

2P094

分子動力学を用いた Azurin(II)-Cytochrome(II) 複合体の水和特性評価

(金沢大学大学院・自然*、北陸先端大学・マテリアル**、筑波大院・数物***)

○中村 力*、松本 圭介*、岩山 将士*、水上 卓**、館野 賢***、齋藤 大明*、西川 清*、
長尾 秀実*

序

アズリンはバクテリア内に存在する銅を含むタンパク質であり、シトクロムは、活性中心にヘム鉄を持つタンパク質である。これら含金属タンパク質は2つのタンパク質のドッキングにより活性部位間での電子伝達が生じ、酸化還元反応が引き起こされることが知られている。しかしながら、これら複合体の溶液中での安定構造は実験の難しさにより明らかにされていない。本研究ではアズリンとシトクロムのドッキング構造の水和構造の変化による水和自由エネルギー特性の変化を、分子動力学 (MD) シミュレーションの手法を用いて評価する。溶媒和自由エネルギー等を計算しドッキング構造の違いによる安定性の違いについて考察する。

計算

本研究ではアズリン-シトクロムの2種類のドッキング構造の分子動力学シミュレーションを行い、溶媒和自由エネルギーを計算することで水和特性の評価を行う。図1, 2に分子動力学計算のための初期構造のモデル1, 2を示す。初期構造を作るときに用いたデータは Protein Data Bank (PDB) に登録されているアズリン (PDB ID 4AZU) とシトクロム (PDB ID 451C) とした。モデル1のドッキング構造は、Z-DOCK を用いてアズリン-シトクロム間に水素結合が最も多くなるように作成し、モデル2はモデル1の構造の系から水分子を取り除き、AMBER8 を用い真空中でエネルギーを最小化させた構造である。なお、モデル1は、アズリン-シトクロムの結合部に多くの水分子が存在しているのに対し、モデル2では初期構造の結合部の水分子を排除したモデルとなっている。本研究において MD シミュレーションに用いる力場には AMBER10 プログラムパッケージ (Amberforce filed 03) を用いて、TIP5P

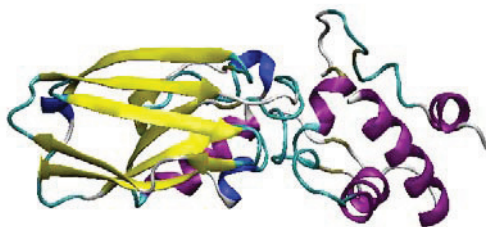


図1 : Azurin-Cytochrome 複合体モデル
(モデル1)

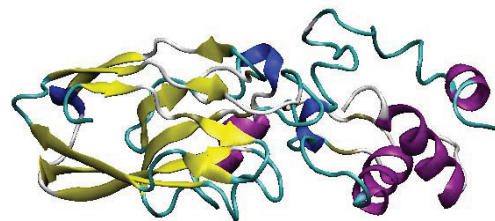


図2 : Azurin-Cytochrome 複合体モデル
(モデル2)

剛体モデルの水分子をそれぞれモデル 1 に 6204 個、モデル 2 に 5785 個配置し、カットオフ半径 8 Å、温度 300K で NVT アンサンブルの MD シミュレーションを 10ns 行った。MD シミュレーションを進め根平均二乗変位（以後 RMSD）などから系の構造が安定な状態になるのを確認した上で水和特性の評価を行う。アズリン-シトクロム複合体の水和特性評価は、これらのモデルタンパク質の溶媒和自由エネルギーの計算により評価する。溶媒和自由エネルギー計算には、松林等が開発した「エネルギー表示法」を用いた[1-3]。エネルギー表示法では、溶質の化学ポテンシャルは以下の表式で与えられる。

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

ここで、 $\rho(\varepsilon)$ は溶質/溶媒系における溶質-溶媒間のエネルギー分布関数であり、 $\rho_0(\varepsilon)$ は溶媒に溶質を挿入した系におけるエネルギー分布関数である。 $\rho(\varepsilon)$ と $\rho_0(\varepsilon)$ は MD シミュレーションから得られるトラジェクトリーから溶質と溶媒のエネルギー相互作用を計算して評価する。上の表式と得られた ρ 、 ρ_0 からモデル複合体 1, 2 及び単体のアズリンやシトクロムの溶媒和自由エネルギーを計算する。

結果と考察

アズリン単体の系における計算をした。図 3 に $\rho(\varepsilon)$ 、 $\rho_0(\varepsilon)$ の様子を示す。エネルギー表示法で求めたアズリンの溶媒和自由エネルギーと RISM 法で求めた bovine pancreatic trypsin inhibitor(BPTI)の溶媒和自由エネルギーを比較すると

エネルギー表示法・アズリン → $\Delta\mu = -527 \text{ kcal/mol}$

RISM 法・BPTI → $\Delta\mu = -552 \text{ kcal/mol}$

となって、異なった方法で計算した結果が近い値を示している。モデル 1, 2 とシトクロムの計算結果と考察及は分子科学討論会当日行う予定です。

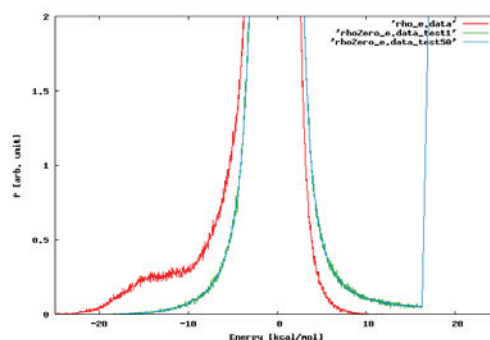


図 3 : アズリンと TIP3P 水分子 92745 個の系の $\rho(\varepsilon)$ 、 $\rho_0(\varepsilon)$ でそれぞれ赤と緑で表示

[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)