3P085

Generalized Born energyの検証:レプリカ交換MD法による様々なペプチドの構造サンプリング

○亀田 倫史 (産総研・CBRC)

生体高分子のシミュレーションをする際に、溶媒である水の効果をきちんと考慮することが重要である。当然、水分子を陽に含めた系を用いれば良いわけであるが、原子数が多いため、計算には現在の計算機資源をもってしても非常に時間がかかってしまう。この問題に対処するためのアプローチは大きく言って2つある。一つは水分子を含んだ系のエネルギーを多極展開などの近似を用いて高速に求める方法で、もう一つは水分子を陽には含めず、溶媒効果を近似ポテンシャルで表現し高速化する方法である。これまで双方ともに様々な手法が提案されてきた。

2000年に入ると、近似ポテンシャルの一つである Generalized Born(GB) エネルギーを用いたMDによって、20残基程度のペプチドを伸びきった構造から天然構造へと巻き戻らせることに成功したとの報告がいくつかのグループによってなされ、その有用性に注目を集めてきた。しかし一方で、水分子を陽に含んだ場合はうまく実験結果を再現するのに、GBを用いた場合は大きく結果が異なってしまう、との報告もいくつかなされている。

今回はこのGBエネルギーを用いて、様々な構造のペプチド (α 、 β 、polyproline II helix(PPII)) を計算し、実験結果と比較することにより、その有用性を検証した。力場はCHARMM19、GBはDominyらがCHARMM用に開発したものを使用した。また、構造空間に無数存在するエネルギー極小点に留まることなく空間を広く探索し、低温での構造アンサンブルを正しく得るために、従来のMD法ではなくレプリカ交換MD法を用いて計算した。詳細は当日報告するが、現在のところ α helix (21残基)、3stranded β sheet (20残基)、poly-lysine のPPII構造を再現するのに成功している。

T. Kameda : Verifying the Generalized Born energy by replica exchange MD method

3P087

リゾチーム立体構造の安定性に対するS-S結合欠損の影響を分子動力学計算で予測する C64-C80欠損体とC76-C94欠損体の相違

○福塚 啓二郎¹、岡田 興昌²、瀬川 新一¹ (¹ 関学大・理工、² 富士ゼロックス・光システム事業開発部)

タンパク質を分子科学的に制御可能にするためには、それに人工的な変異を加えたとき、分子構造の安定性や動的性質における変化を予測可能なレベルにまで物理化学的に理解する必要があるだろう。そのような目的から、天然リゾチームに4本存在するS-S結合のうち1本だけを欠損させたリゾチーム変異体の振舞いを考察した。C64-C80とC76-C94というS-S結合はリゾチームの β ドメインに存在し、立体構造を見るだけではその役割の違いを予測できない。しかし、それらのS-S結合を欠損させた3SS変異体を作製し、その立体構造をNMR分光法によって詳細に解析したところ、非常に顕著な違いが明らかになった。C76-C94欠損体では β シート構造は非常に安定で、残基76のごく近傍でのみ構造の無秩序化が観測された。一方、C64-C80欠損体では、特に β シート領域(残基41-46)の水素結合網が大きく安定性を失う。以上の実験結果を分子動力学(MD)シミュレーションによって検証した。

MD計算にはAmber7を用いた。約14000個の水分子に取り囲まれたリゾチームに対して、天然タンパク質の結晶構造データを初期構造として平衡化計算を行った後、温度600Kの条件下でそれぞれの変異体に対して1ナノ秒の計算を初期条件を変えて10回繰り返した。解析の結果、C76-C94欠損体ではC64-C80欠損体よりも β シート領域の水素結合の安定性が高いことが分かった。また、MD計算で得られた構造と結晶構造とのRMSDをとることで、C64-C80欠損体では β シート領域が大きく揺らぐのに対し、C76-C94欠損体ではループ領域(残基62-79)が揺らぐという結果を得た。これはNMRの実験結果ともほぼ一致することがわかる。当日は、より詳細な解析結果を報告する。

K.Fukutsuka, O.Okada, S.Segawa : Effects of the removal of a S-S bond, C64-C80 or C76-C94, on the structural stability of lysozyme predicted by MD simulation

3P086

α 、 α/β 、 β タンパク質のダイナミカル構造形成シミュレーション

○佐々木 尚¹、笹井 理生² (¹ 名大院・人情、² 名大院・情報科学)

