2PA061

細胞内・外蛋白質のシス・プロリンの出現頻度

O中島広志¹、浦奈緒子¹、西川建²

(1金沢大・医・保健、2遺伝研)

「序論」細胞内蛋白質と細胞外蛋白質はいくつかの点で異なっている。細胞外蛋白質はN末端にシグナルペプチドを持ち細胞外に分泌され、先駆体が活性型となり機能が発現される。細胞外蛋白質は細胞内蛋白質より立体構造形成がゆっくり進む仕組をいくつか持っていると考えられている。蛋白質のペプチド結合はプロリン以外の残基はトランス型であるが、プロリン残基の一部はシス型で存在する。シス型プロリンは立体構造形成を遅らせると考えられている。

「結果と考察」アミノ酸配列がそれぞれ異なる立体構造既知の細胞内蛋白質104個と細胞外蛋白質68個の二面角を計算しシス型プロリンの出現頻度を調べた。予想したようにシス型プロリンは細胞内蛋白質より細胞外蛋白質に約2倍多く存在していた。シス型プロリンとトランス型プロリンそれぞれの立体構造の近傍に存在するアミノ酸残基を数えた所、分子量の大きい、つまり側鎖の容積が大きいアミノ酸がシス型プロリン近傍に多く存在していた。これはアミノ酸側鎖の立体障害がシス型プロリンと関係することを示唆した。シス型プロリン近傍のアミノ酸配列の2次構造を調べた所、シス型プロリンはベータ・ストランドには含まれた位置に多く見られた。

H. Nakashima, N. Ura and K. Nishikawa
Frequency of occurrence of cis-proline between
intracellular and extracellular proteins

2PA063

推移確率スコアを用いたタンパク質の立体構造比較
○川端 猛、西川 建(遺伝研)

立体構造の類似が進化的関係に起因するかどうか判断することは構造比較の大きなテーマの一つである。昨年の年会において、近縁のたんぱく質の比較から進化による立体構造変化の推移確率を抽出し、その外挿で遠縁の関係を記述するモデルを説明した。 i と j を構造の特徴とすると、進化的類縁かどうか判断するための類似性スコアは

$$\log \frac{P(i \text{ が推移して } j \text{ になる})}{P(\text{偶然 } j \text{ が生じる})}$$

で定義される。今回は、スコアの構築、アライメントの双方に改良を加え、より実用的なプログラム“MATRAS”を開発したので報告する。

スコアは(1)局所構造と露出度を組み合わせた「環境」型、(2)残基間の距離に着目した「距離」型、(3)2次構造要素(SSE)の配置に着目した「SSE」型の3種を作成した。アライメントはSSE→環境→距離の順に反復的に改善していく方法を採用した。このプログラムを用いて、SCOPのSuperfamilyペアの認識テストを行った。図にSpecificity(信頼性) = 80%の類似性しきい値のとき、どれだけの真のペアをカバーできるかを示した。「距離」型スコアはRMSDや「SSE」型だけより良い。認識の難しいペアを詳しく調べることによってSCOPの問題点についても検討したい。

T.Kawabata and K.Nishikawa: Protein structure comparison using transition probability matrix

2PA062

エネルギー計算によって、タンパク質の正しいフォールドと誤ったフォールドを見分ける方法
○金城 玲・西川建 (遺伝研/総研大)

タンパク質立体構造の予測法である3D-1D法の目的は正しい構造と誤った構造を見分けることであるが、実際にはfalse positiveを見分けるのが難しいという問題点がある。これは3D-1D評価関数の「粗さ」が原因だと考えられる。我々は精密な物理化学的ポテンシャルを用いて、全原子モデルを作成することによって、上の問題を解決することを試みた。あるタンパク質Aの配列をそれと同じフォールドをもつタンパク質あるいは全くフォールドの異なるタンパク質の構造に載せたモデルをdistance geometry計算で作成する。これらのモデルをAMBER(Weiner *et al.* 1986)に露出表面積に比例する水和自由エネルギー(Ooi *et al.* 1987)を加えた力場の下での模擬徐冷分子動力学法によって最適化する。

ギャップなしで、主鎖構造を固定した場合、天然構造のみならず相同な構造のエネルギーの値が、誤った構造のものよりも低くなり、正しい構造を認識することができた。しかも認識率がギャップなし threading よりも良い場合もあった。

つぎに、より遠い類似構造とのギャップありアライメントに基づいたモデルを作成した。このとき、真空中での最適化はうまく行かないことは以前報告した(蛋白合同年会99)。今回、水和の効果を取り入れ、構造の制約条件、および最適化のスケジュールを改良したことによって、正しい構造と誤った構造の識別に成功した。

A. Kinjo, K. Nishikawa: Discriminating Correct and Incorrect Folds of Proteins

2PA064

EGFレセプターのフラグメントペプチドの立体構造予測と検証

○黒田正孝、肥後順一、武藤隆則、神田大輔(生物分子工研)。

西山泰弘、栗田恵輔(成蹊大学)、中村春木(阪大・蛋白研)

EGFレセプターの細胞外ドメインのうち、lysileuropeptidaseの消化により生成される20残基、1-3、2-4のジスルフィド結合のペアパターンを持つフラグメントについて、マルチカノニカル分子動力学法を用いて、その立体構造の予測を行なった。去年の生物物理学会年会において、真空中の計算で得られた構造の中から、10構造を候補として発表した。その中で、 α -helix、 β -strand、turnといった二次構造を形成していた代表構造がいくつかあった。

今回、その10個の構造それぞれを中心に、水分子を加えた半径20Åの系について、InsecのMDを行った。さらに、PDBから、1-3、2-4のジスルフィド結合のペアパターンを持つフラグメントを抽出し、水素結合数、慣性半径、Accessible Surface Areaを計算し、これらの統計と10構造の各残基のRamachandran Plotをもとに、6構造に候補を絞った。

一方、その検証として、NMRを用いて、合成ペプチドの溶液中の立体構造決定を試みた。NMRの結果からは、立体構造を決定づけるような3残基以上はなれたNOEは、観測されなかった。しかし、C末端域は隣接残基のアミドプロトン間にNOEが多数観測され、ヘリックス構造を取り易いことがわかった。これに関して、予測した構造のうち、予想順位1位の構造を含む2構造がこれに相当した。中間領域では、アミドプロトンが複数、同定された。つまり、構造異性が存在すると考えられる。これは、予測された構造が複数あることと、合致する。

以上のように、マルチカノニカル分子動力学法を用いたペプチドの構造予測は、NMRデータと矛盾のないことが明らかとなった。また、CDや蛍光スペクトルの結果も合わせて議論する。

M. Kuroda, J. Higo, T. Muto, D. Kohda, Y. Nishiyama, K. Kurita, H. Nakamura: Conformational prediction of a fragment peptide of EGF receptor and the verification by the experimental data