

1C16 タンパク質のフォールディング解析法とCDスペクトル計算

(豊橋技科大¹・科技振²・筑波大情工³・産総研グリッド⁴) ○後藤仁志¹
中山尚史^{1,2}, 中島佳宏³, 佐藤三久³, 鎌倉寿行¹, 小畑繁昭¹, 長島雲兵⁴

【はじめに】 生体内におけるタンパク質の立体構造を決定することは、その機能を解明する上で非常に重要である。しかし、一般的な有機化合物に比べてはるかに巨大なタンパク質が唯一つ、あるいは少数の構造で留まっているとは考え難く、例え局所的に非常に安定な部分構造を形成しているとしても、立体化学の定義に従えば、数百以上の配座異性体が共存していると考えられるべきであろう。また、その特異な立体構造の形成過程や、化学環境の変化に伴う構造動態などのフォールディング過程の解明というバイオ関連研究の広い分野に関連した課題は、タンパク質の多数の局所が独立に、あるいは連動した変位を伴う配座異性体間の相互変換の問題であるといえる。

このような困難な課題を抱える状況において、実験と計算が互いにデータを比較し確認できる系を取り扱い、基礎的知見を蓄積していくことは、非常に価値がある。したがって、最近注目されている小ペプチドのNMRとCDスペクトル解析は、小さいながらも特異な三次構造を有するペプチドのフォールディング過程を化学精度で解析するという、重要な意味を持っている。

そこで本研究では、トリプトファンジッパーと呼ばれる特異的なβ-ヘアピン構造をとる12残基小ペプチド(1LE0,

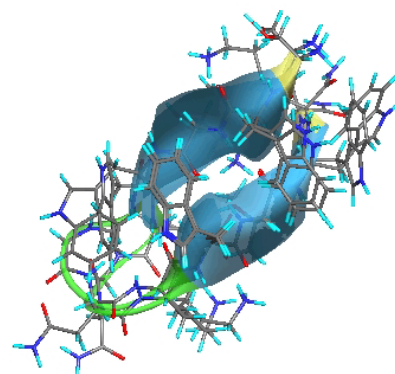


Fig.1 Superimposed image of NMR(AMBER) and MMFF94 optimized structures (RMSD=0.647Å)

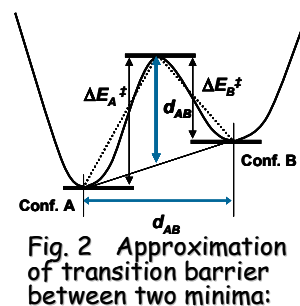
Fig. 1)に注目し、並列分散処理技術を導入した配座創出法を用いてその配座異性体を探索し、得られた3万以上の配座異性体から特定の配座間のフォールディング過程を探索する手法を開発した。また、実験観測されたCDスペクトルと分子軌道計算に基づくCDスペクトルを比較することによって、生体内において動的に変化するタンパク質の立体構造を予測する。

【並列分散処理技術による配座異性体探索】 12残基220原子の小ペプチドとはいえ、ペプチド結合を固定するとしても63本の回転異性を考慮すべき結合を持つ1LE0には 10^{30} 以上の配座異性体の可能性がある。そこで本研究では、並列分散処理技術(MPICH)やグリッド技術(OmniRPC)を導入した配座空間探索法(CONFLEX)を用いて、1LE0の配座異性体を創出した。入力構造にPDBに登録されている1LE0のNMR構造のMODEL1を用いてテストを行ったところ、MPICHによる16 workers (AMD Athlon MP 2600+: 16 CPUs)で15.5倍、またOmniRPCによる28 workers (Intel P4 Xeon 2.4GHz: 28 CPUs)でおよそ28倍の探索効率に到達し、ほぼリニアに並列化効率が向上することを確認した。最終的にMPICH版CONFLEXを用い、9.5日の計算時間で32,574の配座を見出した。尚、これらの計算では、MMFF94力場をエネルギー極小化のためのポテンシャルとして用い、また、水中を仮定して、有効誘電率を78.4として静電相互作用エネルギーを求めた。

【フォールディング解析法】 タンパク質のフォールディング過程は2つの配座異性体間の相互変換を素反応とした連続反応と考えることができる。また、あるエネルギー極小点から複数の素反応経路が考えられる場合は、動力学的な条件、すなわち、配座変換の遷移状態の

