2PA057

量子化学計算による Ramachandran Plot の評価
○岩岡道夫, 岡田麻衣, 友田修司 (東大・院総合)

タンパク質の立体構造決定の物理化学的因子は、主として立体効果と静電相互作用、ファンデルワールス力、水素結合、疎水相互作用であると考えられている。我々は HOMO-LUMO 型の軌道相互作用（電荷移動相互作用ともいう）もその重要な因子であるとの観点から、3 種のジペプチド分子（ HCONH-CHR-CO-NH_2 ; 1 R=H , 2 R=CH_3 , 3 $\text{R=C(CH}_3)_3$ ）の Ramachandran 型エネルギーマップを *ab initio* 分子軌道計算により作成した。1 はグリシン, 2 はアラニン, 3 はバリンやイソロイシンなどの嵩高いアミノ酸のモデルである。

計算には Gaussian94 プログラムを使用し、主として分子科学研究所の演算クラスタシステム (SP2) 上で計算を行った。計算レベルは HF/3-21G//HF/3-21G (真空中) と SCRF/6-311++G(2d,2p)//HF/3-21G (水溶液中) で行い、モデル分子の二面体角 ϕ, ψ を 15 度または 30 度ずつ変えて構造最適化とエネルギー計算の連続計算を行った。

真空中で得られた Ramachandran 型のエネルギーマップでは、 $(\phi, \psi) = (\pm 180, \pm 180), (-90, +60), (+90, -60)$ 付近に 3 つのエネルギー極小が観測された。これらは分子内水素結合で安定化された構造である。タンパク質中におけるアミノ酸の Ramachandran プロットと計算から得られたエネルギーマップを比較したところ、エネルギーの準安定領域に実際のプロットが集中していることがわかった。立体効果は化合物 1, 2, 3 の順に大きくなり、エネルギーマップの非対称化と安定領域の縮小が観測された。

一方、水溶液中で得られたエネルギーマップでは、計算と実際のアミノ酸の構造がかなりよく一致することがわかった。これは、水溶液中では分子内水素結合の影響が小さくなり、真空中の準安定領域が相対的に安定化したためである。以上の結果は、 α -ヘリックスや β -ストランドなどの 2 次構造を形成する速度論的な支配因子が単一アミノ酸の性質として内在することを示唆するものである。

M. Iwaoka, M. Okada, S. Tomoda: Quantum Chemical Study of Ramachandran Plot

2PA059

膜貫通セグメント予測法の性能評価

石 皓玲¹、董 孝冰²、清水俊夫¹

(¹ 弘前大学理工学部, ² 岩手大学連合農学研究科)

文献から収集された実験的根拠に基づく膜貫通トポロジーデータを用いて、DAS (M. Cserzo, E. Wallin, I. Simon, G. von Heijne, A. Elofsson), HMMTOP (G. E. Tusnady), KKD (P. Klein, M. Kanehisa, C. DeLisi), TMAP (B. Persson, P. Argos), TMpred (K. Hofmann, W. Stoffel), MEMSAT (D. T. Jones, W. R. Taylor, J. M. Thornton), TopPred (G. von Heijne) の 7 つの膜貫通セグメント予測法の予測性能評価を行った。

予測性能の比較評価に用いた膜貫通トポロジーデータは、収集した膜貫通タンパク質に関する 735 の文献の中から、遺伝子融合等、なんらかの実験的方法によって決定された膜貫通位置および貫通方向のデータのみを抽出したものである。このデータセットには、116 エントリー (真核生物由来 57, 原核生物由来 59)、膜貫通セグメント 544 本のデータが含まれている。

予測結果と実験データとの相関係数の平均値は、原核生物の場合には、0.6708 (DAS), 0.6694 (HMMTOP), 0.6653 (KKD), 0.5934 (TMAP), 0.7277 (TMpred), 0.6706 (TopPred) であり、真核生物の場合では、0.6336 (DAS), 0.6523 (HMMTOP), 0.6263 (KKD), 0.6136 (TMAP), 0.6996 (TMpred), 0.6423 (TopPred) であった。さらに、予測セグメント本数のずれ、予測セグメント位置のずれなどを総合的に評価した結果などについても報告する予定である。

