

アミノ酸とグラフェンの親和性を示す新指標を提案

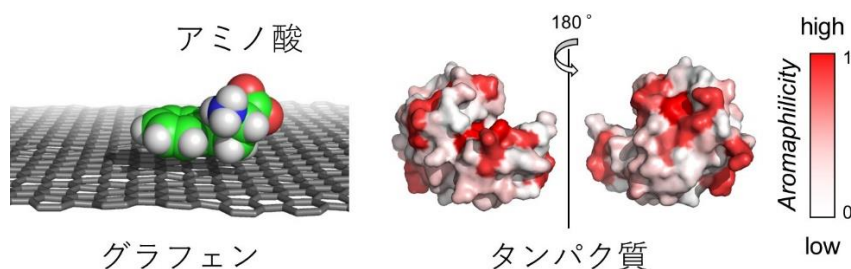
ー 芳香族物質に対するタンパク質の親和性の予測に有効 ー

■ ポイント ■

- ・ 芳香族物質表面に対するアミノ酸の親和性を表す新指標「Aromaphilicity index」を提案
- ・ 指標を用いることで、任意のタンパク質表面の芳香族親和性の分布を可視化することが可能
- ・ タンパク質と芳香族物質の間の親和性を予測できるため、複合材の設計などに有用

■ 概 要 ■

国立研究開発法人産業技術総合研究所（以下「産総研」という）ナノ材料研究部門 CNT 機能制御グループ 平野 篤 主任研究員と人工知能研究センターオーミクス情報研究チーム 亀田 倫史 主任研究員は、芳香族性の二次元材料であるグラフェンに対するアミノ酸の親和性（馴染みやすさ）を「Aromaphilicity（芳香族親和性）」と名付け、分子動力学計算（計算機シミュレーション）を用いてその定量化を行った。定量化されたデータをもとに、芳香族表面に対するアミノ酸の親和性を示す新たな指標「Aromaphilicity index（芳香族親和性指標）」を提案した。これまで、タンパク質と芳香族性のカーボン材料の複合材料を設計する上で必要となる材料間の親和性の予測は困難であった。今回、タンパク質の構成単位であるアミノ酸とグラフェンの親和性を指標化することで、任意のタンパク質と芳香族性のカーボン材料の親和性予測が可能になった。これにより、タンパク質の分子設計に基づいた複合材料の開発が可能になることが期待される。



（左）分子動力学計算から得られたアミノ酸とグラフェンが結合する際の様子。（右）タンパク質（リゾチーム）表面の Aromaphilicity の分布を可視化。赤が濃い領域ほど Aromaphilicity が高い。

■ 開発の社会的背景 ■

産業の持続可能性が求められる社会的背景の下、再生可能材料であるグラフェンやカーボンナノチューブなど芳香族性のナノ炭素材料は、その要請に応える材料としての期待が高く、各種応用に向けた研究開発が鋭意実施されている。中でもタンパク質複合材やバイオセンサーなどへの応用は、ナノ炭素材料がもつ物理的特性とタンパク質がもつ生物学的特性を効果的に組み合わせた先進的な技術応用として注目されている。それらの機能や物性を最大限に引き出す上で重要な点は、タンパク質を芳香族性のナノ炭素材料表面の狙った場所に結合させることである。しかし、タンパク質の表面構造は多様であるため、必ずしもタンパク質は狙い通りに結合するわけではない。現状、それが機能や物性の低下を招いている。たとえば、タンパク質とナノ炭素材料の複合材料を設計する場合、タンパク質表面とナノ炭素材料表面が馴染む必要がある。しかしながら、馴染みやすさの指標はなく、材料設計はこれまで試行錯誤に頼る部分が多かった。そこで、今回、分子動力学計算(計算機シミュレーション)を用いて、ナノ炭素材料に対するタンパク質の親和性(馴染みやすさ)を予測する指標を提案した。この予測法によって、これまで不可能であったタンパク質の分子設計に基づいた複合材の開発が可能になる。

■ 研究の経緯 ■

産総研は、ナノ炭素材料とタンパク質およびアミノ酸の分子論的な原理解明に取り組んできた。これまでに、芳香族アミノ酸などがナノ炭素材料の芳香族物質の表面に対して強い親和性を示すことを定性的に明らかにしてきた。

今回、分子動力学法を用いて、芳香族物質の表面に対する任意のタンパク質の親和性を予測する指標の開発を目指した。古くから、アミノ酸とその他の分子の間の親和性(馴染みやすさ)を示す指標は提案されており、油っぽい分子との親和性を示す疎水性指標(Hydrophathy index)などがあるが、芳香族物質の表面に対する親和性の指標はなかった。

なお、本研究開発は、日本学術振興会の基盤 B「超高純度カーボンナノチューブを用いたタンパク質コロナ形成機構の解明(2018～2021 年度)」による支援を受けて行ったものである。

