

シトクロム c_{551} 複合体のドッキング構造に関する理論的研究

(金沢大院自然) ○西川 佳吾, 山本 哲徳, 杉山 歩, Acep Purqon, 長尾 秀実, 西川 清

【序】

シトクロムは活性中心にヘム鉄を持つヘム鉄タンパク質の一種であり、金属含有タンパク質であることから高い酸化還元電位を示す。また、酸化型と還元型が存在し、他のタンパク質との間で電子伝達を行っている。本研究で用いた*Pseudomonas aeruginosa*(*Ps. aeruginosa*)由来のシトクロム c_{551} は、ニトリトリダクターゼの電子供与体として、生体内において電子伝達を担うヘム鉄タンパク質である。総原子数 1287 個、総残基数 82 残基の鉄含有タンパク質であり、反応活性部位はHEMとMet61、His16 の2つの残基から成っており、HEMと2つの残基は配位結合で結合している。また、Cys12 及びCys15 がジスルフィド結合により反応活性部位と結合している。

一方、*Ps. aeruginosa*由来のアズリンはシトクロム c_{551} と同様に生体内において電子伝達を担っている。総原子数 1929 個、総残基数 128 残基の単核のブルー銅タンパク質であり、反応活性部位は銅イオンとMet121、His117、Cys112、Gly45、His46 の5つの残基から成り、銅イオンと5つの残基は配位結合により結合している。

本研究では、実験[1]で用いられている電子伝達モデルである、*Ps. aeruginosa* 由来のシトクロム c_{551} とアズリンの複合体(図 1)に対する分子動力学(MD)シミュレーションを行い、温度依存性及びドッキングに関する考察を行った。

【計算方法】

本研究のMDシミュレーションでは、*Ps. aeruginosa* 由来の還元型シトクロム c_{551} (PDBID:451C)及び酸化型アズリン(PDBID:4AZU)に水素を付加し、構造最適化を行ったものを基にして複合体を形成した。その際、ZDOCK[2]を用いて作成した候補の内、Cu(アズリン)とFe(シトクロム c_{551})との距離が最も近いものを複合体の初期座標とした。

MDシミュレーションに用いる力場にはAMBER force field 03

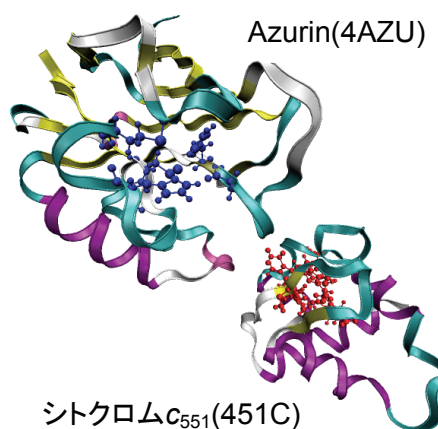


図 1 シトクロム c_{551} -アズリンの複合体の初期構造

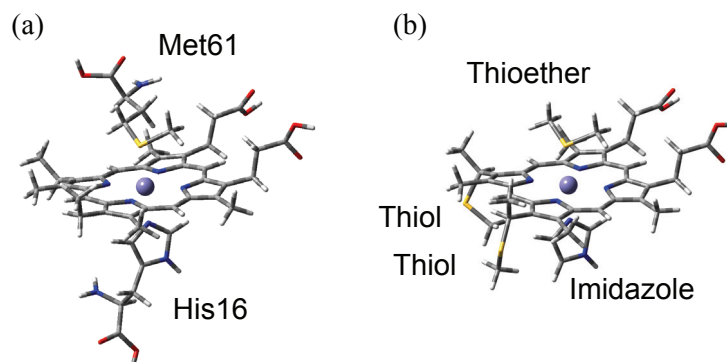


図 2 シトクロム c_{551} (451C)反応活性部位付近のクラスターモデル (a)電荷計算 (b)力場計算

表 1 シトクロム c_{551} 反応活性部位付近の結合パラメータ

Distance	r_c (Å)	r_{PDB} (Å)	K_r (kcal/mol)
$S_{(\text{Met61})} - \text{Fe}$	2.443	2.354	71.910
$S_{(\text{Cys12,Cys15})} - C_{(\text{hem})}$	1.843	1.818	186.771
Angle	θ_c (°)	θ_{PDB} (°)	K_θ (kcal/mol rad ²)
$S_{(\text{Cys12,Cys15})} - C_{(\text{hem})}$	115.552	116.987	91.815
$S_{(\text{Met61})} - \text{Fe} - N_{(\text{His16})}$	172.554	174.025	133.378
$S_{(\text{Met61})} - \text{Fe} - N_{(\text{hem})}$	86.829	84.674	123.016

(Amber8) [3] を用いた。この際、AMBER force field 03 に存在しないFeに関する電荷及び力場は、シトクロム c_{551} 反応活性部位を基にクラスタモデル(図 2)を構築し、量子化学計算を行う事で決定した。また、アズリン反応活性部位に関する電荷密度及び活性部位付近の残基間の結合パラメータは、以前の研究[4,5]で決定したものをを用いた。

以上の結果を用い、TIP5P 剛体モデル水分子 5854 個を配置し、カットオフ半径を 10 Å に設定した上で NVT アンサンブル(1MDstep:2fs)の条件のもと、3.5ns のMDシミュレーションを 240K、300K、360K の 3 種の温度に対して行った。

【結果】

量子化学計算

上記のクラスタモデルに対する量子化学計算の結果から、 $S_{(\text{Met61})} - \text{Fe}$ 、 $S_{(\text{Cys12,Cys15})} - C_{(\text{HEM})}$ のそれぞれの間の距離、 $S_{(\text{Cys12,Cys15})} - C_{(\text{HEM})}$ 、 $S_{(\text{Met61})} - \text{Fe} - N_{(\text{His16})}$ 、 $S_{(\text{Met61})} - \text{Fe} - N_{(\text{HEM})}$ のそれぞれの間の角度に対するポテンシャルエネルギーを得た後に、調和振動子近似によって結合パラメータを決定した(表 1)。また、シトクロム c_{551} の電荷分布からRESP法を用いて電荷密度を見積もった。

温度依存性

シトクロム c_{551} とアズリンの複合体の、240K、300K、360Kに対するMDシミュレーションの結果から、複合体の結合安定性と温度依存性に関する考察を行うために、結合自由エネルギー及びFe(シトクロム c_{551})とCu(アズリン)間の距離の測定などを行った。

なお、温度依存性に関する考察は当日発表する。

References

- [1] F. Cutruzzola, M. Arese, G. Ranghino, G. van Pouderoyen, G. Canters, M. Brunori, J. Inorg. Biochem **88**, 353-361 (2002)
- [2] Chen R, Li L, Weng Z, Proteins **52**, 80-87 (2003)
- [3] D.A.Pearlman, D.A.Case, J.W.Caldwell, W.S.Ross, T.E.Cheatham, III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel & P. Kollman. Comp. Phys. Commun **91**, 141 (1995).
- [4] T. Syuku, k. Sugimori, A. Sugiyama, H. Nagao, T. Sakurai, K. Nishikawa, Polyhedron **24**, 2671-2675 (2005)
- [5] A. Sugiyama, Y. Takamatu, K. Nishikawa, H. Nagao, K. Nishikawa, Int. J. Quant. Chem. 採録決定済 (2006)