2PA117

モンテカルロシミュレーションによるヘリクスターン-ヘリックス構造の予測
○目黒俊幸、山登一郎（東京理科大学・基礎工・生物工学科）

ペプチド鎖の折り畳み過程をコンピュータシミュレーションによって再現する方法の一つとしてモンテカルロ法（MC）があげられる。この方法では一本鎖の α -ヘリックス構造の形成過程をシミュレーションすることはさほど困難なことではない。ヘリックス構造の形成に重要なエネルギーは水素結合エネルギーであるため、この効果が強く現れるような力場を用いればその他のエネルギーの計算値が多少不正確なものであってもヘリックスは容易に形成されるためである。これに較べてヘリクスターン-ヘリックス構造の形成過程をシミュレーションで追いかけることははるかに困難な作業となる。なぜなら、ヘリックスを折れ曲げさせる駆動力は親水性残基による静電相互作用エネルギーや疎水性残基による疎水接合エネルギーに由来するが、これらのエネルギーの正確な評価や水素結合エネルギーとのバランスの調整が困難であるからである。

我々はprotein AのBドメインに由来する33merポリペプチドの折り畳み過程のMCシミュレーションを行った。このポリペプチドは α -ヘリックススループ- α -ヘリックス構造を形成していると考えられている。計算には分子構造の変形を効率良く行えるように改良したMC法を用いた。力場パラメータとしてAMBERのparm94.datファイルの値を用いたが、水素結合に関してはN-HとO=Cのなす角度が 180° の場合にエネルギー値が最小になるように変更した。水の効果を取り入れるために、親水性残基の側鎖による静電相互作用の影響を弱めて計算した。さらに疎水性残基の側鎖を一点で表し、それらの疎水性相互作用エネルギーをvdwエネルギーと同様の関数で求めることにした。以上の条件の下で直鎖構造を初期構造としてシミュレーションした結果、結晶からの推定構造と良く似た α -ヘリックススループ- α -ヘリックス構造が現れた。

さらに精密なシミュレーションを行うため疎水性相互作用エネルギーをペプチド鎖の露出表面積から求める方法について現在検討を続けている。

T. Meguro, I. Yamato : Prediction of helix-turn-helix structure by Monte Carlo simulation.

2PA118

立体構造および機能部位が類似のモジュールに見られるアミノ酸配列パターン：リン酸基結合ヘリックス・ターン・ヘリックスモジュールの場合
○由良 敬¹、藤 博幸²、郷 通子¹（¹名大・院理、²生物分子工学研）

ゲノムの配列が急速に解明されていくにともない、ゲノムにコードされているタンパク質の機能を予測する方法の開発が求められるようになってきた。既存のホモロジーサーチでは、コードされているタンパク質の約半数しか機能を推定することができない。我々は現在までに立体構造およびDNAリン酸基との結合様式が類似のリン酸基結合ヘリックス・ターン・ヘリックス（pbHTH）モジュールを、全体構造の異なる転写因子およびDNA修復酵素に見い出してきた。pbHTHモジュールは立体構造が類似しているにもかかわらず、アミノ酸配列の類似度は高くない。しかしこれらのモジュールのアミノ酸配列になんらかのパターンを見出し、そのパターンを機能未知のタンパク質に見出すことで、そのタンパク質の機能を推定できる可能性がある。そこでアミノ酸配列からpbHTHモジュールを推定することを目的に、これらのモジュールの機能的および構造的特徴を反映したアミノ酸配列パターン（3Dキーノート）を構築した。機能的な制約として以下の3点があることがわかった。1）モジュールの主鎖とDNAリン酸基が水素結合を形成するため、モジュールの主鎖のアミド基が水素結合可能な状態でなければならない。2）C末端側ヘリックスのN末端側にDNAが接近するため、付近の残基の側鎖は小型でなければならない。3）Arg/Lysが存在しDNAのリン酸基と相互作用している。ただし一次構造上での位置は保存されていない。構造的な制約として、モジュール内部で接触している残基のアミノ酸配列上の位置とその側鎖の大きさが保存されていることがわかった。以上の特徴から、pbHTHモジュールの3Dキーノートを構築することができた。この3Dキーノートを用いてラン藻の全ゲノム検索を行ったところ、機能未知のタンパク質にpbHTHモジュールを持つORFを見い出すことができた。

