

シャペロニンとリガンドの結合における
分子ドッキングアプローチ

依田 ひろみ・河崎 佑輔・小池 あゆみ

[研究論文] シャペロニンとリガンドの結合における 分子ドッキングアプローチ

依田ひろみ¹・河崎佑輔²・小池あゆみ^{2,3}

- 1 教育開発センター
- 2 博士前期課程応用化学・バイオサイエンス専攻
- 3 バイオメディカル研究センター

Molecular docking approaches in chaperonin-ligand binding

Hiromi YODA¹, Yusuke KAWASAKI², Ayumi KOIKE-TAKESHITA^{2,3}

Abstract

The *Escherichia coli* chaperonin GroEL is a virtually cylindrical protein complex composed of two heptameric rings with a 4.5 nm cavity in the center that plays an important role in assisting intracellular protein folding in conjunction with GroES and ATP. We are exploring the utility of this unique structural property of chaperonins as capsules that encapsulate a variety of compounds, including drugs, and facilitate their transport into intracellular organelles.

In the area of molecular research and drug discovery, docking simulations that predict protein-ligand binding interactions have recently become of significant value. This computational approach plays a critical role in speeding up the identification of potential drug candidates and improving our understanding of the fundamental interactions between proteins and small molecules. It stands out as the preferred method for *in silico* evaluation of protein-ligand binding dynamics because it allows binding predictions that are often not feasible in real experiments. We employed this method, which can predict binding interactions that cannot be determined by experimental methods alone, for *in silico* evaluation of protein-ligand binding dynamics to infer the potential of chaperonins as carriers in drug delivery systems (DDS).

Keywords: Docking simulation, GroEL, Chaperonin, Drug delivery, DDS

1. 緒言

大腸菌のシャペロニン (GroEL) は約 60 kD のサブユニットからなる 7 量体のリングが背中合わせに重なったダブルリング構造をしており、各リングは直径 4.5 nm の空洞をもつ (Fig. 1) ¹⁾。1 つのサブユニットは頂点ドメイン、中間ドメイン、および赤道ドメインで構成され、赤道ドメインにはアデノシン三リン酸 (ATP) 結合部位がある。補助因子である GroES は 10 kD のサブユニットからなる 7 量体のドーム型構造をしており、ATP 依存的にダイナミックにサブユニットを伸長した GroEL のリング開口部 (頂点ドメイン) に結合して GroEL/GroES 複合体を形成する。細胞質において GroEL は、リング開口部に基質となる新生ポリペプチドや変性タンパク質を疎水的相互作用で結合する。続いて ATP および GroES を結合すると基質タンパク質の結合部位が GroES に奪われ、GroEL/GroES 複合体の内腔で基質タンパク質は変性状態から正しい構造へフォールディングする。ATP の加水分解が終了すると、内包物 (ADP およびフォールディングしたタンパク質) と GroES を解離し、GroEL は新たな変性ポリペプチドを捕捉して一連の反応サイクルを繰り返す。

シャペロニンのこのような構造と反応機構の特徴を薬剤キャリアに応用するためには、GroEL/GroES 複合体に変性タンパク質の他に化合物等を内包する必要がある。これについては、複数種類の金属ナノ粒子を、2 つの空洞に高効率 (90%以上) で内包させたことが既に報告されており ²⁾、他の化合物も GroEL リング開口部や内側に結合できれば安定に内包できると考えられる。

近年、タンパク質とリガンドの結合を予測するドッキングシミュレーションは、分子研究や創薬の分野で重要なツールとして注目されつつある。タンパク質とリガンドの相互作用の結合親和性や結合様式の理解は、新しい薬剤や医療療法の開発、タンパク質の機能解析、および生物学的プロセスの研究に寄与する ³⁾。ドッキングシミュレーションのメリットは、計算アルゴリズムの最適化による高速性、複雑な計算の支援、再現性のある自動化、視覚的なアウトプットの提供、網羅的な結合予測部位の探索、実験値や文献値に基づくスコアリングの実施、タンパク質やリガンドの柔軟性を加味した現実の生物分子の正確な挙動の予測、および実験のアプローチよりも低コストであること等が挙げられる ⁴⁾。代表的なドッキングソフトウェアには FlexX、GOLD、Glide、AutoDock、RDOCK、LeDOCK、Dock、

