

4P121

アズリン-シトクロム c_{551} 複合体のドッキング構造に関する理論的研究

○西川 佳吾¹, 山本 哲徳¹, 杉山 歩², Acep Purqon¹, 長尾 秀実¹, 西川 清¹

(金沢大院・自然¹, 北陸先端大・知識²)

【序】

金属含有タンパク質は生体内部において、電子伝達や化学反応といった重要な役割を担っている。シトクロムは、活性中心にヘム鉄を持つヘム鉄タンパク質の一種であり、酸化型と還元型が存在し他のタンパク質との間で電子伝達を行っている。一方、アズリンは単核のブルー銅タンパク質であり、シトクロムと同様に生体内において電子伝達を担っている。

本研究では、実験[1]に用いられている電子伝達モデルである、*Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*)由来のシトクロム c_{551} (Cyt- c_{551})及びアズリン(Azu)を用い、Azu(II) – Cyt- c_{551} (III) ⇌ Azu(I) – Cyt- c_{551} (III)で示される反応についての研究を行った。

この時用いたシトクロム c_{551} は総原子数 1287 個、総残基数 82 残基の鉄含有タンパク質であり、反応活性部位はHEMとMet61、His16 の2つの残基から成っており、HEMと2つの残基は配位結合によって結合している。さらに、Cys12 及びCys15 がジスルフィド結合により反応活性部位と結合している。また、アズリンは、総原子数 1929 個、総残基数 128 残基のタンパク質であり、反応活性部位は銅イオンとMet121、His117、Cys112、Gly45、His46 の5つの残基が配位結合により結合したのからなっている。

本研究では、Azu(I) – Cyt- c_{551} (III)複合体に対してMDシミュレーションを行い、ドッキング構造の安定性に関する考察を行った。

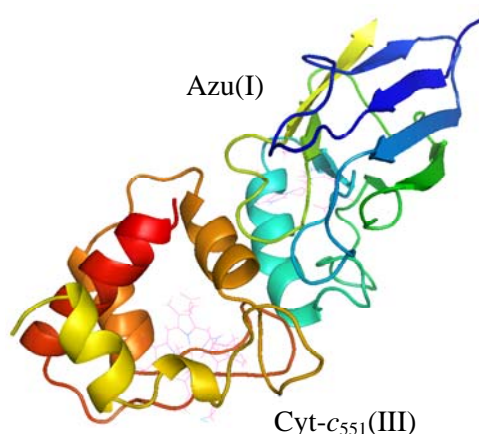


図 1. Azu(I) – Cyt- c_{551} (III)複合体の高次構造

【計算方法】

本研究では、我々が以前に行った *Ps. aeruginosa* 由来の還元型シトクロム c_{551} (PDBID:451C)と酸化型アズリン(PDBID:4AZU)の複合体に関する研究[2]により決定したAzu(II) – Cyt- c_{551} (II)複合体の安定構造を Azu(I) – Cyt- c_{551} (III)複合体(図 1)の初期構造として採用した。

