3A1545

ガウス鎖モデルによる、S-S結合を持つ小さなタンパク質BPTIのフォールディングの研究

○亀田 倫史, 木寺 詔紀 (京都大・院理)

foldingは有限系の相転移と考えることができる。自由エネルギーのうちエネルギー的に有利な Native 状態とエントロピー的に有利な Unfolded 状態との間の一次相転移である。ほとんどのたんぱく質の folding 過程において、ある部分はまだほどけた状態だが、ある部分はすでにヘリックス構造が形成されているといった中間状態が存在することが実験的に知られている。つまり部分的に構造を形成しながら folding は進んでいる。しかし、folding がどれだけ進んだかを自由エネルギーで判定しようとするとの部分が秩序的でどの部分が無秩序的かという位置ごとの秩序のようすがわからない。自由エネルギーは order parameter としては全体の秩序の様子しか表せない。したがって folding の中間状態を調べるためには、よい order parameter を導入できるモデルを作ることが必要になる。高田らはアミノ酸残基を構成単位とするガウス鎖を用いたモデルを提案した。このモデルにおける order parameter は B-factor のように二乗平均揺らぎをあらわすもので、1 残基に 1 つ決められる。つまりこのモデルはアミノ酸レベルの分解能を持っているので、どのような状態を経て folding が進んでいくのか調べることができる。今回はこのモデルを用いて BPTI の folding 過程を調べた。BPTI は 58 残基からなる小さなたんぱく質で、S-S 結合が 3 つある。特に、S-S 結合の有無が、folding にどのような影響を及ぼすかを報告する。

T.Kameda,A.Kidera : Folding Study of BPTI by Perturbed Gaussian Chain Model

3A1615

multicanonical WHAM法によるドッキング・シミュレーション

○中島 伸介¹、小野 聡²、肥後 順一²、中村 春木¹ (¹ 阪大・蛋白研、² 生物工研)

以前、効率的な構造探索法である multicanonical 法により、SH3 ドメインとその基質ペプチドとのドッキング・シミュレーションを行った際、ペプチドに何も拘束を加えないと結合部位から離れた構造が多くとられるため、結合部位にある程度近い場合は何も拘束を加えないが、遠い場合は結合部位方向へ引き戻すような仮想的なポテンシャルを加えた。拘束付加による誤差を十分無視できるほど、拘束を加えない領域を広げられればよいが、その場合、安定な結合部位近傍の構造群を十分サンプルするには、莫大な計算時間を必要とする。一方、最近私たちは、multicanonical 法と WHAM 法 (weighted histogram analysis method) を組み合わせた multicanonical WHAM 法を開発した。通常の multicanonical 法では、自由エネルギー障壁が高い状態間においては、遷移状態近傍のサンプリングが不十分で、活性化自由エネルギーを精度良く求められないが、WHAM 法の特性によりそれが可能になる。WHAM 法では、この様な 2 状態を結ぶ反応座標をいくつかの領域に分割して、それぞれの狭い領域内でのみサンプリングを行うよう仮想的なポテンシャルを付加するが、重要なことは、上記ドッキングの時とは異なり、付加されたポテンシャルの効果が最終的に取り除かれて、反応座標に沿った自由エネルギー曲面が求められることであり、さらに、狭い領域内でのサンプリングが multicanonical 法により効率化されることである。そこで、multicanonical WHAM 法をドッキング・シミュレーションに適用することとした。当日は、方法論を中心に発表し、モデルケースでの計算経過についても触れる予定である。

N.Nakajima, S.Ono, J.Higo and H.Nakamura : Docking simulation with multicanonical WHAM method

3A1600

protein G B1 domain の熱変性シミュレーションにおける溶媒の寄与

○高橋 卓也¹、永山 国昭² (¹ 岡崎機構・統合バイオ、² 岡崎機構・生理研)

