3P073

ペプチドの状態間遷移における水の役割:Transition Path Samplingの応用

○小山 洋平¹、遠藤 正人²、高野 光則² (¹東大院・総合文化、²早大・理工・物理)

タンパク質のフォールディングにおいて溶媒である水分子は単に平均化された熱力学的有効ポテンシャルを付与するという役割に過ぎないのか、また、ダイナミクスの観点からは、単に(摩擦+ランダム力)という Langevin 的な描像ですむのであろうか、という疑問が本研究の出発点である。

Rhee ら [1] は水中で 23 残基のペプチドの MD シミュレーションを行い、アンフォールド状態からフォールドしたトラジェクトリーを用いて、水の配置だけを変えた後、フォールディングの反応座標の値 (P_{fold}) が変わるかどうかを調べ、これが変わらなかったことから、フォールディング経路はペプチドの配置だけで決まり、水の配置によらない、と結論付けた。

一方で、反応座標に水の自由度を含めることが必須であることを示唆する報告もあり [2]、さらに Rhee らの研究では遷移状態近傍では構造が十分調べられていないため、フォールディング経路がペプチドの配置のみで決まるという結論には異論の余地がある。

そこで、我々は水の特定の配置がフォールディングの反応経路に影響を与えるかどうか(すなわち、水の自由度も反応座標に含める必要があるかどうか)を明らかにするために、Transition Path Sampling[3](トラジェクトリー空間でのモンテカルロサンプリング)を用い、ペプチド分子の安定状態をつなぐ反応経路を多数サンプリングし、この反応経路における水分子の積極的な関与(反応経路に依存した水の非局所的な構造形成)があるかどうかを調べた。

[1]Y.M. Rhee *et al.*, (2004) *Proc.Natl.Acad.Sci.* **101**,6456-6461

[2]P.G. Bolhuis *et al.*, (2000) *Proc.Natl.Acad.Sci.* **97**,5877-5882

[3]P.G. Bolhuis *et al.*, (2002) *Annu.Rev.Phys.Chem.* **53**,291-318

Y.Koyama, M.Endo and M.Takano : The role of water in the state transition of peptide:Application of Transition Path Sampling

3P075

蛋白質の部分比容に対する水和水の寄与

○関 安孝、曾田 邦嗣 (長岡技科大・生物系)

蛋白質の構造安定化や折り畳み機構の解明をめざして、天然状態だけでなく、完全解鎖状態や変性中間状態などの非天然状態の部分比容が実測されている。様々な溶液条件での蛋白質のコンホメーションを、部分比容の実測値に基づいて議論をするためには、任意のコンホメーションをもつ蛋白質の部分比容に対する水和水の寄与を正確に予測できる必要がある。Chalikian らにより、分子体積と露出表面積 (accessible surface area, ASA) を用いた水モデルによる、天然状態の部分比容の予測法が提案されている。しかしこの予測法は、アミノ酸やペプチドの実験値を再現することが出来ないから、同様な露出度を持つ蛋白質の完全解鎖状態には適用できないと考えられる。本研究の目的は、蛋白質の部分比容に対する水和水の寄与を明らかにし、天然及び非天然状態の蛋白質に適用可能な部分比容の予測法を開発することである。まず、溶媒との水素結合の寄与を除くために、水と水素結合できない溶質周辺の水の空間分布を調べた: methane と部分電荷を零にした alanine, lysozyme の水溶液中の分子動力学 (MD) シミュレーションを実行した。その結果、溶質の分子表面上に水分子が占有出来ない空間、言い換えると“溶質と溶媒の隙間”が存在し、部分比容に寄与していることがわかった。その厚みを分子表面で平均すると、溶質のサイズや表面形状に依存せず、約 0.06nm となる。この隙間の寄与は、完全解鎖状態など分子表面積 (molecular surface area, MSA) の大きい構造で特に大きくなる。次に、20 種のトリペプチドと 4 種の蛋白質の MD シミュレーションを実行し、溶質と水和水との水素結合数を調べた。その結果、各水素結合サイトの平均水素結合数は、ASA よりも MSA に良く比例することが分かった。年会では、これらの結果を踏まえた新しい部分比容の予測法について報告する。

Y. Seki and K. Soda : Contribution of Hydration Water to the Partial Specific Volume of Proteins

3P074

蛋白質の折り畳みにおける疎水クラスタ残基の寄与の解析

○松本 博希¹、Ismail E. Rozi²、次賀 慶太郎¹、関 安孝¹、曾田 邦嗣¹ (¹長岡技科大・生物系、²Eijkman Inst. Molec. Biol.)

