

1P132

## ホモロジーモデル内部の水分子位置決定に関する理論的研究

(九大先導研) 緒方龍展, 蒲池高志, 吉澤一成

### Theoretical Study on Prediction of Water Molecules'

### Locations in Homology Models

(IMCE Kyushu University) Tatsunobu Ogata, Takashi Kamachi, Kazunari Yoshizawa

#### 【序】

水分子はタンパク質のフォールディング、構造安定性、機能などに重要な役割を果たすため、水分子の情報はタンパク質の計算モデルに不可欠である。また、タンパク質の構造決定法には X 線結晶構造解析、中性子線回折、NMR などがあるが、膜タンパク質のような結晶化が難しいタンパク質にはそれらの手法を用いることができないため理論的手法による構造決定が必要である。タンパク質の理論的構造決定法の一つにホモロジーモデリングがある。この手法では、目的のタンパク質とアミノ酸配列が類似し、かつ、構造が既知であるタンパク質を鋳型として目的のタンパク質のアミノ酸残基を並べ、構造を決定する。鋳型の配列類似度が 30%以上であれば主鎖レベルで 2 Å の誤差での予測が可能である。しかし、ホモロジーモデリングでは水分子の位置を決定することができない。本研究ではホモロジーモデリングにより作成したタンパク質の内部の水分子位置を決定する手法を開発した。

#### 【計算方法】

ホモロジーモデリングには Discovery Studio を用いた。鋳型となるタンパク質の構造情報を PSI-BLAST により検索し、配列類似度が高いものから 3 つを選択し、鋳型を作成した。鋳型の作成、モデルの構築には MODELER を用いた。アミノ酸残基のプロトン状態決定には Generalized Born 法を用い、PROPKA を用いてクロスチェックを行った。なお、2 つの方法で結果が異なる際には各アミノ酸残基の一般的なプロトン状態 (HIS(0)、GLY(-1)、ASP(-1)、ARG(+1)、LYS(+1); ( )内は電荷) とした。分子動力学計算には力場として CHARMM22 を用い、計算プログラムには NAMD を用いた。開発した手法を評価するために、水の位置が精度よく決定されている高解像度の X 線結晶タンパク質を対象とした。開発した手法により決定された水分子が X 線結晶構造解析により得られている水分子と対応するかを評価した。また、水分子を除いた X 線結晶構造とそのホモロジーモデルについてそれぞれ水分子を予測することで、タンパク質構造の精度が与える影響について確認した。

#### 【結果と考察】

本研究ではタンパク質内部の空隙に存在する水分子(buried water)の位置を分子動力学シミュレーションにより予測する手法を開発した。buried water はタンパク質の構成原子により外部へ到達することができず、かつ、溶媒露出度が 0 である水分子である。我々はタンパク質について原子間距離を計算することにより空隙を探索し、そこに水分子を挿入するプロ

グラムを開発した。作成した構造について分子動力学シミュレーションを行った (50 ps の平衡化、0.001 kcal/mol・Å の収束条件での共役勾配法による構造最適化)。Li および Jan らの報告によると<sup>[1]</sup>、buried water はタンパク質との非結合性相互作用により 12 kcal/mol 以上安定化されている。そこでシミュレーションの結果得られた構造から各水分子の安定化エネルギーを計算し、-12 kcal/mol 以上の水分子を削除した。不安定な水分子がなくなるまでシミュレーションと削除を繰り返すことによりタンパク質内部の水分子の位置を決定した。水分子が一つのみ存在する空隙から複数の水分子が存在する空隙まで水分子位置を精度よく決定できた

(図 1)。得られた結果を表 1 に示す。X 線結晶解析により得られている水分子に対し、水分子を除いた結晶構造に対する水分子位置の予測精度は非常に高く、また、ホモロジーモデルについては RMSD 値が良ければ水分子位置を高精度で決定できることが判明した。これにより本手法は対象とするタンパク質の構造精度が高ければ水分子を正しく予測することが可能であり、ホモロジーモデルに対する水分子位置決定手法としても有効であることが示された。

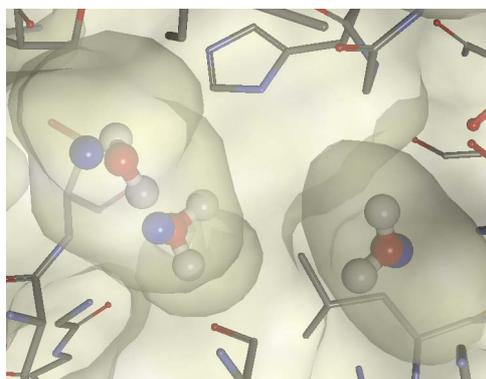


図 1. X 線結晶解析から得られている水分子 (青球) と本手法で予測した水分子 (赤球)

表 1. X 線結晶構造解析で決定された buried water の位置と本手法によって決定した水分子の位置の比較結果

PDB ID	解像度(Å)	buried water <sup>a</sup>	RMSD(Å) <sup>b</sup>	予測した水の個数			
				X 線結晶		ホモロジーモデル	
				0.80 Å <sup>c</sup>	1.00 Å <sup>c</sup>	0.80 Å <sup>c</sup>	1.00 Å <sup>c</sup>
3A5Q	1.80	14	0.64	13	13	8	9
2DE9	1.30	13	0.74	12	12	9	9
3PTL	1.30	7	0.90	6	6	6	7
3KBJ	2.00	12	1.27	12	12	8	8
3O6A	2.00	15	1.63	11	12	11	11
5PTP	1.34	10	1.73	7	7	5	8
1TVN	1.41	9	2.37	9	9	4	4
合計		80		70	71	51	56

<sup>a</sup> X 線結晶構造解析で得られた buried water の個数

<sup>b</sup> X 線結晶構造に対するホモロジーモデルの誤差

<sup>c</sup> X 線結晶構造解析で観測された水分子位置と本手法により決定した水分子位置の誤差

#### 【参考文献】

[1] Li, Z.; Jan, H. *PROTEINS* **1966**, *24*, 433.