B641

膜タンパク質 Aquaporin-1 の分子動力学シミュレーション

○橋戸 公則、池口 満徳、木寺 詔紀 (横浜市大院・総合理学)

本研究では、真核生物の水輸送タンパク質である Aquaporin-1 を、分子動力学法を用いて解析した。膜タンパク質のシミュレーションで十分に安定なシミュレーションを行うには、注意深く初期設定をする必要がある。ここでは次のような方法で膜タンパク質の系を構築した。1). 十分なサイズ (512 分子) をもつ膜のみの系を 1ns 以上かけ平衡化した。2). タンパク質の排除体積から適切な膜分子の数を推定し、余分な分子を除いた。3). タンパク質との界面にある脂質分子の位置をモンテカルロ法で最適化した。その結果、最終的に 117642 原子からなる系が得られた。分子動力学プログラムには当研究室で開発された MARBLE を、力場には CHARMM27 を用いた。膜を構成する分子は POPC を使った。これらの条件で、まず平衡化として温度圧力一定の NPT アンサンブルで 200ps の計算を行い、その後、温度圧力表面積一定の NPAT アンサンブルで 10ns の本計算を行った。10ns の間、各モノマーにおける膜貫通ヘリックスの RMSD は 0.94~1.15 Å であり安定な構造を維持していた。一方ループ部分の RMSD は 3.62~4.55 Å で、大きな揺らぎを持っていた。ポスターでは水の透過、タンパク質のダイナミクスを議論する。

M.hashido, M.Ikeguchi, A.kidera : Molecular dynamics simulation of membrane protein aquaporin-1.

B643

脂質二分子膜中でのモデル膜貫通ヘリックス会合の熱力学パラメーターの計測

○矢野 義明¹、小倉 まい²、松崎 勝巳² (¹京大院・生命科学研究所、²京大院・薬学研究所)

膜タンパク質の構造形成原理を解明するにあたって、脂質二分子膜中でのヘリックス間相互作用の熱力学は非常に重要な情報を与える。我々はすでに、モデルペプチド X-(LALAAAA)₃-NH₂ [X = NBD or TMR] が、POPC 二分子膜中で安定な膜貫通ヘリックスを形成し、単量体-逆平行型二量体間平衡にあることを報告した (Biochemistry 41, 3073, 2002)。今回、より詳しく会合を調べるため、モデルペプチド X-(AALALAA)₃-Y [X = NBD, Y = NH₂ (I) or X = Ac, Y = NHCH₂CH₂-S-DABMI (II)] を用いた。ロイシン残基が N 末端側に偏らないよう配列を変更している。赤外偏光全反射吸収スペクトル測定により、5~55℃でこのペプチドが POPC 二分子膜中で膜貫通ヘリックスを形成することを確認した。蛍光励起エネルギー移動のドナー NBD とアクセプター DABMI が N 末端と C 末端にそれぞれラベルされ、しかもこの色素ペアの臨界移動距離が約 25 Å であるため、逆平行型の会合を特異的に検出できる。会合測定は (I) の NBD ラベルが自己消光を起こさない濃度範囲 (< 1mol%) で行った。この範囲でヘリックスは主として単量体-逆平行型二量体間平衡にあると考えられる。25℃での会合自由エネルギー変化は約 -16 kJ/mol で、X-(LALAAAA)₃-NH₂ のそれ (約 -13 kJ/mol) と同程度であった。また会合エンタルピー、エントロピー変化はそれぞれ約 -30 kJ/mol、約 -48 J/K/mol であり、この会合がエンタルピー駆動であることが明らかになった。脂質二分子膜の疎水部の厚みを変化させた場合や、液体秩序相を形成する脂質組成を用いた場合に、会合の熱力学量がそれぞれどの程度の影響を受けるかについても報告する予定である。

Y.Yano, M.Ogura, K.Matsuzaki : Measurement of thermodynamic parameters for self-association of a model transmembrane helix in lipid bilayers.

B642

Aquaporin1 channel proteins : Hybrid-QM/MM Computer Simulation

○Apostolov Rossen、米澤 康滋、中村 春木 (阪大 蛋白研)

Water permeation across cell membranes is facilitated by a family of channel proteins also known as aquaporins. There are great difficulties in understanding the nature of this process. Current experimental methods do not allow for direct atomic level observations of its dynamics. Computer simulations, namely Molecular Dynamics simulations, are a powerful tool that can be used to get an insight into this phenomenon. They have proved to be a reliable and universally applicable method for investigating nano systems. Still there are number of limitations. The force fields used in the conventional MM simulations do not allow us to observe events like bond breaking and bond formation, ionization etc. Using Quantum Mechanical methods is the alternative, but they are computationally extremely expensive, and impose great restrictions on the simulation time-scale.

In this study we are using a hybrid-QM/MM method which combines the precision of Quantum Mechanics with the speed of Classical Molecular Mechanics. We investigate the charge and electron density distributions along the water chain in the channel throughout the simulation and report the results.

R. Apostolov, Y. Yonezawa, H. Nakamura : Aquaporin1 channel proteins : Hybrid-QM/MM Computer Simulation

B644

ロドプシンにおいてアゴニストである全トランス型レチナールと相互作用するアミノ酸残基の解析

○塚本 寿夫^{1,2}、寺北 明久^{1,2}、小柳 光正^{1,2}、宮田 隆¹、七田 芳則^{1,2} (¹京大・院理・生物物理、²CREST・JST)

光受容蛋白質ロドプシン (Rh) は様々なホルモン受容体や神経伝達物質受容体などと共通の七回膜貫通構造とアミノ酸配列モチーフを持つ。これらの受容体は G 蛋白質共役受容体 (GPCR) ファミリーの中でロドプシンスーパーファミリーを構成する。ウシ Rh は結晶構造が決定された唯一の GPCR であり、変異体解析も進んでいることから GPCR のモデルとしてとらえられている。

ウシ Rh は発色団である 11 シス型レチナールの全トランス型への光異性化に伴い、活性中間体メタ II に構造変化する。すなわちメタ II は、全トランス型レチナールをアゴニストと対応させることで、一般の GPCR の活性化状態 (R*) のモデルとされる。しかし、Rh 以外の受容体では外来のアゴニストの結合によって R* への構造変化が誘起されるのに対して、ウシ Rh においてはリガンド非結合状態であるオプシンに全トランス型レチナールを直接加えても、メタ II 中間体を生成しない。つまり GPCR の活性化メカニズムを比較すると、ウシ Rh と他の受容体の間にはアゴニストの結合について違いがある。

最近私たちはナメクジウオ Rh 遺伝子 (*Amphiop1*) を同定し、それを培養細胞を用いて発現させることに成功した (Koyanagi et al. (2002))。興味深いことにナメクジウオ Rh は外来の全トランス型レチナールを直接結合し、その産物は光受容によって生じた産物と同一の吸収スペクトルと G 蛋白質活性化効率を示した。つまりナメクジウオ Rh においては、ウシロドプシンの場合と異なり、全トランス型レチナールは他の受容体におけるアゴニストと同じ作用を持つ。そこで私たちは、ナメクジウオ Rh の部位特異的な変異体を作製し、アゴニストである全トランス型レチナールと相互作用するアミノ酸残基について解析した。その結果をウシ Rh や他の受容体の知見と比較し、考察する。

H.Tsukamoto, A.Terakita, M.Koyanagi, T.Miyata, Y.Shichida : Investigation of amino acid residues interacting with all-trans-retinal agonist in rhodopsin.