1P001

Cancer-related Mutations in BRCA1-BRCT Cause Structural Changes in Protein-Protein Binding Sites: A Molecular Dynamics Study○ Gough Craig^{1,2}、五條堀 孝^{1,2,3}、今西 規² (¹JBIRC,JBIC、²BIRC, AIST、³DDBJ, NIG)

Mutations in the BRCA1-BRCT domain of BRCA1 are associated with breast cancer. These mutations abolish BRCA1-BRCT's tumor suppressor function by disrupting interactions with other proteins such as the BACH1 helicase. Evidence suggests that the mutations likely result in a defective BACH1-binding surface rather than global unfolding. We performed 6 ns of molecular dynamics (MD) using AMBER, and quasi-harmonic analysis of the trajectories, on the cancer-related A1708E, M1775R and Y1853ter mutants, and on the wild type and benign M1652I mutant. The average structures of the cancer-related mutants deviated from those of the crystal structure in regions of BRCA1-BRCT known to bind BACH1, while the wild type average structure remained close to the crystal structure. The largest-amplitude quasi-harmonic mode (Mode 1) exhibited higher and broader peaks of amplitude in BACH1-binding regions in the cancer-related mutants than in the wild type. Moreover, the Mode 1 motions of the cancer-related mutants exhibited qualitative differences from the wild type; they consisted of distortions of structural units which moved in a concerted fashion in the wild type. The M1652I mutant's average structure and Mode 1 motions closely resembled those of the wild type. The wild type and A1708E mutant were subjected to an additional 14 ns of MD. The average structures did not change significantly in the longer simulations, and the A1708E Mode 1 motions remained quite different from those of the wild type.

C.Gough, T.Gojobori and T.Imanishi : Cancer-related Mutations in BRCA1-BRCT Cause Structural Changes in Protein-Protein Binding Sites: A Molecular Dynamics Study

1P003

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¹、清水 謙多郎^{1,2} (¹東大・院農・生命情報ユニット、²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 Ca^{2+} イオンを結合する。 Ca^{2+} 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、 Ca^{2+} 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-nCaM に Ca^{2+} を 2 つ結合させた holo-nCaM モデルを初期構造として、apo 型コンフォメーションから holo 型に遷移する過程を、エネルギー障壁を効率的に超えながらエネルギー極小構造を広く探索することができる、マルチカノニカル分子動力学法を用いて追跡した。ここでは立体構造探索の範囲を Ca^{2+} 結合状態に限定するために、 Ca^{2+} を結合サイト付近に束縛している。現在までに 40 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、holo 型への遷移直前に Ca^{2+} と酸性残基側鎖との間の salt bridge が完成していること、更にその前に、疎水コア構造の再構成が起こっていることを確認した。年会では、これら立体構造過程に現れる特徴的な構造の安定性を明らかにすると共に、構造変化のパスウェイにおけるこれら中間状態の役割について議論する予定である。

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

1P002

MDによる蛋白質内キャビティのダイナミックス○ 中井 佐智子¹、松村 直樹¹、豊川 純也¹、赤坂 一之^{1,2} (¹近大・生物理工・生物工、²理研・播磨)

はじめに：球状蛋白質の内部には水分子の出入り可能な空隙（キャビティ）が存在しており、その周辺で構造の揺らぎが大きいことが判っている [1,2]。しかし、キャビティの揺らぎはどの程度のものなのか、どのような時間域で起こるのか、蛋白質分子全体の構造揺らぎとどのような関係にあるのか、などそのダイナミックスについての知見は乏しい。そこで本研究では、分子動力学 (MD) 法を用いて、キャビティの時間変動の様子を解析した。方法：MD プログラム GROMACS [3] によって、蛋白質の初期入力座標として X 線結晶構造解析、NMR 解析による PDB データを用いて計算を行った。得られた動的構造から我々独自の検出プログラムによりキャビティを検出し、その時間変動の様子を調べた。結果・考察：フォールド構造が詳しく解析され、且つキャビティに関してさまざまな情報が集積しているリゾチーム、BPTI 及び小さな蛋白質 c-Myb サブドメイン（内部に唯一大きなキャビティをもつ）[4] について、MD シミュレーションを行い、水分子の出入り出来る程度の大きさのキャビティに注目して、それらの位置と大きさの変動を解析した。その結果、変動するキャビティのビジュアル化が可能となった。高圧下でのキャビティの挙動についても調べ、1 気圧下での結果と比較して報告する予定である。[1] Kamatari et al., Eur. J. Biochem. 268, 1782-1793 (2001) [2] M. Williamson et al., J. Mol. Biol. 327, 857-865 (2003) [3] H. Berendsen, D. van der Spoel, and van Drunen, Comp. Phys. Comm. 91, 43-56 (1995) [4] M. Lassalle et al., PROTEINS, Structure, Function, and Genetics 45, 96-101 (2001)

S. Nakai, N. Matsumura, J. Toyokawa, K. Akasaka : Cavity dynamics of protein by MD simulation

1P004

HERG イオンチャンネルの透過 Brownian Dynamics シミュレーション神谷 成敏¹、米澤 康滋²、○中村 春木² (¹神戸大院・医、²阪大・蛋白研)

ヒト ether-a-go-go-related gene (HERG) にエンコードされる HERG チャンネルは、電位依存性のカリウムイオンチャンネルである。HERG は心臓で多く発現し、不整脈に関わるため、薬剤との作用機序の研究が行われている。本研究では、イオンチャンネルを透過するイオン電流をシミュレーションするために、Brownian Dynamics (BD) プログラムを作成し、HERG イオンチャンネルに適用する。HERG チャンネルの結晶構造はこれまで得られていないため、open, close 状態の構造は、それぞれ、KvAP (PDB ID, 1ORQ), KcsA (PDB ID, 1BL8) をテンプレートとして、MODELLER-6 プログラムでホモロジーモデリングした。膜と溶媒の水は、それぞれ、誘電率 4.0, 78.5 の誘電体とした。カリウム、塩化物イオンはあらわに取り扱い、濃度を 150 mM とした。タンパク質-イオン間の静電力は三次元のグリッド空間上 (グリッド間隔 0.5 Å) で、Poisson 方程式を解くことで求めた。ここで、タンパク質の電荷は AMBER parm96 の電荷とした。点電荷がそれぞれのグリッド上に存在する際の反応場も考慮した。タンパク質-イオン間の van der Waals 力は三次元のグリッド上で求めたが、チャンネルのフィルター領域は AMBER parm96 であらわに取り扱った。イオン-イオン間の静電、van der Waals 力も同様に parm96 で取り扱った。膜と平行な面を周期的に取り扱い、それ以外の面をイオンが越えた場合は面に垂直でチャンネル方向の調和力をかけた。また、イオンが膜の領域に入った場合、膜に垂直で溶媒方向に調和力をかけた。BD の時間刻み 20 fs、外部電場 100 mV から 100 mV の条件でそれぞれ 30 μ 秒のシミュレーションを実行した。透過したイオンの数からイオン電流を求め、実験で得られている単一チャンネルのイオン電流と比較した。

N. Kamiya, Y. Yonezawa and H. Nakamura : Brownian dynamics simulation on HERG ion-channel permeation