1P033

タンパク質立体構造の確率的比較

○小池 亮太郎^{1,2}、木寺 詔紀² (¹京大院・理、²横浜市大院・総合理学)

タンパク質立体構造の Comparative Study は、立体構造の分類や特徴抽出によって、立体構造・機能相関を明らかにし、さらに構造・機能予測を与えるための有力な方法である。その Comparative Study で最も基本となる方法は、構造類似部位の Alignment を与える方法である。構造 Alignment 構築のさい問題となるのが準最適 Alignment の存在である。準最適な Alignment が多数存在する系では Alignment ごとに対応付けられる残基対が異なり、対応関係を一意に決定することはできず、特徴抽出のさいの障害となる。この問題を回避するために発表者らは残基間の対応関係を確率で記述する Probabilistic Alignment を構築する方法を開発した。この方法は 1 つの Alignment を与えることと Spin 系において 1 つの状態を決めることが等価であることを利用し、構造情報を評価する 2 体の相互作用の項を 1 体の平均場ポテンシャルとして近似することで Spin 系における分配関数を求め、Spin 系における各状態、すなわち Alignment を自由エネルギーなどから統計的に評価するものである。この自由エネルギーを用いることで、準最適な Alignment の存在する系において、単一の Alignment からなる構造類似性スコアよりよい評価を与えることが期待される。また、この Spin 系のアナロジーを使う方法は、一般的に受け入れられてきた SSAP の基礎をなす Double Dynamic Programming 法を絶対零度における極限とし、それを有限温度に拡張したものとして位置付けることができる。本発表では Probabilistic Alignment 構築の方法論を説明し、この比較法をいくつかのタンパク質立体構造に適用した結果について発表する。また、準最適な Alignment が存在する系で単一 Alignment からなる SSAP スコアと本方法による自由エネルギーについて議論する。

R. Koike and A. Kidera : Probabilistic Comparison of Protein Structure

1P035

バクテリオロドプシンの X 線結晶構造解析の信憑性—X 線損傷の影響—

○坂井 啓介¹、松井 耕宏¹、村上 緑¹、奥村 英夫¹、足立 伸一²、城 宜嗣²、神山 勉^{1,2} (¹名大院・理学研究科、²理研・播磨)

X 線結晶構造解析は結晶構造を求める手法として現在幅広く用いられているが、X 線自身がその構造になんらかの影響を与え本来の構造と異なったものを求めている可能性も考えられる。今回の発表では当研究室で研究を行っているバクテリオロドプシン (bR) において新たに明らかになった X 線損傷の影響について発表する。

bR は高度好塩菌に見出された膜蛋白質で、光エネルギーを利用してプロトン細胞の内側から外側へと輸送する。当研究室では bR の構造解析を継続的に研究してきており、現在、K 反応中間体についての構造解析を行っている。K 中間体の捕捉率を把握するため、SPRING-8 の BL44B2 に低温顕微分光装置を構築し、可視域の吸収スペクトルと X 線回折との同時測定を行った。100K で K 中間体を捕捉し同時測定を行ったところ X 線照射に伴い吸収スペクトルが大きく変化するという現象が見出された。すなわち 580nm の吸収帯が減少し、510、480、450nm にピークを持つ吸収帯が出現した。問題なのは吸収変化の速さで、X 線回折の完全なデータセットを収集するのに要する時間内でも吸収スペクトルの変化が認められた。

X 線によりどのような構造変化が引き起こされるかを明らかにするため、基底状態の回折データを同一結晶から 3 セット収集した。回折データを分析したところ、特定の残基 (Asp85 など) が X 線の影響を受けやすいことが示唆された。今後反応中間体の結晶構造解析を進めていくうえで、X 線損傷の影響を軽減させることは必要不可欠である。また bR に限らず、あらゆる X 線結晶構造解析において X 線損傷の問題は考慮すべき問題だと思われる。

K.Sakai, Y.Matsui, M.Murakami, H.Okumura, S.Adachi, Y.Shiro and T.Kouyama : Reliability of the X-ray Crystallographic analyses of bacteriorhodopsin -Effect of X-ray Damage-

