2P049

プリオンタンパク質の疾病関連遺伝子置換 P102L のダイナミクスに与える影響について

○関嶋 政和¹、本野 千恵¹、野口 保¹、金子 清俊²、秋山 泰¹ (¹産総研・生命情報、²国立精神神経センター・神経研)

プリオンタンパク質は生体内にあってその機能が明らかになっていないタンパク質である。プリオンタンパク質の α リッチな正常な立体構造がミスフォールドを起こして β リッチな異常構造に転移し、アミロイド化することが狂牛病、スクレイパー、クロイツフェルト・ヤコブ病などのプリオン病を引き起こす原因となっている。しかしながら、この構造転移がどのようにして起き、プリオン病を引き起こすかは明らかになっていない。また、NMRとX線結晶解析により正常プリオンタンパク質の構造は一部が決定されているが、実験的に疾病に重要であると確認されている領域の一部は揺らいでいる為に決定されていない。Willeらは、90-170 残基が β -helices でC端の171-231 残基が二本のhelixであることをelectron crystallographyのデータから提案している。本研究では、構造転移機構の解明を目指して90-230 残基に対して300Kの温度において野生型と変異型(P102L)のシミュレーションを行い、変異型において β 化が時系列に沿って進んでいく模様について報告する。

M. Sekijima, C. Motono, T. Noguchi, K. Kaneko, Y. Akiyama : Molecular dynamics simulation on Prion Protein: effect of P102L mutation

2P051

マルチカノニカル分子動力学法によるリガンド結合に伴うタンパク質の構造変化メカニズムの解析

○寺田 透、中村 周吾、清水 謙多郎 (東大・院農・応生工)

我々は、カルシウム結合タンパク質 calmodulin (CaM) をモデルシステムとして、リガンド結合に伴うタンパク質の立体構造変化メカニズムの解明を目指している。CaMは1本の長いヘリックスの両端に球状のドメインがついたダンベル状の構造をとっている。それぞれのドメイン(nCaM, cCaM)は4本のヘリックス(helix A-D, E-H)からなり、helix A-B, C-D, E-F, G-H間に1つずつCa²⁺イオンを結合する。Ca²⁺が結合していないapo-CaMでは、これらのヘリックス対のなす角はほぼ平行であるのに対し、Ca²⁺が結合したholo-CaMでは垂直に近く、疎水性残基からなるターゲットとの結合面が露出している。本研究では、apo型コンフォメーションからholo型に移る過程を明らかにするために、apo-nCaMにCa²⁺を2つ結合させたholo-nCaMモデルを初期構造とする、マルチカノニカル分子動力学シミュレーションを行った。昨年の年会では、初め400 Kでシミュレーションを行い、構造遷移が観察されなかったため、途中で500 Kに温度を上げたところ、構造の遷移が観測されたことを報告した。そこで今回は、初めから500 Kでシミュレーションを行い、500 Kから290 Kのエネルギー領域を覆うアンサンブルを得た。ここでは立体構造探索の範囲をCa²⁺結合状態に限定するために、Ca²⁺を結合サイト付近に束縛した。現在までに50 nsの計算が終了し、20 ns付近でNMR構造からのC α RMSDが約2.2 Åのholo型構造が出現していることを確認した。年会では、クラスター解析や主成分分析などによる立体構造分布解析の結果に基づいて、構造遷移のパスウェイについて議論する予定である。

T. Terada, S. Nakamura and K. Shimizu : An analysis of conformational change of a protein upon binding to ligand by multicanonical MD

2P050

マルチカノニカル分子動力学シミュレーションによる Photoactive Yellow Protein の L から M 中間体への変換経路に関する解析

○新井 昭平¹、高 己¹、神谷 成敏²、肥後 順一³、櫻井 実¹ (¹東工大・バイオ基盤センター、²生物分子工学研究所、³東葉大・生命・生物情報)

