1I1400

キモトリプシンインヒビター 2 の熱変性過程の動力学シミュレーション

○望月 樹和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）

並列型動力学専用コンピュータ（以下 MD エンジン）を用い、原子の相互作用や熱などの力をパラメータとして与え、蛋白質分子の動きを全原子モデルを用いて水分子を含む分子動力学によってシミュレートした。この方法を用いる事により、実際の蛋白を用いた実験ではわずかな時間で終わってしまう変化を、フェムト秒の単位でその過程や構造を可視化することができる。

今回の実験では、アミノ酸残基 64 の蛋白質 chymotrypsin inhibitor 2 (CI2) を用いその熱変性過程をシミュレートした。エネルギーの計算システムとしてアプリケーション【AMBER version6】を用いた。変成させる蛋白は NMR により構造が決定された CI2 (PDB エントリー名:1YPC.pdb) の全原子モデルを用い、CI2 分子の周りに箱状に水をつけた。周期的境界条件を付加し、通常の動力学シミュレーションで多用されるカットオフ近似は行わなかった。これは従来のシミュレーションよりもさらに精密な結果を期待するものである。これらの条件に、熱変性の為の温度を 300K から 700K まで 100K の幅で五種類用意し、それぞれ 2000ps のシミュレーションを行った。RMSD の増加や二次構造の崩壊を解析し、温度毎に比較する事により、CI2 の熱変性過程の詳細を明らかにした。

この研究は科学技術振興事業団バイオインフォマティクス推進事業の助成をうけて行われた。

K.Mochizuki, H.Miyagawa, K.Kitamura, A.Yamagishi : Molecular dynamics simulation of thermal denaturation of chymotrypsin inhibitor 2

1I1430

動的なモード座標系として表現される蛋白質のダイナミクス

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

蛋白質のダイナミクスは、その立体構造と機能発現との相関を理解する上で重要である。計算機シミュレーションによりダイナミクスを理解する方法として、これまで基準振動解析や主成分解析などの調和近似が用いられてきた。これらの方法では分子内の代表的な運動を抽出できる反面、時間軸に沿った運動がどのような要因で起こるのかを理解することはできない。本研究では、蛋白質の運動を時分割で計算される主成分モードの時間変化として解析し、その変化を非線形性の寄与として説明した。

時分割で主成分モードを計算した場合、調和近似のパラメータである平均構造とモードの方向、固有値は非線形項の寄与により時間変化する。その変化は、線形なモードで張られる座標系の並進と回転として表現できる。非線形項を摂動とみなした場合、その応答としてモードの並進と分散共分散行列の変化が起こり、更に、分散共分散行列の変化がモードの回転を引き起こす。時間窓をずらしながら主成分解析の計算を繰り返すことで、モード座標系の並進と回転を時系列として観測し、非線形項による摂動という観点から解析を行った。

ここでは、30K と 300K での平衡状態の解析の結果を報告する。モードの並進は、低温では振動的であるのに対し、高温では、非線形項が数 100ps の相関時間で寄与することにより、第 1 モードの方向に長い時間スケールで拡散的な運動をしていた。一方、モードの回転は一般に高温のほうが大きい。低温でも共鳴のために大きくなる場合があった。しかし、回転の大きさが同じ場合でも、共鳴による回転は比較的短い相関時間を持つ非線形項の寄与で起きていた。これらの結果から、蛋白質の構造変化は、固有値の大きい少数のモードの回転により、大きな遷移エネルギーの山を避けながら小さな遷移エネルギーの谷をたどって別の構造に行きつく過程として理解できる。

