2P041

フラグメント組合せ法を拡張した膜タンパク質の立体構造予測

○三木 崇史、藤墳 佳見、高田 彰二（神戸大自然科学）

全ゲノムの約3割をコードする膜タンパク質は、生体内で味覚・嗅覚等の機能に関わる。更に現在開発される医薬品の7割近くが膜タンパク質をターゲットとしており、非常に重要なタンパク質である。しかしX線回折等で構造が解明された膜タンパク質は少ない。そこで、本研究では膜貫通型ヘリックスタンパク質の立体構造予測を行う事を目的に、膜タンパク質に即した粗視化エネルギー関数構築とフラグメント組合せ法の拡張を行う。

膜タンパク質において、水溶性タンパク質と異なる点は脂質環境による誘電率の減少である。そこで従来の水溶性タンパク質の疎水性相互作用エネルギー及び、水素結合エネルギーに脂質濃度を取り込む事で誘電率の減少を表現した。脂質濃度は膜の位置によって決まり、膜中心部に近づくに従い増大する。更に各残基間のコンタクト傾向度をエネルギー関数に取込むことにより各ヘリックスの並びを的確に予測できる。このコンタクト関数はMiyazawa & Jerniganによる水溶性タンパク質コンタクト関数の手法に基づき、膜タンパク質21種類の統計から導出した。また膜面垂直方向の位置毎の各アミノ酸存在傾向度を関数に取込んだ。

膜タンパク質の立体構造予測で重要な事は、膜に対する膜タンパク質の空間配置である。また特に大きな膜タンパク質では構造探索が非常に困難である。そこで膜タンパク質を分割化し、その分割部位毎にフラグメント交換及び、並進・回転を行うアルゴリズムの開発で課題の解決を図った。

今回予測に用いた対象は、2回膜貫通型のF1Fo ATP Synthase Subunit CでありNMR解析構造に対してシミュレーション結果構造のRMSDが3.2 Åであった。現在7回膜貫通型のロドプシンの立体構造予測に挑戦中であり、結果詳細報告は当日行う。

T.Miki,Y.Hujitsuka,S.Takada : Extension of the method of Fragment Assenbly for membrane proteins

2P043

マルチカノニカル分子動力学法による蛋白質予測構造の精密化

○石谷 隆一郎、寺田 透、中村 周吾、清水 謙多郎（東大・院農・応生工）

アミノ酸配列からの蛋白質の高次構造予測は、近年の既知構造数の増加等により、既知構造との配列相同性が高い場合かなりの精度を達成できるようになってきた。しかし、逆に相同性が低い部分に関しては未だに精度が低く、予測構造に基づいた相互作用・機能予測等を高精度で行う為には予測構造の精密化を行う手法が必要とされている。この精密化に分子動力学法(MD)を用いる試みは従来多く行われてきたが、自由エネルギーの局所的な極小状態にトラップされて天然構造に到達できないという問題点を抱えていた。本研究では、この構造空間サンプリングの問題を解決する為、マルチカノニカルMDを使用した予測構造の精密化を試みた。マルチカノニカルMDは幅広い構造空間を効率的に探索できるため、自由エネルギー最小状態に到達できる可能性が期待される。具体的問題設定としては、立体構造が多く決定されているSH2ドメインのうち、特に、ヒトp56 lck (1LKK)の構造を元に、Xlp SAP (1D4W)の構造を予測する問題を取り上げた。SH2ドメインは100アミノ酸残基程度からなり磷酸化チロシンを含んだペプチドを認識する機能を持つが、ペプチドを認識するループ部分がホモログ間で大きく変化しており、既存の比較モデリングのみでは正確な構造予測は困難である。まず、MDの初期構造を比較モデリングソフト(Modeller)により作成し、マルチカノニカルMDを温度400 Kと500 Kにて行った。また溶媒について、水分子を陽に含む系や、連続体として近似する系等を試みた。さらに、モデリング構造と結晶構造、両方のマルチカノニカルMDを行い、主成分分析・構造クラスタリング等により両方が同一の構造クラスターに到達しうるかを検討した。本年度では、これらの結果について発表する。

R. Ishitani, T. Terada, S. Nakamura, and K. Shimizu : Refinement of Comparative-Modeled Protein Structure by Multicanonical Molecular Dynamics

