1B1740

メリチンによるリポソームのトポロジー変換

○野村 典正、稲葉 岳彦、平松 波留香、滝口 金吾、宝谷 紘一
(名大・院理・生命理学)

細胞内膜器官は常に融合や分裂を繰り返している。また、膜小胞の融合・分裂は細胞内外への物質の放出・取り込みにおいても必要な能力である。近年、膜の融合や分裂に関わるタンパク質が数多く報告されてきたが、その分子レベルでのメカニズムは不明な点が多く残されている。

これまでに我々は、暗視野顕微鏡を用いたリアルタイム観察によって、両親媒性ペプチドが引き起こしたリポソームの融合過程の可視化に成功した。さらに、リポソームが融合や分裂以外にも、多様なトポロジー変換能を持っていることを見いだした。

例えば、PC リポソームを用いた場合、酸性 pH および中性 pH において、メリチンは膜穿孔を引き起こし、リポソームは閉じた小胞から開いたシート状に変換される。しかしながら塩基性 pH では、界面活性剤の Triton X-100 と同様にリポソームを連続的に縮小させ膜構造を消滅させる。また、PC:PG (1:1, モル比) リポソームの場合、メリチンは酸性 pH で非連続的な縮小を引き起こす。このときリポソーム膜の輝度は最終的に、一枚膜による輝度と比べて 1 桁以上高まり、おそらく膜は多層化されていると推測される。ところで中性 pH では、酸性 pH で観察された非連続的な縮小が起こるが、さらにこの縮小したリポソーム間での融合が観察されるようになる。また、塩基性 pH では、中性 pH と同様、リポソームの非連続的な縮小と融合を引き起こすが、最終的には、リポソームはその直径を維持したまま、徐々に輝度を減少させ消滅する。

以上のように、リポソームの膜穿孔や非連続的な縮小は、従来の分光学的な方法から得られるデータからは予想もされなかった現象であり、リアルタイムでの映像化は、膜作用を調べる上で極めて有力な研究手段である。

F.Nomura, T.Inaba, H.Hiramatsu, K.Takiguchi and H.Hotani : Topological transformation of liposomes induced by melittin

1C0915

蛋白質分子内の振動エネルギー移動—低振動モードへの拡張

○森次 圭、宮下 治、木寺 韶紀 (京大院、理)

蛋白質は多くの自由度を持つ複雑な系であり、そのダイナミクスには非線型性が強く表われる。一方で、そのような複雑なダイナミクスが、蛋白質の機能に関わるような運動を引き起こす。このことから、非線型ダイナミクスは、蛋白質の機能発現を理解する上で重要である。例えば、ミオグロビンの振動エネルギー緩和を調べた実験は、蛋白質内での局所的な運動から協調的な運動へのエネルギー移動を示唆している。本研究の目的は、振動モード間のカップリングによるミオグロビン分子内でのエネルギー移動過程を、分子動力学シミュレーションを用いて調べることである。

まず簡単なモデルとして、分子の運動が、基準振動と呼ばれる一つのエネルギー極小構造付近で線型近似された振動モードの重ねあわせで記述しうる場合を考えた。つまり、エネルギー極小構造に対し一つの高振動モードのみに小さな運動エネルギーをあたえた初期条件で MD を行い、モード間のカップリングを調べた。一つの高振動モードに与えた振動エネルギーは、振動数の条件をみたす数個のモードのみに移動していた。我々は、この結果が、調和振動子が高次の非線型項によりカップルした単純なモデルにより説明できることを示した。また、カップリング項の係数は、モードの立体構造上での運動の overlap と相関していた。

以上により、高振動モードのカップリングが、モードの振動数と位置的な関係という、非常に単純な原理により説明できることがわかった。蛋白質の機能発現を理解するためには、常温の系で特に低振動モードとのカップリングが重要である。しかし、モードの非線型性が強く現われるために、今までの簡単なモデルは適用できない。そこで、低振動モードの再定義を行い、同様の解析を行った。詳細については、当日発表する。

K. Moritsugu, O. Miyasita and A. Kidera : Vibrational Energy Transfer in a Protein Molecule - Application to Low Frequency Modes

1C0900

ペプチド自由エネルギー地形の量子化学計算による補正

○小野 聡¹、黒田 正孝²、肥後 順一¹、中村 春木³ (¹生物分子工研、²田辺製薬、³阪大・蛋白研)

