1D0900

分子動力学法と静電場解析の連続体モデルを結合した HEWL(Hen Egg White Lysozyme) の水素電離係数 pKa の複合解析

○何 希倫¹、井原 茂男²、渡邊 克博³、久保 昭一³、斎藤 稔⁴ (¹ 新情報処理開発機構、² (株) 日立製作所ライフサイエンス推進事業部、³ (株) 日立超 L S I システムズ、⁴ 弘前大学理工学部)

異種計算手法の結合を支援するミドルウェア技術を用いて、分子動力学プログラム AMBER と Poisson 方程式に基づく静電場解析プログラムを連結し、HEWL の pKa シフト量とそのゆらぎを解析した。2LZT の蛋白質構造の周りに水分子を配置した(全原子数 15859 個)立方体セルに周期境界条件を適用し、Particle Mesh Ewald 法を用いて 3 ns の計算を行った。静電場解析では、立方体セルの一面を 121 メッシュに離散化し、境界面に 0V を設定した。ミドルウェア技術は、効率的な結合を実現するライブラリ群を提供し、粒子やメッシュの球内相関等の位置関係を $O(N \log N)$ で高速探索する。又、電荷や誘電率の物理量を送受信し、自動的に異なる離散点上の物理量に変換する。本結合には、約百ステップのライブラリを挿入し実現した。蛋白質内部の誘電率は 20、球内相関の半径は電荷に対し 0.5 Å、誘電率に対し $R_{vdw} + 1.4$ Å とした。

電離型極性側鎖のみを取り出したモデル蛋白質の pKa(model) からのシフト量として、実験結果 $\Delta pKa(Exp)$ と 200ps おきの水和構造に対する静電エネルギーから算出した結果を表 1 に纏めた。実験結果に対する RMSD は、2LZT 構造 (ΔpKa_{ini}) の 1.14 に対し、水和構造の平均値 (ΔpKa_{ave}) では 0.88 と低減する。熱や構造の揺らぎに起因する ΔpKa の標準偏差は $\pm 0.18 \sim 0.53$ であり、 $\Delta pKa(Exp)$ の RMSD 値 1.09 と比べてかなり大きな揺らぎを示す。

表 1 HEWL(中性状態)の電離型極性側鎖の ΔpKa とその揺らぎ

Group	pKa(model)	$\Delta pKa(Exp)$	$\Delta pKa_{ini}(Cal.)$	$\Delta pKa_{ave}(Cal.)$	SD $\Delta pKa(Cal.)$
Nterm	7.5	0.4	0.64	-0.44	0.45
Cterm	3.8	-0.9	0.07	-0.17	0.18
Asp18	4.0	-1.1	-0.15	-0.28	0.35
Asp48	4.0	-1.5	-0.74	-0.10	0.45
Asp52	4.0	-0.5	-0.43	0.01	0.46
Asp66	4.0	-2.0	-0.98	0.53	0.53
Asp87	4.0	-1.9	-0.95	-0.02	0.34
Asp101	4.0	0.2	1.42	1.59	0.22
Asp119	4.0	-1.2	-0.80	-0.23	0.27
Glu7	4.4	-1.8	0.34	-0.53	0.27
Glu35	4.4	1.7	0.80	1.16	0.25
Lys1	10.4	0.2	-0.58	-0.82	0.28
Lys13	10.4	-0.1	-0.70	-0.66	0.25
Lys33	10.4	0.0	0.52	0.98	0.44
Lys96	10.4	0.5	0.21	1.12	0.38
Lys97	10.4	-0.3	0.02	-0.05	0.39
Lys116	10.4	-0.2	0.31	-0.55	0.32
RMSD	-	1.09	0.88	1.14	-

Shirun Ho, Sigeo Ihara, Katsuhiko Watanabe, Shoichi Kubo, Minoru Saito : Composite Analysis of pKa in HEWL by Coupling Molecular Dynamics and Electrostatic Simulation

1D0930

回転モデル：ルシフェラーゼなど α/β バレル蛋白質は酸素流入により構造は大きく膨張しエネルギーは安定化する

○後藤 邦彦¹、外山 聡²、岩本 正敏³ (¹ 東北大・医・病理、² 東北大・院薬・生物構造化学、³ 東北学院大・工・物理)

回転モデルはこれまで nAChR (J Theoret Biol 170, 267-272, 1994(1))、バクテリオロドプシン (Tohoku J Exp Med 182, 15-33, 1997(2))、分子認識 (BBRC 206, 497-501, 1995(3))、酵素触媒作用 (臨床麻酔 23, 157-164, 1999(4)(総説))、麻酔作用 (4)(Pro Anesth Mech in press (5))、ルシフェラーゼ (Pro Anesth Mech in press (6)) や免疫シグナル伝達 (4,5) の分子機構を明らかにし、まだ見ぬ現象を予測してきた (Pro

Anesth Mech 5, 1-22, 1997(7)(review))。今回我々は α/β バレル構造蛋白質に回転モデルを適用した。 α/β バレル構造蛋白質のセ