1P034

分子の表面積及びそのデリバティブの計算

○榮 慶丈^{1,2}、升屋 正人³ (¹総研大・数物科学、²分子研・理論、³鹿児島大・総合情報処理センター)

タンパク質分子の立体構造形成機構についてはまだ十分に明らかにされていない。これを目的としてモンテカルロ法によるアミノ酸配列の情報から分子の立体構造を予測する試みや分子動力学法による立体構造予測シミュレーションなどが行われている。これらのシミュレーションには構造エネルギーに加えて溶媒によるエネルギー及びそのデリバティブの計算が必要となるが、計算に時間がかかるため大規模なシミュレーションにはこれまで用いられていない。本研究ではこの溶媒のエネルギー及びそのデリバティブをタンパク質分子の表面積及びそのデリバティブから近似的に求める方法に着目し、これらを高速に計算することにより溶媒によるエネルギー及びそのデリバティブの計算の高速化を図ることにした。

タンパク質分子の表面積及びそのデリバティブを求める方法には大きく分けて解析的解法と数値的解法の二つがある。解析的解法では原子の交わり方によっては計算機上では判別できないほど小さな距離や角度を求める必要があり、このような場合には表面積及びそのデリバティブを求めることができない。そこで本研究では分子の構造によらず安定して計算できる数値的解法によりタンパク質分子の表面積及びそのデリバティブを計算することにした。開発したプログラムによる表面積の計算では、解析的解法と比較して十分な精度を保ちながら約 12 倍の計算速度を達成できた。またデリバティブの計算では、計算速度が解析的解法に対して 5 倍程度となるものの、分子の構造により計算できないという解析的解法の欠点を持たず、厳密に溶媒のエネルギーを計算する方法と比べれば高速であった。本研究を応用することにより、溶媒によるエネルギー及びエネルギーのデリバティブの計算が高速化され、これまで行うことができていない大規模なシミュレーションが実現できる。

Y.Sakae and M.Masuya : A calculation method of the molecular surface area and its derivatives.

1P036

可逆的熱転移温度領域における膜タンパク質バクテリオロドプシンのヒドロキシルアミン反応性と構造の変化

○園山 正史、美宅 成樹 (東京農工大・工)

光駆動プロトンポンプである膜タンパク質バクテリオロドプシン (bR) は、紫膜中で三量体構造を基本とした二次元結晶を形成している。紫膜には主として 2 つの熱転移、つまり 78 °C 付近における可逆的な前転移と 96 °C 付近における不可逆的な主転移が存在することが知られている。最近私たちのグループでは、可逆的な熱転移を示す 60 - 70 °C の温度領域において、暗の中では変性が全くみられないのに対し、本来は機能の発現を引き起こす可視光の照射により選択的に光退色現象が生じるのを見いだした。このことは光機能中間体の不安定化の可能性を示唆しており、この温度領域における構造変化に関する研究は、機能中間体を含む bR の構造安定性を理解する上で重要であると考えられる。

本研究では、光退色現象はシッフベースの加水分解反応であることに着目し、bR の安定性に対する水分子の影響を考えるために、水溶性加水分解試薬であるヒドロキシルアミンと bR の暗中所における反応性と、赤外分光法によるペプチド主鎖の水素-重水素交換の温度依存性を詳細に検討している。さらに、この温度領域における詳細な構造変化をいくつかの分光学的手法を用いて調べている。

これまでに、暗中所におけるヒドロキシルアミンによる bR の退色反応速度のアレニウスプロットを求めたところ、60 °C 付近を境にして反応速度の温度依存性が顕著に変化することがわかった。アレニウスプロットの解析から、60 °C 以上の温度領域における頻度因子の著しい増大が見られ、このことは水分子のシッフベースへの accessibility の大きな増加を示唆している。一方反応の活性化エネルギーの増加も見られている。ペプチド主鎖の水素-重水素交換といくつかの分光法による構造変化の結果を含めて、総合的に 60 - 70 °C の温度領域における bR の構造的特徴について議論する予定である。

M.Sonoyama and S.Mitaku : Hydroxylamine reactivity and structural changes of the membrane protein bacteriorhodopsin in the reversible premelting temperature region