

Hsp90 の ADP 解離過程における自由エネルギープロフィールと 相互作用解析

(金沢大・理工) ○川口一朋、齋藤大明、長尾秀実

Free energy profile and interaction analysis in the dissociation process of ADP from Hsp90

(Inst. Sci. Eng., Kanazawa Univ.) ○Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki
Saito and Hidemi Nagao

【序】 Hsp90 (Heat Shock Protein 90)は他のタンパク質 (クライアントタンパク質) のフォールディングを補助する機能をする分子シャペロンの一つである。ガンやウイルス感染症など様々な病気に関わるタンパク質と関係があり、それらの治療ターゲットとしても注目されている。Hsp90 は二量体を形成し、二量体構造の変化の過程でクライアントタンパク質のフォールディングが起こる。この大規模な構造変化には ATP の結合、ATP から ADP への加水分解、ADP の解離が必須である。Hsp90 は三つのドメイン (N 末端ドメイン、M ドメイン、C 末端ドメイン) から構成され、各ドメインの構造および二量体構造が X 線結晶構造解析により明らかになっている。また、Hsp90 と核酸の結合には二種類の水素結合 (直接水素結合と、水分子を介した水素結合) が重要であることもわかっている。ATP の結合による Hsp90 の構造変化が明らかにされているが、ATP の結合および ADP の解離のメカニズムの詳細は分かっていない。そこで、我々は ADP の解離に着目し、Hsp90 と ADP の複合体構造を用いた分子動力学シミュレーション (MD) を実行した。熱力学的積分法を用いて ADP の解離の自由エネルギープロフィールを求め、Hsp90-ADP 間の水素結合に関する解析を行った。

【方法】 MD の初期構造には Hsp90 の基質結合部位である N 末端ドメイン (NTD) とそれに結合する ADP の複合体の X 線結晶構造 (PDB ID: 1byq [1]) を用いた。基本セル内に水分子と Na⁺ イオンを配置し、計 40,673 原子の系となった (図 1)。力場には CHARMM と TIP3P を用いた。カットオフは 10Å とし、長距離力の計算には PME を用いた。MD の実行には MODYLAS[2]を用いた。

熱力学的積分法を用いて、結合距離の関数として自由エネルギープロフィールを求めた。ここで、Hsp90 と ADP の重心間距離を結合距離とした。熱力学的積分法では反応座標 r が r_0 から r_1 まで変化する時の自由エネルギー差 ΔG を以下の式で表すことができる。

$$\Delta G(r_0 \rightarrow r_1) = -\int_{r_0}^{r_1} \langle F(r) \rangle_r dr$$

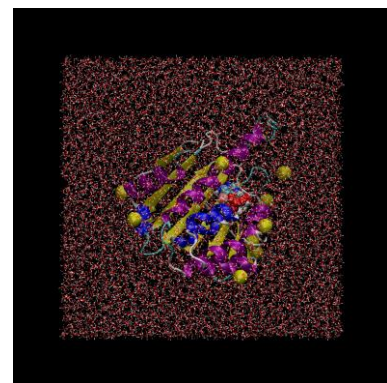


図 1. MD の初期構造

ここで、 $\langle F(r) \rangle_r$ は結合距離 r における平均力であり、MD のトラジェクトリから求める。結合距離 r として 0.3~1.8, 2.0, 2.5 nm の 18 点を用意し、それぞれに対して結合距離を拘束した MD を実行した。また、各結合距離における水素結合距離の変化を求めた。

【結果と考察】

熱力学的積分法により各点（各結合距離）での平均力 $\langle F(r) \rangle_r$ を求めた。その結果、結合距離 r が 0.8 nm 以下の点で急激な斥力の増加が見られた。この領域は平衡距離より内側の領域であり、ADP がタンパク質内部に埋もれている状態である。また、 $r > 1.5$ で引力はゆるやかに減少していき 0 に近づく。遠方では引力が徐々に小さくなっていくことがわかる。図 2 に平均力の結果から求めた、結合距離に対する自由エネルギープロフィールを示す。自由エネルギーは結合距離が 0.8 nm で極小点をとることがわかった。また Hsp90-ADP 間の 10 個の水素結合に関して、その変化を調べた。詳細については当日報告する。

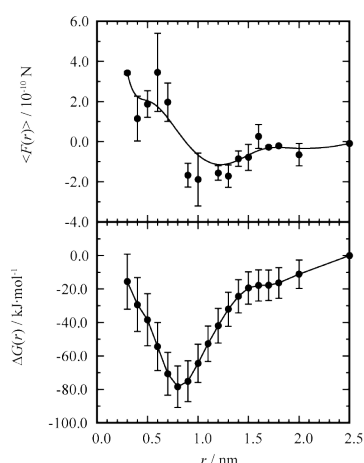


図 2. 平均力と自由エネルギープロフィール

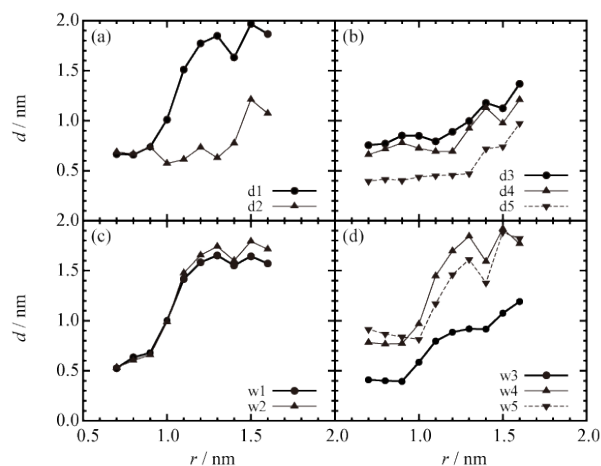


図 3. 水素結合距離の変化

【参考文献】

- [1] W. M. J. Obermann, H. Sondermann, A. A. Russo, N. P. Pavletich, F. U. Hartl, J. Cell Biol., 143 (1998) 901.
- [2] Y. Andoh, N. Yoshii, K. Fujimoto, K. Mizutani, H. Kojima, A. Yamada, S. Okazaki, K. Kawaguchi, H. Nagao, K. Iwahashi, F. Mizutani, K. Minami, S.-i. Ichikawa, H. Komatsu, S. Ishizuki, Y. Takeda, M. Fukushima, J. Chem. Theory Comput., 9 (2013) 3201.