

## 1P100

分子動力学シミュレーションによる DIF-1 レセプター活性化過程の解析

(上智大院・理工)○姜 天龍, 南部 伸孝, 齊藤 玉緒

Theoretical molecular dynamics simulation of the DIF-1 receptor activation

(Sophia Univ.)○Kyo Tenryu, Nanbu Shinkoh, Saito Tamao

**【緒言】**細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* は通常単細胞のアメーバ状態で、土壌中に生息する真核微生物である。飢餓状態を条件にして細胞同士が集合し、一連の発生過程を経て、最終的に胞子と柄の2種類のみの分化した細胞からなる子実体と呼ばれる構造を形成する。ゲノム解析の結果から *D. discoideum* において I 型 PKS と III 型 PKS がハイブリッドした非常にユニークな構造を持つ新規ポリケタイド酵素 Steely の存在が確認されている。Steely は acetylCoA を出発物質として、Phlorocaprophenone (PCP) を合成し、最終的に Differentiation Inducing Factor-1 (DIF-1) と呼ばれる塩素化合物を合成する。DIF-1 は柄細胞の分化を誘導する因子であると言われており、非常に重要な生理的機能を持ちながら、その誘導経路は未知の部分が多い。DIF-1 による分化誘導研究の第一歩として DIF-1 レセプターの探索が行われてきたが、DIF-1 のような低分子の場合には非特異的な結合が起きやすく、レセプター探索は非常に難しい。実際未だに実験により解明することができていない。この 40 年間不明であった問題を解決するために、分子動力学シミュレーションを用いた DIF-1 レセプターの探索と解析を行った。

**【計算方法】**DIF-1 をリガンド分子とした docking simulation を行うために、最初に Gaussian 09 を用い DIF-1 の構造最適化計算を B3LYP/cc-pVDZ レベルで行った。そして docking simulation において非常に重要な DIF-1 の双極子モーメント及び疎水性・親水性の情報を決定した。同時に *D. discoideum* の柄分化過程の本質であるオートファジー細胞死に必要なとされる Histidine Kinase M (DhkM) をレセプター候補として以下に述べる計算を行った。DhkM の結晶解析情報がなかったため、予めゲノム情報に基づき比較モデリング法及び *ab initio* モデリング法を用いた DhkM の立体構造予測を行った。更に得られた構造のコア部分を探し、それについて Molecular Dynamics (MD) 計算により立体構造探索を行った。MD 計算は AMBER9 プログラムパッケージを用いて行い、分子力場には AMBER99 force field を用い、合計 66 ns 時間発展させた。立体構造の変化を動的に観測し、得られたそれぞれの pocket を binding site として Sybyl を用い docking simulation を行った。Docking simulation の結果を解析し、立体構造及びエネルギーの観点から評価を行った。結果の検証に、DIF-2、DIF-3 を用い同様な計算を行った。

**【結果と考察】**構造最適化計算の結果より、DIF-1 はほぼ平面構造をとっており、塩素と側鎖がそれぞれ親水性和疎水性を示していることがわかった(Fig.1)。DhkM のコア部分 (残基 1073~1498) に対する MD 計算の途中経過は Fig.2 に示した。Sybyl により得られた pocket の中、Fig.3 に示した pocket CYAN は docking simulation で docking total score = 4.7601、Crash score = -2.2194、水素結合数 7 という親和性の高い値を示し、立体構造

及び親水性・疎水性などのような相互作用の観点から評価しても優れた binding モデルであると考えられた (Fig.4、Fig.5)。このモデルに基づいた binding メカニズムを予測し、DIF-1 と類似した分子 DIF-2、DIF-3 を対象とした docking simulation で検証を行ったところ、実験と一致した結果が得られた。詳細はポスタープレゼンテーションを参照する。最後にエネルギーの観点から binding モデルを評価した結果、binding 後のポテンシャルエネルギーの差は-372 kcal/mol となった。この反応過程は自発的に進むこと及び熱変化により制御されていることがわかった。従って今回の binding モデルは一般的なりガンドとレセプターの binding モデルに当てはまると考えられる。以上の結果より、DIF-1 のレセプターが DhkM である可能性が非常に高いことが判明した。また DIF-1 と binding するために必要となるアミノ酸残基の予測ができた。

