

抗体CDR-H3 構造の分類

○白井宏樹, 木寺詔紀, 中村春夫
(生物分子工学研, 京大・理)

DNAと蛋白質の結合はエントロピー駆動型であることが多い。このことは、複合体形成において水が重要な役割を果たしていることを示唆する。DNAと蛋白質の結合により多くの水はインターフェイスから排除されるが、構造水として残っているものもある。DNA・蛋白質の認識において水がどのような役割を果たしているかを調べるため、DNA結合蛋白質の周囲の水の挙動を分子動力学 (MD) 計算により解析し、DNAに結合する部位と他の部分での水の振舞いを比較検討する。

今回は、DNA結合蛋白質のうち比較的小さくコンパクトな球状の蛋白質として phage 434 CRO (PDB entry 2CRO; 2.35 Å resolution) について、蛋白質内運動と周囲の水の運動を、MD計算を通じて研究する。CROは本来ダイマーを形成しているが、計算ではモノマーとして取り扱う。計算機プログラムは、Amber 4.1を使用する。周期的境界条件 (Ewald法は使わない) のもと、温度、圧力を常温、常圧に制御 (系内の温度分離を抑えるため、溶質と溶媒はそれぞれ別々に温度制御) し、非結合性相互作用のカットオフ距離を14Åに設定、10ステップおきにカットオフ・リストの更新を行う。シミュレーションは、系 (単位セル) の大きさを幾つか変えて行う。セルの大きさが蛋白質の運動や水の拡散、また圧力の変動に及ぼす影響を調べることで、より信頼できる計算を行うための条件を求める。また、カウンターイオンの置き方やイオン半径の違いによる水や蛋白質の運動の変化も調べる。

私たちの計算は434 CRO分子単体に対しての計算ではあるが、ダイマーを形成するための結合部位やDNA結合部位の周辺の水の拡散運動や構造化を調べ、それ以外の部位のそれと比較することで、分子間相互作用としての水の役割を議論する。

J.Higo, H.Kono, H.Nakamura, A.Sarai: Analysis of water around a DNA-binding protein (434 CRO) by molecular dynamics simulation

モノヌクレオチド認識部分の蛋白質立体構造比較

○小林伸生, 郷信広
(京大・院理・化学)

序 多くの蛋白質において特異的な機能を発揮するためには、それぞれに特定の分子を認識し結合することが必要となる。例えば様々なキナーゼは、いずれもATPを結合することによりそのリン酸基が基質に移されるのに対し、G蛋白質ではGTPを結合することで、その加水分解に伴う構造変化による機能を発揮する。ATPとGTPの構造上の違いは塩基部分の置換のみであり、それぞれの蛋白質はこの違いを認識している。では蛋白質はこのように違いをどのように区別し、認識しているのだろうか？我々はこの問題に対して、基質結合部分の立体構造比較を行い、その認識パターンを探るアプローチを選んだ。ATPとGTPの認識において重要となる、核酸塩基 (アデニン、グアニン) を結合する部分構造を対象として比較を行った。

結果 一般には全体構造の異なる蛋白質ごとに異なるパターンで結合しているが、D-Ala:D-Ala ligase と cAMP-dependent protein kinase とは全体構造が異なるにもかかわらず、ATPを認識する共通の構造モチーフを持つことが分かった。D-Ala:D-Ala ligase はその全体構造において glutathione synthetase に代表されるいくつかの蛋白質との類似性が指摘されている (glutathione synthetase fold)。また cAMP-dependent protein kinase などのプロテインキナーゼ群にはアミノ酸配列から進化的な類縁関係が示されており、その立体構造も類似している (protein kinase fold)。上記2つの構造をもつ蛋白質では、モノヌクレオチドを結合していない場合もその構造モチーフは保存されていた。さらに、共通構造モチーフ部分のアミノ酸配列は多様であった。

