

1P089

分子シミュレーションによる芳香族炭化水素受容体と ダイオキシン類間の特異的相互作用の解析

(豊橋技術科学大学大学院¹、東芝研究開発センター²、理化学研究所³)

○宮城慧¹、澤村聡視¹、佐篠和哉¹、村田享士郎¹、石原-菅野美津子²、
伊藤聡³、栗田典之¹

【序】

近年、地球上に様々な環境汚染物質が存在し、様々な生物に悪影響を及ぼしている。その代表である環境ホルモンは、内分泌攪乱物質とも呼ばれ、生体の各器官の働きを調節する情報伝達を担うホルモンの分泌を狂わせる。その代表的な物質としてダイオキシン類があり、その中には、PCDD類、PCDF類など222種類の異性体が存在する。これらの異性体に含まれる塩素原子の数や位置が異なることにより、異性体の毒性が大きく変化することが知られているが、この変化の原因は解明されていない。ダイオキシン類が体内に侵入すると、芳香族炭化水素受容体 (AhR: Aryl hydrocarbon receptor) に結合する。AhR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]。しかし、AhRの立体構造、及びAhRとダイオキシン類間の相互作用機構は未解明であり、ダイオキシン類の毒性発現機構を解明する際のボトルネックとなっている。

我々は、これまでに、マウス AhR の LBD (Ligand binding domain) の構造、及び LBD に TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) (図 1a) が結合した複合体の水中での安定構造を、分子モデリング手法と古典分子力場法を用いて求めた[2]。また、TCDDの異性体である TrCDD (1,2,4-trichlorodibenzo-p-dioxin) (図 1b) を LBD に結合させた複合体の構造を水中で最適化し、LBD と TCDD/TrCDD 間の相互作用の強さを、Ab initio fragment molecular orbital (FMO) 法[3]を用いて解析した[4]。その結果を基に、これまでの実験で判明している TCDD と TrCDD の毒性の違いの原因を、電子レベルで明らかにした。本研究では、AhR と様々な TCDD 異性体間の特異的相互作用の相違を明らかにする目的で、生体内での環境をより詳しく考慮し、AhR と TCDD 異性体の複合体の安定構造を求めた。その構造を基に、異性体の毒性の違いを、原子・電子レベルで説明することを試みた。

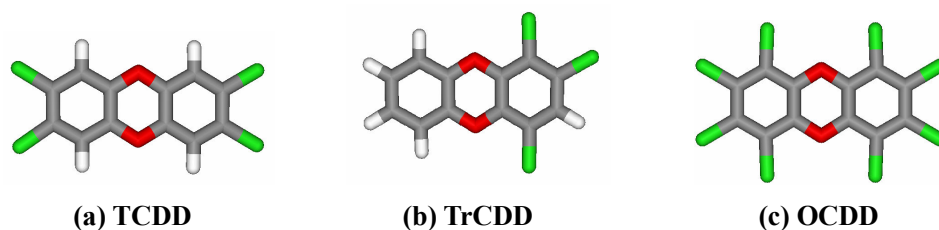


図1 ダイオキシン類の構造の違い (緑：塩素原子、白：水素原子、赤：酸素原子)

【計算手法】

本研究では、ダイオキシン類として、PCDDs (Poly Chlorinated Dibenzo-p-Dioxins)に属し、毒性がある異性体7種類のうち、最も毒性の強いTCDD、毒性のないTrCDD、及び毒性がTCDDの400分の1しかないOCDD (1,2,3,4,6,7,8,9-octachlorodibenzo-p-dioxin) (図1c)を採用し、ラットAhRのLBDとの結合特性を解析した。

AhRのLBDの構造は、タンパク質の構造予測プログラムMODELLER[5]を用い、このタンパク質に含まれるHis残基のプロトネーションを、周囲の環境(pKa値)を考慮して複数個設定し、古典分子力学計算プログラムAMBER9[6]、及びFMO法[3]を用い、最安定なプロトネーション構造を決定した。更に、タンパク質リガンドドッキングプログラムAutodock 4.2[7]を用い、LBDの構造にダイオキシン類をドッキングし複合体を作成し、その周囲に溶媒水を付加し、複合体の構造をAMBER9を用い、水中で最適化した。最後に、FMO計算を用い、LBDの各アミノ酸残基とダイオキシン類間の特異的相互作用を、原子・電子レベルで明らかにした。

【結果と考察】

AhRに各ダイオキシン類をドッキングし、水中で構造最適化した結果を図2に示す。TrCDDに関しては、複合体の代表構造が2つあり、それぞれ、図2(b)、2(c)に構造を示す。各リガンドは塩素原子の位置が異なるため、AhRのリガンド結合ポケット内での向き及び位置が異なる。これらの最適化構造の電子状態をFMO計算で計算し、AhRの各アミノ酸と各ダイオキシン類間の特異的相互作用を、電子レベルで解析した。その結果を基に、どのような構造のダイオキシン類がAhRにより強く結合できるかを明らかにした。また、AhRのアミノ酸の中で、結合に重要なアミノ酸を特定した。詳細は当日のポスターで発表する。

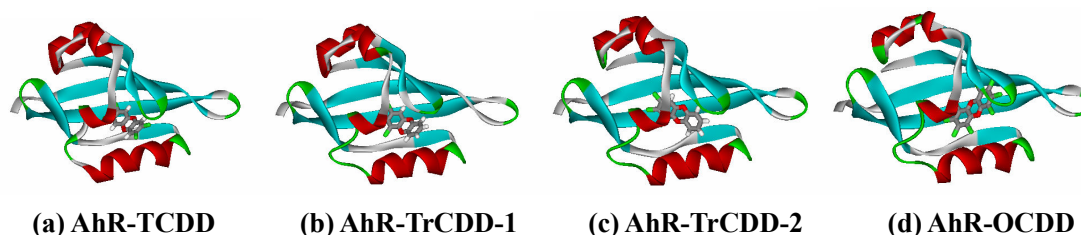


図2 ラットAhRのLBDとダイオキシン類の複合体の安定構造

【参考文献】

- [1] J. V. Schmidt, *et al.*, *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 1996, 12, 55.
- [2] S. Miyagi, *et al.*, *Int. J. Quantum Chem.*, 2011
- [3] K. Kitaura, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 2001, 336, 163.
- [4] E. Yoshikawa, *et al.*, *J. Mol. Graph. Model.*, 2010, 29, 197.
- [5] A. Sali, *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1993, 234, 779.
- [6] D. A. Case, *et al.*, *J. Comput. Chem.*, 2005, 26, 1668.
- [7] G. M. Morris, *et al.*, *J. Comput. Chem.*, 2009, 16, 2785.