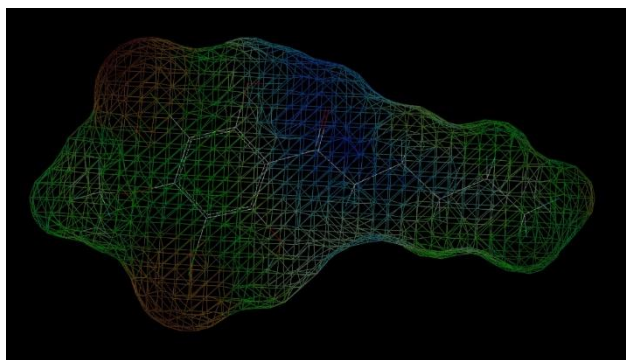


Fig.1 DIF-1 における親水性と疎水性の状態分布  
赤い部分は親水性、青い部分は疎水性を示している

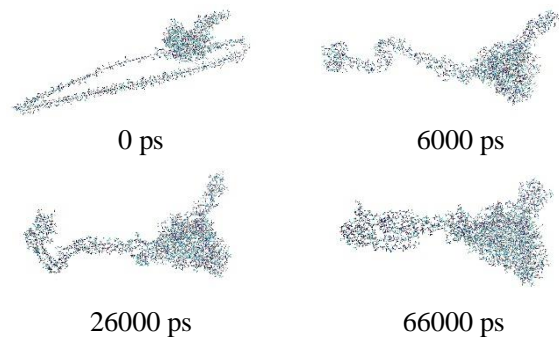


Fig.2 MD 計算による DhkM 立体構造変化の探索

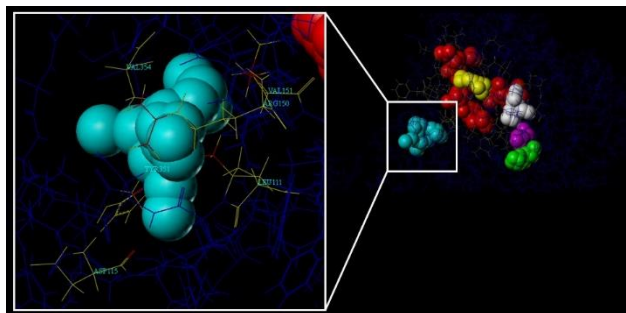


Fig.3 予測した DIF-1 のよい binding site を含む pocket (LEU111 ASP115 ARG150 VAL151 TYR351 VAL354)、異なる色のボールは異なる pocket が占める空間領域を表している

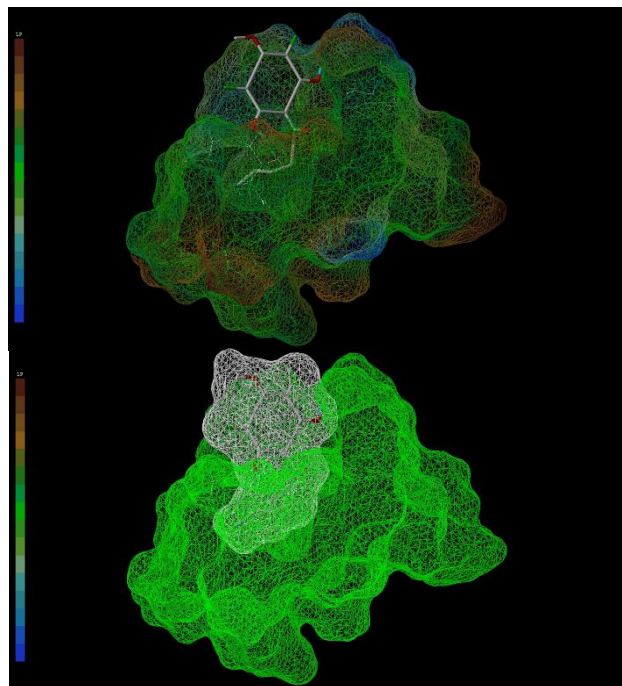


Fig.4 DIF-1 と予測した binding site の docking simulation 結果 (立体構造と水素結合)

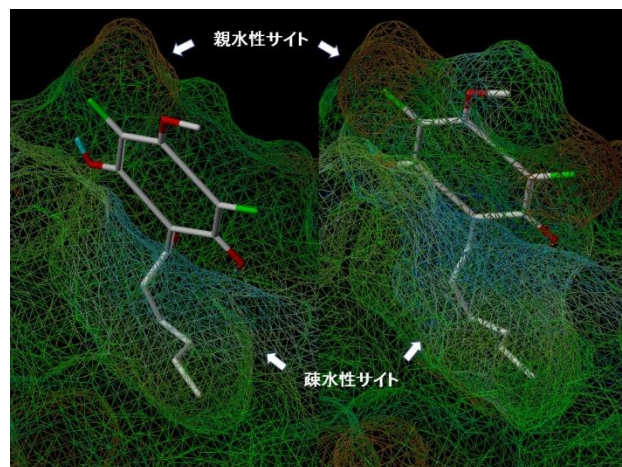


Fig.5 DIF-1 と予測した binding site の docking simulation 結果 (親水性と疎水性)