3P133

ミオシンモータードメインの構造緩和シミュレーション

○高城 史子¹、菊池 誠² (¹ 科技団 CREST、² 阪大サイバー)

ミオシンのヌクレオチド状態の変化による構造の変化は、アクトミオシン系の滑り運動の発生機構に大きく関わっていると考えられている。この構造変化と滑り運動機構との関係についてはいくつかの説が挙げられているが、結論は出ていない。

これについては様々な実験が行なわれているが、詳細な構造を得ることのできる X 線結晶構造や電子顕微鏡写真はスナップショットに限られており、一方時間変化を追うことのできる FRET を用いた 1 分子測定では、測定できるのは通常 2 点間の距離の変化で空間解像度は低い、等、構造変化のダイナミクスを直接測定することは難しい、そこで我々は、構造変化のダイナミクスの理解を目標として、ミオシンモータードメインの分子動力学シミュレーションを行なった。

今回我々は、異なるヌクレオチド状態間の構造変化を扱うために、2 つの構造を埋めこんだ “multiple Go-model” を導入した。通常タンパク質フォールディングシミュレーションで使われている

Go-model (Go-like model) は、(1 つの) 天然状態の構造がエネルギー的に安定になるようなポテンシャルを用いるのに対して、multiple Go-model は、2 つの構造が安定、あるいは片方が安定で他方が準安定となるようなポテンシャルを用いている。

この multiple Go-model を用いて、ミオシンモータードメインの ADP・Pi 状態に対応する構造 (pre-power stroke) から nucleotide free 構造への構造緩和シミュレーションを行なった。緩和の様子や、各状態での構造ゆらぎの相関、ヌクレオチドやアクチン分子との結合に対応するような拘束を加えた場合のダイナミクスの変化等について発表する。

F. Takagi and M. Kikuchi : The structural relaxation of myosin motor domain: Molecular dynamics simulations

3P134

リアリスティックな格子モデルによるチューブリンの自由エネルギー構造

○横崎 博生¹、菊池 誠² (¹ 阪大院・理、² 阪大・サイバー)

分子モーターはレールタンパク質の上を滑り運動するが、そのときレールタンパク質が積極的な役割を果たしているかどうかは興味を持たれている点である。微小管は分子モーターキネシンとダイニンのレールタンパク質であり、チューブリンが繊維状に重合して出来たものである。今回、チューブリンの自由エネルギー構造を調べることによって滑り運動への係わりを調べた。

モデルとしては、アミノ酸を 1 つ球で近似し、立方格子上に乗せたリアリスティック格子モデルを用いた。ただし、このとき鎖上で隣合う球をつなぐボンドは、(2,1,0) と (2,1,1) の符号を変化させたものの全ての順列を取り得るとした。このようにすると、X 線結晶構造とそっくりな構造を格子上で再現することが出来る。また、相互作用は郷-like ポテンシャルを用い、計算手法としては拡張アンサンブル法の一つである Multi-Self-Overlap Ensemble (MSOE) 法を用いた。以上の方法で、400 残基以上もあるチューブリンタンパク質の熱平衡量を全ての温度領域で計算することに成功した。

その結果、チューブリンはある温度領域で C 末端領域が協同的に大きくゆらぐような自由エネルギー構造を持っていることが分かった。チューブリンの C 末端領域は負電荷を持ち、キネシンとの結合部位であると考えられているので、この領域が大きくゆらぐということはキネシンとの結合解離に対して関係があると考えられる。またこのことから、チューブリンの滑り運動への積極的な役割についても議論したい。

H. Kenzaki, and M. Kikuchi : Free energy landscape of tubulin by realistic lattice model

3P135

化学機関としての回転分子モーターの理論モデル

○佐々木 一夫、伊藤 裕 (東北大院・工・応用物理)

生物分子モーターが化学的エネルギーを力学的仕事に変換するしくみを理解したい。そのために、化学反応を触媒することにより力学的仕事を取り出す装置 (化学機関) の、できるだけ単純なモデルを作る。ここで提案するモデルでは、二つの化学的異性体 A と B をもつ仮想的な分子を燃料として用いる。化学機関は、まわりの環境 (粒子源) から A 分子をひとつ受け取り、反応 $A \rightarrow B$ を触媒し、生成された B 分子を環境に放出する (左下の図参照)。外からの制御により、ゆっくりと (準静的に) 機関を働かせると、化学反応による自由エネルギー変化 ΔG の全てを仕事 W に変換可能であることを証明できる。

F₁-ATPase をお手本にして、このような化学機関三つ (E_0 , E_1 , E_2) を

右下の図のように組み合わせることにより、自律的に (外からの制御なしに) 回転運動を続ける分子モーターを作ることができる。しかし、自律的に動作する機関が ΔG を 100% 仕事に変換可能かどうかは自明ではない。この自律回転モーターの動作およびエネルギー変換効率について解析した結果を報告する。

K. Sasaki and Y. Ito : Theoretical model for rotary molecular motors as chemical engines

3P136

ATP 合成酵素の結晶化

○白木原 康雄¹、白鳥 綾¹、村上 聡²、鈴木 俊治³、吉田 賢右³ (¹ 遺伝研、² 阪大産研、³ 東工大生命理学)

膜酵素 ATP 合成酵素 (FoF1) は、呼吸鎖がくみ出した水素イオンを膜貫通の Fo 部分 (ab2c8-12) で取り込み、膜外部分 F1 上で ADP と Pi から ATP を合成することによって、呼吸鎖エネルギー生産の総決算を行う。触媒部分 F1 (分子量 38 万、サブユニット構成 $\alpha 3 \beta 3 \gamma \delta \epsilon$) は $\alpha 3 \beta 3$ コアの実真中を γ が貫いた構築をしている。Fo の構造については 8-12 個の c サブユニットがリングを形成する事以外は不明である。FoF1 の構造解析を目指しその結晶化を行った。

FoF1 は好熱菌 PS3 のもの (TFoF1) である。実際の試料は、好熱菌の膜からとったものと大腸菌大量生産系からのものであり、二つを比べながら使ってきた。両方の系を用いて、数種の非イオン性界面活性剤について、可溶化力、精製度、結晶化能を系統的に比較してきた。これまでのところ、PS3 膜から decylmaltoside で可溶化、そのあと同じ界面活性剤存在下で精製、結晶化を行うと差し渡し 0.15mm 程度の非常に薄い六角形板状結晶を得ている。この結晶を溶かして電気泳動し、全てのサブユニットの存在を確認しておりイーストの F1+10c 結晶解析で見られた a,b サブユニット不在の問題はないことを確認している。

結晶化可能な好熱菌の膜からの FoF1 と純度でまざるがいまのところ結晶化不可能な大腸菌大量生産系からのもの両方について、引き続き以下のような試みを行っているのでその結果もあわせて報告する。1. 界面活性剤の種類の範囲をさらに広げる。2. 精製法の検討を行う。これまでに使った陰イオン交換カラム、ゲル濾過カラムに加えて、疎水、ハイドロキシアパタイト、陽イオン交換、ニッケルカラムを試す。また硫酸分画などカラムと相補的な精製手段を試す。3. F1 結晶化の経験を最大限に生かして結晶化条件の検討を行う。4. クライオ条件の検討。

Y. Shirakihara, A. Shiratori, S. Murakami, T. Suzuki, C. Shirakihara and M. Yoshida : Crystallization of ATP synthase