MDシミュレーションに用いる力場にはAMBER force field 03 (Amber8) [3]を用いた。AMBER force field 03 に

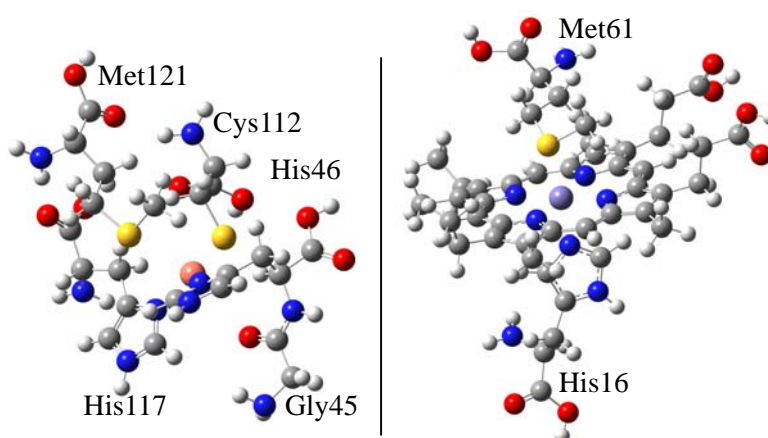


図 2. Azu(I)の反応活性部位付近のモデル

図 3. Cyt- c_{551} (III)の反応活性部位付近のモデル

存在しないFeとCuの電荷密度は、Azul(I)のアクティブサイト周辺(図 2)及びCyt-c551(III)のアクティブサイト周辺(図 3)に対する量子化学計算を行う事で決定した。この際、量子化学計算にはGaussian 03 を用い、UB3LYP法を用い基底関数 6-31G**によってRESP電荷の決定を行った。また、FeとCuに関する残基間の結合パラメータは、以前の研究[2,4]で決定したものを使用した。以上の結果から、Tip5P剛体モデル水分子 6204 個配置し、カットオフ半径を10Åに設定した上で、温度 300KでNVTアンサンブルのMDシミュレーション(1MDstep:2fs)を行った。

また、本研究では、MDシミュレーションによって得られた粒子の座標を元に、エネルギー表示による自由エネルギー計算[5]を行い複合体構造の安定性についても考察する。エネルギー表示の自由エネルギーは、次の $\Delta\mu$ によって与えられる。

$$\Delta\mu = -k_B T \int d\varepsilon \left[\rho(\varepsilon) - \rho_0(\varepsilon) \right] + \frac{1}{k_B T} w(\varepsilon) \rho(\varepsilon) - \left\{ \alpha(\varepsilon) F(\varepsilon) + (1 - \alpha(\varepsilon)) F_0(\varepsilon) \right\} \left[\rho(\varepsilon) - \rho_0(\varepsilon) \right]$$

ここで、 k_B はボルツマン定数、 T は温度、 ε はエネルギーを意味する。また、 $\rho(\varepsilon)$ はエネルギー分布関数を現し、 $\rho_0(\varepsilon)$ は純粋溶媒を意味する。 $w(\varepsilon)$ は溶質-溶媒ポテンシャルの平均力の間接項であり、 $\alpha(\varepsilon)$ は重み因子である。 $F(\varepsilon)$ 及び $F_0(\varepsilon)$ は、 $w(\varepsilon)$ と純粋溶媒を意味する $w_0(\varepsilon)$ のみによって得られる関数である。

【結果】

Azul(I) - Cyt-c551(III)複合体に対するMDシミュレーションの結果から、複合体の構造安定性に関する考察を行うため、Azul(I)のアクティブサイトにあるCuとCyt-c551(III)のアクティブサイトにあるFeとの間の距離の計算や、水素結合している残基の特定などを行った。図 4 は 2nsまでのFe(Azul)-Cu(Cyt-c551)の変化を表した図である。距離の変化はあまり見られず、以前の研究で決定したAzul(II) - Cyt-c551(II)複合体安定構造の場合と比較してもより安定していると言える。なお、自由エネルギー計算についての考察は当日発表する。

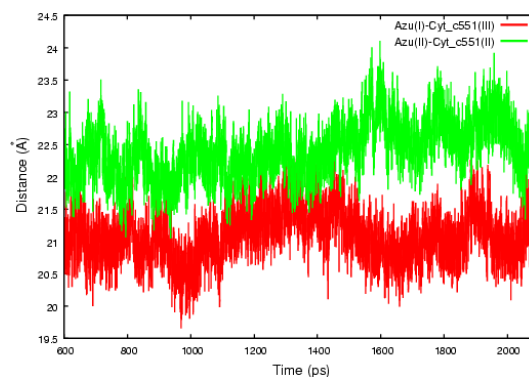


図 4. Fe(Azul(I))-Cu(Cyt-c551(III))間の距離

References

- [1] F. Cutruzzola et al., J. Inorganic Biochem., **88**, 353 (2002).
- [2] A. Sugiyama et al., Int. J. Quantum Chem., **106**, 3071 (2006).
- [3] D.A.Pearlman, D.A.Case, J.W.Caldwell, W.S.Ross, T.E.Cheatham, III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel & P. Kollman. Comp. Phys. Commun **91**, 141 (1995).
- [4] T. Syuku, k. Sugimori, A. Sugiyama, H. Nagao, T. Sakurai, K. Nishikawa, Polyhedron **24**, 2671-2675 (2005)
- [5] N. Matubayasi et al., J. Chem. Physics, **119**, 18, 9689 (2003)