1P057

線形応答理論による蛋白質立体構造変化の記述：内部座標系

○大森 聡、池口 満徳、木寺 詔紀（横浜市大・院総合理）

蛋白質は基質の結合などの外部からの刺激で構造変化する。基質結合を外力としてモデル化し、構造変化を外力への線形応答として記述することを本研究の目的とする。線形応答理論による構造変化は次式で与えられる。 $\delta r_i = \beta \sum_j \langle \Delta r_i \Delta r_j \rangle F_j$ ここで $\langle \Delta r_i \Delta r_j \rangle$ は原子 i, j の変位の相関関数、 F_j は原子 j にかかる外力を示す。xyz 座標系の線形応答の変位により、回転の動きが支配的である蛋白質構造変化を大まかに記述できるが、応答は回転軌道における接線方向の動きとして記述されることとなる。そこで本研究では、構造変化に伴う内部座標系変位である 2 面角変位を外力の線形応答として求め、 $\theta + \delta\theta \rightarrow r + \delta r$ と構造変化させて回転の動きを記述することを試みた。外力は xyz 座標系のものを用いることは必須であるので、2 面角変位は $\delta\theta_i = \beta \sum_j \sum_k \langle \Delta\theta_i \Delta r_j \rangle F_j$ として算出される。ここで $\langle \Delta\theta_i \Delta r_j \rangle$ は 2 面角 i の変位と原子 j の xyz 座標の変位の相関関数である。更に、 $\delta\theta_i \cong \beta \sum_j \sum_k \langle \Delta\theta_i \Delta\theta_k \rangle \left(\frac{\partial r_j}{\partial \theta_k} \right) F_j$ として傾き $\left(\frac{\partial r_j}{\partial \theta_k} \right)$ を非結合状態の時の値に固定して 2 面角変位を算出する方法も試みた。以上の 3 つの表式による応答を比較・検証した結果、2 面角変位で構造変化を記述することによって、蛋白質構造変化における回転の動きを外力の線形応答の形で記述することが可能であることを示すことができた。

S.Omori, M.Ikeguchi and A.Kidera : Structural change of protein described by linear response theory : Internal coordinates

1P059

糖結合のためのタンパク質典型構造の抽出

○塩生 くらら、白井 剛（BERI）

本研究はタンパク質による糖鎖の認識・結合構造の経験的ルールから、その基本原理を明らかにすることを目的として、これまでに計 192 のタンパク質の糖鎖複合体構造を用いてタンパク質の糖認識・結合構造の経験的ルールを導きだし、それに基づいてタンパク質の糖鎖結合部位を予測するシステムの開発を行ってきた。今回、予測に寄与するものを具体的に調べるため、システムの中で経験的ルールを表している得点系を用いて、集めたタンパク質・糖相互作用データベース中の各残基の得点づけを行い、得点の高い残基を選ぶという方法で糖結合の典型構造を抽出した。また、単糖の種類別にある得点系を系の間でスコアを数学的に扱えるように改良し、比較できるようにした。比較した新たな得点系（例：ガラクトースとグルコースの得点系内の各スコアの差をとり、グルコースに対して特徴的な分布を表したガラクトースの得点系）を用いることでガラクトース、グルコース、マンノースのちがいを認識するためのタンパク質構造を抽出した。発表では経験的ルールから抽出した糖の認識・結合の典型構造、また単糖の種類を認識するための構造との特徴を議論する。

C.Shionyu-Mitsuyama, T. Shirai : Typical structure of carbohydrate binding site

1P058

MutT の構造変化と基質認識の関連

○樋口 真理子¹、石田 恒¹、北尾 彰朗²、山縣 ゆり子³、郷信広^{1,4}（¹原研・中性子利用研究センター、²東大・分生研、³熊本大院・薬、⁴奈良先端大・情報科学）

