

Zn欠損SODの構造変化と反応性に関するQM/MM研究

¹京府大院生命環境, ²京大院工学

○小山なつみ¹, リントゥルオト正美¹, 山田知明¹, リントゥルオトユハ²

QM/MM study on conformational change and reactivity of Zinc-deficient SOD

○Natsumi Koyama¹, Masami Lintuluoto¹, Chiaki Yamada¹, Juha M. Lintuluoto²

¹ Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, Japan

² Graduate School of Engineering, Kyoto University, Japan

【Abstract】 Superoxide Dismutases (SODs) protect cells by catalyzing the disproportionation conversion of $O_2^{\cdot-}$. There are the three classes of human SODs, and among those SOD1 and SOD3 contain Cu and Zn atoms. Cytosolic SOD1 is a homo dimer, and extracellular SOD3 is tetramer containing two identical homo dimers. Lacking Zn atoms by single point mutation of SOD1 has been reported to be associated with familial amyotrophic lateral sclerosis (fALS). However, SOD from *Mycobacterium tuberculosis* (MtSOD), which structure is similar with SOD1, has no Zn atom and shows the structural stability and reactivity. In previous work, we have revealed the catalytic reaction mechanism of SOD3 and that the Zn atom lowers the redox potential of the Cu atom in the reaction. We performed QM/MM calculations for SOD1 and MtSOD to clarify the role of Zn atoms on SOD1 in this study.

【序】 活性酸素除去酵素 (SOD) は生体内に発生する有害物質である活性酸素種 $O_2^{\cdot-}$ を除去する酵素である。ヒトは三種類 SOD1~3 を持ち、そのうち SOD1 と 3 は活性中心に Cu と Zn を含む。Fig. 1 に示す SOD1 はホモ二量体で細胞内に、Fig. 2 に示す SOD3 はホモ四量体で細胞外に存在する。SOD1 の点変異によって亜鉛が欠損、酵素が凝集し fALS が引き起こされると考えられているが、もともと Zn を含まない Cu のみを含む SOD を持つ菌も存在し、Zn イオンの役割の解明が必要とされている [1,2]。一方、SOD3 が唯一糖と結合する SOD であることが知られており、糖尿病患者において、SOD3 によって様々な病気が引き起こされると考えられているが、詳細は解明されていない [3]。

これらの疾病と酵素との関連性について調べるためには、亜鉛の役割や局所的な反応機構だけでなく、凝集、糖結合などの全体構造の変化について調べる必要がある。先行研究において、SOD3 の局所的な反応機構を解明し、その際に Zn イオンが Cu イオンの還元電位を下げ、反応を起しやすくする役割を果たすことを明らかにした。本研究においては SOD1 の反応機構、Zn の役割を解明することを目的とし、SOD1、Zn 欠損 SOD1、MtSOD について QM/MM 計算を行う。

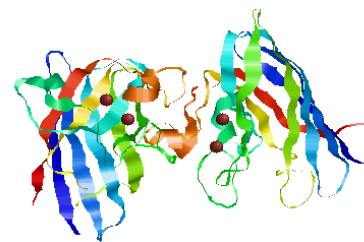


Fig. 1, Structure of SOD1 (PDB ID: 1hl5)

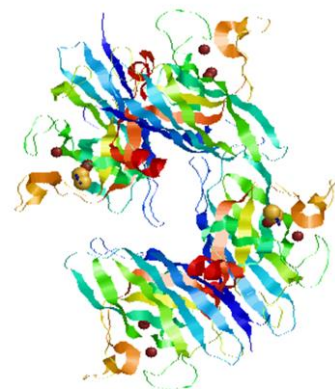


Fig. 2, Structure of SOD3 (PDB ID: 2jlp)

【方法 (実験・理論)】

ヒト SOD1 の X 線結晶構造 (PDB ID: 1h15) からモデルを作成した。Cu と Zn、Cu と Zn に配位するアミノ酸残基 (His46, His48, His63, His71, His80, Asp83, His120) と活性中心のエントランスに位置する Arg143 と Thr137、水 12 個を QM 領域、Cu と Zn から 10 Å の MM 領域を構造緩和した。

QM/MM 計算は ONIOM 法で実行した。QM 領域の Cu と Zn 原子は Stuttgart/Dresden ECP 原子基底関数 (SDD)、アミノ酸原子は 6-31G (d,p) を用いて B3LYP で行った。MM 領域は parm99 を用いた。

Zn 欠損 SOD1 モデルとして Zn²⁺を H⁺で置換したもの、2H⁺で置換したもの、Zn²⁺を除去したものを作成し、同様の計算を行った。

【結果・考察】

SOD1 の resting 状態及び Zn 欠損 SOD1 の resting 状態 (Cu (II) 酸化状態) について QM/MM 計算を行った。SOD3 では Asp127 は Zn に 2 座配位していたが、SOD1 では単座配位となっていた (Table 1)。また、SOD1 では SOD3 よりも活性中心付近の溶媒露出表面静電ポテンシャル値が低いこと (Fig. 3)、活性中心へのエントランスが狭くなっていることが分かった。このことから、SOD3 と反応機構が異なっている可能性が考えられる。また、Zn 欠損 SOD1 の結果から、Zn の配位子が Zn を失い互いに配座することで安定化し (Fig. 4)、その結果活性中心付近の二次構造が変化することが分かった。今後は SOD1、Zn 欠損 SOD1 の他の状態及び MtSOD についても QM/MM 計算を行う。

Table 1, The binding length between metal atoms and the ligand residues (Å)

SOD1	His46	His48	His63	His71	His80	Asp83 Oδ1	Asp83 Oδ2	His120
Cu	1.99	2.10	1.92	—	—	—	—	2.02
Zn	—	—	1.98	2.00	2.38	1.91	3.51	—
SOD3	His96	His98	His113	His121	His124	Asp127 Oδ1	Asp127 Oδ2	His163
Cu	2.04	2.01	1.98	—	—	—	—	2.05
Zn	—	—	2.04	2.12	2.12	2.15	2.16	—

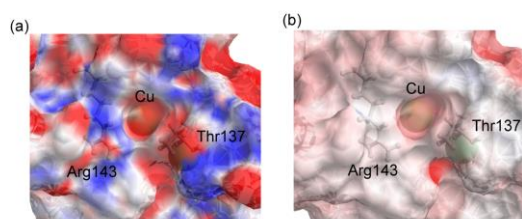


Fig. 3, The electrostatic potential map on the molecular surface (a) and the solvent-accessible surface (b) of SOD1

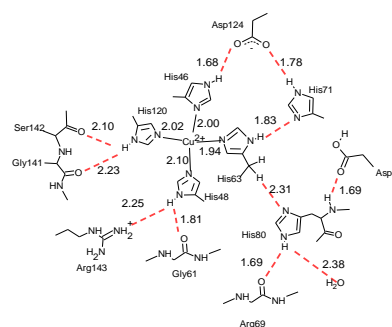


Fig. 4, The structure around the reaction center of Zn-lacking SOD1

【参考文献】

- [1] Perry J. *et al.* *Biochim, Biophys. Acta, Proteins Proteomics* 2010, **18-4**(2), 245-262.
- [2] Spagnolo L. *et al.* *J. Biochem., Mol Biol.* 2004, **279**(32), 310-326.
- [3] Mohammadi K. *et al.* *Cardiovasc. Diabetol.* 2015, **14**(1), 845-855.