1P16

活性酸素生成酵素の制御機構における p47phox の役割に関する計算化学的検討

○ 渡部洋子[1]、古山通久[1]、久保百司[1,2]、一石英一郎[3]、河野雅弘[3]、宮本　明[1,3]
[1]東北大学大学院工学研究科(〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 07)
[2]科学技術振興機構さきがけ(〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8)
[3]東北大学未来科学技術共同研究センター(〒980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉 10)

【緒言】

食細胞NADPHオキシダーゼは活性酸素を生成し，生体における免疫システムを担っている．そのため本酵素が欠損した慢性肉芽腫症(CGD) では食細胞の殺菌作用が減弱し，細菌や真菌に対する易感染性を来たす．特に細胞質サブユニットの 1 つ $p47^{phox}$ は細胞膜サブユニットと直接相互作用し，酵素活性において重要な役割を果たしている．近年この $p47^{phox}$ についてX線結晶解析により立体構造が決定され，計算化学の手法を取り入れた活性制御機構の考察が可能となった．そこで本研究では活性酸素生成可能な野生型，及びCGD 患者から検出された 3 つの変異体(G192S, G262S, P156Q)に対して，分子の安定性や分子間相互作用の変化について検討を行った．

【計算手法】

計算手法としては分子力学・分子動力学プログラム Impact を用い，溶媒を誘電連続体と見なした Surface Generalized Born (SGB)モデルを適用した．またタンパク質間相互作用の解析には LIGPLOT を用いた．

【結果と考察】

自己阻害型および活性状態における $p47^{phox}$ の SH3 ドメインは，それぞれ自分自身の polybasic 領域および $p22^{phox}$ の細胞質領域を認識して複合体を形成している．自己阻害型 $p47^{phox}$ においては 2 つの SH3 ドメイン(N-SH3 および C-SH3)の両方が polybasic 領域を認識している．これに対し活性状態である $p47^{phox}$-$p22^{phox}$ 複合体においては, $p22^{phox}$ 細胞質領域は主に N-SH3 によって認識されていた(図 1). この様に $p47^{phox}$ の SH3 ドメインは，不活性状態と活性状態において異なる様式でそれぞれのターゲットを認識していることが分かる．

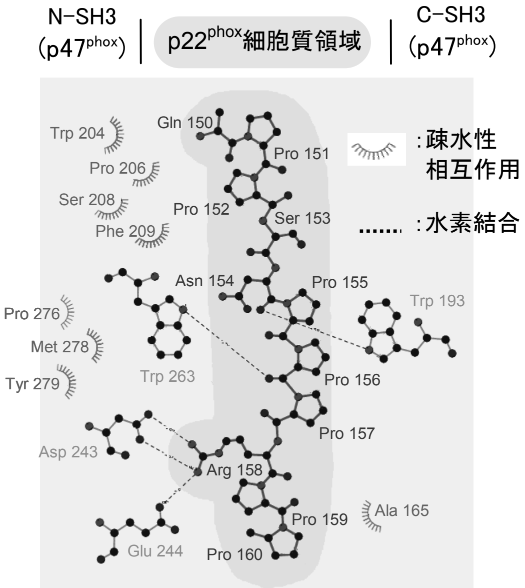

図 1 $p47^{phox}$–$p22^{phox}$ 複合体の分子間相互作用

続いて分子動力学法を用いて，野生型および変異体の分子内相互作用の変化について検討を行った．図2に分子全体の溶媒露出表面積(ASA)の比較を示す.野生型と比較すると G192S および P156Q は ASA が増加する傾向にあり，複合体がほどけていると考えられる．また野生型は時間経過と共に $p22^{phox}$ 細胞質領域が C-SH3 と新たに相互作用を形成していたが，G192S および G262S では C-SH3 との相互作用はほとんど見られなくなっていった．また，P156Q はシミュレーション後半で安定したコンホメーションを形成できなかった．

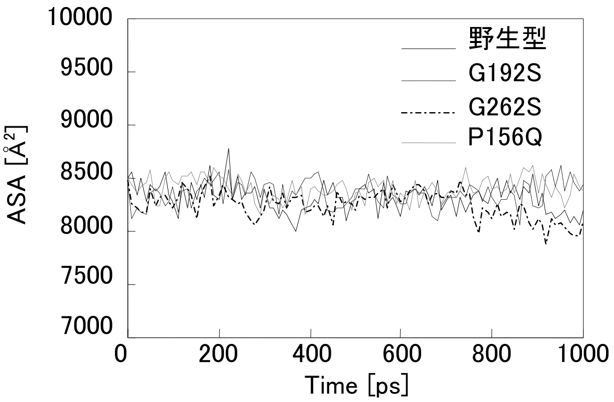

図 2 ASA の比較