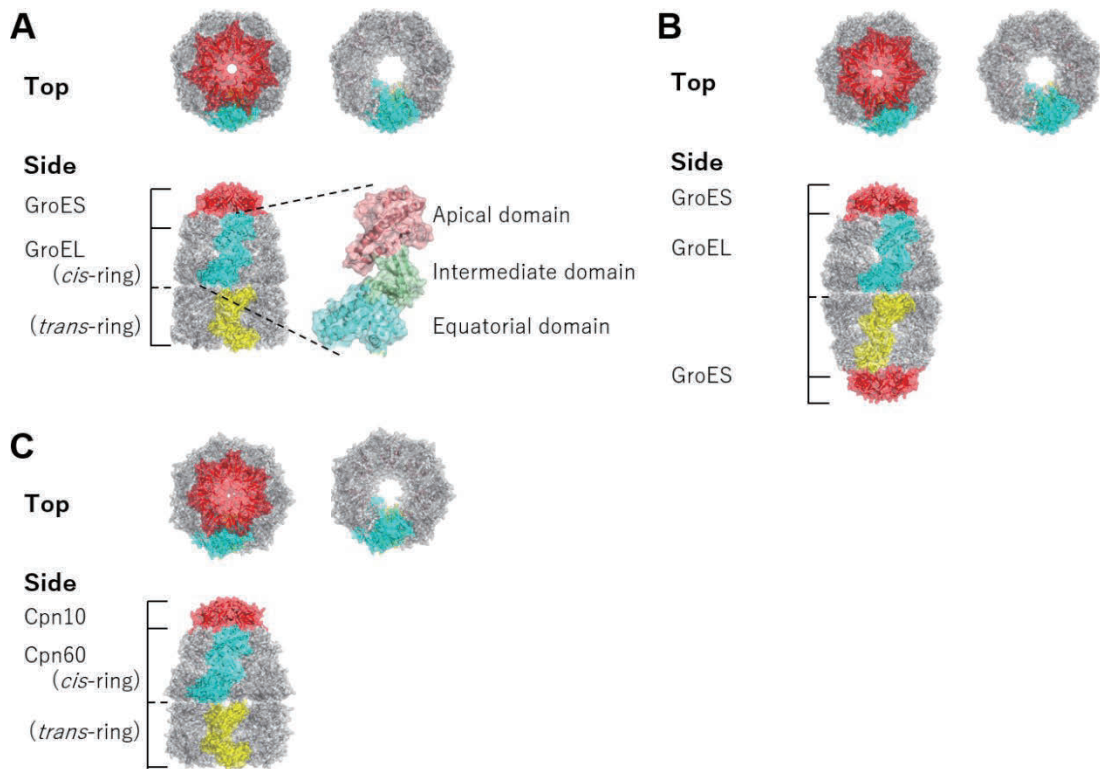


Fig. 1 Structure of the chaperonin complexes.

(A) The bullet-shaped GroEL/GroES/(ADP)₇ complex derived from *Escherichia coli* (PDB ID: 1AON), (B) the football-shaped GroEL/GroES₂/(ATP)₁₄ complex derived from *E. coli* (PDB ID: 3WVL), and (C) the chaperonin Cpn60/Cpn10/(ADP)₇ complex derived from *Thermus thermophilus* (PDB ID: 4V4O). Co-chaperone was represented in red, one subunit of the *cis*-ring of chaperonin in light blue, and one subunit of the *trans*-ring in yellow. In the enlarged view of the subunit of chaperonin, the apical domain was shown in pale pink, the intermediate domain in pale green, and the equatorial domain in pale turquoise.

