3C1515

銅-アミロイド β 複合体構造の銅イオン濃度依存性

○鈴木 紀代子、三浦 隆史、竹内 英夫（東北大・院薬）

アルツハイマー病の原因物質であるアミロイド β (A β) は β シート構造を形成することにより分子間で会合し、神経細胞毒性を示すと考えられており、金属イオンは A β 分子間会合を誘導する因子となる。特に、Zn(II) は中性 pH で Cu(II) と比べて A β に対して高い凝集能を示すことが知られている。我々は、この凝集能の差が A β の Zn(II) と Cu(II) への配位様式の違いによることを明らかにし、昨年の年会で報告した。本研究では、Cu(II)-A β 複合体構造の Cu(II) 濃度依存性をラマン分光法を用いて調べることにし、Cu(II) によるアミロイド化の制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。

ヒトの A β 全長 40 残基に対応するペプチド (A β 1-40)、並びに、ヒスチジン (His) 3 残基が集中して存在することから A β の金属結合部位と想定される、N 末端側 16 残基に対応するペプチド (A β 1-16) を合成した。様々な Cu(II)/ペプチド比 (R) で CuCl₂ を A β に添加し、混合溶液と凝集固体のラマンスペクトルを測定した。

Cu(II)-A β 複合体の水溶液 (pH 7.4) のラマンスペクトルは Cu(II) 濃度に依存して顕著な変化を示した。金属結合マーカバンドの解析から、 $0 < R \leq 1.0$ では His の N_F 原子のみが配位子となることがわかった。この様な配位様式は A β の分子間会合の原因となることがわかっている¹⁾。一方、 $2.0 \leq R \leq 4.0$ では可溶性 Cu(II)-A β 複合体の特徴である、His の N_F 原子および脱プロトン化アミドの窒素原子の Cu(II) へのキレート配位が起こる。さらに Cu(II) 濃度が高くなると ($R \geq 6.0$)、His の N_F 原子に Cu(II) が結合し、ペプチドは凝集する。以上の結果から、Cu(II) が A β を可溶化する効果を示すためには、 R 値が適切な範囲に保たれることが重要であると考えられる。

(1) Miura, T., Suzuki, K., Kohata, N., and Takeuchi, H. (2000) *Biochemistry* 39, 7024-7031.

K.Suzuki, T.Miura and H.Takeuchi : Copper concentration dependence of the structure of Cu(II)-amyloid beta complex

3D0900

専用計算機と高速アルゴリズムの併用による分子動力学シミュレーションの高速化

○網崎 孝志¹、豊田 新次郎²、宮川 博夫³、北村 一泰³（¹鳥取大・医・保健、²富士ゼロックス・NBC、³大正製薬）

分子動力学法は、生体分子の構造と機能の解明のための有力な手法として注目されているが、その莫大な計算量が実用面での障壁となっていることも事実である。計算時間の大部分は、粒子-粒子の二体相互作用の計算で占められており、この部分を高速化するために、ハードウェア/アルゴリズム両面から多くの試みがなされてきた。本発表で紹介する MD-Engine II は、この二体相互作用を計算するための専用計算機であり、1 枚あたり実効性能 4Gflops の計算ボードで構成された並列計算機である。MD-Engine II の最大の特長は、セル分割に基づくデータ構造を利用する高速アルゴリズム（高速多重極法や粒子メッシュEwald法など）との、効率のよい併用が可能なことである。これらの高速アルゴリズムは、いずれも一種の近似法であり、単独での高速化には求値精度の面で問題がある。MD-Engine II との併用により、高精度を維持しつつ、高速化が可能であり、特に、生体分子複合体など大規模な系での効果が期待できる。

本発表では、MD-Engine II と高速多重極法の併用のために開発したデータ構造とアルゴリズム、並びに、MD-Engine II のアーキテクチャにおける負荷分散アルゴリズムを紹介し、それらを実現した計算システムの性能を数値実験により評価した結果について報告する。

T. Amisaki, S. Toyoda, H. Miyagawa, and K. Kitamura : Further acceleration of fast algorithms for molecular dynamics simulations using a special-purpose computer with a design for joint usage

