70266899

宮川毅 (MIYAKAWA, Takeshi)  
東京薬科大学・情報教育研究センター (生命科学部)・助教  
研究者番号: 40287462