3P037

MDシミュレーションとクラスター解析を用いた α -ラクトアルブミンのアンフォールディング過程の観察

○笠口 友隆¹、池口 満徳²、木寺 詔紀²、佐伯 喜美子¹、桑島 邦博¹ (¹ 東大院・理学系・物理、² 横浜市大院・総合科学・生体超分子)

Ca²⁺ 結合型蛋白質であるヤギの α -ラクトアルブミンの構造は α ドメインと β ドメインの二つのドメインからなる。 ϕ 値解析の結果 [1] より、この蛋白質のフォールディング反応においては、遷移状態においてCa²⁺結合部位及び二つのドメイン間の構造が形成され、 α ドメインは遷移状態を超えた後に形成されていることが示された。この α -ラクトアルブミンのフォールディング過程をより詳細に原子レベルで調べるために、安定性に差異がある組換え体と真正体のそれぞれについて398 Kと498 Kの二つの高温で5 nsの熱変性MDシミュレーションを10回行った(トータル: 200 ns)。

398 Kにおける計算においては組換え体と真正体の安定性差異を再現することができ、その原因を解明することができた。498 Kでは遷移状態を超えた変性過程を計算することができた。

498 Kの計算結果から遷移状態アンサンブルを抽出するために、直交座標系を用いた主成分解析を行ったが、蛋白質分子の変性状態における見掛けの構造多様性のために抽出することができなかった。そこで変性状態における見掛けの構造多様性を消去できる粗視化座標系を用いた主成分解析を行った。その結果、各トラジェクトリーに共通するアンフォールディング経路を見出し、クラスター解析によって遷移状態を抽出することができた。抽出した遷移状態の構造特徴は、 ϕ 値解析の結果と良く一致した。また各クラスターの構造特徴より、 α -ラクトアルブミンのフォールディングにおける律速段階は脱溶媒と過程であることが示唆された。さらに、アンフォールディングの遷移状態においてCa²⁺結合部位及びドメイン間の構造が残る理由についても報告する予定である。[1] Saeki et al., J. Mol. Biol., 341, 589, 2004.

T. Oroguchi, M. Ikeguchi, K. Saeki, A. Kidera, and K. Kuwajima : The unfolding simulation of goat α -lactalbumin

3P039

細胞内における混み合い問題のOZ-HNC理論による見直し

○秋山 良¹、狩野 康人¹、木下 正弘² (¹ 九大・理・化学、² 京大・エネルギー理工)

細胞内は、体積分率で数10%の巨大分子を含む濃厚な溶液であり、希薄溶液からはほど遠い。こうした溶液では、巨大分子同士の排除体積効果に基づくエントロピー駆動の引力が重要な役割を果たすと考えられてきた。細胞内の混み合い問題に対する理論的取り扱いの多くにおいては、朝倉・大澤理論と同様に、溶媒は体積を持たない連続体と見なされてきた。実際、コロイド分散系においては、そうした溶媒分子をあらわに扱わないモデル化が成功を収めてきた。それは、塩濃度が比較的希望希薄な塩水溶液中の帯電コロイド粒子の場合には、それらが電気二重層斥力で相互作用をし、粒子近傍における溶媒の微視的構造の影響を受ける距離まで互いに接近できないことが原因であると考えられる。

しかし、生体細胞内では塩濃度はずっと高く、巨大分子は無極性部位を多く持ち、巨大分子近傍における溶媒の微視的構造が巨大分子間相互作用に大きく影響する。従って、溶媒を連続体と見なしたモデル化が妥当とは思えない。そこで、我々は、溶媒をあらわに扱った場合の計算を行った。特に小・中の二成分剛体球流体内における大剛体球間に働く平均力ポテンシャルに注目した。粒径比が大きいため、シミュレーションではなく液体の積分方程式理論を用いた。その結果、中粒子の存在は、その濃度に依存して大粒子二量体を安定化させたり不安定化させたりする事がわかった。これは従来理論で知られているものとは全く定性的に異なる中粒子添加効果である。当日の発表では、この現象の背後にある物理メカニズムについて考察し、現実の系との対応について述べる。

R.Akiyama, Y.Karino, and M.Kinoshita : Revision of Crowding Problems for Cytoplasm Using the OZ-HNC Theory

3P038

分子シミュレーションによる蛋白質のボゾンピーク研究

○城地 保昌^{1,2}、北尾 彰朗^{1,2}、郷 信広³ (¹ 東大・分生研、² CREST, JST、³ 原研・中性子)

蛋白質の立体構造ダイナミクスはその複雑なエネルギー地形によって生み出される。その研究手段としては、原子レベルで立体構造ダイナミクスを追跡できる分子シミュレーションが有効である。今回、分子シミュレーションを用いて、蛋白質のエネルギー地形とボゾンピークの関係を明らかにしたので報告する。

ボゾンピークは、約200K以下の低温で測定されたガラス様物質の中性子非弾性散乱スペクトルに観測される約25cm⁻¹付近のブロードなピークであるが、その起源は長年謎であった。我々は、ニワトリ卵白リゾチーム蛋白質を用いて、基準振動解析、ランジュバンモード解析、分子動力学計算(水中、真空)の4種類の分子シミュレーションを100K-300Kのさまざまな温度で行い、その結果を用いて中性子非干渉性非弾性散乱スペクトルを計算した。計算されたスペクトルを比較すると、水中の分子動力学計算(< 200K)の結果からのみ約25cm⁻¹付近にブロードなピークが観測された。

詳細な解析の結果から、我々は蛋白質のボゾンピークの起源を次のように考えている。水和していない状態の蛋白質のエネルギー面は滑らかだが、水和により蛋白質のエネルギー地形に微細構造が出現する。常温では、微細構造のエネルギー障壁を乗り越えることが比較的容易であり、極小点間をジャンプする拡散的運動が、5cm⁻¹ ~ 30cm⁻¹の準弾性散乱スペクトルとして観測される。しかし、200K以下の低温になると、蛋白質の立体構造ダイナミクスが、微細構造の極小点にトラップされる。これにより、高温で観測された拡散的運動がより高振動領域の振動的運動に取って代わり、5cm⁻¹ ~ 30cm⁻¹の中性子散乱強度が減少し、約25cm⁻¹付近のボゾンピークが観測されると考えられる。

Y. Joti, A. Kitao and N. Go : Molecular Simulation Study to Reveal Origin of Protein Boson Peak

3P040

蛋白質の熱容量への分子形状依存性の計算

○黒瀬 展江¹、松尾 健太¹、入佐 正幸² (¹ 九工大院・情工・情科、² 九工大・情工・生命)

溶液理論の1つである拡張scaled particle theory(XSPT)は統計力学に基づく理論であり、溶質分子を溶媒中に入れる溶解過程の熱力学量を計算することができる。これまで当研究室では、アラニンジペプチドとAvian pancreatic polypeptide(PPT)における水和自由エネルギーの計算が行われてきた。そこで今回、XSPTを用いて小さな球状蛋白質であるBovine pancreatic trypsin inhibitor(BPTI)の水和自由エネルギーを計算し、立体構造依存性と温度依存性について調べた。さらに、計算で得られた水和自由エネルギーから蛋白質の熱容量を算出し、実験値との比較を行った。実験により、一般的に熱容量差には水和からの寄与がほとんどであるとされている。今回、天然状態と非天然状態の2状態モデルにより、蛋白質の立体構造への水和の影響を考察した。また、非天然状態のいくつかのモデル構造での熱容量の計算値を比較し、分子形状の熱容量への影響を調べた。

N.Kurose, K.Matsuo and M.Irisa : Calculation of conformation dependence on heat capacity of protein