1J1430

タンパク質の基準振動解析データベース ProMode

○輪湖 博¹、猿渡 茂² (¹ 早大・社会科学、² 北里大・理)

タンパク質立体構造のダイナミクスの研究を計算機で行うには、一般に、十分な計算機資源と計算時間、そして解析に関する専門的知識が必要である。そうした中で、基準振動解析は、調和近似の範囲内という制限はあるものの、定性的には分子動力学やモンテカルロ・シミュレーションの結果とよい一致を示すことが知られ、手軽に情報を得られる点で便利な解析法である。また、求める物理量が解析的に書き下されるため、ルーチ的な作業によってさまざまなタンパク質についての結果を蓄積し、データベースを構築するには適していると言える。そこでわれわれは、タンパク質の基準振動解析のデータベース ProMode を作成した。ここでその概要を報告する。

登録されるデータは次のような作業手順によって得られたものである。まず、二面角を独立変数とするタンパク質の立体構造エネルギー極小化プログラム FEDER を用いて、PDB に登録されたデータを初期値としたエネルギー極小化を行う。次いでその極小構造について基準振動解析を行う。そのとき、モードごとの、また全モード平均の原子の位置ゆらぎとそのゆらぎの原子間の相関、二面角のゆらぎを計算するほか、プログラム DynDom を使ってダイナミック・ドメイン、螺旋領域の同定なども行う。また、ホームページ上では、フリーのプラグイン・ソフト Chime をインストールすれば、タンパク質分子の基準振動の様子をアニメーションによって観察できるようにしたり、得られた結果をグラフで表示できるようにして、視覚的に結果を捉えることができるように工夫した。

なお本研究は、科学技術振興事業団のバイオインフォーマティクス推進事業 BIRD の一環である「蛋白質立体構造データベースの高度化」(代表：中村春木 (阪大蛋白研)) のもとで行っている。

H.Wako and S.Endo : ProMode: Database of normal mode analysis of proteins

1J1500

マルチカノニカル分子動力学法によるタンパク質・リガンド間相互作用の解析

○寺田 透^{1,2}、松尾 洋^{1,2}、木寺 詔紀² (¹ 理研・GSC、² 横浜市大・院総理)

タンパク質によるリガンド認識メカニズムの解明は、そのタンパク質の機能を理解し、更に創薬に発展させていく上で重要な課題である。タンパク質・リガンド間相互作用の解析には分子動力学法が有用であるが、こうした系は非常にでこばこしたポテンシャルエネルギー表面を持つため、通常の定温分子動力学法ではエネルギー極小状態にトラップされ、正確な分布関数を得ることができないという問題がある。これに対してマルチカノニカル分子動力学法は、エネルギー障壁を効率よく越えて広い構造空間を探索することができることから、タンパク質・リガンド間の相互作用を精密に解析する方法として有望視されている。しかし従来は、マルチカノニカルポテンシャル関数を精密化するために予備的なシミュレーションを繰り返す必要があり、水溶液中のタンパク質とリガンドの系のような大きな系への適用は事実上不可能であった。この問題を解決する方法として、我々はマルチカノニカルポテンシャル関数にモデルを導入し、関数の精密化ステップ数を大幅に減らす方法を提案している。現在までに、この方法を 65 残基のタンパク質と 3418 個の水分子からなる系 (計 11330 原子) に適用し、繰り返し計算をすることなく 400 K から 290 K のエネルギー領域を覆うマルチカノニカルアンサンブルを得ることに成功している。本研究では、この方法をタンパク質 ribonuclease T1 (RNase T1) とリガンド guanosine 2'-monophosphate (2'GMP) の系に適用した。RNase T1 は 104 残基からなり、1 本鎖 RNA の guanosine 残基を認識して 3' 側を切断する機能をもち、2'GMP はこの阻害剤である。年会では、シミュレーションの結果得られた構造アンサンブルを基に、両者の相互作用のメカニズムについて議論する。

T.Terada, Y.Matsuo and A.Kidera : An analysis of protein-ligand interaction by multicanonical molecular dynamics

