

アミノ酸配座異性体ライブラリを用いたプロテインビルダーの開発

○ 鎌倉 寿行、後藤 仁志、吉田 祐司
豊橋技術科学大学知識情報工学系

【はじめに】

タンパク質の一次構造からその立体構造を予測することは、分子レベルで生体内におけるタンパク質の機能を解明する上で重要なステップであると同時に、タンパク質が取り得る立体構造、すなわち立体配座が膨大な数になるため、最も難しい問題の一つとされてきた。しかし、最近の分子シミュレーションは、並列技術やグリッド化の導入により、数十残基～数百残基程度のタンパク質であれば、エネルギー的に安定な領域の立体構造を見つけることが可能になりつつある。利用可能時間内において、比較的小さなタンパク質の配座異性体を網羅的に創出することが可能であるならば、少なくともエネルギー的に有利な二次構造の配座異性体を構築し、ライブラリ化することが可能になる。

そこで本研究では、様々なアミノ酸・ポリペプチド・タンパク質の配座異性体を含むライブラリを構築し、それを利用することで、新しい配座異性体を創出しライブラリを再構築していく、タンパク質立体構造の多様性に対応した効率的かつ網羅的な新しい配座創出プログラムの開発を目的としている。ここでは、アミノ酸単量体の配座異性体ライブラリを利用してタンパク質の立体構造を構築するプロテインビルダーを作成し、創出された立体構造と実験で得られた立体構造との比較を行う。

【方法】

N 末端・C 末端をそれぞれ、アセチル基(-COCH₃)・アミドメチル基(-NHCH₃)で保護したアミノ酸単量体の配座異性体を CONFLEX により創出し、ライブラリを構築する。このとき、ペプチド結合をなす結合を S-Cis に固定する。Table.1 は、創出したアミノ酸単量体の配座異性体の数を示す。ライブラリの配座異性体を使用し、保護基を利用することにより一意に決まる直鎖を作るルーチンを作成する。(Fig.1)

PDB データから一次構造を取得し、"最も似た配座異性体"を構築したライブラリから選択する。立体的類似性を表す指標には、式(1)で示すねじれ角の差の自乗平均を用いた。

$$RMS = \sqrt{\sum_N (\phi_{PDB} - \phi_{LIB})^2} \cdots (1)$$

(ただし、N はねじれ角の数、 ϕ_{PDB} は PDB のねじれ角、 ϕ_{LIB} は配座異性体ライブラリのねじれ角とする。)

選択した"最も似た配座異性体"を繋ぎ合わせ、タンパク質の立体構造を構築する。さらに、主鎖のねじれ角を PDB データに合わせるように立体構造の変形操作を行う。

【結果】

Table.2 は、PDB の構造データ(立体構造 I)と繋ぎ合わせて組み立てた立体構造(立体構造 II)および構造 II に変形操作を加えた立体構造(立体構造 III)と、それぞれを Chem3D(MM2 力場)で構造最適化を行ったものを示す。

アミノ酸単量体配座ライブラリを用いて単純に繋ぎ合わせて作成した立体構造 II は、1BL1 の特徴である 3 つのヘリックスを構成していないことが、Table.2 の図からわかる。変形操作を行った立体構造 III は、3 つのヘリックスを構成しているが、4272.62[kcal/mol]と非常に不安定な構造であることがわかる。これは立体構造 III の非結合原子間距離が非常に近いことに起因している。(Fig.2)

【まとめ】

以上の結果より、単純に繋ぎ合わせて組み立てた方法だけでは、原子同士の衝突は避けられず、作成された立体構造は高エネルギーになってしまう。そこで、年会ではこの衝突を避けることができるアルゴリズムについて議論する。

Table.1 創出した配座異性体の数

Amino Acids	Number of conformer	Amino Acids	Number of conformer
Methionine	96	Serine	28
Alanine	3	Threonine	32
Valine	14	Tyrosine	30
Leucine	38	Asparagine	33
Isoleucine	39	Glutamine	140
Proline	5	Aspartic Acid	20
Phenylalanine	16	Glutamic Acid	68
Tryptophan	34	Lysine	344
Cysteine	33	Arginine	696
Glycine	2	Histidine	52

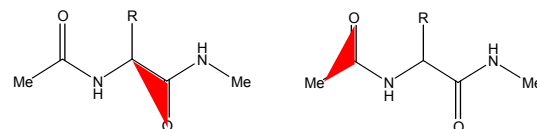


Fig.1 赤色の三角形で示した3点を面として重ね合わせ、重複する部分を削除し、結合することにより、一意に決まる新たな分子を作

Table2. PDB 結晶構造と組み立てた構造、および変形構造

	Chem3D/MM2			
	初期構造 energy[kcal/mol]	立体構造	最適化構造 energy[kcal/mol]	立体構造
I.PDB結晶構造	266.37		-190.54	
II.組み立てた構造 (アミノ酸配座ライブラリを単純に結合)	4147.44		-195.32	
III.変形構造 (主鎖のねじれ角を結晶構造に合わせる)	4272.62		-265.92	

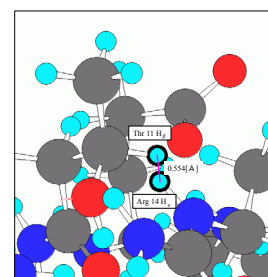


Fig.2 近接原子の例(Thr 11 と Arg 14)