ダイナミカルに α 、 α/β 、 β タンパク質の構造形成シミュレーションを可能にするモデルの構築を行ったことについて報告する。

計算機能力が向上した現在でも残基数が増大すると全原子モデルを用いたタンパク質の巻き戻り過程のシミュレーションは未だ困難である。そこで本研究ではアミノ酸を一つの粒子で表すことで、タンパク質の構造形成シミュレーションを短い時間でできるようにする。アミノ酸間のポテンシャルエネルギーはProtein Data Bank(PDB)のタンパク質構造ライブラリを用いて統計的出現頻度を反映させた多体相互作用の有効ポテンシャルを構築し、それを用いた。

これらを用いて α 、 α/β 、 β タンパク質についてランジュバン分子動力学計算を行った。初期構造は伸びた構造からスタートし、構造のサンプリング法としてはシミュレーテッドアニーリング法を用いた。その結果、数10残基程度の小型タンパク質においてはもっともエネルギーの低い構造がトポロジーレベルでネイティブ構造と一致した。またそれらに比べて比較的大きい100残基前後のタンパク質について同様の計算を行った結果、ネイティブ構造のトポロジーに近い構造をサンプリングすることができた。

この方法は、タンパク質立体構造予測に対する新しいアプローチというだけでなく、更に改良することで、タンパク質フォールディングのキネティクスや、タンパク質進化の問題に貢献する方法として発展させることができると思われる。

T.N.Sasaki and M.Sasai : Dynamical structure reproduction of alpha, alpha/beta, and beta proteins

3P088

分子動力学シミュレーションと実験手法を組み合わせた $(\beta/\alpha)_8$ バレルタンパク質のフォールディング・変性機構の解析

○赤沼 哲史^{1,2}、宮川 博夫^{2,3}、北村 一泰^{2,3}、山岸 明彦^{1,2} (¹ 東薬大・生命、² JST・BIRD、³ 大正製薬)

$(\beta/\alpha)_8$ バレルは天然に存在するタンパク質に最も高頻度で見られる共通フォールドである。トリプトファン生合成に関わる3つの $(\beta/\alpha)_8$ バレル酵素では、類似した変性中間体の存在が報告されている。その中間体では、C末端側から2つの β ストランドと3つの α ヘリックスは崩壊しているが、残りの領域は天然様構造を維持している。本研究では、 $(\beta/\alpha)_8$ バレルタンパク質の詳細な変性・折りたたみ経路を解明する目的で、トリプトファン合成系の酵素の一つである大腸菌由来ホスホリボシラントラニル酸異性化酵素(TrpF)を材料に、分子動力学計算による熱変性シミュレーションとタンパク質断片化実験を行った。5つの異なった温度での熱変性シミュレーションでは、最初に $(\beta/\alpha)_{7-8}$ 領域が変性し、続けて、 $(\beta/\alpha)_{1-2}$ の崩壊と β_6 の β_5 からの解離がそれぞれ独立に起こった。 β_6 の β_5 からの解離は他の領域の安定性には影響しないようであったが、 $(\beta/\alpha)_{1-2}$ 構造の変性は、残りの構造が崩壊する引き金になると予測された。この予測は断片化実験からも支持された。つまり、 $(\beta/\alpha)_{1-4}\beta_5$ 断片はグアニジン塩酸に対して、野生型酵素や $(\beta/\alpha)_{1-6}$ 断片と同程度の構造安定性を示したが、 $(\beta/\alpha)_{3-4}\beta_5$ は安定な立体構造を形成できないように思えた。しかしながら、全ての温度の熱変性シミュレーションにおいて、 $(\beta/\alpha)_{3-4}\beta_5$ 領域は最後まで天然様構造を維持し続けた。このようなシミュレーションと実験の結果から、 $(\beta/\alpha)_{3-4}\beta_5$ が土台となり、続いて $(\beta/\alpha)_{1-2}$ の構造形成と β_5 と β_6 の会合が起こり、最後に $\alpha_6(\beta/\alpha)_{7-8}$ が形成される大腸菌TrpFのフォールディング経路が推定された。現在、大腸菌TrpFの円順列変異型改変体を作製し、シミュレーションから予測された事象の検証を進めているので、その結果についても併せて報告する。

S. Akanuma, H. Miyagawa, K. Kitamura and A. Yamagishi : Folding/unfolding pathways of a $(\beta/\alpha)_8$ -barrel protein studied by molecular dynamics simulations and protein fragmentation experiments