考察 機能部位の立体構造比較から、glutathione synthetase fold をもつ蛋白質間の類似性がより明確なものとなった。またプロテインキナーゼでは、いくつかの保存されたアミノ酸配列領域は知られていたが、今回立体構造レベルでの保存領域が見つかった。本発表では、さらにアデニンとグアニンの認識パターンの違いについても議論する予定である。

N.Kobayashi, N.Go: Structural comparison of proteins for their mononucleotide binding moieties

引力、斥力の2項からなる経験的残基間相互作用ポテンシャル

○宮澤三造
(群馬大・工)

Attractive inter-residue contact energies for proteins are re-evaluated with the same assumptions and approximations used originally by us in 1985, but with a significantly larger set of protein crystal structures. An additional repulsive packing energy term, operative at higher densities to prevent overpacking, has also been estimated for all 20 amino acids as a function of the number of contacting residues based on their observed distributions. The two terms of opposite sign are intended to be used together to provide an estimation of overall energies of inter-residue interactions in simplified proteins without atomic details. To overcome the problem of how to utilize the many homologous proteins in the Protein Data Bank, a new scheme has been devised to assign different weights to each protein, based on similarities among amino acid sequences. 1168 protein structures containing 1661 subunit sequences are actually used here. After the sequence weights are applied, these correspond to an effective number of residue-residue contacts of 113,914, or about 6 times more than were used in the old analysis. The estimates of hydrophobicity from the contact energies for nonpolar side chains agree well with the experimental values. In an application of these contact energies, the sequences of 88 structurally distinct proteins in the Protein Data Bank are threaded at all possible positions without gaps into 189 different folds of proteins whose sequences differ from each other by at least 35% sequence identity. The native structures for 73 of 88 proteins, excluding 15 exceptional proteins such as membrane proteins, are demonstrated to have the lowest alignment energies of residues. Reference: J.Mol.Biol., 256,623-644, 1996.

S. Miyazawa: Residue-Residue Potentials with a Favorable Contact Pair Term and an Unfavorable High Packing Density Term for Simulation and Threading

FEDER/3: 二面角座標系における分子動力学シミュレーション

輪湖博, 〇猿渡茂
(早大・社会科学, 北里大・理・物理)

われわれはこれまで、タンパク質を中心とした鎖状高分子の立体構造を、二面角を変数として計算するためのプログラムとして、FEDER/2を開発してきた (Wako et al., Comp. Phys. Comm. 1995, 91:233-251)。FEDER/2は、立体構造エネルギー極小化、基準振動解析、モンテカルロ・シミュレーション、シミュレートド・アニリングなどの分子力学的計算はもとより、NMRなどから得られる距離制約条件から立体構造を決定する機能なども備えている。しかし、分子動力学を行うことはできなかった。ところが最近、鎖状分子の分子動力学シミュレーションを、二面角を変数として高速に行うためのアルゴリズムがJainらによって開発された (Jain et al., J. Comp. Phys. 1993, 106:258-268)。彼らがNewton-Euler Inverse Matrix Operator法とよぶこのアルゴリズムは、従来、その計算量が変数の3乗のオーダーに比例すると考えられていた二面角系の分子動力学を、1乗のオーダーで行うことのできる画期的なもので、われわれはこれをFEDER/2に組み込み、新たにFEDER/3として、分子動力学シミュレーションのテストを行った。実際に15残基程度のペプチドでは計算時間の9割以上がエネルギーとその二面角に関する微分 (変数の2乗のオーダーの計算量) を求めるのに使われており、分子力学的部分は計算の律速にはなっていないことが分かる。1ステップの時間刻みは少なくとも2fsにとることができ、デカルト座標系の分子動力学に比べて効率が良いことが分かる。学会ではこの他、複数分子からなる系の場合、United atomを用いてメチル基の回転を平均化した場合の結果について報告する。

H. Wako, S. Endo: FEDER/3: Molecular dynamics simulation program in dihedral angle space