高さにしたがって径路が選択されるという Cartin-Hammet 則に従うと考えることができる。計算化学的に定義される分子ポテンシャル上において、配座変換の遷移状態探索は化学反応のそれと同じであり、その探索は同様に困難である。しかし、結合の切断形成を伴わないため、極小点と遷移状態との構造類似性と遷移状態の高さが相関関係にあることもわかっている。そこで本研究では、さらに粗い近似ではあるが、二つの異性体の構造類似性として骨格ねじれ角の二乗平均差 d_{AB}^{RMS} を配座距離として定義し、これを遷移状態とのエネルギー差の近似値として用いることにした (Fig. 2)。

$$d_{AB}^{RMS} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_i (\phi_i^A - \phi_i^B)^2}$$



二つの配座異性体間の相互変換を評価することができれば、これを素反応として、任意の離れた配座異性体間の変換経路、すなわちフォールディング経路を巡回セールスマン問題と同様に解くことができる。ここでは、得られた配座異性体の中で最も棒状に伸びた Strand 構造から NMR 構造に最も近い構造までのプロセスを探索した (Fig. 3)。

【CD スペクトル計算】 円二色性 (Circular Dichroism: CD) スペクトルは、UV/Vis 領域に観測される π 電子系発色団の π 電子励起スペクトルの一種であり、天然有機化合物やタンパク質の絶対立体化学の解析には、以前から広く利用されてきた。理論的な導出は UV/Vis スペクトルとほぼ同様に求めることができ、電気遷移モーメントの代わりに磁気遷移モーメントから計算される。特に 1LE0 のように大きな発色団があれば、PPP レベルの分子軌道法からも高い精度で求めることが可能である。本研究では、東北大原田らが開発した SCFCIDV 法と、MM2 や MM3 で用いられている改良 PPP 法を組み合わせ、フォールディング解析から抽出された配座異性体について CD スペクトルを計算した (Fig. 3)。実験データとの比較から、NMR 構造の理論スペクトルが実測スペクトルを良く再現していることがわかる (Fig. 4)。

【おわりに】 以上、本研究の概略を説明した。討論会においては、さらに詳しい結果について報告する。尚、本研究の一部は、科学技術振興事業団「計算科学技術活用型特定研究開発事業」の援助を受けて行われました。

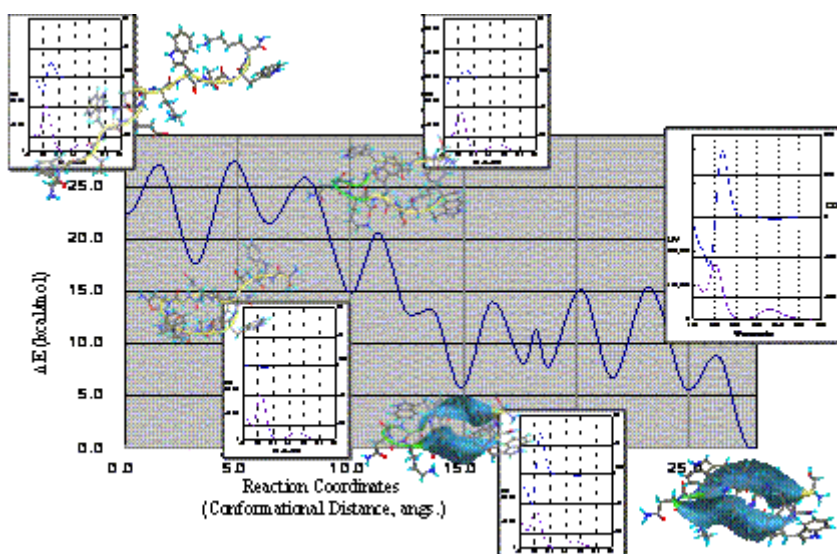


Fig. 3 Predicted folding process of 1LE0 (Type1pt) and CD spectrum

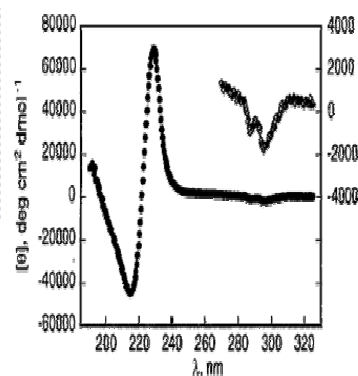


Fig.4 Experimental CD spectrum [A.G.Cochran, et. al, PNAS, 98, 2001, 5578-5583]