

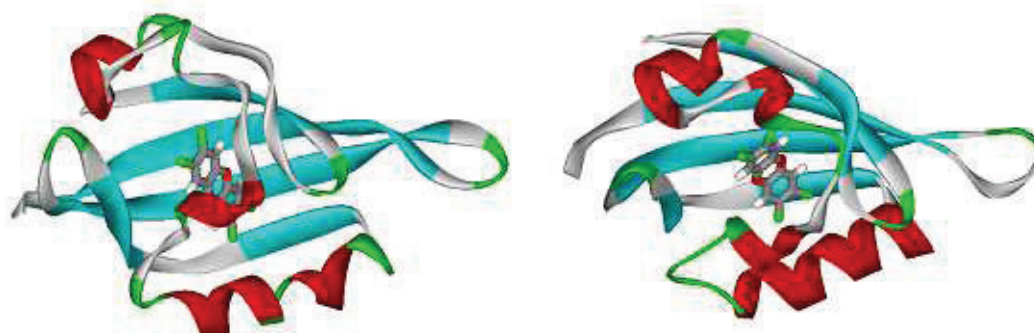
ダイオキシンの複合体の構造決定及び特異的相互作用の解析

(豊橋技術科学大学¹、東芝研究開発センター²)○宮城慧¹、吉川依里¹、出立兼一¹、伊藤聡²、石原-菅野美津子²、栗田典之¹

【序】芳香族炭化水素受容体 (AhR : Aryl hydrocarbon receptor) は、外来異物が生体内に取り込まれた時に、これらを特異的に結合し、高い親和性で認識し、その情報を核に伝え、代謝酵素の発現を誘導するタンパク質である[1]。AhR に結合する代表的なリガンドには、ダイオキシン類に属する 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)があり、その他にも $14 \times 12 \times 5$ Å 以下のサイズの平面状分子が、AhR のリガンド結合ポケットに結合できると考えられている[2]。近年、生理医学的な研究[3-4]により、TCDD による毒性発現の強さは、生物種や系統により異なることが明らかになっている。しかし、この相異の原因は、原子レベルでは解明されていない。

本研究では、薬物異物認識機構において重要な役割を担っている AhR と内分泌攪乱物質である TCDD との特異的相互作用を、分子シミュレーションを用いて解明することを目指した。今回の解析では、実験で K_d 値 (リガンドとレセプター間の解離定数) が判明している動物種 (水棲哺乳動物であるシロイルカと鳥類であるアジサシ) を対象とし、それらの AhR と TCDD 間の特異的相互作用の相違を、原子・電子レベルで初めて明らかにした。

【計算手順】これまでの実験では、AhR の立体構造は明らかになっていない。そこで、本研究では、立体構造予測プログラム MODELLER[5]を用い、立体構造既知のタンパク質を鋳型とし、シロイルカとアジサシの AhR のリガンド結合ドメインの立体構造を作成した。タンパク質-リガンドドッキングプログラム AutoDock4[6]を用い、AhR と TCDD の複合体構造を作成し、その構造を古典分子力学計算プログラム AMBER9[7]を用い、水中で最適化した。さらに、AhR 中のアミノ酸と TCDD 間の特異的相互作用を明らかにするため、Fragment MO (FMO)法[8]を用い、AhR と TCDD の複合体の電子状態を計算した。



(a) シロイルカ AhR + TCDD

(b) アジサシ AhR + TCDD

Figure 1 AhR 複合体の最安定構造

【結果と考察】FMO法のTotal energyをもとに決定した最安定構造をFigure 1に示す。シロイルカ及びアジサシのAhRとTCDD間の結合の強さの相違を明らかにするため、複合体の結合エネルギーを、FMO法を用いて解析した。Table 1に示すように、シロイルカ、及びアジサシの複合体の結合エネルギーはマイナスになり、シロイルカ、及びアジサシのAhRとTCDDは結合することを定性的に示すことができた。さらに、アジサシよりもシロイルカの方が、約8.7 kcal/mol強くTCDDを結合することが明らかになった。この結果は、TCDDに対する感受性がシロイルカの方が高いとする実験結果を定性的に説明できる。

このような結合エネルギーの相違の原因を明らかにするため、AhRを構成する各アミノ酸とTCDD間の相互作用エネルギー(Inter-Fragment Interaction Energy (IFIE))を、FMO法を用いて解析した。Figure 2にシロイルカ、及びアジサシAhRの各アミノ酸とTCDD間の相互作用エネルギーの差を示す。His8、Phe12、Ile (Val)42、His43において、エネルギー差が大きく、特に、シロイルカとアジサシのAhRでアミノ酸の種類が異なる42番のアミノ酸とTCDDの相互作用エネルギーが、約7 kcal/mol異なっている。これらの相異が生じる原因、及び他の生物のAhRに対する結果は、当日のポスターで発表する。

Table 1 シロイルカ AhR、アジサシ AhR の Total energy と Binding energy (B.E.)

	Total energy (kcal/mol)			B.E. (kcal/mol)
	AhR + TCDD	AhR	TCDD	
シロイルカ	-29299079.7	-27764497.1	-1534551.0	-31.7
アジサシ	-29473963.8	-27939390.2	-1534550.6	-23.0

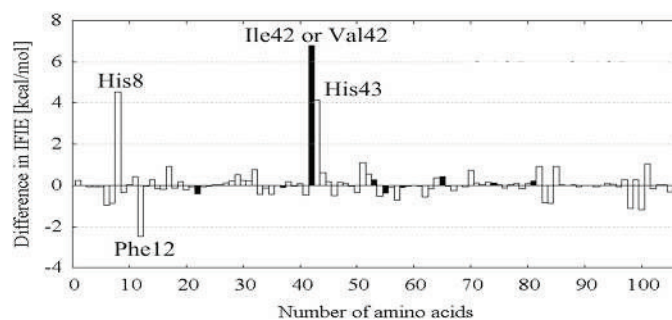


Figure 2 シロイルカ及びアジサシ AhR の各アミノ酸と TCDD 間の相互作用エネルギーの差

【参考文献】

- [1] A. H. Conney, *Cancer Res.*, 1982, 42, 4875-4917.
- [2] M. S. Denison, et al., *Chem. Biol. Interact.*, 2002, 141, 3-24.
- [3] O. Hankinson, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1995, 35, 307-340.
- [4] N. Ema, et al., *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 27337-27343.
- [5] A. Sali, et al., *J. Mol. Biol.*, 1993, 234, 779-815.
- [6] G. M. Morris, et al., *J. Comp. Chem.*, 1998, 19, 1639-1662.
- [7] D. A. Case, et al., *J. Comp. Chem.*, 2005, 26, 1668-1688.
- [8] K. Kitaura, et al., *Chem. Phys. Lett.*, 1999, 312, 319-324.