

1B07

## 全原子モデルによるアズリン-シトクロム複合体の結合自由エネルギー評価

(金沢大院・自然)

○齋藤大明, 西川清, 長尾秀実

### 【序】

生体内におけるタンパク質の機能理解にはタンパク質の自由エネルギー変化が最も重要な物理量である。たとえばタンパク質-リガンドの分子会合過程では、分子会合により分子構造や水和構造は大きく変化し、これに伴い溶質の水和エネルギーも大きく変化する[1]。この自由エネルギー変化は複合体形成のための結合エネルギーと等価であり、複合体間の分子親和性や熱的安定性の評価にも有用である。このような結合エネルギーの評価を高精度に行うことができれば、コンピュータによるタンパク質複合体の構造予測にブレークスルーがもたらされると期待される。しかしながら、これら水和自由エネルギーの精確な評価は実験・理論共に困難な現状にある。

アズリン(Az)-シトクロム(Cyt)複合体は生体内において酸化還元反応を起こし、タンパク質間での電子伝達が起こることが知られている。このような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変化の詳細な解析が重要である。本研究では、会合前後の状態である酸化型アズリン(Az<sub>ox</sub>)、還元型シトクロム(Cyt<sub>red</sub>)、Az<sub>ox</sub>-Cyt<sub>red</sub>複合体の溶媒中における溶媒和自由エネルギー、構造エネルギー、エントロピーを評価し、これらのエネルギー差からタンパク質の分子会合における結合自由エネルギーの評価を行う。

### 【方法】

本研究に用いるアズリンとシトクロムは、いずれも実験・理論等に多くの検証がされている代表的なタンパク質である。計算に用いる Az<sub>ox</sub>-Cyt<sub>red</sub>複合体の構造は ZDOCK を用いて作成した(図1参照) [2]。複合体構造の作成の際、モデル A は静電相互作用、モデル B は疎水性相互作用が大きくなるように作成した。本研究では2つのモデル複合体構造における結合特性を比較評価する。これらのタンパク質構造を用いて始めに NVT-MD 計算( $T = 300\text{K}$ )を実行し、各々のタンパク質の溶媒和された平衡構造を作成する。MD と自由エネルギー計算に用いた分子力場は Amber03 を用い、水分子のモデルは TIP4P を用いた。図1に各々のタンパク質の初期構造からの根平均二乗変位(RMSD)の時間推移の様子を示す。いずれのタンパク質も 10ns までに構造が十分に平衡化している様子が示されている。自由エネルギー計算は系が平衡化した 10ns 以降のデータを用いて行った。

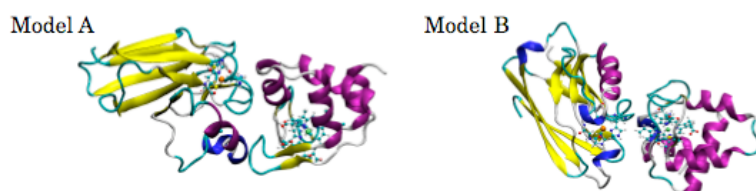


図1 Az-Cyt 複合体モデル

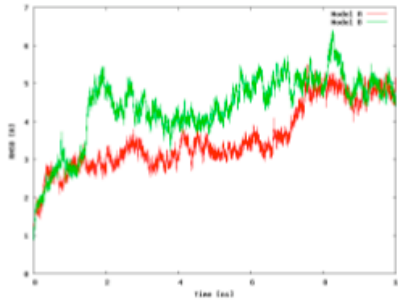


図2. タンパク質の根平均二乗変位推移

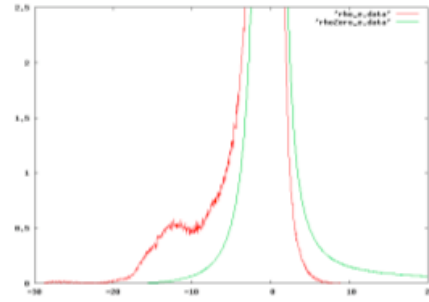


図3. Azのエネルギー分布関数,  $\rho(\epsilon)$ :緑線,  $\rho_0(\epsilon)$ :赤線

タンパク質の水和特性評価には松林等が開発したエネルギー表示法を用いて評価を行う[2-4]。エネルギー表示法は、溶質の溶媒和自由エネルギーを高速に評価する手法であり、タンパク質のような大きな分子への適用も可能な手法として注目を集めている。具体的な計算方法については文献を参考にされたい[3-5]。相互作用計算のための実空間のカットオフ長は8Åとし、クーロン相互作用にはエワルド法を用いた。

### 【結果と考察】

図3にアズリンと水のエネルギー分布関数  $\rho(\epsilon)$ と  $\rho_0(\epsilon)$ の計算結果を示す。いずれのタンパク質でも、 $\rho(\epsilon)$ のエネルギー分布はおよそ-30 ~ 20 kcal/mol に分布する結果が示された。これらの分布関数を用いて各々のタンパク質の  $\Delta\mu$  を計算した。表1に各タンパク質の溶媒和自由エネルギー ( $\Delta\mu$ )、構造エネルギー( $E_{conf}$ )、エントロピー( $-TS$ )を示す。また、これらのエネルギー差からタンパク質の分子会合による結合自由エネルギーの評価を行った。これにより Model A, ModelB の結合エネルギーは各々-50 kcal/mol, 38 kcal/mol となる結果を得た。表の結果に示すように、モデル構造の違いによる溶媒和自由エネルギーがこれら結合エネルギーの差に大きく寄与していることが示された。詳細については当日報告する。

	Model A				Model B			
	Az <sup>(1)</sup>	Cyt <sup>(2)</sup>	Complex <sup>(3)</sup>	(3)-(1)-(2)	Az <sup>(1)</sup>	Cyt <sup>(2)</sup>	Complex <sup>(3)</sup>	(3)-(1)-(2)
$\Delta\mu$	-470	-355	-859	-34	-507	-379	-843	43
$E_{conf}$	-422	-293	-458	-47	-494	-259	-806	-52
$-TS$	-1422	-939	-2233	31	-1429	-954	-2336	47

表1. 溶媒和自由エネルギー $\Delta\mu$ , 構造エネルギー $E_{conf}$ , エントロピー $-TS$  [kcal/mol]

### 【参考文献】

- [1] Massova, I., Kollman, P.A., *J.Am.Chem.Soc.*, **121**, (1999) 8133-8143.
- [2] Chen R, Li L, Weng Z (2003) ZDOCK: An Initial-stage Protein-Docking Algorithm. *Proteins* 52, 80-87
- [3] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **113**, (2000) 6070-6081.
- [4] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **117**, (2002) 3605-3616.
- [5] N.Matsubayasi, and M.Nakahara, *J.Chem.Physics*, **119**, (2003) 9689-9702.