B273

リゾチーム S-S 結合欠損変異体の分子動力学シミュレーションと局所的な動的構造の相違

○福塚 啓二郎¹、岡田 興昌²、瀬川 新一¹ (¹ 関学大・理工、² 富士ゼロックス・ニュービジネスカンパニー)

リゾチーム分子内には4本のS-S結合が存在する。これまで我々はこのS-S結合を欠損させた種々のS-S結合欠損変異体を作製して、その立体構造の変化をNMR分光法によって調べてきた。特定の1本のS-S結合を失ったリゾチーム3SS変異体は、分子全体としてみるとほぼ天然構造に近いものの、S-S結合が欠損した近傍では動的構造の顕著な変化が観測された。とくに β ドメイン内のC64-C80間のS-S結合を失った3SS変異体(C64A/C80A)とドメイン間に架かるS-S結合C76-C94を失った3SS変異体(C76A/C94A)においては、 β シート領域(残基40-61)のHD交換反応速度に顕著な違いが現れた。それぞれのS-S結合が β ドメインの安定化に果たす役割の違いを分子科学的な計算によって裏付けられるかどうかを検討するために、AMBER7.0を用いて計算機シミュレーションを行い動的構造の違いを検討した。約14,000原子の水分子に取り囲まれたリゾチームに対して、天然タンパク質の結晶構造データを初期構造として平衡化計算を行い、その後300Kで5nsの間MD計算を行った。天然ニワトリ・リゾチームと、そのC64A/C80A変異体、C76A/C94A変異体、およびC64-C80とC76-C94の2本のS-S結合を失った2SS変異体の4種類に対してMD計算を行った。MDエンジンボード(FujiXerox MD Engine II)4枚を使用し、静電相互作用はカットオフを行わずにすべての原子対で計算した。天然構造からの最小2乗変位(RMSD)の時間変化を追跡したところ、天然リゾチームではRMSDの値が一定値を保つが、他の変異体では、RMSD値が変動し、特に2SS変異体では突然、構造変化が起きることがわかった。残基レベルでの詳細な解析結果を報告する予定である。

K.Fukutsuka, O.Okada, S.Segawa : Molecular Dynamic Simulation of Lysozyme Variants Lacking Disulfide Bridges - Differences in Dynamic Aspects of Local Structures.

B275

メカノケミカル法による α -lactalbuminとカルシウムイオンの相互作用の観察○山形 豊^{1,2}、最上 要²、青木 弘良²、李 範煥²、金 俊完^{1,3}、原 務² (¹ 理研、² フェーエンス、³ 東大)

メカノケミカル法は、タンパク質等の生体高分子等をフィルム状等の形状にすることによりそのマクロ的な物性を測定可能とし、分子レベルでの化学的反応により発生した変化をマクロ的な機械的・物理的物性変化(伸縮、弾性率の変化)として検出する手法である。この手法は、Morozovらにより提案されているほか、マイクロカナンチレバー上に形成された自己組織化単分子膜等のシステムによる実験例の報告がなされている。この手法は、ラベル無しで、小さな分子量のリガンドとの相互作用も高感度に観測できる可能性がある、リアルタイムなシグナルが観測可能であるなどの利点をもつと考えられる。本報告では、カルシウム結合性タンパク質である α -lactalbuminをエレクトロ・スプレー・デポジション法により微小なフィルム状に形成し、その物性変化を測定することでカルシウムイオンとの相互作用を観察した。その結果、10 mM~1 μ Mの範囲のカルシウムイオンでシグナルの観測が可能であり、EDTAによる逆方向の反応も観測された。平衡状態からカイネティクス計算も行った結果についても述べる。

Y.Yamagata, K.Mogami, H.Aoki, B.H.Lee, J.Kim, T.Hara, K.Inoue, H.Ohmori : Observation of interaction between α -lactalbumin and calcium ion by mechanochemical method

B274

グループII, III WWドメインに共通する相互作用機構とその分類

○加藤 有介¹、永田 宏次¹、Sudol Marius²、田之倉 優¹ (¹ 東大院・農生科、² マウント・サイナイ病院)

WWドメインはプロリン含有配列を認識することでタンパク質間相互作用をにやう。これまでリガンド認識の違いで4つのグループに分類されており、グループIIとIIIのWWドメインはそれぞれPro-Leuモチーフ、Pro-Argモチーフに相互作用すると報告された。しかし我々が表面プラズモン共鳴(SPR)実験を行ってその特異性を調べたところ、これらのグループはお互いのグループのリガンドに対して相互作用し、しかもその速度定数にも共通の傾向が見られた。したがって我々はグループIIとIIIを同一のグループ(グループII/III)として提唱する。このグループはグループI, IVとは異なりポリプロリンに相互作用することが可能である。そして結合表面に2つのXPグループがあることから、その相互作用の機構はSH3ドメインによく似ていると示唆された。ポリプロリンはゲノム中にもっともよく見られる配列の一つであり、グループII/IIIのWWドメインが生体内で果たす役割はこれまで知られている以上に大きいと予想される。

Y. Kato, K. Nagata, M. Sudol and M. Tanokura : Common binding mechanism and classification of Group II and III WW domains

B276

主鎖二面体角の連続性パターンによる蛋白質二次構造の帰属

○金光 和保¹、小副川 博也²、大内 将吉^{1,2} (¹ 九工大・情報工、² 九工大院・生命体工)

蛋白質二次構造の帰属は、構造解析や構造予測、あるいはデザインにおいて基礎となる重要な問題である。それゆえ、これまでに多くの二次構造帰属法が提唱されてきた。これらの二次構造帰属法は主に、水素結合の連続性パターンによる方法、 α ；炭素の位置による方法、主鎖二面体角による方法に分類されるが、現在、プロテインデータバンクにおいて推奨され、最も使用されている方法は水素結合の連続性パターンによるDSSP帰属法である。しかしながら、構造解析や構造予測、あるいはデザインの基礎となる二次構造帰属法としてのDSSP帰属法は、主鎖コンホメーションの規則性や、帰属できる領域の狭さなどの本質的な問題を抱えている。そこで、発表者らはDSSP帰属法による二次構造の主鎖コンホメーションを詳細に解析し、新たに主鎖二面体角のパターンによる二次構造帰属法を開発した。その結果、二次構造として帰属できる領域が70%から90%に拡張されただけでなく、二次構造の主鎖コンホメーションの規則性が向上し、さらには、これらの二次構造がRamachandran mapに見られる3つの領域、 α ;R, α ;L, β ;による単純な繰り返しとして定義できることを見いだした。以上のことから、この研究で提案する二次構造帰属法はこれまでに提唱されている方法よりも、より簡潔で、かつ正確な方法であると言える。また、500蛋白質の二次構造を帰属した結果、それらの大部分は α ;helixと β ;strandに二分された。言い換えると、ペプチド主鎖コンホメーションは α ;コンホメーションによる繰り返し構造と β ;コンホメーションによる繰り返し構造に二分されたのであって、これらの変則的な組み合わせによる繰り返し構造はほとんど存在しなかった。

この発表では、新しい二次構造帰属法の提案と、この帰属法によるデータベースの紹介を行う。

Kazuyasu Konko, Hiroya Osoegawa, and Shokichi Ohuchi : The assignment of protein secondary structure by the consecutive pattern of peptide main chain dihedral angles.