タンパク質熱変性のダイナミクスについて、400K-1000K までの広い範囲で多数本の分子動力学 (MD) シミュレーションを用いて解明を試みた。蛋白質の周りに水分子をあらわに入れた MD と、入れないものを比較することで、溶媒分子が変性過程に及ぼす影響を検証した。水中と非水中での分子の広がり (Rg) の比較を行ったところ、Rg は、非水環境よりも増加することから水分子による分散力的な相互作用によって変性状態が安定化されることが支持された。また壊れるのにかかる時間は水分子の存在のために遅くなっていた。また初期条件の僅かな違いでその後の変性過程が大きく異なることが確認でき、壊れやすい部分とそうでない部分 (ヘリックス部分) の存在が再び確かめられた。

今回のシミュレーションでは、蛋白質を含む液滴のサイズが十分ではないために、シミュレーションの過程で分子が液滴から外部に飛び出すことがいくつかの試行で観測された。Rg が一度 10 Å から 15 Å 程度まで増加し、それから再び 11 Å 程度まで縮小することも見いだされ、疎水的な蛋白質が変性しながら排除されて外部で再びコンパクトになる過程 (表面変性) を見ていることがわかった。蛋白質は気相において容易に変性し、変性膜を形成することが多くの蛋白質でわかっており、その微視的な過程をシミュレートしているのかもしれない。一度壊れたベータ構造がヘリックス構造を形成して再び壊れる過程も見いだされ、元々はベータシート構造が安定な領域であっても、局所的な相互作用で安定化されているヘリックス構造は容易に形成されることを示している。また希にベータ構造が再生する過程も途中で観測された。現在、より大きな水の球を用いて検証を行っているところである。

mailto:tkhs@nips.ac.jp

T.Takahashi and K.Nagayama : Solvent contribution to thermal unfolding simulations of protein G B1 domain

3A1630

MD エンジンを用いた 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素の熱変性シミュレーション

金井 義彦¹、小野 克輝¹、林 岩崎 容子¹、○本野 千恵¹、大島 泰郎¹、宮川 博夫²、北村 一泰²、山岸 明彦¹ (¹ 東薬大・生命、² 大正製薬)

本研究で用いた高度好熱菌 *Thermus thermophilus* 由来の 3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH) はホモダイマーで、1 サブユニットは二つの構造ドメインで構成され 345 残基からなる。高度好熱菌 IPMDH の熱変性は、2 量体の天然構造から 1 量体の変性状態へと 2 状態変性を示す。本研究は高温下での MD 計算により、IPMDH の熱変性における部分的な構造変化を知り、構造安定性に関する情報を得ることを目的とする。計算実験に使用した並列型動力学専用コンピュータ MD エン진은、並列化した 68 の専用プロセッサとホスト計算機で構成され、大きい IPMDH 分子の高速計算をカットオフ近似なしで実現できる。計算ソフトは MD エンジン用 AMBER ver.4.1 である。IPMDH ダイマーの周りに水分子を箱状付加し、20000 サイクルのエネルギー極小化計算をした後、定積条件下で温度 298K で 10p 秒の平衡化 MD 計算を行った。その後温度を 1500 K にジャンプさせ、45.4p 秒まで MD 計算を行った。系の総原子数は 74047 個であった。ドメイン間・サブユニット間・2 次構造要素間の相対的位置関係の変化、残基毎の接触可能表面積 ASA の変化に注目して、変性過程を解析した。1500 K への温度ジャンプ以降、主鎖の RMSD の増大、IPMDH 内部の水素結合数の減少など天然構造からの変化が観測された。IPMDH ダイマーの慣性半径には大きな変化は見られなかった。サブユニットごとに構造変化に差が見られ、一方のサブユニットの 2 つのドメイン間の重心間距離は時間の経過とともに増大した。また、サブユニット間相互作用をになうドメイン内に、ASA がほとんど 0 から変化せず、タンパク質内部に埋もれたままの 2 残基があった。IPMDH の構造は全体的にゆるんでいったが、内部に水に接触せずに構造変化が小さい部分がある結果となった。

Y.Kanai,K.Ono,Y.Hayashi-Iwasaki,C.Motono,T.Oshima,H.Miyagawa,K.Kitamura and A.Yamagishi : Molecular dynamics simulation of the thermal denaturation of 3-isopropylmalate dehydrogenase