

2P117

分子動力学シミュレーションによるアズリン-シトクロム c_{551} 間のタンパク質ドッキングに関する研究

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

【序】

アズリンは電子伝達の機能を持つ銅一核の金属タンパク質として、バクテリア内に存在し、シトクロム c からシトクロム c 酸化酵素への電子伝達の媒介的役割を担っている。その構造は 128 残基から構成され、機能中心となる反応活性部位は中心となる銅イオンと五つの配位残基からなっている。アズリンに関する研究はこれまでも実験、理論の両面から様々な研究が行われ[1]、X線構造解析からは多くのタイプの構造が明らかとされてきた。これまでに我々は *Pseudomonas aeruginosa* 由来の酸化型アズリンの構造[2]をもとに溶媒中で分子動力学(MD)シミュレーション及び密度汎関数計算を行うことで、溶媒中での構造と性質に対する研究を進めてきた[3]。これらの研究から、溶媒中のタンパク質はタンパク質のゆらぎや残基ジャンプ運動と呼ばれる原子同士の協調的運動などが確認出来た。一方、電子伝達パートナーとなるタンパク質とのドッキング状態のダイナミクスに関する研究は電子伝達機構解明の足がかりとなる研究であり興味深い。近年、アズリン-シトクロム c_{551} 間の電子伝達モデルによる実験が行なわれ、その電子伝達機能に関する報告されている[4]。この実験結果を基にアズリン-シトクロム c_{551} 間のドッキングモデルが提唱された。アズリンのドッキングパートナーとなるシトクロム c_{551} は 82 残基によって構成されるヘム鉄タンパク質であり、アズリン同様 *Pseudomonas aeruginosa* 由来の X線構造解析による構造が報告されている。本研究ではこのアズリン-シトクロム c_{551} 間のドッキング状態を構築し、MDシミュレーションを実行する事で、タンパク質のダイナミクスがドッキングに与える影響に対する考察を行なった。

【計算方法】

初期座標にはX線構造解析による *Pseudomonas aeruginosa* 由来の酸化型アズリンの結晶構造(PDBID:4AZU)と還元型シトクロム c_{551} の結晶構造(PDBID:451C)を用い、ZDOCK[5]によりMDシミュレーションの初期座標を決定した(図1)。本シミュレーションでは溶媒水分子に TIP5P 剛体モデルの水分子を使用し、力場は AMBER03 force field[6]を使用し計算を実行した。この時、両タンパク質の活性部位付近の力場および電荷は量子化学計算によって見積もったものを使用した。溶媒のボックスサイズ(X, Y, Z)=(76.382, 47.345, 57.107)(Å)の状況下、静電相互作用の計算では Particle Mesh Ewald 法を用い、H 原子の結合部分は SHAKE 法によって固定して計算を行った。解析は系の平衡化後、周期境界条件の下、NVT アンサンブル(1MDstep:2fs) で 2ns 間のシミュレーションした結果をもとに行なった。



図1 アズリン-シトクロム C551 のドッキング構造

【結果】

MD シミュレーションの実行に必要な各タンパク質の活性部位付近の電荷分布を量子化学計算により見積もった(表 1)。本研究ではタンパク質の電荷決定に広く採用されている RESP 電荷を採用し、MD シミュレーションを行なった。また調和振動近似によって周辺原子間の Force Field を決定した。

2ns 間のシミュレーションのタンパク質毎の RMSD を図 2 に示す。この時、アズリン・シトクロム c_{551} 間の距離及び両タンパク質の活性部位間の距離は減少し、自発的にドッキング状態を選択する過程が確認された。2ns 経過後のタンパク質間の結合自由エネルギーは -92.64kcal/mol 程度であった。また、動的相関図(Dynamic Cross Correlation Map(DCCM))(図 3)よりドッキングに関与する残基間に正の相関が発生する事が確認された。シトクロム c_{551} 単独のシミュレーション結果からの DCCM(図 3 -(c))との比較からタンパク質全体が正の相関へ変化する事がわかる。当日はドッキングの水和水分子への影響についても言及する。