Photoactive Yellow Protein(PYP)は、紅色光合成細菌の負の走行性を司る光受容体タンパク質である。PYPは、Cys69にチオールエステル結合したp-クマル酸を発色団として持ち、その光反応サイクルにPYP_L、PYP_Mなどの中間体を持つ。PYP_Mは信号伝達状態であり、極めて重要である。またPYP_LはPYP_Mへの前駆体であり、その構造やPYP_Mへの過程での発色団のコンフォメーション変化やプロトン移動の機構を解明し理解することは、発色団によるタンパク質の構造変化の制御を理解する上で極めて重要である。本研究ではマルチカノニカル分子動力学計算を使うことでM、L中間体のグローバルミニマムの構造を探索するとともに光反応サイクルにおけるL中間体からM中間体に至る経路を考察することを目的とする。中間体のX線構造(PDBID:2PYP:3PYP)の周りに水を球状に発生させ、分子動力学計算を行った。プログラムはpresto、タンパク質の力場にはAmber96、水の力場はTIP 3 P、温度制御にはNose'-Hoover法、長距離相互作用にはcell multipole method、time stepは1fs、H原子を含む伸縮の凍結をSHAKE法を用いて行った。なお、Amber96力場にはないクマル酸の回転ポテンシャルを、DFT計算(B3LYP基底6-31G*)により決定した。タンパク質の構造が十分に広い領域をサンプリングするために400Kまで昇温し、マルチカノニカル分子動力学計算を行った。M、L中間体ともに300Kから400Kまでの間のカノニカルアンサンブルを得ることに成功した。300Kでの主成分解析を行った結果、Lでは5、Mでは6個のクラスターに分割できた。各クラスターごとにN末端の二次構造、発色団周辺の水素結合ネットワークにそれぞれ特徴があった。自由エネルギー図や量子化学計算によるプロトン移動反応の解析により、発色団の光異性化がどのようにして信号伝達状態に導くか議論する。

S.Arai, Q.Gao, N.kamiya, J.Higo, M.Sakurai : Analysis of the transition pathway from the L to M intermediate of Photoactive Yellow Protein based on Multicanonical MD simulation

2P052

セミフレキシブルドッキングツールの開発とPPAR γ -コアクチベータペプチド間のドッキングへの応用

○神谷 成敏、白木 琢磨、児玉 高志、陣上 久人 (生物分子工学研究所)

Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma (PPAR γ)は糖代謝等を調節する核内受容体である。PPAR γ はリガンドと結合することにより活性化し、LXXLL配列モチーフを持つコアクチベータタンパク質と結合する。PPAR γ と結合したコアクチベータは、ヒストンのアセチル化等によって転写を調節する。2型糖尿病家系においてPPAR γ のリガンド結合ドメイン内に点変異が報告されている。しかし、X線結晶構造解析で得られたPPAR γ -コアクチベータペプチド-リガンド複合体構造では、変異アミノ酸残基V290やP467はリガンドであるBRL49653ともコアクチベータペプチドとも接しておらず、変異による機能不全の機構を説明できない。われわれは、「野生株では変異部位周辺にもう1つのコアクチベータペプチドが結合し、変異によりその結合が阻害される。」ことが、発病の要因であると考えた。

分子力学法をベースとしたセミフレキシブルドッキングツールを開発し、PPAR γ 複合体-コアクチベータペプチド間のドッキングを行った。本ツールでは、レセプターとペプチドの特定原子間を距離拘束することでドッキングを行う。両者の側鎖をフレキシブルにすることで、ドッキングの際のローカルな構造変化を取り扱う。また、結合エネルギーの算出の際には溶媒効果を考慮している。アミノ酸配列の異なる3種のLXXLLモチーフを持つ α ヘリカルなコアクチベータペプチドを作成し、それぞれのペプチドをPPAR γ の変異部位周辺に導入した。得られた複合体の安定性や点変異の影響を評価することで、2型糖尿病におけるPPAR γ の機能不全を構造的に考察した。本研究は、NEDOの研究プロジェクト「基盤技術促進事業/プロテインネットワーク/超分子複合体構造機能の解析と制御による創薬等産業基盤技術の開発」の支援を受けた。

N. Kamiya, T. Shiraki, T.S. Kodama, H. Jingami : Development of the semi-flexible docking tool and application to the docking between PPARgamma and coactivator peptide