

分子動力学シミュレーションによるグルタチオンとグルタチオン  
転移酵素 T2-2 の結合エネルギー計算

○大前裕莉子, 齋藤大明, 西川清, 長尾秀実 (金沢大院・自然)

## 【序】

グルタチオンは体内の解毒代謝に関与する抗酸化物質の一つであり、体内の有害物質と結合し、有害物質を細胞から排出する機能を有する。グルタチオンはグルタミン酸、システイン、グリシンがペプチド結合したトリペプチドである。グルタミン酸とシステインの結合は通常のペプチド結合とは異なり、グルタミン酸側鎖の $\gamma$ -カルボキシ基とシステイン主鎖の $\alpha$ -アミノ基からなる $\gamma$ -グルタミル結合となっている。有害物質とグルタチオンの結合反応はグルタチオン転移酵素によって触媒されることが知られており、グルタチオン-酵素間の結合特性の評価は触媒反応機構の理解における重要課題である。そこで本研究では含グルタチオンの転移酵素 T2-2 とグルタチオンを含まない転移酵素 T2-2 の分子動力学シミュレーションを行い、グルタチオンの結合前後における溶媒和自由エネルギーの評価、および分子間相互作用特性の変化から、グルタチオン-酵素間の結合自由エネルギーの評価を行う。

## 【計算】

計算モデルとして、グルタチオン (図 1) と  $\theta$  クラスのヒトグルタチオン転移酵素 T2-2 (hGSTT2-2) を用いた。初期座標は Protein Data Bank(PDB)に登録されている結晶構造 (PDBID:1LJR) (図 2) に水素を付加させたものを用いた[1]。1LJR はグルタチオンを含む hGSTT2-2 の結晶構造であり、総原子数は 7910 個、総残基数は 245 残基である。1LJR をモデル 1、1LJR からグルタチオンを 1 つ取り除いたものをモデル 2、1LJR からグルタチオンを 2 つ取り除いたものをモデル 3 とする。

MD シミュレーションに用いる力場は、Amber force field 03[2]にグルタチオンの力場ファイルがあらかじめ用意されていないため、antechamber を用いて、グルタチオンのトポロジーを作成し、それを Amber force field 03 に加えたものを力場として用いた。分子動力学シミュレーションには、AMBER10 を用い、溶媒として TIP4P 剛体モデル[3]の水分子を 12377

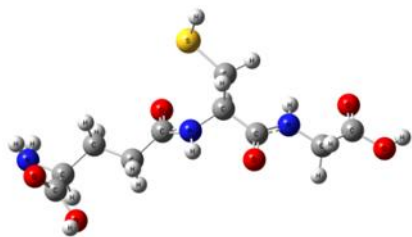


図 1 グルタチオン



図 2 1LJR の高次構造

個配置した。力場として Amber force field 03 を用いた。カットオフ距離は 8Å とし、NPT アンサンブルで温度 300K、圧力 1atm で計算を行った。MD シミュレーションによって作成されたトラジェクトリーファイルを用いて根平均二乗偏差 (RMSD)、根平均二乗揺らぎ (RMSF) のグラフを作成した。RMSD は二つの異なる構造間での構造全体のずれを数値化したものである。RMSF は各原子の平均位置周辺での揺らぎを数値化したものであり、平衡化された 15n 以降の RMSF を計算した。溶媒和自由エネルギーの評価には京都大学の松林等によって開発されたエネルギー表示を用いた[4]。結合エネルギーはモデル 1 の溶媒和自由エネルギーと、単体のグルタチオン転移酵素とグルタチオンの溶媒和自由エネルギーの差から評価する。

### 【結果】

グルタチオンとグルタチオン転移酵素の MD シミュレーションの結果から、モデル 2 (24ns まで) の RMSD と RMSF の結果を示した (図 3,4)。モデル 2 は 15ns 以降で平衡に達したと考え、解析には 15ns 以降のデータを用いた。図 4 のグラフ上部の灰色の数字は、グルタチオンと転移酵素の結合部分の残基番号を表している。図 4 より残基番号 10,40, 130,230,250,280,380,360,460 付近では揺らぎが大きく不安定であることがわかる。グルタチオンのバインディングサイトである残基番号 40 と 256,54 と 286,66 と 311,67 と 312,104 と 349,107 と 352 を比較すると、256,286,312,349,352 の方が揺らぎが大きく不安定である。これはグルタチオンが存在しないため揺らぎが大きいと考えられる。なお、自由エネルギー計算および結合エネルギー計算についての考察は当日発表する。

### 【Reference】

- [1] Jamie Rossjohn, et al. ,Research . Article. 1998; 6:309-322
- [2] Pearlman D. A., et al., Comp. Pys. Commun., 1995; 91:141
- [3] Jorgensen W. L. et al., J. Chem. Physics, 1983; 79:926-935
- [4] N. Matsubayasi et al., J. Chem. Physics, 2003;119: 18, 9689

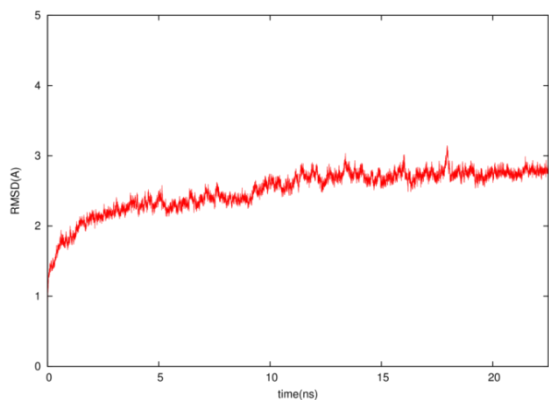


図 3 モデル 2 の RMSD

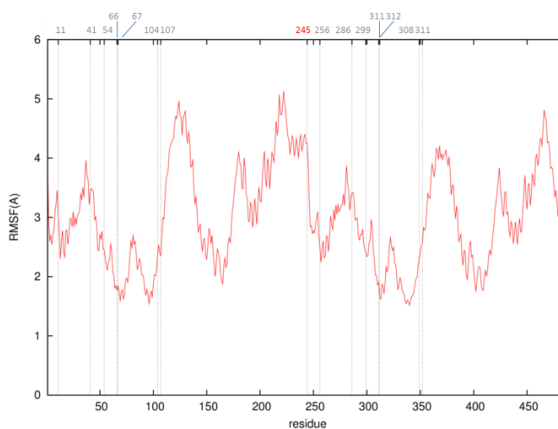


図 4 モデル 2 の RMSF