2P057

pH 変化に伴う銅型亜硝酸還元酵素の構造変化

○吉田 祐介¹、笹川 由紀²、高妻 孝光¹ (¹茨城大院・応用粒子線、²日本バイオ・ラッド ラボラトリーズ)

Alcaligenes xylosoxidans NCIMB11015 由来の亜硝酸還元酵素 (AxyNiR) は、脱窒過程において亜硝酸イオンを一酸化窒素に還元する働きを担っており、性質の異なる二種類の銅 (タイプ I 銅, タイプ II 銅) を含む。

亜硝酸還元酵素の EPR スペクトルにおいて、pH 7 付近では二種類の異なるタイプ II 銅に由来するシグナルが認められるが、pH 6.0 では一種類のシグナルのみを与える。本研究では、pH に依存して構造の変化するタイプ II 銅についての知見を得るために、タイプ II 銅近傍に存在し、銅イオンへの配位に関与しない His249 をアラニンへ置換した H249A 変異体を作製し、分光学的挙動について検討を行った。

EPR スペクトル (77 K) の pH 変化について検討したところ、AxyNiR では pH に依存してタイプ II 銅近傍の配位構造に変化が生じるのに対し、H249A では pH によるスペクトル変化が認められなかった。このことは、タイプ II 銅近傍に存在する His249 は中性 pH 以上でタイプ II 銅に配位することを示唆するものであり、亜硝酸還元酵素の至適 pH を考慮すると、pH 7.0 以上では His249 がタイプ II 銅に配位するために、亜硝酸還元酵素の活性が低下すると結論された。また、タイプ I 銅に関する知見を得るために、647.1 nm 励起による共鳴ラマンスペクトルの pH 依存性を検討したが、His249 がタイプ II 銅へ配位することによるタイプ I 銅の変化は認められなかった。

Y. Yoshida, Y. Sasakawa and T. Kohzuma : pH dependency of type II copper site structure of copper-containing nitrite reductase

2P059

多次元エネルギー地形の状態空間構造に基づく生体分子系の構造転移ダイナミクスの原理的理解

○Li Chun Biu^{1,3}、小松崎 尚樹^{1,2,3} (¹神戸大・理、²分子研理論、³JST/CREST)

How systems climb through saddles from one basin to another or, in general, how reaction dynamics evolves on rugged energy landscapes with multi-saddles is one of the most intriguing subjects over the past decade. We revealed that, in the region of saddles of strongly coupled N-particle Hamiltonian systems, the action associated with the reaction coordinate (in phase space) tends to stay invariant in the saddle region, even up to energies where the other degrees of freedom become chaotic. It has been shown that this regularity in the saddle region has its dynamical origin in the existence of a geometrical structure called normally hyperbolic invariant manifold (NHIM). This geometrical representation provides us a multidimensional, no-return dividing hypersurface across the saddle region in the phase space. It also enables us to see in a priori whether the system climbs through the saddle to the product, or returns to its original state without reacting. This understanding should, for example, help us control reaction kinetics by letting us recognize what kinds of initial conditions are most likely to lead a system through a saddle.

In this presentation, I will discuss how these phase space structures can be detected in the high-dimensional energy landscapes of biological systems (e.g. proteins) by means of the newly developed complexity analysis termed Computational Mechanics. This construction enables us to understand the underlying principle of biological process (e.g. protein folding) from the dynamical point of view.

C. B. Li and T. Komatsuzaki : Understanding of the Origin of Transitions in Biological Molecules from the State Space Structures on Multi-dimensional Energy Landscapes

2P058

自発的な MD ドッキングシミュレーションによる超好熱性古細菌由来アスパラギン酸ラセマーゼの活性化機構の検討

○岡田 興昌¹、世古 丈裕¹、養王田 正文² (¹富士ゼロックス・技術開発本部、²農工大・院工・生命工)

アスパラギン酸ラセマーゼは PLP 非依存型アミノ酸ラセマーゼであり、2つのシステイン残基が活性に重要であることが知られているが、その詳細な反応機構は分かっていない。我々は、超好熱性古細菌 *Pyrococcus horikoshii* 由来アスパラギン酸ラセマーゼ (PhAspR) が高い構造安定性を有し、高温でのみ活性を発現することに着目し、MD シミュレーションによりその動的機能構造解析を行っている。これまでの研究で、X線結晶構造上では活性残基である2つのシステイン間の距離が至適生育温度に近い高温において協調的に機能できる距離に近づくことを発見した。今回は、基質であるアスパラギン酸が活性部位に入る過程に関する MD シミュレーションを行ったので報告する。X線結晶構造では、活性部位の入り口にある Tyr160 の側鎖のフェノール基が、活性部位に蓋をするようなコンフォメーションをとり、アスパラギン酸が入れない状態であった。MD シミュレーションの結果、Tyr160 の側鎖は高温 (375K) でコンフォメーション変化を起し蓋が Open 構造に確率的に変化することから、このコンフォメーション変化も高温での活性化に関与することが分かった。蓋が Open な状態の PhAspR を初期構造として、活性部位から 15~20Å 離れた位置にアスパラギン酸を配置し、特に人為的な相互作用を加えずに MD シミュレーションを行ったところ、アスパラギン酸は Arg48 や Lys164 との静電的相互作用などにより PhAspR の活性部位に自発的にドッキングした。本年会では、ドッキング過程の詳細と、その際の水分子の挙動に関して議論する予定である。

O. Okada, T. Seko, and M. Yohda : Molecular mechanism of aspartate racemase from hyperthermophilic archaeum analyzed by spontaneous MD docking simulations

2P060

分散コンピューティング環境でのタンパク質立体構造予測シミュレーション

○安藤 格士¹、山登 一郎¹、小林 直記²、旭 悠哉²、武田 正之² (¹東理大・基礎工・生物工、²東理大・理工・情報科学)

タンパク質の立体構造予測問題は“第2の遺伝暗号解読問題”とも言われる。DNA からタンパク質にいたる遺伝情報の流れは生命の基本的原理であるが、この第2の遺伝暗号解読なしには理解することができない。塩基配列情報を大量、かつ容易に手に入れることが可能となっている現在、その重要性はますます増大している。この立体構造予測問題解決の鍵を得るべく、我々は溶媒を非明示的に扱い長時間シミュレーションを可能とするブラウン動力学 (Brownian Dynamics) 法の開発を進めてきた。これまでに本手法を用いて、 α -helix と β -hairpin ペプチドの折り畳みシミュレーションと構造予測に成功したことを報告した。今回はより大きなタンパク質での効率的な立体構造予測を目指し、分散コンピューティング環境でのタンパク質立体構造予測シミュレーションシステムの構築を行った。分散コンピューティングプラットフォームとして BOINC (Berkeley Open Infrastructure for Network Computing) を利用した。立体構造探索法として、数学や情報科学の組み合わせ最適化問題の分野で開発されたタブー探索法と BD 法を組み合わせた手法を新たに開発、適用した。このアルゴリズムでは、参加者の各コンピュータで同じ初期構造から独立の BD シミュレーションを行い、その中で過去に探索した領域から最も異なった構造を次のシミュレーションの初期構造とする。そのため、分散性が非常に高いアルゴリズムとなる。本システムを用いて、13 残基の α -helix、12 残基の β -hairpin、20 残基の β -sheet ペプチドの構造予測に成功した。他のペプチドやタンパク質の結果についても報告する予定である。

T. Ando, I. Yamato, N. Kobayashi, Y. Asahi and M. Takeda : Protein Structure Prediction on Distributed Computing