B001

蛋白フォールディングにおける疎水核残基の役割

○次賀 慶太郎¹、Rozi Ismail¹、関 安孝²、金 漫一¹、森 一樹¹、曾田 邦嗣¹ (¹長岡技科大・生物系、²長浜バイオ大・バイオサイエンス)

蛋白分子の疎水核残基は、1次構造上数〜十数残基毎に存在し、3次構造では分子内部に存在する。疎水性残基は、折り畳み過程において大局的な凝集力を生み、分子鎖トポロジーの決定に重要な役割を持つと予想される。本研究の目的は、これらの残基の動力学的特性を解析することで、折り畳み過程へのその寄与を理解することである。

チロシンキナーゼ SH3 ドメイン (PDB コード: 1abo) は、6 残基で構成される疎水核を持つ。この6つの疎水性残基からなる擬ペプチド (隣接する残基の α 炭素間に拘束ポテンシャルを与える)、及び全て Ser に置換した擬ペプチドの分子動力学シミュレーションを行った。MD プログラムは Amber を、また力場は Parm96 を用いた。両鎖の全 MD trajectory から得た溶媒露出度の確率分布 (下図) より、疎水核残基で構成される擬ペプチドの方が Ser のそれより、露出度が小さくなる構造をとることが分かった。また、結晶構造の平均自乗半径 Rsq が 5.77 Å であるのに対して、2ns 間における Rsq の分布の平均が 6.22 Å、ピークが 5.6 Å であることから、疎水核残基が凝集したコンパクトな構造をとる傾向を示すことが分かる。ポスターでは、折り畳みに果たす役割の詳細を議論する。

K. Tsugika, I.E. Rozi, Y. Seki, M. Jin, K. Mori, K. Soda : Roles of Hydrophobic-Core Residues in Protein Folding

B003

弗化アルコールのクラスタ形成と蛋白質との選択的相互作用

富澤 忠¹、関 安孝²、加藤 淳³、○曾田 邦嗣³ (¹理研・GSC、²長浜バイオ大・バイオサイエンス、³長岡技科大・生物系)

[目的] 三弗化エタノール (TFE) や六弗化イソプロパノール (HFIP) 等の弗化アルコールは、(1) 水溶液中で分子クラスタを形成する、(2) 蛋白質を変性させると共に、解けたペプチド鎖に α -helix を誘起し、(3) β -アミロイド様会合体の生成を促進することが分かっている。本研究の目的は、水・アルコール混合溶液中のペプチドと蛋白質について、溶液 X 線散乱 (SXS) 法を用いて、上の効果の構造的な根拠を見出すことである。 [方法] HFIP 水混合溶媒中の蛋白質-ヒト・カルシトニン (hCT) と鶏卵白リゾチーム (lysozyme) について、SXS プロファイルの HFIP 濃度依存性を測定した。蛋白質溶液と溶媒の SXS プロファイルの差から、溶質蛋白分子の SXS プロファイル $I(K)$ を得た。

[結果] 溶媒である HFIP 水溶液の前方散乱強度 $I^*(0)$ は、既に報告されているように HFIP 濃度 C の増加と共に急増し、 $C = 30\%v/v$ にピークをもつ吊鐘型の依存性を示す。この結果と Kratky プロファイルの形から、ランダム鎖状の HFIP 分子クラスタの形成が推測される。クラスタ径の指標となる R_{gq} 値は、 $I^*(0)$ のピーク位で最大値 1.63nm に達する。円二色性 (CD) スペクトルによる解析から、 $C = 5\%v/v$ を中点にして、hCT と lysozyme の何れについても、構造転移が起こる：hCT では coil 構造から α -helix への、また lysozyme では天然構造が壊れて α -helix の生成が観測される。溶質蛋白質の SXS プロファイルは特異的な HFIP 濃度依存性を示す： α -helix の形成が進行する HFIP 濃度域では、 $K > 0.2 \text{ nm}^{-1}$ の中高角域で負の $I(K)$ が観測される。蛋白質溶液が蛋白質分子と溶媒構成成分の単純混合物ならば、負のプロファイルは観測されない筈である。観測事実は、溶質蛋白質と溶媒成分である HFIP との選択的相互作用の関与を示唆する。ポスターでは、実験データに基づいてこの分子機構を考察する。

