

2P073

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

○Kyo Tenryu, Nanbu Shinkoh, Saito Tamao

Faculty of Science and Technology, Sophia University, Japan

【Abstract】 The structure prediction of Histidine Kinase M (DhkM), the candidate for the receptor of Differentiation Inducing Factor-1 (DIF-1), has been carried out by using the comparative modeling approach, and the structural refinement of the built structures has been performed with one hundred nanoseconds molecular dynamics (MD) simulations at the AMBER force field ff14SB. Docking simulations have been subsequently employed and it is revealed that there is a very high possibility that DhkM could be the receptor of DIF-1. In the core part of DhkM (residue number 1073~1498), the residues which are adjacent to Leu111, Asp115, Arg150, Val151, Tyr351 and Val354 play a significant role in ligand binding mechanism. Three simulations with different initial velocities generated by pseudo-random number seeds have been performed to ensure our results and almost the same results have been obtained. Binding energy has been also calculated from potential energy and estimated at -372.21 kcal/mol. On the other hand, chlorine of DIF-1 could play an important role in ligand selection, because the simulations for DIF-2 and DIF-3 which have the similar structure to DIF-1 have been explored as well in order to evaluate the binding mechanism. The result demonstrated a causal link between the lack of chlorine and deactivation, and could reproduce the trend for the experimental data.

【序】 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。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^[1]、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】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 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レセプター候補 DhkM の立体構造予測を行った^{[2] [3]}。更に得られた構造のコア部分を探し、それについて MD 計算により立体構造探索を行った。MD 計算は AMBER16 プログラムパッケージを用いて行い、分子力場には AMBER force field ff14SB を用い、合計 100 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 を用いた 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・考察】DhkM のコア部分 (残基 1073~1498) に対する MD 計算を行った結果、26 ns の構造で得られた pocket の中で CYAN は 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た。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。同時に 66 ns の構造で非活性状態の観測ができた。これらの結果に基づき、binding メカニズムを予測した。DIF-1 と類似した分子 DIF-2、DIF-3 を用いて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。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。

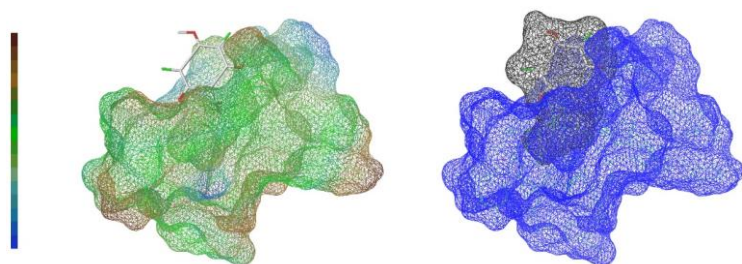


Fig. 1. Lipophilic potential and molecular surface for pocket CYAN

【参考文献】

- [1] Neumann CS1, Walsh CT, Kay RR (2010). *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010 Mar 30; 107(13):5798-803.
- [2] Levraud JP *et al.* (2003). *J Cell Biol*. 2003 Mar 31; 160(7):1105-14.
- [3] Corinne Giusti *et al.* (2010). *Mol Biol Cell*. 2010 Jun 1; 21(11): 1825–1835.