

3P35

高分解誘電スペクトロスコピーのタンパク unfolding/refolding 解析への応用

○鈴木 誠¹、織部信次¹、竹石知之¹、大畠文久²

東北大院・工¹、東北大・工²、理研ジーンバンク

マイクロ波域の誘電スペクトロスコピーを水和測定に応用する試みは比較的古いが定量的に不確実な面があった。最近モデル依存性の少ない定量的な解析法が開発され(Wei et al., J.Phys.Chem., 98,6644 (1994))、続いて著者が解析法を進展させて疎水性水和の特性を明らかにするなどタンパクの水和層に対して詳しい情報が得られるようになってきた。(J. Phys. Chem., 100,7279 (1996), Biophys. J., 72,18 (1997), J. Phys. Chem.B, 101, 3839 (1997)) しかしながら、水和量の評価において使用するマイクロ波ネットワークアナライザのベアスラインドリフトの大きさが決定的な誤差要因となっており、さらに詳細な解析を阻んでいる。本研究では、ネットワークアナライザの安定性に大きく影響する発振系の温度変動をさらに抑えることと、基準試料測定を交互に取り入れる工夫をすることにより、装置ドリフトの低減と補償を図った。その結果、検出限界を水の静的誘電率値の0.01%程度まで高めることが可能になってきた。この測定装置を用いてタンパク分子の水和測定を行い、またイオン強度やpH変化によるタンパクのアンフォールディング・リフォールディングの際の水和状態の変化を調べた。まだ試みの段階ではあるが、測定結果について報告する。

M.Suzuki,S.Oribe,T.Takeishi,M.Oobatake: Application of high resolution microwave dielectric spectroscopy onprotein unfolding/refolding

3P37

多分子系における独立分子モデルと結合分子モデル

吉沖周三

八代高専

蛋白質は、水溶液中でその特異的立体構造を保持し、種々の機能を発現する。それ故、蛋白質と水分子の相互作用を考慮することなく蛋白質のみに焦点を当てることは片手落ちである。

蛋白質と水分子をそれぞれ多分子系を構成する要素と考えると、多分子系を理論的に扱うのに二つの方法があることに気がつく。一つの方法は、蛋白質と水分子を構成要素とする super 分子と考える方法である。二つ目の方法は各々の分子を独立な分子と見なす方法である。

前者(結合分子モデル)と後者(独立分子モデル)では分子の内部自由度は同じであるが、外部自由度をどのように配置するかによって異なる。

前者では、ある絶対座標系に対して一番目の分子の位置と方向を決めるのに並進ベクトルとオイラー角の6自由度が必要であるが、二番目の分子の位置と方向は一番目の分子に対して決めるのである。以下、同様にして分子の位置と方向を決めていくのである。後者では、各々の分子の位置と方向のある絶対座標系に対してのみ決めるのである。前者では、super 分子としての内部運動を規準振動解析によって明かにし得るが super 分子を構成する各々の分子の内部運動を明らかにすることができない。これは原理的に不可能である。他方、後者では、各々の分子の内部運動は明らかにし得るが、分子全体としての相関のある運動を明らかにし得ない。

この二つのモデルはそれぞれ相補的であり、どちらのモデルを選ぶかは我々がどの情報を必要とするかに依っている。固体の格子振動論との比較をすると、後者の独立分子モデルは Einstein model に相当し、前者の結合分子モデルは Debye model に相当すると考えられる。

独立分子モデルの文献:

S.Yoshioki to be published in J.Phys.Soc.Jpn Vol.66 No.9 1997

S.Yoshioki: Independent molecule model and Unified molecule model in multimolecule system

3P36

Delaunay 四面体を利用したタンパク質部分構造のコード表現

○輪湖博¹、佐剛久¹

早大・社会科学¹、農工大・工

タンパク質それぞれの立体構造を特徴づけるものとして、構成する二次構造の種類と、それらの空間的配置がある。タンパク質が大きい場合には、複数のコンパクトな領域(ドメイン)に分けることもある。ドメインは、連続したペプチド鎖に限定して定義されることもあるし、そうした制限を課さないこともある。しかし、いずれにしろ、現在提案されている立体構造の分類法は、二次構造の組み合わせを基本概念に置いているものが多い。そして最終的には、主として幾何学的な計算から立体構造の類似性などが検討される。これらの手続きを、タンパク質の立体構造を安定化している相互作用という観点から見ると、二次構造の内部が相互作用がもっとも密であり、超二次構造、ドメイン、そして全体構造へと立体構造の階層を上がるとともに疎になっていく傾向にあることを暗然と考慮して、立体構造を観測していることになる。

ところで、本研究は、タンパク質の部分構造を、残基間の相互作用のネットワークに注目してコード化表現し、同じコードで表現される構造を調べることによって、それぞれの部分構造を特徴づけていくことを目的としている。方法は以下の通りである。まず、各アミノ酸をC*で代表してタンパク質の立体構造を表現し、それをC*を頂点とする Delaunay 四面体で分割する。つづいて、各 Delaunay 四面体について、それに最隣接する四面体を含めて、それを構成する残基をある規則でコード化して表現する。このコードが一致する構造(残基の集合)を収集し、その特徴を調べる。以上が方法の概略であるが、この方法の特徴は、四面体で立体構造を分割するとき、ペプチド鎖に沿っているか・いないか、同じ二次構造の内部か・否か、といった制限は一切していないこと、四面体の各辺は、何らかの相互作用があると考えるに十分ほど近接している残基対であり、したがって、四面体のコードは残基間の相互作用のネットワークを他の方法に比較してより反映したものとなっていることなどである。なお、結果については当日報告する予定である。

H.Wako,T.Yamato: Code representation of local structures of proteins using Delaunaytessellation

3P38

アラインメントによる蛋白質構造と配列の適合性判定

宮澤三造

群馬大学工学部

We examine how extensively the simple potential functions developed in our preceding papers can identify compatibilities between sequences and structures of proteins. The potential function consists of pairwise contact energies, repulsive packing potentials of residues and short-range potentials for secondary structures, which were all estimated from the statistical preferences observed in known protein structures. Each energy potential term has been modified to approximately represent stabilities of proteins in various environments, for multimeric states as well as monomeric states. These potentials were demonstrated to discriminate successfully not only in fold recognition but even in sequence recognition, when sequences are threaded into structures without gaps. Here, it is more thoroughly examined by allowing deletions and additions in sequence - structure alignments. Gap penalties are assumed to be proportional to the number of contacts at each residue position so that gaps will tend to be more frequently placed on protein surfaces than in cores. A dynamic programming method is applied iteratively to obtain a self-consistent alignment in the evaluations with the pairwise potentials. Results show that the present energy function and alignment method can detect both folds compatible with a given sequence and conversely sequences compatible with a given fold, at least to the same degree as can a conventional sequence alignment method. Also it is indicated that the long-range, pairwise contact energies principally contribute to the recognition of overall fold, but that the short-range, secondary structure potentials usefully complement them to yield improved alignments. Reference: J. Mol. Biol., 256, 623-644, 1996.

S. Miyazawa: Protein Fold and Sequence Recognition by Alignments