ヌクレオチドは酸化すると DNA に取り込まれた後に突然変異の原因となる。*E. Coli* から発見された酵素蛋白質 MutT は酸化したヌクレオチド 8-oxo-dGTP を加水分解し 8-oxo-dGMP とすることで DNA に取り込まれることを防いでいる。MutT は基質を非常に大きな結合力の差で見分けている。Mildvan らによる滴定型熱量測定によると MutT と 8-oxo-dGMP の結合時の自由エネルギー差が $\Delta G = -9.8 \pm 0.2$ ($\Delta H = -39.0 \pm 0.7$, $-T \Delta S = 29.2 \pm 0.7$) であるのに対し、MutT と dGMP では $\Delta G = -3.7 \pm 0.3$ ($\Delta H = -3.3 \pm 0.3$, $-T \Delta S = -0.4 \pm 0.4$) である。この差は両基質の水素結合能の差だけでは説明できない。我々は MutT がどのような機構で大きな結合力の差を作っているのかを解明したいと考えている。また、山縣らにより X 線結晶構造解析を用いて解かれた 8-oxo-dGMP と MutT の複合体と基質フリーの MutT の構造を比較すると、基質を囲むループ部分が大きな構造変化を起こしていることが分かる。この構造変化と基質認識に関連があるのかという点に注目したい。我々は基質による違いを調べるために、上記の 2 つの構造を基にして、基質フリーの MutT、それぞれの基質との複合体、基質フリー構造の MutT に基質を水素結合させたものについて AMBER7 を用いて分子動力学計算を行った。その結果、フリー構造と 8-oxo-dGMP との複合体の構造エントロピーの違いが、分子全体の揺らぎの違いに由来していること、構造変化なしでは基質を水素結合させても MutT の揺らぎの状態はフリー構造に近いこと、基質が dGMP の時は 8-oxo-dGMP と同様の複合体構造が保たず、揺らぎ・構造エントロピーともフリー構造の状態に近くなることが分かった。

M.Higuchi, H.Ishida, A.Kitao, Y.Yamagata and N.Go : Relation between structural change and substrate recognition function of MutT

1P060

昆虫外皮由来新規サイトカインの単離・精製と解析

○仲戸川 真一¹、織田 康則²、相沢 智康¹、出村 誠¹、早川 洋一²、新田 勝利¹（¹北大・院・理、²佐賀大・農）

昆虫は地球上に存在する動物種の約 7 割を占め、多様な環境に適応し繁栄している。昆虫類の繁栄を支えている主要因の一つが、体内への異物侵入を防ぐ強力な生体防御機構と言える。昆虫のような無脊椎動物は、獲得免疫をもたず自然免疫のみによって病原性微生物の感染に対処している。昆虫の自然免疫は、細胞性反応と液性反応に大別され、このうち細胞性反応には、食作用、ノジュール形成、包囲化作用を担う血球細胞が大きな役割を果たすと考えられている。また、外皮は異物侵入を防ぐ最前線であるが、これまでに昆虫外皮内の免疫機構の研究はほとんどなされていない。本研究では、アワヨトウ (*Pseudaletia separata*) を実験材料とし、昆虫生体防御系の主要組織である外皮と血球細胞に焦点をあて、両者の接点と考えられる外皮由来新規サイトカインの単離・精製とその解析を行った。

アワヨトウの幼虫外皮には、血球細胞の凝集塊形成を誘起するサイトカイン様活性が確認された。そこで、この活性を指標にして外皮の粗抽出液から活性化因子を単離する手法を確立した。全部で 5 段階からなるカラムクロマトグラフィーによって精製を行い、この活性化因子の単離に成功した。さらに、この活性化因子の分子量をマスマスペクトログラフィーで解析したところ、分子量 3.9kDa のペプチドであることが明らかになった。また、アミノ酸配列分析によって、このペプチドの N 末端 23 残基のアミノ酸配列を決定した。この配列をもとに、RACE 法で cDNA をクローニングし、ペプチド全長およびその前駆体のアミノ酸配列を決定した。現在、大腸菌を用いた発現系の構築、組み換えタンパク質によるサイトカイン活性の解析を進めている。本年会では、この活性ペプチドの諸性質、及び、これまでに報告されている昆虫由来タンパク質との関係も含めて議論する予定である。

S. Nakatogawa, Y. Oda, T. Aizawa, M. Demura, Y. Hayakawa and K. Nitta : Isolation and characterization of novel cytokine from the insect integument