K. Yura, H. Toh, M. Gō: 3D-keynote for structurally and functionally similar pbHTH modules.

2PA119

TIMバレル融合型タンパク質におけるドメインの融合
○塩生真史、郷 通子
（名大・院理・生命理学）

タンパク質の中にはTIMバレル型ドメインと他のドメインが組み合わさってできているものがある（TIMバレル融合型タンパク質）。ドメイン同士の相対的な位置や動きはそのタンパク質の機能に重要であり、それらはドメイン間接触部位と密接に関わっている。我々は以前、逆転写酵素において、ドメインの融合の際に数残基の適応的アミノ酸置換が起きたことを示した。（Shirai, T. & Gō, M. 1997. J. Mol. Evol.）ではTIMバレル融合型タンパク質においても、ドメインの融合に伴ってアミノ酸置換が起きているのだろうか？それともモジュールのような構造単位の挿入・欠失が起きているのだろうか？モジュールはコンパクトな立体構造を持ち、平均十数残基の連続したアミノ酸からなる。

キチンを分解する酵素であるキチナーゼにも、触媒ドメインがTIMバレル型をしているものが存在する。そのうちchitinase AはN端ドメイン、触媒ドメイン、触媒ドメインの途中に挿入された $\alpha + \beta$ ドメインの3つのドメインからなっている。chitinase Aの触媒ドメインと、触媒ドメインのみを持つキチナーゼであるhevamineにおいてアミノ酸配列と立体構造の比較を行った。その結果、chitinase Aの触媒ドメインにはhevamineと比較して余分なモジュールが4つ（M16, M17, M27, M28）存在した。このうち、M16とM17にはN端ドメインと触媒ドメインの接触に関わる残基が集中しており、M27とM28には $\alpha + \beta$ ドメインとの接触に関わる残基が集中していた。これらのモジュールは触媒ドメインとそれぞれのドメインが融合した際に、ドメイン間の接触を安定化するために挿入されたと考えられる。この結果は、キチナーゼにおけるドメインの融合において適応的なモジュールの挿入が起こったことを示している。

M. Shionyu, M. Gō : Domain fusion in TIM barrel proteins

2PA120

プリオンタンパク質C端側ドメインの動的構造特性
○篠田和紀、由良 敬、郷 通子
（名大・院理・生命理学）

プリオン病の主因はプリオンタンパク質の細胞型（PrP^C）からスクレイビー型（PrP^{Sc}）へのコンフォメーション変化であると考えられているが、特徴的な難溶性のために現在までPrP^{Sc}の立体構造は解かれていない。そこで、PrP^{Sc}形成におけるコンフォメーション変化のメカニズムを解明するためには、まずPrP^Cの動的性質を知り、そこに内在する構造変化に関わる要因を知ることが重要であると考え、マウスプリオンタンパク質C端側ドメイン mPrP(121-231)の分子動力学シミュレーションを行った。

シミュレーションは中性pHと酸性pHを模倣した条件でそれぞれ5回と6回行った。各シミュレーションは真空中で距離依存誘電率 $\epsilon = r$ を用い、常温（300K）で1 ns間行なった。中性条件でのtrajectoriesを立体構造の構成単位であるモジュールをもとに解析した結果、モジュール内の各残基は比較的まとまって動いていることが分かり、モジュールはタンパク質のダイナミクスの単位でもあることが示唆された。また各モジュールはroot mean-square (RMS) deviation、RMS fluctuationの値から、相対的に柔らかい構造をしたものと堅い構造をしたものに分けることができ、柔らかいモジュールは実験から構造変化が起きていると考えられている部分によく対応することがわかった。この結果は、大規模な構造変化を起こす領域は、柔らかいという性質を元来その立体構造中に持っていることを示唆している。更に、酸性条件でのシミュレーションでは、上記の柔らかいモジュールのダイナミクスが中性条件時と比べて変化した、実験で観測されているPrP^{Sc}様の酸変性中間体への構造転移の初期過程ではないかと考えられた。

K. Shinoda, K. Yura, M. Gō: Dynamical properties of prion protein C-terminal domain.