B041

分子動力学法によるセロビオース脱水素酵素と基質との相互作用の解析

○日比 航介¹、寺田 透¹、中村 周吾¹、五十嵐 圭日子²、北岡 本光³、清水 謙多郎¹ (¹東大・院農・応生工、²東大・院農・生材科、³食総研)

白色木材腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* が産生するセロビオース脱水素酵素は、セルロース分解過程で機能しているタンパク質で、2つのグルコース (G) がβ-グルコシド結合したセロビオース (以下 GG と略記) の還元末端を酸化して、セロビオノラクトンを生成する。この酵素は補欠分子属としてフラビンとヘムを含む2つのドメインから構成されており、それぞれX線結晶構造解析により立体構造が決定されている。基質はフラビンドメインにある活性中心に結合することが知られており、このドメインと生成物アナログとの複合体の立体構造も既に決定されている。さらに、組換え酵素を用いてセロビオースに類似した2糖について網羅的に活性測定を行った実験から、還元末端側のグルコースをキシロース (X) に置換したグルコシルキシロース (GX) では、ミカエリス定数 K_m が約4.5倍大きくなることが明らかになっている。グルコースは5位の炭素に CH_2OH が結合しているのに対し、キシロースでは水素となっており、この差が基質認識に重要であると考えられる。しかし、結晶構造では、基質アナログ中の対応する CH_2OH 基の水酸基はタンパク質の残基とは直接水素結合を形成していない。そこで、本研究では分子動力学シミュレーションに基づいて、このフラビンドメインと基質との間の相互作用を詳細に解析する。このためにまず、複合体構造中の基質アナログを GG に置き換え、定温分子動力学シミュレーションにより、系の平衡化を行った。次いで還元末端のグルコースの5位の CH_2OH 基を水素原子に置換する自由エネルギー摂動計算により、結合自由エネルギー差 $\Delta\Delta G$ を求め、 K_m と比較する。年会では、この結果に基づき、基質周囲の残基の基質認識における役割を議論する。

K. Hibi, T. Terada, S. Nakamura, K. Igarashi, M. Kitaoka and K. Shimizu : Analysis of interactions between cellobiose dehydrogenase and substrates by molecular dynamics simulation

B043

Generalized Born モデルと水分子を陽に配置したモデルとの小ペプチドの自由エネルギープロファイルの比較

○石塚 隆記、寺田 透、中村 周吾、清水 謙多郎 (東大・院農・応生工)

生体高分子のシミュレーションを行なう際には、生体内の環境を反映させるために、溶媒効果を適切に取り込む必要がある。生体高分子の周囲に水分子を陽に配置するモデルは溶媒効果を正確に計算できる反面、系を構成する原子数が多いため、莫大な計算時間がかかるという問題がある。そのため、陰に溶媒効果を取り込む様々なモデルが提案されている。これらのモデルのうち generalized Born (GB) モデルは、従来 Poisson-Boltzmann (PB) 方程式を解くことによって計算されてきた溶媒和自由エネルギーを近似的に計算する方法である。この方法は PB 方程式を解く場合よりも高速に計算することが可能であることと、分子動力学法への適用が容易であることから、近年注目を集めている。しかし GB モデルが、水分子を陽に配置して計算された自由エネルギープロファイルを再現できるかどうかについての詳細な研究はまだなされていない。そこで本研究では、小ペプチドについて GB モデルを用いて自由エネルギープロファイルを計算し、水分子を陽に配置した系でのプロファイルと比較した。ここでは、より正確なカノニカル分布を得るために、構造空間を効率的に探索することができるマルチカノニカル分子動力学法を用いた。現在までに alanine dipeptide [Ace-(Ala)₂-Nme] について 20 ns のシミュレーションを行い、700 K から 300 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ている。300 K における主鎖の二面角の確率密度分布の比較から、GB モデルは真空や distance-dependent dielectric model よりも水分子を陽に配置したモデルに近い分布を与えることが明らかになっている。年会では、他の反応座標を用いてより詳細に GB モデルの有効性と限界について議論する予定である。

T. Ishizuka, T. Terada, S. Nakamura, and K. Shimizu : Comparison of free-energy profiles of small peptides between the generalized Born and the explicit solvent models

B042

タンパク質立体構造の高速最適化手法の開発

○和田 光人 (セレスター)

タンパク質の立体構造を基にしたドラッグデザインを行う際には、その結晶構造が出発構造となるが、これには2つの問題がある。ひとつは、X線結晶解析では一般的には水素位置が決められないことであり、もう一つは、結晶構造中では分子がパッキングされるために、その構造が必ずしも生体中のものを反映しているとは限らないことである。これらの問題を解決するには、機械的に付加した水素原子や側鎖部分の構造最適化が不可欠となる。結晶構造の問題は、タンパク質分子中で近接する原子同士の立体障害が主要因であると考えられるので、構造最適化の際に必ずしも全原子を一度に計算に考慮する必要はない。タンパク質中での各部位について、局所的に見て安定な構造を求め、全体構造を構築すれば良いはずである。本研究では、タンパク質全体構造をアミノ酸残基を単位構造とする部分構造に分割し、周辺部分の電子状態を考慮して局所的な構造最適化を繰り返すことで、実用的な計算資源を用いて構造最適化を行う新規手法の開発を行った。この方法は既存の計算化学プログラムに容易に組み込むことができる。例えば、半経験的分子軌道計算プログラム MOPAC に実装した場合には、200 残基程度のタンパク質の真空中での側鎖構造最適化に必要なメモリ容量は、従来法 (MOZYME 法 + BFGS 法) に比べて半分以上に、計算時間は1/5以下に削減することができる。また、従来法では現実的には不可能な溶媒効果を取り入れた構造最適化もこの新規手法により実現可能で、より現実的なタンパク質立体構造を求めることができる。

M. Wada : A quantum chemical method for rapid optimization of protein structures

B044

ProModeの開発と動的ドメインの解析

○輪湖 博¹、加藤 雅樹²、猿渡 茂³ (¹早大・社会科学、²横浜市大・院総合理・生体超分子、³北里大・理・物理)

(1) タンパク質立体構造の基準振動解析の結果を収集したデータベース ProMode を開発している。アニメーションが描画できるフリーのプラグイン・ソフト CHIME を導入すれば、基準振動の様子をコンピュータの画面上で観察できるのが、ProMode の大きな特徴である。しかし、残念ながら、静止画に関しては操作性の高い CHIME も、アニメーションに関しては、残基情報をもたないために、利用者が特定の残基あるいは原子を指定して、表示法や色を変えたりすることができない。そこで、CHIME を利用しながら、かつ、そうした操作が可能な manipulation dialog を作成した。基準振動のアニメーションの表示を利用者が自由に操作できることで、視覚的に多くの知見情報が得られるようになった。

(2) ProMode に収集された基準振動解析の結果から、タンパク質の動的構造に関する知見情報を抽出することを目的として、各振動モードごとに、タンパク質の立体構造をいくつかのドメインに分割する方法を開発した。具体的には、各原子ペアについて、それぞれのゆらぎベクトルの相関を計算し、その相関の高い原子をクラスター化することで動的ドメインの同定を行った。また、すべてのモードの平均としての各原子ペアのゆらぎの相関も計算できるので、同じ方法でドメインの同定を行った。同一タンパク質でも、定義されるドメインはモードごとに大きく異なることがあり、ドメインという概念が、決して一つのタンパク質で唯一に定義できるものではないこと、また、静的に定義されたドメインとも異なることもあることなどがわかってきた。

H. Wako, M. Kato and S. Endo : Development of ProMode and analysis of dynamic domains