T. Tomizawa, Y. Seki, A. Kato and K. Soda : Clustering of Fluorinated Alcohols and Their Preferential Interaction with Proteins

B002

蛋白質内部の HB 判定の問題点

○原 徹明¹、関 安孝²、曾田 邦嗣¹ (¹長岡技科大・生物系、²長浜バイオ大・バイオサイエンス)

蛋白質の二次構造判定プログラムとして、DSSP が汎用されている。DSSP では、先ず主鎖の水素結合 (HB) を判定し、その結果から二次構造を決定する。HB 一般の判定には Thornton のアルゴリズムが広く用いられているが、DSSP の主鎖 HB の判定には、これと異なるアルゴリズムが採られている。本研究の目的は、統一した HB 判定基準を得るために、DSSP 法と Thornton 法の HB 判定の結果を比較評価することである。蛋白質の主鎖 NH 基と CO 基間の相対配置を変えたときの HB の判定を DSSP と Thornton のアルゴリズムで行い、HB を形成していると判定される範囲を比較した。C-O...H が 180° という条件では、Thornton の場合 H-O 間が 2.5 Å 以下、N-H...O が 90° 以上のものが HB していると判定される。しかし、DSSP では H...O 間 2.5 Å 以下、N-H...O が 90° 以上でも HB していないと判定される場合がある。更に、H...O 間が 2.5 Å 以上、N-H...O が 90° 以下でも HB していると判定される場合もある。この差に起因して、cytochrome-c では、HB の判定の違いによって二次構造の判定に差が出るのが分かった。cytochrome-c の 4 残基目の NH 基と 8 残基目の OC 基は DSSP のアルゴリズムでは HB していると判定されるが、Thornton のアルゴリズムでは HB していない。これによって、DSSP では一番目の α -helix は第 3 残基から 13 残基と判定されるのに対して、Thornton では第 6 残基から 13 残基迄と、DSSP よりも 3 残基分短くなるのが分かった。また 5 番目の α -helix でも、Thornton で判定したものは DSSP よりも短くなるのが分かった。二次構造の判定に影響を与えた HB は、何れも、「H...O 間の距離 $< 2.5 \text{ Å}$ 」の条件を満たしていないため Thornton のアルゴリズムでは HB していないと判定されることが分かった。年会では、より合理的な判定基準についても報告する予定である。

T.Hara,Y.Seki,K.Soda : On Problems in Defining Hydrogen Bonds of Protein Interior

B004

分子動力学法による非荷電性阻害剤の疎水性結合部位への会合過程

○宮川 博夫、北村 一泰 (大正製薬 (株))

昨年度までの発表で、結合部位に荷電性アミノ酸を持つタンパク質と荷電性阻害剤の会合過程を MD 専用計算機を用いて高精度・高速化した MD 法でシミュレーションし、約 30 Å 離れた阻害剤が結合部位付近に会合し結合部位に到達した結果を報告してきた。その会合過程では、水分子に関わるエントロピー変化があり、結合部位への到達では、タンパク質と阻害剤間の相互作用エネルギー変化の他に水分子に関わる大きなエネルギー変化があった。本発表では、結合部位が疎水性アミノ酸で構成されたタンパク質と非荷電性阻害剤の会合過程の MD シミュレーションの結果を報告し、2つの会合過程の解析結果を比較する。

また、タンパク質と阻害剤の会合過程のシミュレーションは原子数 1 万以上、シミュレート時間数ナノ秒以上の大規模シミュレーションである。これらを高精度かつ高速に計算するため、我々のグループが開発してきた MD 専用計算機 MD-EngineII¹⁾ を用いている。計算システムは 1 ノードに 4 枚の MD-EngineII ボードを搭載した 32 ノードのクラスター型である。これらを並列稼動したシステムの演算性能についても報告する。

尚、本研究発表は科学技術振興事業団のバイオインフォマティクス推進事業での成果である。

1) T.Amisaki, S.Toyoda, H. Miyagawa and K.Kitamura, J.Comput.Chem.Jpn., Vol.1, No.3, 73(2002), T.Amisaki, S.Toyoda, H. Miyagawa and K.Kitamura, J.Comput.Chem., Vol.24, No.5, 582(2003)

H.Miyagawa and K.Kitamura : Molecular dynamics study of a protein-inhibitor association