

MDシミュレーションと3D-RISM理論を用いた シトクロム*c*の多量体形成に関する理論的研究

¹琉大院理工, ²九大院理, ³奈良先端大物質創成, ⁴琉大理

○根木秀佳¹, 吉田紀生², 廣田俊³, 東雅大⁴

Theoretical Study on Oligomer Formation of Cytochrome *c* with MD simulation and 3D-RISM theory

○Hideyoshi Motoki¹, Norio Yoshida², Shun Hirota³, Masahiro Higashi⁴

¹ *Chemistry, Biology, and Marine Science, Graduate School of Engineering and Science, University of the Ryukyus, Japan*

² *Department of Chemistry, Graduate School of Science, Kyushu University, Japan*

³ *Graduate School of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology, Japan*

⁴ *Department of Chemistry, Biology and Marine Science, Faculty of Science, University of the Ryukyus, Japan*

【Abstract】 Cytochrome *c* (cyt *c*) forms polymers by successive domain swapping, where the C-terminal helices are replaced by the corresponding helices of other cyt *c* proteins [1], and loses its electron transfer function. However, the mechanism of domain swapping of cyt *c* is still unclear. In the present study, we investigated the thermodynamic stability of the domain-swapped dimer of cyt *c* in aqueous solution by using the molecular dynamics (MD) simulation and the three-dimensional reference interaction-site model (3D-RISM) theory. We found that the domain-swapped dimer of cyt *c* is slightly less stable compared with the monomer, which is consistent with the experimental result [1]. Furthermore, the decomposition analysis showed that several residues play important roles in the stabilization of the dimer, whereas several other residues play important roles in the destabilization. The present results demonstrate the importance of solvent effect on the domain-swapped oligomer formation of cyt *c*.

【序】 シトクロム *c* は、シトクロム *b_cl* 複合体からシトクロム *c* オキシターゼに単量体で電子を伝達するヘムタンパク質であり、多量化することでその電子伝達の機能が失われることがよく知られている。近年の研究から、シトクロム *c* は互いの C 末端ヘリックスを交換するドメインスワッピングにより多量化することが明らかになった (Fig. 1) [1]。しかし、どのように多量体が形成するかはよくわかっていない。

そこで本研究では、シトクロム *c* の多量体形成メカニズムの解明を目指して、分子動力学(MD)シミュレーションと液体の積分方程式(3D-RISM)理論を用いて、シトクロム *c* の二量体の熱力学的安定性の解析を行った。

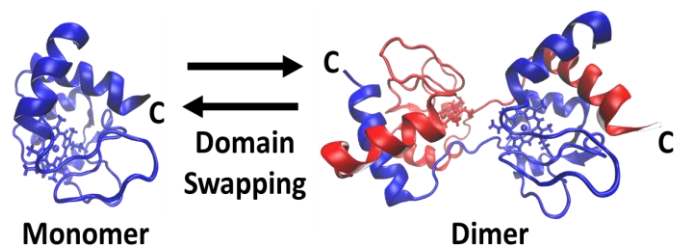


Figure 1. Domain swapping of cytochrome *c*

【計算方法】 本研究では、単量体と二量体のシトクロム *c* の初期構造をそれぞれの X 線結晶構造(PDB code: 1HRC, 3WUI)から作成した。MD シミュレーションでは、これを一辺がそれぞれ 85 Å と 110 Å の立方体の水分子のボックスに配置し、系を中性にするために Cl⁻イオンを加えた。分子力場として、タンパク質に Amber ff99SBildn を適用し、ヘムに Amber GAFF を用いた。3D-RISM では、MD シミュレーションで得られた構造から水分子と Cl⁻イオンを取り除き、Kovalenko–Hirata closure を用いて水和自由エネルギーの計算を行った。

【結果】 まず、単量体と二量体の構造でそれぞれ 10 ns 平衡化、10 ns サンプリングの MD シミュレーションを行った。サンプリングで得られた構造に対して、タンパク質の配座エネルギー、構造エントロピー[2]、水和自由エネルギーを計算した。単量体と二量体の自由エネルギーを比較すると、シトクロム *c* の二量体は単量体よりわずかに不安定となった (Fig. 2)。これらの結果は、実験結果[1]と定性的に一致する。また、水和自由エネルギーが二量体の安定化に重要と判明した。さらに、それぞれの要素を近似

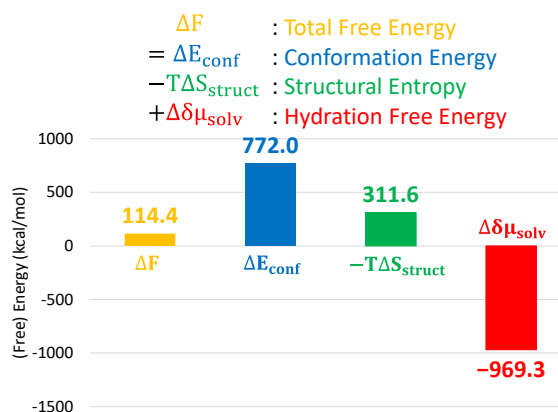


Figure 2. Free energies of monomer and dimer

式により残基ごとに分解することで、安定化・不安定化に大きく寄与する残基も明らかにした (Fig. 3)。この解析により、正の電荷をもつ残基は二量体の安定化、負の電荷をもつ残基は二量体の不安定化に寄与することが分かった。これらの残基を変異させた変異体の計算を行ったところ、予想通り二量体の安定性は大きく変化した (Fig. 4)。

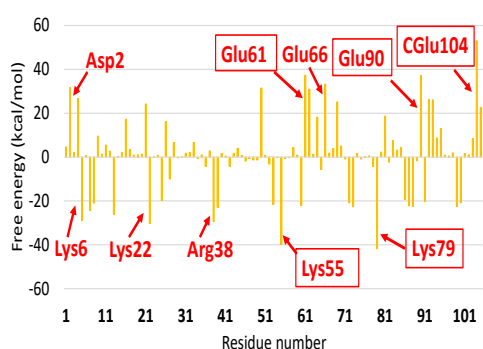


Figure 3. Decomposition of ΔF

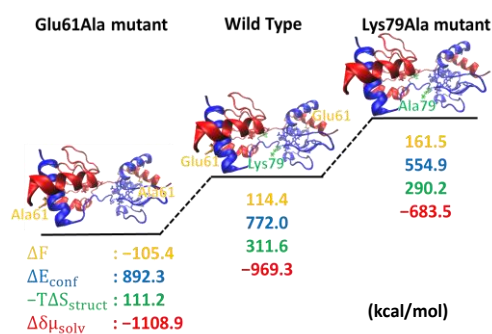


Figure 4. Result of mutation

また、二量体の形成は、アニオンの種類に大きく依存することが知られている[3]。当日は、アニオンの影響を露わに自由エネルギー計算に考慮した結果についても議論する予定である。

【参考文献】

- [1] S. Hirota *et al.* *PNAS*, **107**, 12854 (2010).
- [2] M. Karplus and J. Kushick, *Macromolecules*, **14**, 325 (1981).
- [3] M. S. Deshpande *et al.* *Biochemistry*, **53**, 4696 (2014)