■ 研究の内容 ■

今回、グラフェン表面に対する各種アミノ酸の結合自由エネルギーを分子動力学計算によって定量化し(図1)、その値を規格化することで新規指標「Aromaphilicity index(芳香族親和性指標)」を定義した(図2a)。規格化において、芳香族アミノ酸であるトリプトファンが示した結合自由エネルギーの最大値を Aromaphilicity index = 1、側鎖を持たないアミノ酸であるグリシンの結合自由エネルギーの値を Aromaphilicity index = 0 とした。タンパク質の構成成分である20種類のアミノ酸のうち、トリプトファン、チロシン、アルギニン、フェニルアラニンなど、側鎖の平面性が高いアミノ酸が、高い Aromaphilicity index を示した。実際、側鎖の平面部分の表面積と Aromaphilicity index には高い相関が観察されている。アスパラギン酸はグリシンよりも低い Aromaphilicity を示す傾向が観察されており、この結果はアスパラギン酸の側鎖が芳香族物質の表面を嫌う性質を示している可能性がある。Aromaphilicity を、従来の疎水性指標の一つである Hydrophathy と比較した結果、Aromaphilicity は Hydrophathy とは全く異なる傾向を示すことが明らかになった(図2a)。Aromaphilicity は、過去に実験によって示されていた文献値とも高く相関し(相関係数 $R \sim 0.89$)、分子動力学計算の妥当性も確認されている(図2b)。



図 1 結合自由エネルギーの概念。水中におけるグラフェンとアミノ酸1分子の結合自由エネルギーを分子動力学計算によって定量した。

各アミノ酸の Aromaphilicity を定義したことにより、アミノ酸を構成要素とするタンパク質の Aromaphilicity の分布を可視化することが可能になった。図2c には典型的なタンパク質の表面の Aromaphilicity の分布を示す。比較的小さなタンパク質であるリゾチームには高い Aromaphilicity が集中するホットスポットが存在することが明らかになった(矢印)。核酸結合タンパク質であるヒストンには、アルギニン由来の Aromaphilicity が高い領域が存在することが明らかになった(破線円)(その他にも Aromaphobicity が高い領域がある)。一方、血中に最も多いタンパク質である血清アルブミンにはこのようなホットスポットは存在せず、全体的に Aromaphilicity が弱く、多様な結合状態を示す可能性が高い。

