

## 分子動力学法を用いたアズリン蛋白の主鎖局所ダイナミクスの理論的研究

(a 金城大社, b 金沢大理)

○齋藤大明<sup>a</sup>, 杉山歩<sup>b</sup>, 吉本高志<sup>b</sup>, 長尾秀実<sup>b</sup>, 櫻井武<sup>b</sup>, 西川清<sup>b</sup>.

## 【序】

タンパク質等に代表される生体分子の機能はマクロな分子の空間的な配置やそのダイナミクスと密接な関係がある。例えば、プロテイン分子内の大きな変位をもつ原子の運動はマクロ分子の大きな部分の変位を促し、それらの振動特性には強い特定の 2 次構造依存があることが知られている。またタンパク質内の局所構造における結合やダイナミクスは 2 次、3 次構造を安定させる重要な役割を担っている[1,2]。このようにタンパク質のより詳細な構造の決定やそのダイナミクスの理解は、生体分子の機能解明への重要な因子であり、より精度の良い実験や解析法が望まれている。これらの機構解明へのアプローチとして分子動力学 (MD) 法がある。分子動力学シミュレーションはタンパク質とその周囲の溶媒の詳細な運動の情報を時系列に得ることが可能であり、タンパク質の構造、ダイナミクス、そしてその機能性の関係を得るための重要なツールとなってきている。

本研究でとり扱うアズリンはブルー銅タンパク質の一種で植物やバクテリア等のさまざまな環境に存在する物質である。このクラスの比較的小さな金属タンパク質は、その銅原子を含んだアミノ酸の局所ドメイン (アクティブサイト) の原子配置や電荷などの環境に支配的であることが知られており、この銅原子やその周辺の残基の同位体効果によって分光学的特性も大きく変化することが知られている[3]。また銅原子の電子移動がたやすく起こる事から、自然において電子移動の代理を起こすプロテインであるとされ、その機構解明の研究は生物化学分野のみならず物理化学領域においても注目を集めている[4]。

本研究ではこのアズリン蛋白質活性中心であるアクティブサイトやその主鎖の局所ダイナミクスの理論的研究を分子動力学法を用いて行い、銅原子やタンパク質主鎖の振動特性や緩和パラメータ等を導出し、実験等と比較可能な物理量の予測を行う。

## 【計算】

アズリンは 128 個のアミノ酸残基がペプチド鎖を形成することで構成されるタンパク質であり、それは 8 個の独立した  $\beta$  ストランドと 1 個の  $\alpha$  ヘリックス、そして 1 個の銅イオン原子 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) によって構成される[図 1]。ここで銅原子を含んだアクティブサイトは図 1 において、アズリンタンパク質の一端に配置される。また、このアクティブサイト周辺の様子を図 2 に示す。同図において、Cu 原子は周辺のシステイン残基(Cys112)の S 原子と 2 つのヒスチジン残基(His46, His117)の N 原子と強く結合をつくり、メチオニン残基(Met121)の S 原子やグリシン残基(Gly46)の O 原子と弱い相互作用をもつとされている[4]。計算に用いた初期座標は Brookhaven Protein Data Bank のデータベース “1AZU” を使用した。これは *Pseudomonas*

aeruginosa (Cu<sup>2+</sup>) のX線構造解析から得られた座標であり、その分解能は 2.7 Å である[5]。MD 計算は Amber7[6]を用い、系の水和化、構造最適化、平衡化の操作を周期境界条件のもとで行った。アクティブサイトにおける原子の電荷分布や結合パラメータは量子化学計算により導出したものを用い、溶媒は TIP3 ポテンシャルの剛体水分子モデルを用いて系の温度を 300K として計算を行った。平衡化の操作は始めに NPT アンサンブルで 0K から徐々に温度を上昇させ、系の密度や体積、温度が一定の状態となるまで計算を進め、系が十分に平衡状態に達したのを確認したのち、NVE アンサンブルで計算を行って解析に用いるデータのサンプリングを行った。解析した物理量は NMR 実験で得られる緩和パラメータと比較・検討可能な物理量である Spectral density とした。これを MD 計算によって得られるタンパク質のトラジェクトリーから相関関数を計算することで導出し、NMR 等の実験の予測を行う。また各残基のオーダーパラメータ S<sup>2</sup> や平均自乗変位等の計算も行い、タンパク質分子の全体・局所的な回転や振動特性の検証を行う。詳細は当日報告する。

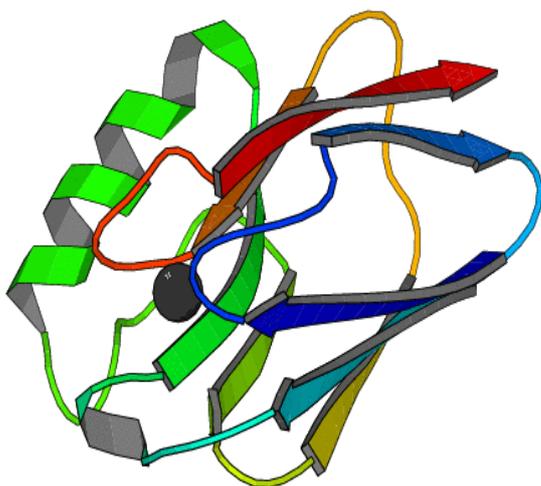


図 1 : アズリン蛋白質の分子構造

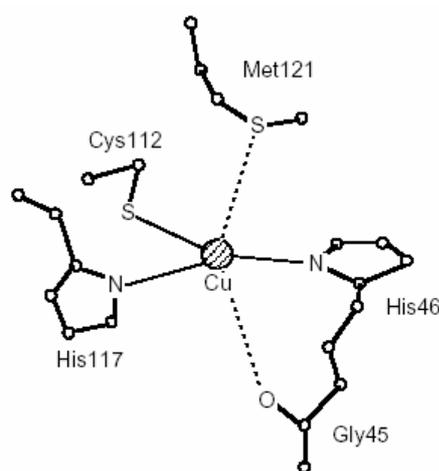


図 2 : アズリンのアクティブサイト構造

#### 【参考文献】

- [1] H. Frauenfelder, F. Parak, R.D. Young, *Annu. Rev. Biophys. Chem.* **17** 451 (1988).
- [2] T. Alber, S. Daopin, K. Wilson, J.A. Wozniak, S.P. Cook, B.W. Matthews, *Nature* **330**, 41 (1987).
- [3] R.S. Czernuszewicz, B.C. Dave, J.P. Germanas, "Spectroscopic Method in Bioinorganic Chemistry (Eds. E. I. Solomon and K.O. Hodgson) ACS Symposium Series 692, 220 (1998).
- [4] H.B. Gray, E. I. Solomon, "Copper Proteins"(John Wiley, New York, 1981) **3**, 1-39.
- [5] E.T. Adman, L.H. Jensen, *Isr. J. Chem.* **21** 8 (1981).
- [6] D.A. Pearlman, D.A. Case, J.W. Caldwell, W.S. Ross, T.E. Cheatham, III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel & P. Kollman. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Comp. Phys. Commun.* **91**, 1-41 (1995).
- [7] S. Pfeiffer, D.Fushman, D. Cowburn, *J. Am. Chem. Soc.* **123** 3021 (2001).