

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

(金沢大院・自然) ○大前裕莉子, 齋藤大明, 川口一朋, 長尾秀実

## 【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いて重要課題である。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 (転移酵素とグルタチオンの複合体) 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 モデル[3]の水分子を 12377 個配置した。カッ

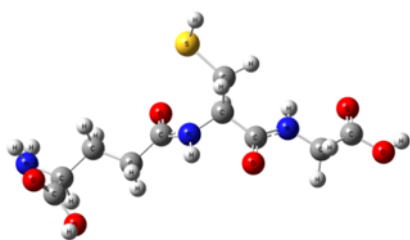


図 1 グルタチオン

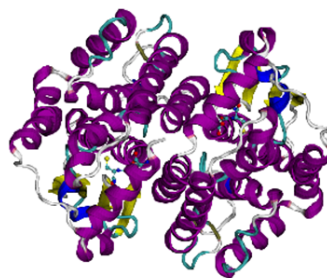


図 2 1LJR の高次構造

トオフ距離は  $8\text{\AA}$  とし、NPT アンサンブルで温度  $300\text{K}$ 、圧力  $1\text{atm}$  で  $60\text{ns}$  の計算を行った。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) のグラフを作成した。結合自由エネルギーはモデル 1、モデル 3 とグルタチオンのそれぞれの溶媒和自由エネルギーと内部エネルギーの値の差から評価する。溶媒和自由エネルギーの評価にはエネルギー表示法を用いた[4]。エネルギー表示法は溶媒中に溶質を水和させた系 (溶質・溶媒系) および純粋溶媒に溶質を挿入した系 (参照溶媒系) のそれぞれのエネルギー分布関数  $\rho(\epsilon), \rho_0(\epsilon)$  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。溶媒和自由エネルギー計算には系が平衡化したと考えられる  $40\text{ns}$  以降のデータを用いた。

### 【結果】

グルタチオンとグルタチオン転移酵素 T2-2 の MD シミュレーションの結果から、モデル 1,2,3 の RMSD の結果を図 3 に示す。モデル 1,2,3 は  $40\text{ns}$  以降で平衡に達したと考え、解析には  $40\text{ns}$  以降のデータを用いた。エネルギー表示法の計算から得られた  $\rho(\epsilon), \rho_0(\epsilon)$  のエネルギー分布図は図 4 のようになった。  $10\text{kcal/mol}$  よりエネルギーが低い領域を相互作用領域、高い領域を排除体積領域とし、これらの分布関数を用いて過剰化学ポテンシャルの計算を行った。モデル 3 とグルタチオンの結合自由エネルギーについては、結合前と後の内部エネルギー差が  $-292 \pm 174 \text{ kcal/mol}$ 、過剰化学ポテンシャルの差が  $-8.1 \pm 47 \text{ kcal/mol}$  となり、結合自由エネルギーは  $-283 \pm 180 \text{ kcal/mol}$  と見積もることができた。転移酵素とグルタチオンの結合自由エネルギーには内部エネルギーの差が大きく寄与していると考えられる。モデル 2 とグルタチオンの結合自由エネルギーの計算結果と考察については当日発表する。

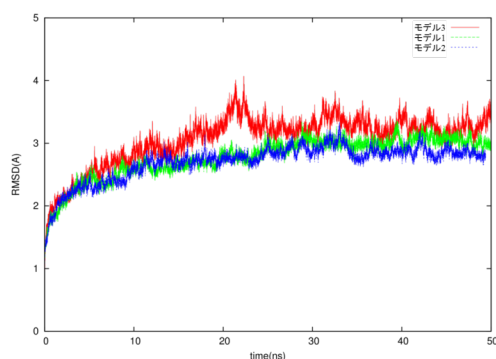


図 3 モデル 1,2,3 の RMSD

赤:モデル 1,緑:モデル 2,青:モデル 3

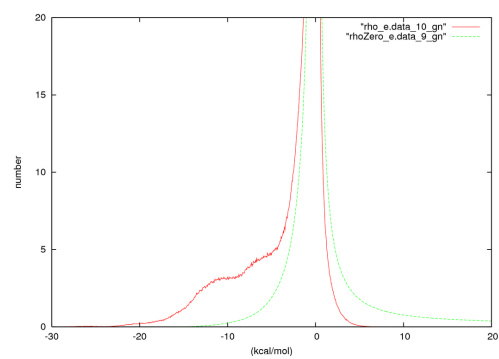


図 4 モデル 1 の複合体のエネルギー分布関数

赤:溶質・溶媒系  $\rho(\epsilon)$ , 緑:純粋溶媒系  $\rho_0(\epsilon)$

### 【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