2P005

ループの配列構造相関解析

○小長井 啓¹、石田 貴士¹、中村 周吾¹、寺田 透²、清水 謙多郎¹ (¹ 東大・院農・応生工、² 東大・院農・生命情報ユニット)

タンパク質のループ構造 (ここでは、ヘリックス、ストランド以外の部分を示す) は、ストランドやヘリックスとは違い、多様な構造をとりうる。そのため、タンパク質の立体構造予測において、ループ部分の予測は困難である。また、それはタンパク質構造全体のトポロジー予測の障壁ともなる。ただし、 β ターンのように、一定の構造をとるループも存在する。そのような「固い」ループは、タンパク質のフォールディングのドライビングフォースとも成り得る。よって、ループが「固い」かどうかを予測できれば、タンパク質の立体構造予測の改善に大きく寄与できると期待される。以上のことを踏まえ、本研究では、 β ターンに限らず「固い」可能性が高いと考えられるループを抽出し、その配列傾向、配列構造相関を解析することを試みた。まず、「固い」ループの定義として、「周囲の条件に関わらず、ループが一定の構造をとる」こととした。そうしたループを探すべく、配列の冗長性を除いた立体構造データベース中を、ループ両端の構造同士のコンタクト、類似配列のフラグメントがとる構造などを条件として探索し、配列構造相関の高いものについて、解析を行った。なお、結晶内で、隣分子とパッキングしているループは除いている。構造表現として、ループ主鎖及び側鎖の構造、さらにより淡い構造表現として、ループ端間距離を用いた。そして、Threading、アミノ酸配列変異度、ループ内コンタクト数、マルチカノニカルMDなどを利用して、選出したループが、周囲の影響が小さい状態においても一定の構造をとり得る可能性の程度を検証した。

H.Konagai, T.Ishida, S.Nakamura, T.Terada and K.Shimizu : Sequence-structure correlation of loops

2P007

Chignolin のフォールディング自由エネルギー地形

○佐藤 大介¹、寺田 透²、中村 周吾¹、清水 謙多郎¹ (¹ 東大・院農・応生工、² 東大・院農・生命情報ユニット)

Chignolin は、protein G の B1 ドメインの 45~52 残基に基づいて人工的に設計・合成された 10 アミノ酸から構成されるポリペプチド鎖である。現在までに、温度変化に伴い可逆的かつ協同的な 2 状態構造転移を示し、水溶液中において β -hairpin を安定に形成することが、核磁気共鳴 (NMR) 法、円偏光二色性 (CD) 分散の実験によって確かめられている。本研究では、第一に chignolin とその設計鋳型である protein G の部分配列 GPM12 に対するフォールディング・シミュレーションを行い、配列上離れた残基同士による水素結合・疎水コア形成のメカニズムを含むフォールディング過程を原子レベルで解明する。第二に両者のフォールディング自由エネルギー地形の違いを明らかにすることを旨とする。具体的には、chignolin、GPM12 各分子に対して完全に伸展した構造を初期構造として、マルチカノニカル分子動力学計算を行い、フォールディング過程における構造分布の解析を行った。力場パラメータには、Simmerling らによって改良が加えられた AMBER の parm99 を用い、溶媒効果は generalized Born モデルを用いて計算した。現在までに各分子について 180 ns の計算を完了し、290 K から 700 K のエネルギー領域を覆うマルチカノニカルアンサンブルを得た。得られた構造アンサンブル中に、実験構造に対する主鎖 C α RMSD で、chignolin では 0.14 Å、GPM12 では 0.33 Å の構造を各々見出すことに成功した。引き続き行ったクラスター解析では、chignolin については上位クラスターにおいて天然構造安定化に重要とされる側鎖の配向が再現された一方で、GPM12 では多様な 2 次構造を持つクラスターが観察された。これは GPM12 が水溶液中で特定の構造をとらないという実験結果とよく一致している。年会では、両者のフォールディングパスウェイについて詳細に議論する予定である。

D.Satoh, T.Terada, S.Nakamura, K.Shimizu : Probing the folding free energy landscape of chignolin

2P006

Level Set 法による蛋白質表面構造の解析

○窪田 綏¹、中村 太郎¹、岡野 豊明² (¹Advanced Technology Institute、²産総研・ものづくり先端技術研究センター)

蛋白質の表面構造の解析はドラッグデザインなどの実用面のみならず、その topological な数学的構造解析の観点からも興味深いものがある。蛋白質の表面構造の解析には、蛋白質データベース内の原子の配置に関する点群データを用いる。非構造点群データから表面構造を再構成する従来手法には、Voronoi/Delaunay 分割を用いる方法や Radial Basis Function による implicit 表現などいろいろな研究があるが、これらは表面上の点群データのみを用いる手法で、データに内部の点が含まれている場合には曲面の再構成は難しい。我々の採用した手法は計算幾何学、流体力学、材料力学など幅広い分野で用いられている Variational Level Set 法の一応用であり、再構成した曲面や曲線を直交グリッド上の Level Set 関数の 0-等位面として表す Implicit、Non-parametric 表現であり、点群データの包絡面を構成するため、データに内部の点が含まれていても、表面構造を再構成することができる。我々は Level Set 法により、種々の蛋白質表面構造を再構成し、その数学的知見を得たので報告する。

Fig.1 shows the surface structure of porcine elastase (pdb code: 1est) by Level Set method (C α atoms, only).

Y.Kubota, T.Nakamura and T.Okano : Analysis of Protein Surface Structure by Level Set Method

2P008

アミノ酸配列からのタンパク質 disordered 領域予測 - 立体構造予測の取り込みによる予測手法の改良

○石田 貴士、中村 周吾、清水 謙多郎 (東大・院農・応生工)

タンパク質において一定の立体構造をとらない disorder 領域は、単に多様な構造をとりうるだけでなく、DNA 結合やその他の分子認識に関与していることが実験的に示されており、この disorder 領域のアミノ酸配列からの予測は単にタンパク質の結晶化を妨げる領域を識別するにとどまらず、タンパク質の機能の予測という点においても重要である。Disorder 領域のアミノ酸配列の構成には、単純な配列の繰り返しや order 領域に比べ特定のアミノ酸種が非常に多く出現するといった特徴的なパターンが存在していることが過去の研究から明らかになっている。そのため、これらの特徴を利用して 2 次構造予測で行われる方法に類似した人工ニューラルネットワークなどの機械学習手法を利用した予測手法が開発されてきた。しかし現在の予測精度は 70-80% にとどまっており、更なる予測精度の向上が望まれている。一方で近年のタンパク質の立体構造予測手法、特に既知構造テンプレートを利用した予測手法の進展は目覚しく、プロファイル-プロファイル比較法などにより既知構造との配列相同性が低い場合でもかなり良い精度で立体構造の予測が可能となっている。そこで本研究では従来の予測手法で入力として利用されてきた局所的な配列の情報だけでなく、立体構造予測の結果得られた非局所的な情報を導入することで予測精度の向上を図った。本発表では手法の詳細と共に本手法の予測性能の解析結果を合わせて発表する。

T. Ishida, S. Nakamura, K. Shimizu : Prediction of protein disordered region from amino acid sequences - Improvement of prediction method with tertiary structure prediction