AutoDock Vina^{5,6)}などがあり、Web ツールでは HDOCK⁷⁾、ZDOCK^{5,8)}、SwissDock⁹⁾、ClusPro¹⁰⁾、LZerD server¹¹⁾などがある。これらのアプリケーションはタンパク質の三次元構造、電荷、水素結合などの情報を利用して、受容体-リガンド間の相互作用エネルギーを計算し、最適な結合モードを予測する。そこでシャペロンタンパク質を受容体タンパク質として、タンパク質分子間、あるいはフラウレン(C₆₀)をリガンドとして AutoDock Vina^{5,12,13)}、HDOCK によるドッキングシミュレーションを行った結果を、実際の実験結果と照らし合わせて洞察した。

2. 方法

2.1. アプリケーション

CPU: Intel Core i7-1165G7、RAM: 16 GB、64 bit OS の Microsoft Windows を搭載したノート PC に AutoDock Vina、AutoDockTools¹⁴⁾、UCSF Chimera¹⁵⁾、および PyMOL¹⁶⁾ をセットアップした。また、AutoDock Vina を Linux 上で動かすため、VirtualBox (<https://www.virtualbox.org/>) と Ubuntu 22.04 LTS (<https://www.ubuntulinux.jp/News/ubuntu2204-jar-emix>) をセットアップした。

2.2. 構造ファイル

RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) より、ドッキングシミュレーションの受容体としてシャペロン複合体 GroEL/GroES/(ADP)₇ 結晶構造 (PDB ID: 1AON)¹⁷⁾、大腸菌由来フットボール型複合体 GroEL/GroES₂/(ATP)₁₄ 結晶構造 (PDB ID: 3WVL)¹⁸⁾、および高度好熱菌由来シャペ

ロン複合体 Cpn60/Cpn10/(ADP)₇ 結晶構造 (PDB ID: 4V4O)¹⁹⁾ の PDBx/mmCIF 形式のタンパク質構造ファイルをダウンロードした。ドッキングシミュレーションのリガンドには C₆₀ の SDF 形式の構造ファイルを 60C Ligand Summary Page (<https://www.rcsb.org/ligand/60C>) よりダウンロードした。

AutoDock Vina の解析空間に PDB ファイルの原子座標を収めるため、PyMOL または UCSF Chimera を使い、PDB ID: 1AON の構造ファイルをもとに A, B, C, D, H, I, M, N 鎖のみからなる GroEL の PDB ファイルを作成した。また、PDB ID: 4V4O の構造ファイルをもとに A, B, G, H, I, M, N 鎖のみからなる Cpn60 の PDB ファイルを作成した。PDB ID: 3WVL からは 14 量体 GroEL₁₄ の PDB ファイルと、既定のサブユニット名を小文字にした c, d, e, f, g, h, i, l, m, n 鎖からなる 10 量体 GroEL₁₀ の PDB ファイルを作成した。

2.3. Autodock Vina によるドッキングシミュレーション

AutoDockTools または UCSF Chimera を用いて各タンパク質構造ファイルに水素および部分電荷の付加を行った。ツール内の Grid Box で解析対象の中心座標 (center) と解析範囲 (size) を設定し、GroEL は center = 48.8748, -49.9507, -24.3304, size = 75.8748, 164.017, 68.7907、Cpn60 は center = 29.1652, -10.5011, -10.979, size = 87.3802, 179.935, 80.5513 とした。これらの Grid Box は *cis*-ring と *trans*-ring のリング界面を境に上下に接している一組のサブユニットを解析空間に収めるものとした。

