

審査の結果の要旨

氏名 紙谷 希

紙谷希君の博士論文は創薬標的としても重要な脂質二重膜に埋め込まれた膜タンパク質の分子動力学シミュレーションを行う上で必要不可欠な脂質分子の力場と膜タンパク質構造の再構成法に関する研究を扱っている。その第1章の序論では水溶性のタンパク質と比較して膜タンパク質を分子動力学シミュレーションで扱う方法が未熟であり種々の問題点がある事を指摘し、脂質分子の力場の改良と膜タンパク質構造を正確に構築するための方法が必要である事を説明している。

第2章では従来の脂質膜力場の検証を行っている。脂質二重膜中に埋め込まれた膜タンパク質の立体構造は、脂質膜力場の違いにより分子動力学シミュレーションで得られる構造が大きく異なる事を、G タンパク質受容体の一つである β_2 アドレナリン受容体で例示している。従来の脂質膜力場の精度を検証するために、六種類の脂質膜に対して実験データがある温度での脂質二重膜の分子動力学シミュレーションを五つの従来力場(CHARMM27、CHARMM36、Slipids、GAFFlipid、Lipid14)で行い、脂質二重膜の密度の温度変化を実験とシミュレーションで比較している。その結果、最近開発された CHARMM36、Slipids、Lipid14 はほぼ同じくらいの精度で実験の振る舞いと一致している事が明らかになった。しかし力場の中身である電荷、van der Waals パラメータ、ボンドパラメータは、三つのモデルで全て異なっており、膜タンパク質モデルとの整合性も含めた検討が必要である事を指摘した。

第3章ではタンパク質の高精度力場を導出する方法と従来の脂質膜力場の導出法を比較して改良すべき点がある事を説明して脂質膜力場の改良に取り組んでいる。リン脂質分子はリン酸を含んだ head 部分と脂肪酸の tail 部分が結合した構造をもっており、リン酸の電子構造を正確に記述するには diffuse 関数を含んだ基底関数が必要で、力場電荷を正確に求めるには脂肪酸のフレキシビリティから多くの異なる構造での電子構造計算が必要になる。この二つの要請を満たして力場電荷を求めるためにリン酸脂質分子の様々な 400 にも及ぶ異なる構造の電子状態計算を行い、エネルギーの低い 256 個の電子分布を用いて RESP(restrained electrostatic potential)法による計算を成し遂げた。最も新し

い Lipid14 の電荷導出でも、リン脂質分子を **head** と **tail** に分解して、それぞれに対して 50 個ほどの構造サンプリングを行っただけである。紙谷君は 256 個の構造サンプリングで求めた電荷が十分に収束している事を示すと共に、この極めて重い計算を 10 種類のリン酸脂質分子に対して行い正確な力場電荷を求める事に成功した。得られた力場電荷を従来モデルと比較するとこれまでの電荷導出法の欠点が明らかになった。例えば Lipid14 では分解して電荷を導出した事による誤差が極めて大きい事が明確になった。

第 4 章では膜タンパク質が脂質二重膜に埋め込まれた構造をコンピュータ上に正確に構築するプログラムの開発と、それを用いて多剤排出トランスポータの膜構造を構築して、改良したリン酸脂質分子の力場を用いて分子動力学シミュレーションを実行した結果について説明している。脂質二重膜の中央付近の脂肪酸で構成される内部には水分子が入り込めない事が知られているが、シミュレーションの初期構造を作る時に水が入らないように膜タンパク質と脂質分子を隙間なく配置するには種々の工夫が必要である。従来の幾つかの方法と比較して、シミュレーションのスタート時に不自然な構造変化を起こさない最適な手続きを見出して、二種類のトランスポータで問題が起きない事を確認している。最近、X 線構造解析で立体構造が初めて解かれた ABC トランスポータについてマイクロ秒の分子動力学シミュレーションを行い、新しい脂質力場が正しく機能している事を確認した。

脂質二重膜の正確な力場は膜タンパク質の挙動を調べる上で必要不可欠でありシミュレーションの正確さに直結するものである。紙谷君はリン酸脂質分子の力場電荷を正確に求める事に初めて成功し、その改良した力場を用いて大規模な膜タンパク質のシミュレーションを準備するための方法を開発した。多剤排出トランスポータなど重要な機能を持つ膜タンパク質は多数あるが、未だに満足の行く精度を持った分子動力学計算は成功していないのが実情である。紙谷君が大変な計算を経て発見したリン酸脂質分子の電荷は従来の固定観念をくつがえすもので、新しい膜タンパク質の分子動力学シミュレーションに道を開くものである。本研究で得られた新しいリン酸脂質分子の力場は今後多くの膜タンパク質シミュレーションに使われる事が予想される。

よって本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格と認められる。