3K0900

B型肝炎ウイルスにおけるタンパク質立体構造と抗原性との関連

○菅野 佳範、任 鳳蓉、田中 博（東医歯大院・医歯学総合・生命情報）

B型肝炎ウイルス(HBV)の感染には、HBVの外被にあるSタンパク質の抗原性が関係している。通常型HBVは感染すると宿主の免疫機能により排除されるが、特定部分のアミノ酸が置換された置換型HBVが感染すると宿主の免疫機能から逃れ、感染を持続させる。これは、アミノ酸の置換により抗原性が変化したためだと考えられる。これまでに感染を持続させるアミノ酸置換の部位とアミノ酸が特定されているが、抗原性を直接捉える構造的な立場からの機構は明らかにされていない。そこで、我々は抗原性を決定しているSタンパク質を構造的な立場から解析し、抗原性を变化させる構造変化を捉えることを試みた。

今回扱ったデータは虎ノ門病院・消化器科のB型肝炎患者24名からのHBV・Sタンパク質の配列である。24例のデータの内訳は、通常型HBVが17例、置換型HBVが7例であった。これらのデータについて、様々なアルゴリズムのツールにより通常型HBV及び置換型HBVの二次構造(α -ヘリックス、 β -シート、ループ)を予測し、両者の構造の違いを調べた。

その結果、ニューラルネットワークによる予測とPSI-BLASTによるマルチプリアライメントを組み合わせた方法(PSIPRED)では、置換部分周辺において通常型では保持されていた β -シートが置換型ではループに変化していた。この構造変化は、抗体が正確に抗原を認識する抗原抗体反応を妨げるには十分な変化だと考えられる。従って、置換型HBVはこの構造変化により宿主の免疫機能から逃れていることが示唆される。

Y. Sugano, F. Ren, H. Tanaka : Relation between Protein Structure and Antigenicity in Hepatitis B Virus

3K0930

計算機シミュレーションによるCumDと基質相互作用の解析

○三木 隆、中村 周吾、伏信 進矢、若木 高善、清水 謙多郎（東大・院農・応用生命工）

CumDは芳香族の分解過程で作用し、芳香族のメタ開裂物質の加水分解を行う酵素であり、分解反応の律速段階となっていることもある。本研究の目的はこの酵素反応の機構を原子レベルで明らかにすることである。CumDはタンパク質単独での結晶構造は解かれているものの、基質との複合体としての立体構造が示されていない。分解反応を理解するためには、複合体の結合様式を知ることが有用であるので、酵素と基質の独立した構造を元にして、複合体の構造をモデリングした。今回の研究で用いたCumDの立体構造はSer103がAlaに置換された変異体であった。Ser103は酵素の活性部位にあり、基質と直接相互作用し、酵素反応に必須な残基である。そのため、複合体のモデリングを行う前に、Ala103をSerに戻した構造をモデリングした。酵素と基質の複合体をモデリングするために本研究ではドッキングプログラムであるAutoDockを使っている。AutoDockにより複合体の構造を生成した後、実験的に示唆されている酵素と基質の間の距離関係を基準にして複合体の構造の絞り込みを行った。絞り込んだ構造のうちAutoDockによる評価が最も高かったものは基質の親水的な部分が酵素の疎水ポケットに入るという予想される基質の向きとは逆になってしまった。そこで、Amberによる物理化学ポテンシャルを用いた評価を行い、AutoDockによる評価がもっとも高かった構造と予測される向きで結合している構造を比較した。その結果AutoDockだけによる評価では見分けることが困難であると思われる二つの構造をAmberによるエネルギー評価で区別できる可能性が示された。さらに、複合体の形成を制御していると考えられるCumDのLidドメインの構造変化について分子動力学法を用いた検証を行い、Lidドメインのダイナミクスと基質結合のメカニズムの関連を解析している。

T.Miki, S.Nakamura, S.Fushinobu, T.Wakagi and K.Shimizu : Analysis of interaction between CumD and its substrate by computational simulation

3K0915

計算機シミュレーションによるヘモグロビンの構造と機能の研究

○妹尾 康喜（東海大・総合科学技術研究所）

蛋白質分子には多くのエネルギー極小構造があり、極小化の方法を変えることにより2つT型と5つのR型の構造を得た。次にこれらの構造に酸素吸着の摂動(ヘムと近位Hisとの配位結合との平衡距離をを0.5Å縮める)を加えて再度エネルギー極小化を行ったときの応答(エネルギー(δe)と構造の変化)を計算する。エネルギー変化が高いほど酸素親和性が低いとする。本年度は代表的な2つのR型と2つのT型の構造に対して対称的に β 鎖に摂動を加えた場合の解析をおこなった。 δe の内容は構造によって異なる。全体的には原子間エネルギーが重要であるが、T型のひとつT2では捻れのエネルギーも大きい。 β 鎖内原子間エネルギーはT型で正で特にT2で大きくR型では負である。T型ではLeu96とVal98がヘム面と反発力内の短距離にあってヘムに近づき難く、近位側とHC領域での構造変化が大きく、広い範囲で歪みのエネルギーが溜まる、R型ではLeu91,Leu96,Val98がヘムと引力の関係にあって、近位側が小さい構造変化で容易にヘムに近づける。 $\alpha 1\beta 2$ ($\alpha 2\beta 1$)のサブユニット間相互作用にも構造による違いがあつて、T1で大きくT2でわずかに負である。 α のFG領域と β のC領域の間でT1の δe 成分が大きく、 α のC領域と β のFG領域でT2の δe 成分が負になるのがめだつ。現在これらの問題を詳しく検討している。

y.seno : Study of Structure-funtion Relationship of Hemoglobin by Computer Simulation

3K0945

分子動力学シミュレーションによるべん毛タンパク質flagellinのダイナミクス

○北尾 彰朗¹、Fadel A. Samatey²、今田 勝巳^{2,3}、難波 啓一^{2,3}、郷 信広^{1,4} (¹原研・計算科学セ、²JST・ERATO、³阪大・院生命機能、⁴奈良先端大・院情報科学)

サルモネラ菌などの細菌の運動は、一種類のタンパク質flagellinがらせん状に重合したべん毛繊維がモーターによって回転することで推進され、運動の方向性は回転方向の変化によって制御される。べん毛繊維が左巻きのらせん構造を形成し数本が束になって回転すると推進力が発生するが、モーターが反転するとらせんが右巻きになり、束が解けて細菌は方向転換をおこなう。近年、電子顕微鏡やX線回折により繊維とflagellinの詳細な立体構造が明らかになってきた。

本研究では、41 kDaのflagellinのフラグメント(F41)の結晶構造[1]に基づいて、分子動力学シミュレーションによるダイナミクスの解析をおこなっている。溶液中でのF41単量体のシミュレーションからは、ドメインD2とD3はそれぞれ比較的重いユニットとみなすことができるが、D1には2つのユニットに分かれて揺らぐことが観察された。更にF41の結晶構造と電顕像をもとに構築された左巻き(L型)および右巻き(R型)の44量体の構造モデルを用いて大規模な分子動力学計算をおこない、素繊維全体のダイナミクスの解析をおこなっている。当日はflagellinのゆらぎとらせん構造の変化の関係について詳細に議論する予定である。

[1] F.A. Samatey, K. Imada, S. Nagashima, F. Vonderviszt, T. Kumasaka, M. Yamamoto & K. Namba, Nature, 410(6826), 331-337 (2001).

A.Kitao, F.A.Samatey, K.Imada, K.Namba, N.Go : Molecular Dynamics Simulation of Flagellin