H. Shi, X. Dong, T. Shimizu: Evaluation of several transmembrane segment prediction methods by using experimental data of transmembrane topology

2PA058

ポリトピック膜蛋白質の内在性シグナル配列と膜への組み込み

○北村章子¹、阪口雅郎²、濱崎直孝¹、三原勝芳²

(¹ 九州大学医学系、臨床検査医学、² 機能高分子設計学)

小胞体は蛋白質の組み込みの場であり、多種多様な膜蛋白質が合成と同時に膜に組み込まれていく。このとき膜内トポロジーはポリペプチド鎖上の特定の配列により厳密に規定されている。

今回、膜を 1 2 回貫通すると考えられている ABC トランスポーター (P-糖蛋白) と、赤血球膜に存在し膜を 1 4 回貫通するといわれる陰イオンチャンネル形成膜蛋白質 (バンド 3) の膜への組み込みにおける膜内セグメント(TM)の機能解析を行い、以下の事を明らかにした。

- 1) P-糖蛋白の TM9, TM11 は単独では膜に組み込まれる機能が低く、膜に組み込まれない。
- 2) P-糖蛋白において TM4, TM6, TM8, TM10 は SA-活性を示し、その他の TM は単独で膜へ組み込まれにくい。
- 3) P-糖蛋白の TM8, TM10 は小胞体膜での膜透過を停止させる機能が強く、膜へ組み込まれる特性が高い。
- 4) バンド 3 の 6 番目の膜貫通セグメント(TM6)は N 末を細胞質側、C 末を内腔側に向ける配向性、いわゆるタイプ 1 シグナルアンカー配列 (SA-I) の機能を示し、直前の TM5 を積極的に膜中へ組み込ませる。

これらの膜蛋白質の TM は、膜に積極的に組み込まれないセグメントと積極的に膜へ組み込まれるものが存在することが明らかになってきた。また SA-I 機能を持つ TM は積極的に N 末側の TM の膜への組み込みに寄与している事が示唆された。

Akiko Kitamura, Masao Sakaguchi, Naotaka Hamasaki and Katsuyoshi Mihara: Internal signal sequences and integration of polytopic membrane protein

2PA060

膜貫通タンパク質データベースの構築と膜貫通トポロジー解析

董 孝冰¹ 中村信吾¹ 清水俊夫²

(¹ 岩手大学連合農学研究科, ² 弘前大学理工学部)

膜貫通タンパク質の立体構造を予測するためには、まず膜貫通部位とその方向を正確に予測しなければならない、これまでに、数多くの膜貫通部位予測法が提案されているが、それらの予測性能は決して十分なものとは言えない。その理由は、予測法の開発、その性能評価に用いられる膜貫通トポロジーデータが質、量ともに不足していることにあると考えられる。そこで、収集した文献から実験的根拠のある膜貫通トポロジーデータを抽出し、膜貫通タンパク質データベース (TMPDB, TransMembrane Protein DataBase) を構築し、膜貫通トポロジー解析を行った。

TMPDB には 111 エントリー (アミノ酸配列類似度 30% 以下、 α -ヘリックス、真核生物由来 52、原核生物由来 59) が含まれる。膜貫通セグメント (TMS) 総数は 544 である。

TMS およびその周辺を 5 つ領域 (内側ループ領域、TMS 内側末端領域、TMS 中央領域、TMS 外側末端領域、外側ループ領域) に分割して、それぞれの領域における疎水性度とアミノ酸組成などを詳しく調べた。さらに、膜内外でのループの長さ分布について調べた。その結果、領域によって平均疎水性度、荷電残基と極性残基の分布が大きく異なることが分かった。また、膜内外でループ長の特徴的分布が認められた。

このような解析の結果を利用して、より良い性能の膜貫通トポロジー予測法を開発することを目指している。

X. Dong, S. Nakamura, T. Shimizu: Construction of transmembrane protein database and topology analysis