3C1530

蛋白質物性に対するポリエチレングリコールによる crowding 効果

○徳力 伸彦¹、四方 哲也^{1,3}、片倉 啓雄¹、小笠原 京子²、油谷 克英²、卜部 格¹（¹阪大院工 応生、²阪大 蛋白研、³科技振 さきがけ 21）

生体内にはさまざまな高分子が存在しており、全体積の約 30 % を占めるといわれている。球体の最密充填が 70 % を越えないことを考えると、生体内は非常に混んだ状況であるということがいえる。近年、溶液中に多くの高分子が存在することにより、蛋白質の構造、蛋白質間相互作用などに大きな影響を与えるという理論的研究が行われている。この高分子による影響は crowding 効果といわれており、そのひとつとして、蛋白質は多くの空間自由度を稼ぐために、コンパクトになることが提案されている。本研究では crowding 効果による蛋白質の構造、コンパクトさへの影響を実験的に調べることを目的とした。蛋白質としては、RNaseA、lysozyme、また pH3.0 でモルテングロビュール状態となる α -lactalbumin、構造をもたないランダムポリペプチド RP3-18 を用いた。高分子としては PEG20000 を用いた。分極効果などによる α -helix 誘導性を調べるために、低分子の PEG200、TFE を用いた。蛍光標識した蛋白質を蛍光偏光法で測定したところ、native 状態である RNaseA、lysozyme は、PEG20000 の濃度の増加に伴い見かけの分子量が増大したのに対し、 α -lactalbumin、RP3-18 は見かけの分子量が大きくないことが観察された。天然の蛋白質をコントロールとし相対的に分子のコンパクトさを検討すると、lactalbumin、RP3-18 は PEG20000 の増加に伴い分子がコンパクトになったと考えられる。RNaseA の CD 測定を行ったところ、2M 尿素存在下では変性状態であったが、2M 尿素、30 % PEG20000 存在下では native 状態と同じスペクトルが観察された。これに対し、PEG200 と TFE ではこのような影響は観察されなかった。つまり、高分子 PEG の影響により尿素存在下でも RNaseA は native 状態に近い構造をとると推測された。これは「コンパクトさによって、2 次構造が誘起される」という理論と一致している。

N.Tokuriki, T.Yomo, Y.Katakura, K.Ogasawara, K.Yutani, I.Urabe : Crowding effect of proteins with random sequence in polyethylene glycol

3D0915

アミノ酸極性指標を用いた膜貫通ヘリックス配置予測

○上地 潤一¹、笹本 博幸¹、太田 浩也¹、広川 貴次²、諏訪 牧子³、美宅 成樹¹（¹農工大・工、²変化システム、³ヘリックス研究所）

バクテリオロドプシン (bR) は膜内に活性部位を持つ膜タンパク質としては比較的小さく、立体構造が知られているため、このタンパク質を対象として多くの立体構造形成の研究が行われてきた。私達は極性相互作用に注目し、三角格子上で膜貫通ヘリックスの配置・回転・傾きを探索することによってバクテリオロドプシンの天然構造を再現することを試みてきた。また、それと並行して、膜タンパク質立体構造予測サービスを目指して、格子モデルによる膜貫通ヘリックスの立体配置予測システムの自動化を行ってきた。ここでは、格子モデルによる 7 本型膜貫通ヘリックスの立体構造予測法を紹介すると共に、この予測法に基づく計算の自動化・高速化を目指し、20 種類のアミノ酸極性残基指標を用いた配置予測法の開発について紹介する。

まず、これまでの手法は大きく分けて次の 2 つの段階から成る。(1) 膜貫通ヘリックスのアミノ酸配列から、プローブヘリックス法により 7 本の各ヘリックスの極性相互作用プロファイルを得る。(2) 各ヘリックスを三角格子上に当てはめ、ヘリックスの極性相互作用エネルギーとループ構造エネルギーに注目しつつ、配置・回転・傾きを探索する。これまでの手法では (1) のステップにおいて、CHARMm の場を用いた計算を行う必要があり、時間と手間を要した。そこで、20 種類のアミノ酸極性残基指標を作成し、その指標を用いた膜貫通ヘリックス配置予測法を開発した。そして、従来の手法では (1) のステップで少なくとも 24 時間要した（現実的には 3 日間）が、この手法により約 7 秒で、これまでの手法と同様なヘリックスの極性エネルギープロファイルを得ることができた。また、この結果を基に、(2) のステップの計算を行い得られたヘリックス配置は従来の手法の結果と非常に近かった。

J.Uechi, H.Sasamoto, H.Ohta, T.Hirokawa, M.Suwa, S.Mitaku : Prediction of transmembrane helix configuration using the polar interaction index of amino acids