表 1. アズリン及びシトクロム c_{551} の活性部位付近の電荷分布(mulliken, RESP)

	MPA	RESP
	atomic charge	atomic charge
Azurin		
Cu	0.643	0.591
Cys112	-0.148	-0.281
His46	0.253	0.403
His117	0.135	0.214
Gly45	0.105	0.154
Met121	0.013	-0.080
Cytochrom		
Fe	1.286	1.004
His16	0.327	0.418
Met61	0.352	0.311
Porphyrin	0.034	0.266

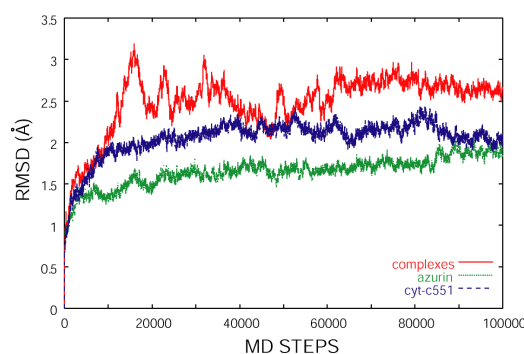


図 2 2ns 間のタンパク質毎の RMSD の比較

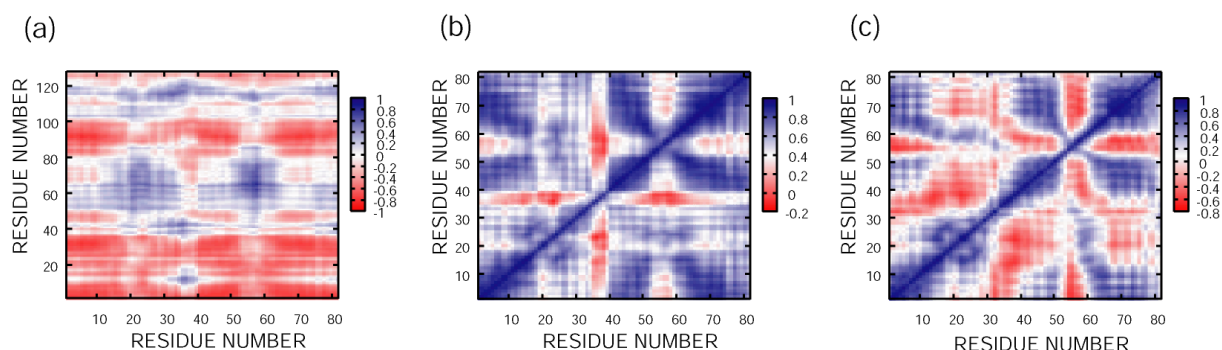


図 3 動的相関図(Dynamical Cross Correlation Map, DCCM) (a)azurin vs cyt551 (b)複合体シミュレーション中のシトクロム c_{551} (c) シトクロム c_{551} 単独シミュレーション

References

- [1] E. I. Solomon, R. K. Szilagy, S. D. George, L. Basumallick, *Chem. Rev.* **104**, 419 (2004).
- [2] H. Nar, A. Messerschmidt, R. Hubewr, *J. Mol. Biol.* **221**, 765 (1991).
- [3] A. Sugiyama, K. Sugimori, H. Kawabe, H. Nagao, K. Nishikawa sanibel2005, **708**, 362 (2005).
- [4] F. Cutruzzola, M. Arese, G. Ranghino, G. van Pouderoyen, G. Canters, M. Brunori, *J. Inorg. Biochem* **88**, 353-361 (2002)
- [5] Chen R, Li L, Weng Z, *Proteins* **52**, 80-87 (2003)
- [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. *Comp. Phys. Commun.* **91**, 141 (1995).