

4Pp138 フラグメント分子軌道法による亜鉛原子を含むタンパク質の計算

(立教大理¹・国立衛研²) ○原田隆範¹、中野達也²、常盤広明¹

【序】亜鉛原子は生体内において立体構造の安定化や種々の酵素反応に深く関わっている。核内受容体のDNA結合ドメイン(DBD)は2組のZinc finger構造を含み、1つはDNAとの結合に関与するヘリックスの安定化に寄与している。また、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)は、活性中心に存在する亜鉛イオンがリガンドの結合に関与している。これらのタンパク質のDNAやリガンドとの相互作用を考えるうえで、亜鉛原子近傍のみでなくさらに広い領域を考慮することは重要である。巨大分子の非経験的手法による計算は、フラグメント分子軌道法(FMO法)¹⁻⁵などにより可能となり、FMO法を用いてこれまでにエストロゲン受容体(約4000原子)⁶などについて計算が行われている。本研究では、金属原子を含む系に対してのFMO法の適用を検討するため、核内受容体の1種であるグルココルチコイド受容体のDBD(GR-DBD)およびHDAC-like protein(HDLP)のモデル分子についてFMO計算を行い、FMO法を用いない場合の結果と比較した。また、さらに大きな系についてもFMO計算を行った。

【計算】タンパク質の構造は、GR-DBDについてはPDBデータ(1GDC)の構造をそのまま用いた。HDLPについてはPDBデータ(1C3S)に水素原子を付加し、水素原子のみをCHARMm力場を用いて最適化し、さらにリガンド周辺のみについて、水素結合に関与する水素原子をHF/6-31G(d)で部分的に最適化したものを用いた。これらの分子から、亜鉛原子周辺にある残基を切り出し、数種類のモデル分子を作成した。これらのモデル分子について、FMO法を用いたHF/6-31Gによる一点計算を行った。なお、フラグメント分割は、亜鉛イオンとそれに配位している全ての残基およびリガンドの一部をまとめて1フラグメントとし(図1)、その他の部分については2残基(一部1または3残基)で1フラグメントとした。フラグメント間静電ポテンシャル近似⁵)は、近距離のフラグメント間には用いなかった。FMO計算は、プログラムABINIT-MP⁵)を用いて実行した。また、計算結果の比較のために、モデル分子全体についてのHF/6-31Gによる一点計算を、Gaussian98を用いて行った。

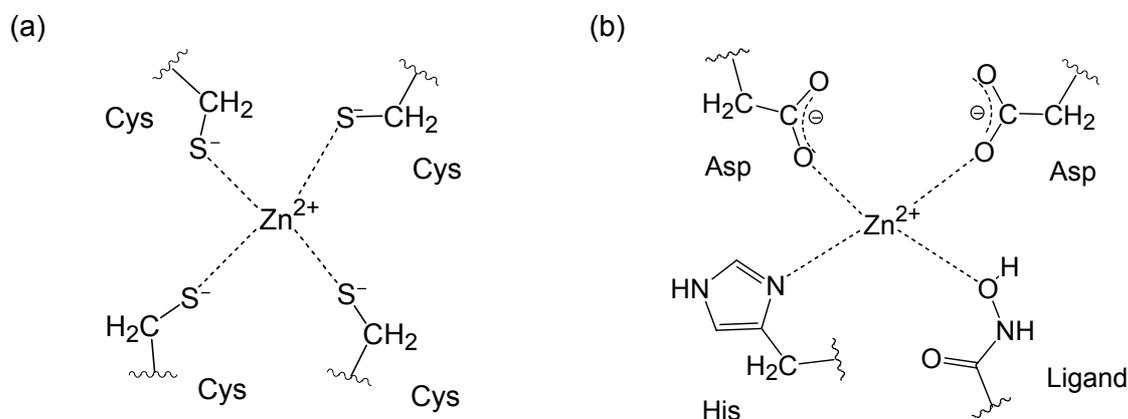


図1 亜鉛イオンを含むフラグメント：(a)GR-DBD, (b)HDLP
(残基の主鎖とリガンドの一部は省略)

【結果】表1に亜鉛周辺の約20残基からなるモデル分子におけるFMO法の計算精度について示す。全体計算(G98)と比較したとき、いずれの分子もTotal energyについては数kcal/molの誤差で、亜鉛原子上の電荷については0.005以下の誤差で一致した。なお、亜鉛イオンを含むフラグメントに関しては、これ以外の分割方法ではここまでの一致は見られなかった。GR-DBDにおいては、表1のモデル分子をDNAとの結合に關与するヘリックス全体を含むN末端側34残基(原子数493)に拡大してもFMO計算は可能であった(表2)。なお、計算時間はDual Xeon 2.2GHz, 8台(16CPU, 1CPUあたりメモリ2GB)のPCクラスタを用いて24時間30分であった。さらに、もう1つのZinc finger構造を含むC末端側38残基(原子数618)についても、同じPCクラスタを用いて64時間で計算が可能であり、亜鉛原子を含むタンパク質の計算においてもFMO法が有効な手法であることが示された。

表1 FMO法の計算精度

	原子数	Total energy (Hartree)		FMO - G98 (kcal/mol)
		FMO	G98	
GR-DBD	252	-9202.254894	-9202.264707	6.16
HDLP	315	-10150.361721	-10150.367673	3.74

	原子数	Mulliken charge on Zn atom		FMO - G98
		FMO	G98	
GR-DBD	252	0.8469	0.8506	-0.0037
HDLP	315	1.4589	1.4635	-0.0046

表2 GR-DBDのFMO計算の結果

残基数	原子数	Total energy (Hartree)	Mulliken charge on Zn atom
17	252	-9202.254894	0.8469
34	493	-15720.985648	0.8430
38	618	-18644.246870	0.8078

- (1) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **312**, 319 (1999). (2) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **313**, 701 (1999).
 (3) T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.* **318**, 614 (2000). (4) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **336**, 163 (2001).
 (5) T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.* **351**, 475 (2002). (6) K. Fukuzawa et al., submitted.