2P117

タンパク質-核酸複合体形成の熱力学量と立体構造

○上平 初穂¹、河野 秀俊²、Prabakaran Ponraj³、北島 浩司⁴、
皿井 明倫⁴ (¹産総研、²原研、³米国立がん研究所、⁴九工大・情報工学)

タンパク質と核酸の相互作用の定量的な熱力学的情報は、分子認識や遺伝子発現のメカニズムを理解するために重要である。我々は、これらの測定値を集め、構造情報を組合せたデータベース ProNIT[1]を開発し、公開している。タンパク質と核酸の複合体形成過程は、系の熱容量の減少を伴う。結合過程の特性を明らかにするために、この熱容量変化の実測値と、立体構造から算出した溶媒露出表面積 (ASA) 変化との関係を求めた。

ASA 変化の計算には GETAREA と ASC プログラムを用いた。熱容量変化の実測値は、タンパク質の unfolding に基づいて Spolar[2] や Murphy[3] が提案した関係式:

$$dC_p(\text{calc}) = a \, dASA_{np} - b \, dASA_p$$

からの計算値よりもはるかに大きな負の値を示した。ここで、 $dASA_{np}$ および $dASA_p$ はそれぞれ非極性および極性基の ASA 変化である。タンパク質・核酸結合に伴う熱容量変化も ASA 変化とほぼ直線関係を示しており、係数 a 、 b を求めた。しかし、これらの値は Spolar や Murphy の値と大きく異なる。この要因はいくつか考えられるが、この結果はタンパク質・核酸結合でも熱容量変化が水和の減少と比例する機構に基づくことを示唆する。

文献 [1] Prabakaran, P. et al., *Bioinformatics*, **17**, 1027-1034 (2001).

[2] Spolar, R. S. and Record Jr., M. T., *Science*, **263**: 777-784 (1994).

[3] Murphy, K. P. and Freire, E., *Adv. Protein Chem.*, **43**: 313-361 (1992).

H.Uedaira, H.Kono, P.Prabakaran, K.Kitajima and A.Sarai : Thermodynamics of protein-DNA complex formation in relation to structure

2P119

Indirect readout in protein-DNA recognition: evaluation of conformational energy of DNA from molecular dynamics simulations

○Arauzo-Bravo Marcos¹、Ahmad Shandar¹、藤井 聡²、竹中 繁織²、河野 秀俊³、郷 信広³、皿井 明倫¹ (¹九工大・情報工学、²九大・工学、³原研)

Protein-DNA recognition plays an essential role in the regulation of gene expression. Regulatory proteins are known to recognise specific DNA sequences mainly by way of direct readout through direct base-amino acid contact and indirect readout through DNA conformation. In previous works, we have developed methods to derive statistical potentials from a structural database containing protein-DNA complexes, and used them to quantify the specificities of direct and indirect readouts in protein-DNA recognition and to predict target binding sites. However, the statistical potentials derived from structural databases suffer from the problems associated with a limited quantity of data and possible bias. To overcome these problems, we have performed molecular dynamics simulations of DNA containing all possible tetramer base steps, and used the trajectory data to calculate the potentials of mean force for conformational parameters of DNA. These data allow us to estimate the conformational energy of DNA of any sequences and to calculate Z-score as a measure of specificity. The analysis will also bring the possibility of broader studies providing new insights into the relationship between specificity and structure in the process of protein-DNA recognition, which would lead to prediction of specific protein-DNA binding sites.