【背景・目的】分子動力学法(MD)で使われる AMBER 力場は Cornell らの開発した C94 力場と主鎖のパラメータを変更した C96 力場が存在する。これらの力場を使いアラニンペプチドで構造サンプリングを行なうと、C94 力場では主鎖の 2 面角 (ϕ , ψ) の (-60, -30) 付近に大きなピークがあり α 構造をとりやすく、C96 力場では (-60, 150) および (-150, 150) 付近に大きなピークがあり β 構造をとりやすく、力場によって全く異なった結果を与えていた [1]。今回我々は、MD のトラジェクトリに量子化学計算による補正を後から加える手法を開発し [2]、それをアラニンペプチド Ac-(Ala)_n-NMe (n=2,3) に適用した。

【計算方法】構造サンプリングは効率良く広い空間を探索できるマルチカノニカル法を使用した。HF/6-31G*により真空中の Ac-Ala-NMe の (ϕ , ψ) 断熱ポテンシャルを求め、それぞれの力場の断熱ポテンシャルとの差である $\Delta E_{\text{MO-MM}}(\phi, \psi)$ を補正項として加えて、アンブレラサンプリングで使われる手法により Potential of Mean Force (PMF) を補正した。

【結果】真空中および水中 (TIP3P) の Ac-(Ala)_n-NMe の (ϕ , ψ) と O1-H4 距離の PMF を比較した。MD のみの場合は C94 と C96 でピークの大きさは全く異なっていたが、補正を加えることで各ピークの分布と大きさはほぼ同じになり、この手法を使うことで力場間の相違をなくすることが可能であることが示された。当日は AMBER 力場に加えて CHARMM 力場を使った場合もあわせて報告する予定である。

[1] J. Comput. Chem., Ono et al. **21**, (2000), 748

[2] Proc. Japan Academy, Nakamura et al. **75B**, (1999), 291

S. Ono, M. Kuroda, J. Higo and H. Nakamura : Correction of the classical free energy landscapes of peptide conformations by quantum mechanical calculations.

1C0930

徐冷モンテカルロ法によるヒト副甲状腺ホルモン断片の α -ヘリックス構造形成機構の研究

○奥田 有香¹、升屋 正人³、光武 亜代理²、岡本 祐幸²、中沢 隆¹ (¹奈良女子大・理・化学、²分子研・理論、総研大・数物科学、³鹿児島大・総合情報処理センター)

序論 ヒト副甲状腺ホルモン (hPTH) はカルシウム代謝に関係する 84 残基のアミノ酸からなるタンパク質であるが、その生理活性は N 末端 34 残基の断片でも発現されることが知られている。溶液内においてこの 34 残基のペプチド (hPTH-34) は 2 本の α -ヘリックスを含んでいるが、その構造は水溶液中では不安定で、C 末端にさらに 3 残基伸びた hPTH-37 において始めて安定になる。本研究ではこれらのペプチドが示す α -ヘリックス構造の形成能と安定性の微妙な違いを計算によって明らかにすることを試みた。

方法 hPTH-34 は S-V-S-E-I-Q-L-M-H-N-L-G-K-H-L-N-S-M-E-TR-V-E-W-L-R-K-K-L-Q-D-V-H-N-F のアミノ酸配列を持つ。hPTH-37 はこの C 末端にさらに V-A-L が追加される。徐冷モンテカルロ法に基づくエネルギー計算は、完全にランダムに発生させた初期構造から出発して、途中いかなる制限もつけずに行った。用いたエネルギー関数は、ECEPP/2 に分子の表面積に比例する溶媒和エネルギー項を加えたものである。hPTH-34 と hPTH-37 に含まれるそれぞれ 12 個の酸性および塩基性残基の電荷を実験条件を考慮して変化させ、これらのペプチドの立体構造と荷電状態の相関を調べた。

結果・考察 hPTH-34 についての計算では、すべてのカルボキシル基が非解離型でヒスチジンがプロトン化した酸性条件において、 α -ヘリックス構造が最も高い確率で得られた。特に実験でその存在が示唆されている 2 本の α -ヘリックスはこの条件でのみ生じ、カルボキシル基に負電荷を持たせた弱酸性から中性条件を想定した計算ではほとんど得られなかった。ペプチドの中央から C 末端側に多く分布する正電荷とカルボキシル基の負電荷の相互作用がヘリックス構造の形成に不利に働いたためと考えられる。

Y.Okuda, M.Masuya, A.Mitsutake, Y.Okamoto and T.Nakazawa, : Alpha-helix folding of human parathyroid hormone fragment by Monte Carlo simulated annealing