

4P096

自由エネルギー計算を用いたAzurin-Cytochrome_c551複合体における構造安定性

○松本 圭介¹, 中村 力¹, 水上 卓², 齋藤 大明¹, 館野 賢³, 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, 筑波大院・数物³)

【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)及びアズリン(Az)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Az_{ox}からAz_{red}へ変化し、シトクロムはCyt_{red}からCyt_{ox}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。また、タンパク質複合体形成過程の理解のためには結合前後における構造及び自由エネルギーの変化の詳細な解析が必要である。しかしながら、実験的な難しさから複合体の構造や熱力学的安定性を評価することは難しい。本研究では、Az_{ox}-Cyt_{red}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。その結果を用いて溶媒和自由エネルギー、エントロピー、構造エネルギーの算出を行い、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。また、Az_{ox}単体Cyt_{red}単体とのエネルギー差を計算し、複合体形成過程における結合エネルギーについても考察を行う。

【計算モデル】

本研究では、Az_{ox}-Cyt_{red}ドッキング構造として2つの異なるモデルを用いた(モデル1、モデル2: 図1, 2参照)。モデル1はZDOCKを用いて作成したモデルであり、タンパク質間に働く静電相互作用が最大になるように作成したものである。モデル2はタンパク質間の疎水性相互作用が最大になるように作成したモデルである。2つの図において左がCyt_{red}、右がAz_{ox}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。各々の活性部位周辺における力場パラメータは、量子化学計算によって決定したパラメータを用いた[1]。

【計算手法】

本研究では、溶媒和自由エネルギー計算は、松林等によって開発されたエネルギー表示法[2,3,4]を用いた。エネルギー表示法は、溶媒中に溶質を水和させた系(混合溶媒系: 図3)及び、純粋溶媒に溶質を挿入させた系(純粋溶媒系: 図4)に

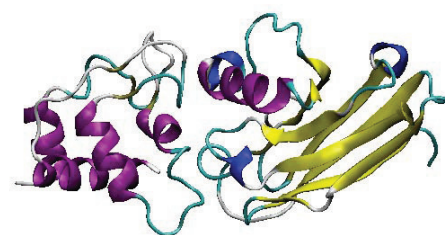


図1. Az_{ox}-Cyt_{red}モデル1



図2. Az_{ox}-Cyt_{red}モデル2

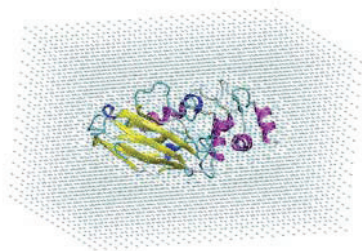


図 3. タンパク質と水分子を配置したセル

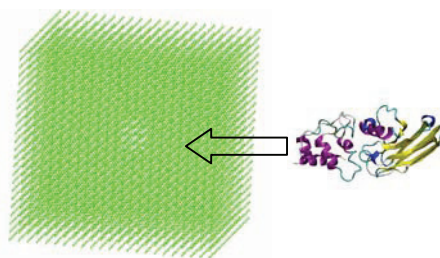


図 4. 水分子を配置したセルと挿入するタンパク質

おける溶質-溶媒相互作用のエネルギー分布関数から溶質の溶媒和自由エネルギーを評価する手法である。具体的には、混合溶媒系ではタンパク質を水和させたセルにおいて溶質-溶媒間相互作用の計算を行う。純粋溶媒系では、上と同じ大きさのセルの中に水分子を配置し、セルの中にタンパク質をランダムに挿入し溶質-溶媒間相互作用の計算を行う。本研究では、モデル 1、モデル 2 の複合体及び、Az_{ox}単体、Cyt_{red}単体の計算を行った。

【結果】

Az_{ox}単体における溶媒和自由エネルギーの計算を、温度 300K の下で 98×98×98(Å³)のセルの中に TIP 3 P剛体モデル水分子を 30915 個配置し計算を行った。その結果、溶質-溶媒系(図 5 : 赤線)及び、純粋溶媒系(図 5 : 緑線, 青線)のエネルギー分布図が得られた(図 5)。これらの分布関数を用いたAz_{ox}単体での溶媒和自由エネルギーは $\Delta\mu = -527.47(\text{kcal/mol})$ となった。図 5 において、10(kcal/mol) (図 5 : 青線部)よりエネルギーが低い領域を相互作用領域と定義し、高い領域を排除体積領域と定義した。この定義から溶媒和自由エネルギー計算の内訳として、相互作用領域における自由エネルギーは $-1717.30(\text{kcal/mol})$ 、排除体積領域における自由エネルギーは $+1189.82(\text{kcal/mol})$ となった。また、構造エネルギー及びエントロピーの計算結果については、表 1 に示した。このデータとCyt_{red}単体、Az_{ox} - Cyt_{red}複合体の結果から、複合体形成過程での結合エネルギー及びドッキング構造の安定性を考察する。詳細な結果については当日発表する。

表 1. Az_{ox}単体での構造エネルギー、溶媒和自由エネルギー、エントロピー

	E_{solute}	$\Delta\mu$	TS
Az _{ox} (kcal/mol)	-1768.03	-527.47	-1422.1

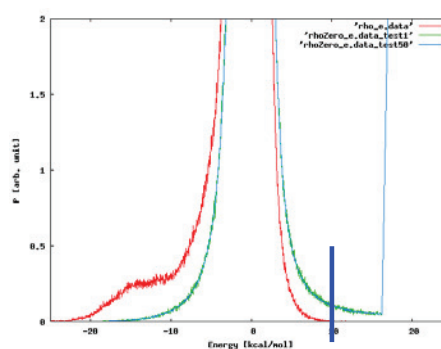


図 5. Azu_{ox}単体におけるエネルギー分布

【参考文献】

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