蛋白質の立体構造形成に関わる多様な相互作用の中で、疎水相互作用は、立体構造安定化に寄与すると共に、その大局的な凝集力によって、折り畳み過程にも関与することが予想される。蛋白質の疎水クラスタ残基は、1 次構造上ほぼ一様に分布しており、天然構造では分子内部に埋まって疎水性のクラスタを形成している。本研究の目的は、水溶液中でこれらの疎水クラスタ残基間に働く疎水効果が、蛋白フォールディングに果たす役割とその機構を明らかにすることである。そのために、疎水クラスタ残基のみを抽出し、隣接する疎水クラスタ残基の α 炭素間をフックのバネで繋いだ擬ペプチド鎖について分子動力学模擬計算を行い、生成されるコンホメーション集団の統計解析から、水中での疎水性アミノ酸残基の凝集状態や擬ペプチド鎖のトポロジーの多様性を解析した。これまでに、adenyl tyrosine kinase SH3 ドメインの 6 個の疎水クラスタ残基からなる擬ペプチド鎖に対する解析から、(1) 多様なトポロジーを持つ、ランダム・コイル状の構造も多いが、(2) このように短い非極性鎖でも、極性鎖より有意にコンパクトな構造が生成され、(3) 疎水効果による大局的凝集力が起きていることを、明らかにした。更に多い 14 個の疎水クラスタ残基を持つ、E-coli の cold shock protein (Csp A) を対象として、その疎水擬ペプチド鎖について生成されたコンホメーションを解析した。その結果、擬ペプチド鎖の平均自乗半径 R_{sq} は、天然状態で 0.739nm であるのに対し、ランダム鎖から開始した 20ns の MD 模擬計算中では平均 0.753nm と、非常にコンパクトな構造をとることが分かった。ポスターでは、クラスタ解析法と主成分分析法による解析の結果に基づいて、このような疎水凝縮作用が蛋白質の折り畳みに与える効果を、詳しく議論する予定である。

H. Matsumoto, I. E. Rozi, K. Tsugika, Y. Seki and K. Soda : Analysis of Contributions of Hydrophobic Cluster Residues to Protein Folding

3P076

蛋白分子内部の水素結合の統計解析

○椎名 智史、原 徹明、関 安孝、森 一樹、曾田 邦嗣 (長岡技科大・生物系)

蛋白質の分子内水素結合は、蛋白質の立体構造安定化や折り畳みにおいて重要な相互作用の 1 つである。特に二次構造の形成に伴う主鎖間の規則的な水素結合が、蛋白質の構造安定性に重要であることは言うまでもない。しかし二次構造に含まれない水素結合(以下、不規則水素結合と呼ぶ)が、蛋白質の安定化にどのように寄与しているかは良く分かっていない。本研究の目的は、蛋白質の構造形成と安定化に対する、蛋白質内部の不規則水素結合の寄与に関する知見を得ることである。特に、不規則水素結合の一次配列上の距離や、水素結合と疎水クラスタの空間配置に着目する。まず、Thornton 法を用いて、1579 個の蛋白質について水素結合を網羅的に検出した。これらの水素結合の内、DSSP によって二次構造と判定された主鎖間の水素結合を、規則的水素結合として除外した。残りの主鎖間の水素結合と側鎖間、主鎖-側鎖間の水素結合を不規則水素結合と定義して解析した。その結果、全分子内水素結合の 29.1 % が不規則水素結合であることが分かった。不規則水素結合のうち主鎖間の割合は 4.24 %、主鎖-側鎖間は 18.78 %、側鎖間は 6.07 % であった。また、不規則水素結合の一次配列上の距離を調べると、10 残基未満と 10 残基以上の割合が約半々であった。配列上近い残基間で形成されている不規則水素結合は、二次構造など局所的な構造の安定化を補う水素結合が多いと考えられる。例えば、 α -ヘリックスの末端の主鎖極性基と近隣の側鎖極性基が水素結合することは、良く知られている。一方、配列上離れた残基間での不規則水素結合は、蛋白分子全体の構造安定化や折り畳みに重要である可能性がある。年会では、一次配列上離れた残基間での不規則水素結合の内、特に分子内部に埋まっている水素結合と疎水クラスタの関係について議論する。

S. Shiina, T. Hara, Y. Seki, K. Mori, K. Soda : Statistical Analysis of Hydrogen Bonds in Protein Interior