

自由エネルギー計算によるAzurin(II)–Cytochromec551(II)

ドッキング構造に関する理論的研究

○松本 圭介¹, 中村 力¹, 水上 卓², 齋藤 大明¹, 西川 清¹, 長尾 秀実¹(金沢大院・自然¹, 北陸先端大院・マテリアル²)

【序】

活性部位に金属を有する含金属タンパク質は、生体内においてタンパク質間での電子伝達等の重要な特性を持つことが知られている。含金属タンパク質の中でも、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。また、アズリンは活性中心に銅を持つブルー銅タンパク質であり、シトクロムと同様に生体内で電子伝達を担っている。本研究では、電子伝達モデルである *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps.aeruginosa*) 由来のシトクロム c551(Cyt-c551)及びアズリン(Azu)を用いた。これら 2 つのタンパク質は、電子伝達を行うことによりアズリンは、Azu(II)から Azu(I)へ変化しシトクロムは Cyt-c551(II)から Cyt-c551(III)へ変化することが知られている。しかしながら生体内でのドッキング安定構造は未だ解明されていない。本研究では、Azu(II)–Cyt-c551(II)のドッキング構造に対して異なる 2 つの複合体構造を用い分子動力学シミュレーションを行った。その結果を用いてエネルギー表示法による溶媒和自由エネルギー[1-3]を計算し、溶媒和自由エネルギーの観点からドッキング構造の安定性について考察を行う。

【計算方法】

計算で用いたドッキング構造は、我々が以前行った研究で ZDOCK を用いて作成した構造(モデル 1: 図 1)とそれとは異なる構造(モデル 2: 図 2)の 2 つである。この 2 つの図において左がシトクロム、右がアズリンとなっている。この 2 つのドッキング構造に対してそれぞれ分子動力学シミュレーションを行った。今回用いたアズリンは、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ものからなっている(図 3)。また、シトクロム c551 は、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 つの残基からなっており、HEM と 2 つの残基は配位結合している(図 4)。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。この 2 つのモデルは、アズリンの Cu とシトクロムの Fe 間の距離が異なっており、初期構造においてモデル 1 では 22.191 Å、モデル 2 では 15.201 Å となっており Cu–Fe 間の距離は、モデル 2 がおよそ 7 Å 近くなっている。

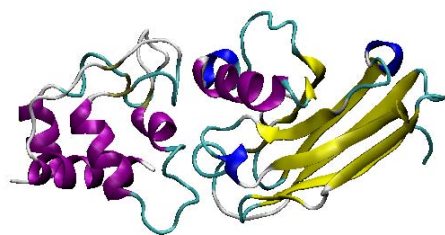


図 1. Azu(II) - Cyt(II)モデル 1

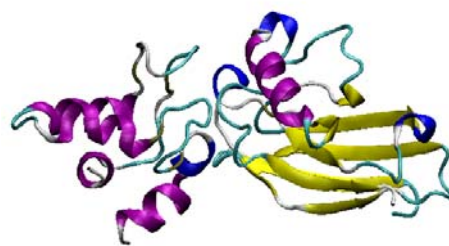


図 2. Azu(II) - Cyt(II)モデル 2

分子動力学シミュレーションに用いる力場には、AMBER force field 03(Amber8)を用い、活性部位周辺の電荷分布は、我々が以前に行った還元型シトクロムと酸化型アズリンの反応活性部位付近の量子化学計算によって決定した力場パラメータ[4]を用いた。モデル1では、TIP5P 剛体モデル水分子 5854 個を配置し、カットオフ半径を 8Åに設定し、モデル

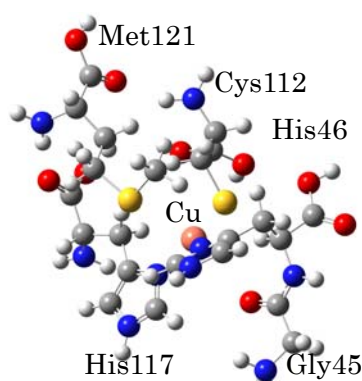


図 3. Azu(II)の反応活性部位付近のモデル

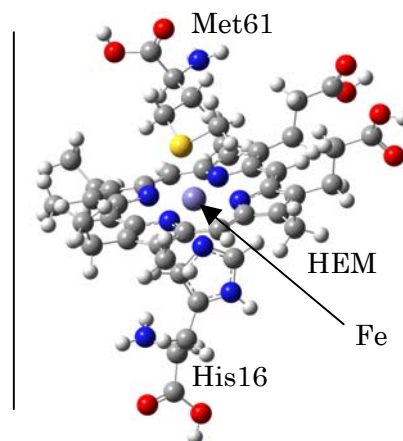


図 4. Cyt-c551(II)の反応活性部位付近のモデル

2では、水分子 6472 個を配置しその他の条件はモデル 1 と同じものとして、300K での NVT アンサンブルの分子動力学シミュレーションを行った。シミュレーションによって得られた熱平衡状態における粒子のトラジェクトリデータを用いてエネルギー表示法による溶媒和自由エネルギー[1-3]計算を行い、モデル 1, モデル 2 の複合体構造の安定性について議論する。

【結果】

Azu(II)-Cyt-c551(II)複合体モデル 1, 2 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を議論するために 2 つの複合体モデルにおける根平均二乗変位(RMSD), Cu(Azu) - Fe(Cyt)の距離や水素結合サイトの残基の特定、さらに平衡化後の結果を用いてエネルギー表示による溶媒和自由エネルギー[1-3]計算を行った。図 5, 6 に、モデル 1, 2 の MD シミュレーションでのアズリンとシトクロムの重心間の距離(上方)、及び Cu(Azu), Fe(Cyt)の距離(下方)を示す。このグラフから Cu - Fe 間の距離、アズリンとシトクロムの重心間距離が極端に変化していないため両モデルのドッキング構造が安定して存在していることが分かる。

その他の解析結果及び、エネルギー表示法における溶媒和自由エネルギー計算からの考察については当日発表する。

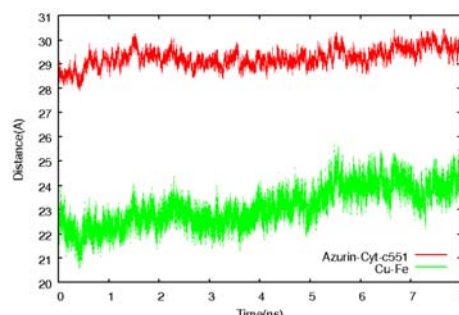


図 5. 重心、Cu-Fe 間の距離の時間推移(モデル 1)

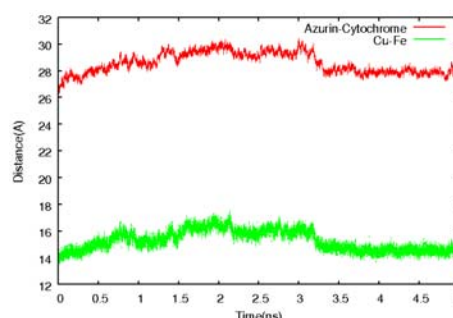


図 6. 重心、Cu-Fe 間の距離の時間推移(モデル 2)

【参考文献】

- [1] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **113**, 6070-6081(2000)
- [2] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **117**, 3605-3616(2002)
- [3] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **119**, 9689-9702(2003)
- [4] A.Sugiyama, et al., *Int.J.Quantum.Chem.*, **106**, 3071-3078 (2006)