2P042

フラグメントアセンブリ法によるタンパク質立体構造予測のための戦略的フラグメント探索

○朴 聖俊^{1,2}、千見寺 浄慈²、藤墳 佳見²、高田 彰二²（¹東工大大院総合理工、²神戸大理学部）

近年、タンパク質物性研究と計算機シミュレーション手法の発展に伴い、タンパク質折りたたみ機構の理解が深まってきている。特に、一次構造から三次構造の予測を試みることは、効果的なエネルギー関数の設計は勿論、階層的タンパク質構造の関係、ドメイン境界領域の推定、生化学的機能の予測など、タンパク質を理解する上で重要な理論と方法を導き出している。その一つとして、Bakerらによるフラグメントアセンブリ法は、局所的相互作用を粗視化するために部分構造(フラグメント)をビルディングブロックとして利用する。しかし、フラグメントの精度に大きく依存する本質的な問題が存在する。

ここでは、あるタンパク質における部分配列の三次構造候補を既存データベースから抽出する方法について考察し、立体構造予測の精度向上を図る。情報理論と統計学に基づく我々のアプローチは既存のプロファイル比較を用いる。

まず、構造既知テンプレートタンパク質群(≤ID 25%)のNRDBにおける配列保存性と二次構造要素に基づくプロファイルデータベースを作成する。ターゲット配列のプロファイルも同様に作成するが、二次構造予測はニューラルネットワークと隠れマルコフモデル、サポートベクトルマシンのコンセンサスをとる。次に、ターゲット配列の部分配列(長さ10, 16, 20)とプロファイルデータベースの相関及び内積を重み付けベクトルから計算し、サイトごとに最大100個のフラグメントを長さ10に揃えて用意する。これらは最大節約法によってクラスタ化され、フラグメントの有意性と多様性を保つように候補数が調整される。本アプローチによってRMSD 2.5 Å以下の長さ10のフラグメントを発見することができた。また、予測実験によってフラグメントアセンブリ法におけるフラグメント質の重要性を確認した。

S.J.Park, G.Chikenji, Y.Fujitsuka, S.Takada : A study of fragment selection for fragment assembly method predicting protein tertiary structures

2P044

数値的解法を用いた表面積・体積・溶媒和自由エネルギーの高速計算

○升屋 正人（鹿児島大・学術情報基盤センター）

遺伝子上の核酸配列の情報に基づき細胞内で合成されたアミノ酸配列はそのままでは機能を持たない。立体構造を形成してはじめて機能が発現する。ところがこの立体構造形成機構についてはまだ十分に明らかにされていない。この解明を目的とした計算機シミュレーションにおいては溶媒分子を考慮すること、すなわち、溶媒和自由エネルギーの計算が必要となる。溶媒和自由エネルギーの計算には時間がかかるため、高速に計算する方法が求められてきた。

高速に溶媒和自由エネルギーを求める方法の一つに、分子表面積を用いた近似解法(SASA法)がある。これは、分子に含まれる各原子を原子団に分類し、原子団ごとの溶媒接触表面積にパラメータを乗じたものの総和として溶媒和自由エネルギーを求める方法である。SASA法では表面積を高速に計算できれば溶媒和自由エネルギーを高速に計算できる。表面積の高速計算には、原子の中心の座標を用いて単純化した数式により表面積を近似的に求める方法が用いられることが多い。ところが、SASA法ではわずしか露出しない場合もある個々の原子の溶媒接触表面積を用いるため、この方法では十分な精度が得られない。一方、分子を構成する原子の表面上に点を分布させ、分子の表面に存在する点を数えることで表面積と体積を同時に計算できる数値的解法もある。こちらは、点の数を多くすることで高い精度を得ることができるが、計算に時間がかかるという問題があった。

そこで本研究では、表面積・体積の数値的解法に対して、新しい高速化アルゴリズムを開発するとともに原子表面に均等に点を分布させる方法を用いて精度の向上を図った。表面積・体積・溶媒和自由エネルギーの高速計算プログラム(NSOL)を開発した。このプログラムにより、これまででない速度と精度での表面積・体積・溶媒和自由エネルギーの計算が実現されることになる。

M. Masuya : Fast numerical calculation of molecular surface area, volume and solvation free energy