ントラルコアは強い疎水性で充填密度が高い。同じ疎水性である酸素分子はセントラルコアに集まり α/β バレル構造を大きく変換させることが予測できたので、構造を変換し構造最適化法及び分子動力学法を用いて構造及びエネルギーの推移を計算した。その結果、luciferase(図)、glycosyl oxidase, triose phosphate isomerase 等の変位した構造はいずれのエネルギーもそれぞれの基本構造より安定化していた。活性化時このような大きな分子構造の変化の起こることが示唆された。

K.Goto, A.Toyama and M.Iwamoto : THE ROTATION MODEL: The α/β barrel proteins stabilized more than the crystal structure with large simultaneous conformational changes

1D0915

HEWL(Hen Egg White Lysozyme) の活性部位における pKa 揺らぎの相関解析

○渡邊 克博¹、何 希倫²、井原 茂男³、久保 昭一¹、斎藤 稔⁴ (¹ (株) 日立超 L S I システムズ、² 新情報処理開発機構、³ (株) 日立製作所ライフサイエンス推進事業部、⁴ 弘前大学理工学部)

分子動力学シミュレーションとポアソンシミュレーションの複合化により、HEWL の活性部位である Asp52 と Glu35 の pKa シフト量とその揺らぎの要因を解析した。100ps おきの水和構造に対する時間平均値 $\Delta pKa(Asp52)$ は -0.43 (実験値: -0.5)、その揺らぎの標準偏差は 0.46 と大きい。 $\Delta pKa(Glu35)$ は 0.80 (実験値: 1.7)、標準偏差は 0.25 である。Asp52 は実験結果と良い一致を示すが、Glu35 は低くずれている。この結果は、蛋白質内部に埋まっている Glu35 は動きが束縛され誘電率は相対的に低いことを検討しなければならないが、従来の静電場解析¹⁾ に比較し両活性部位のシフト方向を初めて正しく算出した。

ΔpKa の揺らぎの要因を捉えるため、活性残基と各残基の C α サイト間の距離の揺らぎに対する相関係数、感度、標準偏差を求め、図 1 に Asp52 の相関特性を示した。 α ヘリックスの A、B の前半、3rd、C と D 間に相関係数 0.5 程度の強い相関領域が存在する。B の領域は距離の揺らぎが大きいため、他の α ヘリックスは感度が高いために相関が強い。Asp52 の内在する β 構造は、非常に高い感度を有するが、距離の揺らぎは小さく、結果的に相関は弱く現れている。

図 1 HEWL(中性状態)における ΔpKa と C α サイト間距離の相関関係

1) Shawn M.McDonald et. al., Protein Engineering vol.8 pp.915-924, 1995

Katsuhiko Watanabe, Shirun Ho, Sigeo Ihara, Shoichi Kubo, Minoru Saito : Correlation of pKa Fluctuation on Active Sites with Distance Deviation in HEWL

1D0945

新しい立体構造精密化法を用いて TCR の溶液中の構造とダイナミクスを探る

○北尾 彰朗¹、Brian Hare²、Gerhard Wagner² (¹ 京都大・院理・化学、² Harvard Medical School)

昨年の年会では、溶液 NMR データを用いた新しい構造精密化法の提案をおこなった [1]。この方法では、NMR の距離情報・緩和情報および計算機シミュレーションを用いて溶液中の蛋白質の立体構造をゆらぎも含めて精密化をおこなう。そのベースとなるのは、蛋白質にはエネルギー的に準安定な状態、いわゆる Conformational Substates (CS) が多数あり、それらの間のジャンプが起こっているという事実である。つまり、蛋白質のダイナミクスは、CS 内での比較的速いゆらぎと CS 間のジャンプという 2 つの運動から構成されていると考えることができる (Jumping-Among-Minima (JAM) モデル)。このモデルに基づき、それぞれの CS 内でのゆらぎは分子シミュレーションからもとめ、各 CS の統計重率を実験データを再現するようにもとめる方法を開発した。この理論は様々な実験データ、例えば中性子散乱・X 線散乱・NMR などの解析に用いることができる。

具体的手順は、(1) NOE の距離情報等の幾何的拘束条件を満たす構造を大量に生成する。これらの構造間のゆらぎには、NMR 情報のあいまいさに起因する部分とゆらぎによる部分がある。(2) 求めたそれぞれの構造、すなわち CS の近傍での早い動き (~ 10 ピコ秒) を分子シミュレーションから計算する。(3) NMR 緩和データから求めた NMR オーダーパラメータを再現するように、各 CS の統計重率を決定する。この方法を用いて、scTCR (single-chain T-Cell Receptor) の構造精密化をおこなっている。年会では機能に重要な CDR ループの構造とゆらぎを中心に発表をおこなう。

[1] A. Kitao and G. Wagner, PNAS, 97, 2064(2000)

A.Kitao, B.Hare and G.Wagner : Structure and dynamics of scTCR investigated by a new NMR structural refinement methodology