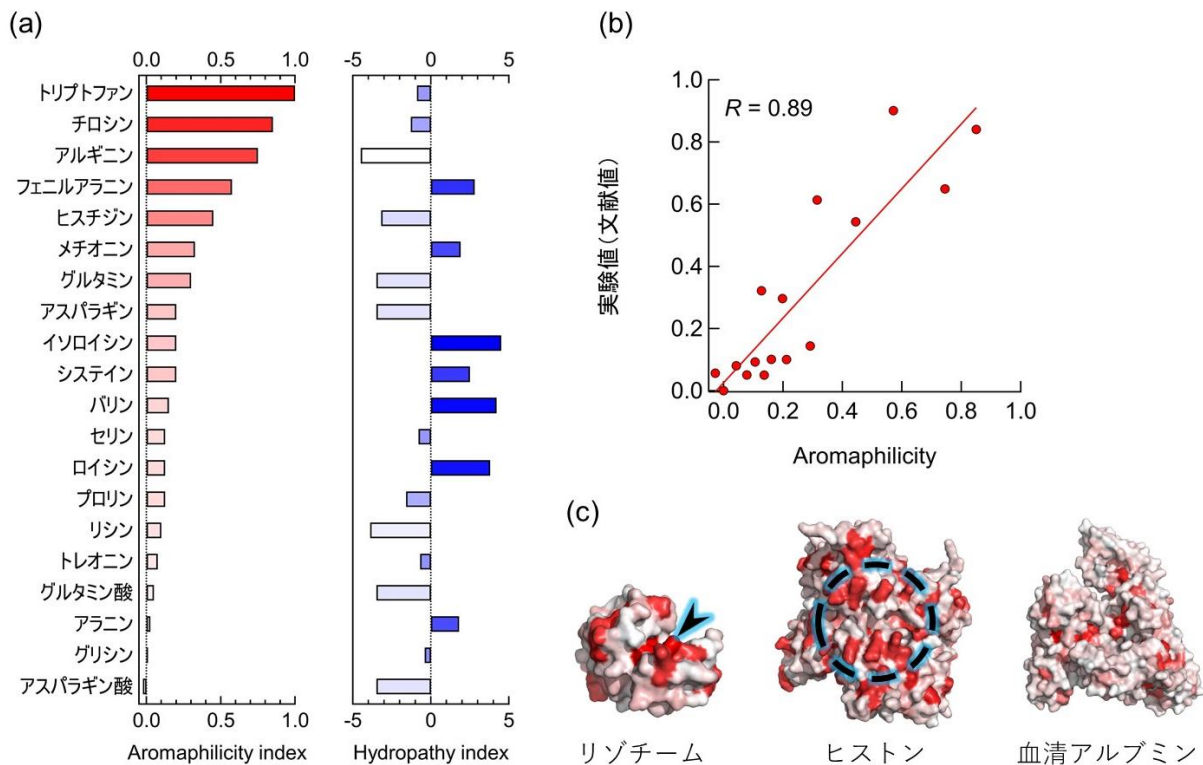


図2 (a) 今回提案する新指標 Aromaphilicity index とアミノ酸の疎水性を示す従来指標の一つ Hydropathy index の比較。数値情報は下記論文(オープンアクセス)に記載。(b) Aromaphilicity と実験値との相関。実験値は、ナノ炭素材料のひとつであるカーボンナノチューブに対するアミノ酸(16種類)の相対的な吸着量に相当。(c) タンパク質表面の Aromaphilicity プロファイルの例。矢印や破線円は、Aromaphilicity が高い領域を示している。

以上で示したように、今回提案する Aromaphilicity index はあらゆるタンパク質の表面の Aromaphilicity の分布を可視化でき、芳香族物質の表面に対するタンパク質の吸着力の予測に有効である。なお、Aromaphilicity index はグラフェンに対する親和性に基づいて定義された指標であるが、グラフェン表面が湾曲すると、曲率の増加に従って Aromaphilicity が低下することも明らかにしている。

■ 今後の予定 ■

今回提案した Aromaphilicity index の情報をもとに、芳香族物質の表面へのタンパク質の親和性を制御することで、これまでにない特性を有するカーボン/タンパク質複合繊維などの再生可能材料の開発を目指す。たとえば、芳香族物質に対する吸着面に位置するアミノ酸を Aromaphilicity の高いアミノ酸へ生物工学的に置換することで、材料間の馴染みややすさが向上し、材料特性の向上が期待できる。加えて、本指標は、薬剤などの低分子の芳香族物質の生体内動態の理解や制御にも活用することができ、幅広い応用も検討している。

■ 論文情報 ■

論文名 : Aromaphilicity Index of Amino Acids: Molecular Dynamics Simulations of the Protein Binding Affinity for Carbon Nanomaterials

著者 : Atsushi Hirano, Tomoshi Kameda

雑誌名 : ACS Applied Nano Materials

DOI: 10.1021/acsanm.0c03047 (オープンアクセス)

■ 本件問い合わせ先 ■

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

ナノ材料研究部門 CNT 機能制御グループ

主任研究員 平野 篤 〒305-8565 茨城県つくば市東 1-1-1

TEL : 209-849-1064

E-mail : hirano-a@aist.go.jp

【用語の説明】

◆アミノ酸

アミノ基とカルボキシル基の両者を有する化合物の総称。脱水縮合によって形成されるペプチド結合によって、20種類のアミノ酸がタンパク質を構成する。

◆Aromaphilicity (アロマフィリシティ、邦訳: 芳香族親和性)

芳香族物質の表面に対する親和性として今回新たに提案した用語。芳香族を意味する「aroma」と親和性を意味する「philicity」からの造語。逆に芳香族物質の表面を嫌う性質として、aromaphobicity を提案する。形容詞としては、それぞれ aromaphilic、aromaphobic を用いる。

◆分子動力学計算

分子の動的挙動を調べるコンピューターシミュレーション。分子動力学(MD)シミュレーションともいう。一般的な分子動力学計算では、分子運動を古典力学におけるニュートンの運動方程式にしたがって数値的に解く。

◆Aromaphilicity index (アロマフィリシティ インデックス、邦訳: 芳香族親和性指標)

グラフェンと各種アミノ酸の間の結合自由エネルギーについて、トリプトファンとグリシンの値で規格化した値。

◆Hydropathy index (Hydropathy scale)

疎水性の指標のひとつ。Hydrophilicity scale と同じ意味で使われることもある。代表的なものとして、タンパク質構造中のアミノ酸の側鎖の分布と、アミノ酸の側鎖の移相自由エネルギー(液相→気相)の値に基づいて算出された値が使用される。

◆結合自由エネルギー

2つの物質が結合する際に得られる自由エネルギー。今回の計算では、アミノ酸とグラフェンが十分に離れた状態と結合した状態の間での自由エネルギーの差として定義した。負に大きいほど、結合が安定であることを示す。自由エネルギーは、可逆反応における平衡の偏りの指標となる熱力学的な状態量の一つ。

◆相関係数 (R)

2 変数の間の相関関係の指標であり、0～1の値をもつ。値が大きいほど、線形的な相関関係が強いことを示す。