1J1445

複数鎖からなるタンパク質の基準振動解析

○猿渡 茂¹、輪湖 博² (¹ 北里大・理、² 早大・社会科学)

二面角を独立変数とする複数鎖からなるタンパク質の基準振動解析の研究は、肥後ら^[1] が定式化を行い、妹尾ら^[2]、石田ら^[3] が具体的なタンパク質に応用している。一方、われわれは、二面角を独立変数とするプログラム FEDER/2^[4] を用いて、PDB に登録されたタンパク質について逐次エネルギー極小化を行い、基準振動解析を実行してその結果を蓄積し、データベース ProMode を構築している。現時点ではモノマーについて (複数鎖に登録されているものについては、各鎖ごとに) 計算を行っているが、将来的には複数鎖からなる系の解析結果も登録する予定である。そのためには、PDB に登録されている複数鎖の系についてもシステムティックに一連の解析を行う必要があり、計算プログラムの自動化、ハイスループット化、種々の例外データ (セレノメチオニン等) への対応を行った。また、複数鎖特有の解析方法の開発、誰もが気軽に使えるように Rasmol、Chime といったフリーソフトを利用して視覚的にそうした系のダイナミクスを捉えることができるような表現方法の開発などに重点を置いて、現在作業を進めている。具体的には、タンパク質+ペプチド、2 量体、3 量体、4 量体の系をそれぞれいくつか取り上げ、主として分子 (サブユニット) 間の相対的な運動に注目した解析をいろいろ試みており、当日はその結果について報告する予定である。

[1] Higo, Seno, & Go, *J. Phys. Soc. Jpn.* (1985) **54**:4053-58, [2] Seno & Go, *J. Mol. Biol.* (1990) **216**:95-109, 111-126, [3] Ishida, Jochi, & Kidera, *Proteins* (1998) **32**:324-33, [4] Wako, Endo, Nagayama, & Go, *Comput. Phys. Commun.* (1995) **91**:233-251.

S.Endo and H.Wako : Comprehensive approach to dynamics of proteins consisting of multi-chains by normal mode analysis

1J1515

AP 複合体 μ 鎖認識ペプチドの自由エネルギー摂動法を用いた予測

○佐藤 大介^{1,2}、寺田 透^{1,2}、松尾 洋^{1,2} (¹ 横浜市大・院総理、² 理研 GSC)

AP 複合体ファミリーのサブユニット μ 鎖 (約 50 kDa) は、膜蛋白質の細胞質領域中のアミノ酸配列 YXX Φ (Y は Tyr、 Φ は疎水性残基、X はファミリーにより認識特異性の異なる任意のアミノ酸) を特異的に認識し、細胞内への蛋白質選別輸送に関与している。我々は、自由エネルギー摂動 (FEP) 法を用いた計算により、様々なペプチドに対する各 μ 鎖の認識特異性を予測することを目指している。

蛋白質 TGN38 の細胞質内配列 SDYQRL は AP2 複合体 μ 鎖により特異的に認識されることが実験的に分かっており、その複合体の X 線結晶構造が解かれている。そこで今回、FEP 法による計算が、Y333A に伴う $\Delta\Delta G$ の実験値 (1.53 ± 0.15 kcal/mol) を再現できるかを確かめた。FEP 法において Tyr を Ala に仮想的に変異させる際には、芳香環の炭素と水素を ζ 、 ϵ 、 δ と順番に各々 10 段階で消去していくことにした。現在までに、Tyr $\rightleftharpoons$ Ala の最初の段階に対応する Tyr $\rightleftharpoons$ Phe の $\Delta\Delta G$ を計算し、 1.43 ± 0.27 kcal/mol という値を得た。Yeast two hybrid 法により Tyr333 を Phe か Ala に置換すると μ 鎖による結合がほぼ同程度に著しく低下することが知られており、この計算結果はそのこととよく対応している。また、計算の結果、Tyr の OH 基との水素を介した水素結合が μ 鎖による認識に重要であることが示唆された。現在、引き続いて Phe $\rightleftharpoons$ Ala の FEP 計算を行なっている。

D.Satoh, T.Terada, Y.Matsuo : Prediction of peptides recognized by AP-complex mu-chains using free energy perturbation