M. J. Arauzo-Bravo, S. Ahmad, S. Fujii, S. Takenaka, H. Kono, N. Go and A. Sarai : Indirect readout mechanism in protein-DNA recognition: evaluation of conformational energy of DNA from molecular dynamics simulations

2P118

Latest Developments in ProNIT: Thermodynamic Database for Protein-Nucleic Acid Interactions

○Kumar Shaji¹、Prabakaran Ponraj²、上平 初穂¹、Gromiha Michael³、北島 浩司¹、皿井 明倫¹ (¹九工大・情報工学、²生命情報科学セ、³産総研)

ProNIT [1,2] is a thermodynamic database for the protein-nucleic acid interactions, which documents experimentally observed binding data of protein-nucleic acid interactions. Each interaction is recorded in association with the details of the experimental techniques used to obtain it and the thermodynamic data reported. In addition, each entry is annotated with additional information on the protein and nucleic acid involved in the interaction. Users can search ProNIT through a form-based Web interface, which can be used to search for data under various conditions with different display and sorting options according to the user's purpose and convenience, and to visualize molecular structures and properties. Recent developments include the addition of protein-RNA interaction data in our database. Presently, the database contains more than 4200 entries from about 200 research papers and there are about 150 different DNA binding proteins. About 150 data belongs to protein-RNA interactions. A new field "TYPE_NUC" is added which will help the user to search for DNA and RNA interactions data separately. Another new field "Homologous PDB entries" is also added, which provides related PDB entries with homologous sequences. The database can be accessed at <http://dna01.bse.kyutech.ac.jp/jouhou/pronit/pronit.html>. [1] P. Prabakaran et al. *Bioinformatics* **17**, 1027-1034 (2001). [2] A. Sarai et al. *Biopolymers* **61**, 121-126 (2002).

M.D.S.Kumar, P.Prabakaran, H.Uedaira, M.M.Gromiha, K.Kitajima and A.Sarai : Latest Developments in ProNIT: Thermodynamic Database for Protein-Nucleic Acid Interactions

2P120

RuvA 4量体-Holliday分岐DNA複合体の分岐点移動のアンブレラサンプリングシミュレーション

○石田 恒¹、郷 信広^{1,2} (¹原研・中性子利用研究センター、²奈良先端大・情報科学)

ホリデイ構造は、DNA 相同組換えの普遍的な DNA 中間体である。大腸菌では、RuvA-RuvB 複合体がホリデイ構造の分岐点移動を促進する。RuvA はホリデイ構造特異的 DNA 結合蛋白質で、分岐点において塩基対の架け替えを構造的に維持する役割がある。RuvB は 2 つの 6 量体がホリデイ分岐 DNA と結合し、ATP 加水分解エネルギーを用いてホリデイ分岐点の移動反応を触媒する蛋白質である。我々はホリデイ構造の分岐点移動を分子動力学シミュレーションすることで、そのメカニズムの解明を目指している。

実験によると、DNA と結合した RuvAB がもつ ATP 加水分解の分子活性 (kcat) は最大 17 ATP/min/RuvB monomer (Mitchell ら、*JMB* (1994) **243**, 208) であり、分岐点移動速度は 10-20 bp/sec である (Tsaneva ら、*Cell* **69**, 1171)。最近、単分子測定を用いることにより、RuvAB と結合したホリデイ分岐 DNA に作用させた力 f と分岐点移動速度 v の関係が示された (Amit ら、*PNAS* **101**, 11605)。それによると $f=0$ における v は約 100 bp/sec、 $v=0$ における f は 25 pN である。

このような分岐点移動反応を原子レベルで理解するには、分岐点移動におけるエネルギー地形および遷移状態を解析する必要がある。しかしながら RuvB とホリデイ分岐 DNA の複合体の立体構造はまだ解かれていない。したがって分岐点移動のシミュレーションを行うためには、RuvB が生成する力を人工的な外力で代用する必要がある。

そこで現在、ホリデイ分岐 DNA に調和型ポテンシャルを加えることで分岐点移動のエネルギー地形を調べるアンブレラサンプリングシミュレーションを実行中である。系は、E.Coli 由来の RuvA 4 量体・ホリデイ分岐 DNA (25 塩基×4 鎖) 複合体の立体構造 (PDB コード: 1C7Y) を用いた。ホリデイ分岐構造の分岐点移動速度および遷移状態についての解析は、本会にて報告する。

H.Ishida and N.Go : Umbrella sampling simulation of branch migration in RuvA tetramer - Holliday junction DNA complex