K. Moritsugu and A. Kidera : Dynamics of Proteins Represented as Dynamic Mode Coordinates

1I1415

protein G のアンフォールディング過程におけるモジュールの役割

○江口 達也、高橋 健一、郷 通子（名大・院理・生命理）

タンパク質はそれぞれ特定の天然構造を持つが、これが変性状態からどのようにフォールドするかを解明するため、protein G の B1 ドメインを対象に分子動力学計算を用いて天然構造からのアンフォールディング過程を解析した。球状タンパク質の天然構造は、モジュールと呼ばれる一次構造上連続した 15 残基程度のコンパクトな部分構造に分割できる。モジュールはモジュール境界自動同定法を用いて同定される。protein G の B1 ドメインの天然構造では 5 個のコンパクトなモジュールが集まって球状ドメインを形成している。この階層的構造がアンフォールディング過程で、どのように壊れていくのかを追跡するために、分子動力学計算で得られたアンフォールディングシミュレーションの各時間の立体構造に対して、モジュール境界を同定した。その結果、モジュール境界は多くの時間で、天然構造に対して同定された場所の近くに存在し続けることが分かり、疎水性コアが崩れた構造でも天然のモジュール構造は緩やかに保たれていることが分かった。さらに、アンフォールディング過程における各時間でのモジュール内のコンタクトとモジュール間のコンタクトの数を比べると、時間と共に減少はするが前者の方が後者よりもよく保存されていた。比較のために、モジュールの真ん中の残基から隣のモジュールの真ん中の残基までのセグメントを偽モジュールと定義し、モジュール内のコンタクトと偽モジュール内コンタクトを比べると、明らかに前者の方が 6 残基以上離れた残基とのコンタクトを多く持ち続けていた。これらのことから、アンフォールディング過程でタンパク質は、まずモジュール間の相互作用が減少しお互いに離れていきアンフォールドしていくが、天然構造で同定されたモジュールごとにはまとまっており、コンパクトな構造を保ち続けていることがわかった。

Tatsuya Eguchi, Ken-ichi Takahashi, Mitiko Go : A role of the modules in simulated unfolding processes of protein G.

1I1445

分子動力学法を用いた Btk タンパク質の PH ドメインの基質認識に関する研究

○石田 敬義¹、中村 周吾¹、若松 猪策無²、福井 泰久²、清水 謙多郎¹（¹東大院・農・応用生命工学、²東大院・農・応用生命化学）

Btk(Bruton's tyrosine kinase) タンパク質は、B 細胞の分化におけるシグナル伝達に関わるタンパクチロシンキナーゼである。Btk の PH(Pleckstrin Homology) ドメインは、細胞膜に埋まっているホスファチジルイノシトール-(3,4,5)-3 リン酸 (PtdIns(3,4,5)P3) を特異的に認識し、結合する機能を持つ。この結合を経ないと Btk は活性化されないことから、その特異的な基質結合は Btk の活性化において必須であると考えられている。現在、Btk の PH ドメインに関する立体構造は、Protein Data Bank にイノシトール-(1,3,4,5)-4 リン酸 (Ins(1,3,4,5)P4) との複合体構造、及び基質のついていない free な構造が登録されているが、PH ドメインが、どのような構造変化を経て基質を認識し結合するのか、またそのダイナミクスが基質認識における特異性にどのように関わってくるのかということについての詳細な議論はなされていない。そこで本研究では、基質認識過程における PH ドメインのダイナミクスを調べ、基質特異性の要因を残基レベルで明らかにするために、分子動力学計算によるシミュレーションを試みた。

シミュレーションは、1) 基質がない状態での PH ドメインの運動を解析するために、基質のついていない free な PH ドメイン構造、2) 基質認識過程における運動を調べるために、free な PH ドメインの適当な位置に基質 (Ins(1,3,4,5)P4) を配置した構造、3) 基質認識におけるグリセロール骨格とアシル鎖の寄与を調べるために、free な PH ドメインの適当な位置に基質 (PtdIns(3,4,5)P3) を配置した構造、の 3 種類を初期構造として行い、それぞれのシミュレーション途中での構造変化や動的特性を比較、考察した。分子動力学計算は、AMBER version 7.0 を用い、上記の各構造について 2ns のシミュレーションを行った。

T.Ishida, S.Nakamura, I.Wakamatsu, Y.Fukui, K.Shimizu : MD simulation study of a specific substrate binding mechanism of Btk's PH domain.