テキストファイルに次のように記述し、AutoDock Vina のための input ファイルを作成した。

receptor = 任意のファイル名.pdbqt
 ligand = 任意のファイル名.pdbqt
 out = 出力する任意の構造ファイル名.pdbqt
 log = 出力する任意のテキストファイル名.txt
 center_x = Grid Box の center の x 座標
 center_y = Grid Box の center の y 座標
 center_z = Grid Box の center の z 座標
 size_x = Grid Box の size の x 座標
 size_y = Grid Box の size の y 座標
 size_z = Grid Box の size の z 座標
 exhaustiveness = 40
 num_modes = 100
 energy_range = 10

receptor は GroEL または Cpn60 の PDBQT ファイル名、ligand は C60 の PDBQT ファイル名、out および log は解析結果を出力するファイル名を指定した。exhaustiveness は 40、energy_range は 10 kcal 以内、num_modes は 100 を指定した。

指定した PDBQT ファイル、input ファイル、AutoDock Vina の実行ファイル (vina.exe) をひとつのフォルダに収めて Ubuntu のデスクトップに置いた。そのフォルダでターミナルを開いて ./vina--config input.txt とコマンドを入力し、AutoDock Vina を実行した。

2. 4. HDCOK によるドッキングシミュレーション

Receptor に GroEL または Cpn60 を指定した時に Ligand

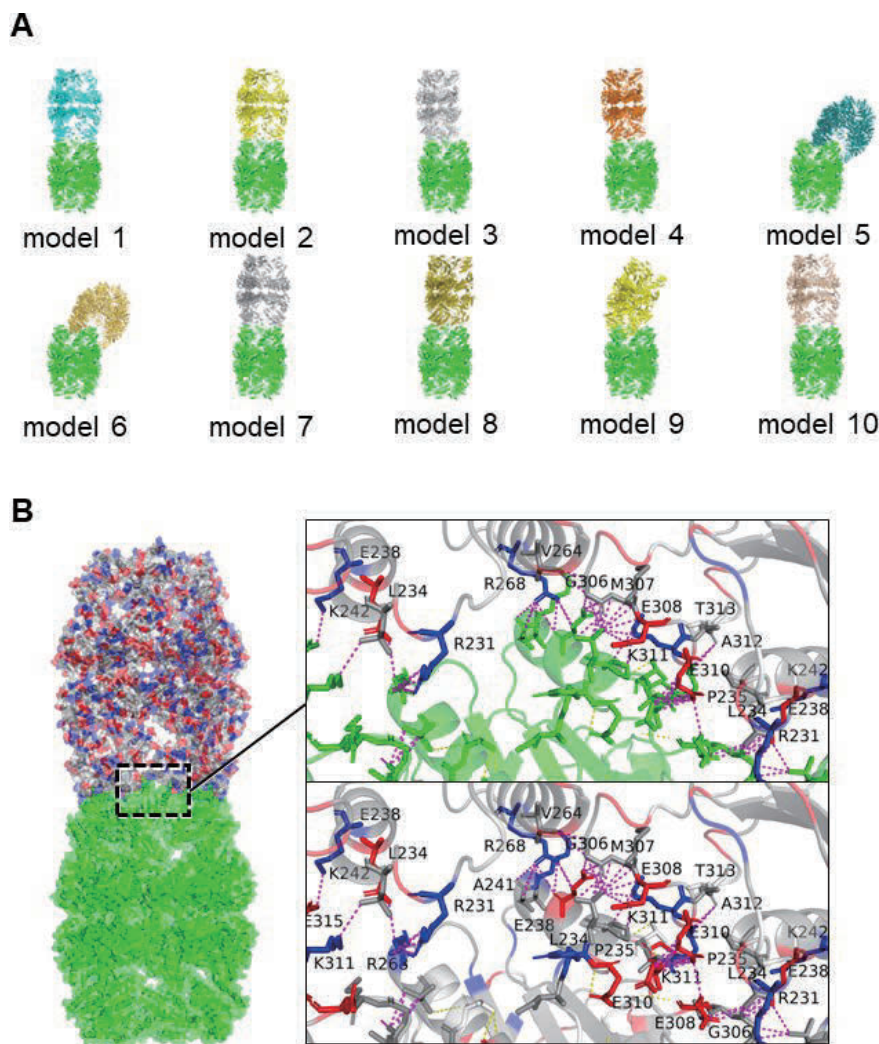


Fig. 2 Docking simulation results between GroELs by HDock

(A) Top 10 docking simulation results of 14-mer GroEL₁₄ and 10-mer GroEL₁₀, (B) enlarged figure of predicted binding sites of GroEL₁₄ and GroEL₁₀ in model 1. In (A), GroEL₁₄ was shown in green, and the location of GroEL₁₀ predicted to bind to GroEL₁₄ was color-coded for each model. In (B), GroEL₁₄ was shown in green, hydrophobic amino acids in GroEL₁₀ was shown in gray, polar uncharged amino acids in white, polar charged acidic amino acids in blue, and basic amino acids in red. In the upper part of the right panel, only for GroEL₁₀, the amino acid properties were color-coded, and the amino acids involved in binding were labeled. In the lower part of the panel, GroEL₁₄ was also color-coded and labeled in the same way. The yellow dashed lines indicated hydrogen bonds between amino acids predicted to be involved in the binding of GroEL₁₄ and GroEL₁₀, and the magenta dashed lines represented other interactions of these amino acids within 4 Å of each other.

を C₆₀ とし、Receptor に 14 量体 GroEL₁₄ を指定した時に Ligand を 10 量体 GroEL₁₀ として解析した。なお、GroEL 同士の結合予測では、Advanced options の Specify the residues of the binding site にて、Receptor binding site residue に 224-278:A, 224-278:B, 224-278:C, 224-278:D, 224-278:E, 224-278:F, 224-278:G、Ligand binding site residue には 224-278:c, 224-278:d, 224-278:e, 224-278:f, 224-278:g を入力し、GroEL₁₄ と GroEL₁₀ の結合を許容するアミノ酸残基の範囲を指定した。

3. 結果と考察

3.1. GroEL 分子間のドッキングシミュレーション

7 量体リングと同等、またはそれ以上の大きさのシャペロニンの構造ファイルは AutoDock Vina の解析範囲を超過するため、14 量体 GroEL₁₄ と 10 量体 GroEL₁₀ のドッキングシミュレーションは HDOCK で行った。結果の公開ページでは上位 100 件までの結合予測モデルが PDB ファイルとしてダウンロードでき、そのうち上位 10 件は受容体とリガンド間の RMSD 5 Å 以内の結合予測部位のアミノ酸の組合せが示された。

結合予測モデルの上位 10 件のドッキングスコアは model 1 (-178.0) から model 10 (-149.72) であり、PyMOL で図示したところ、model 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10 では GroEL₁₀ が GroEL₁₄ の *cis*-ring に対して垂直に、model 5, 6 では GroEL₁₀ の欠損した空間が GroEL₁₄ へ倒れ込むように、model 9 は GroEL₁₀ が GroEL₁₄ からやや浮いた位置に結合が予測された (Fig. 2A)。受容体-リガンド間の RMSD 5 Å 以内の結合予測部位のアミノ酸を精査したところ疎水性アミノ酸と極性アミノ酸がそれぞれ全体の半数程度を占めており、特に GroEL の H, I-helix 表面に露呈している E231, L234, K311 は上位 10 件のモデルすべてに含まれ、GroEL の *cis*-ring 同士の結合に寄与する可能性を示唆した (Fig 2B)。

PDB ID: 3WVL のフットボール型複合体は、GroEL の 2 つのリングが同時に活性化し、14 個のサブユニットが伸長した状態になっている。GroEL のリングは厳密には交互に活性化されると考えられているが、同時に 2 つの GroES を結合できることは以前から報告されている¹⁸⁾。また、過去には GroEL が ATP 存在下で実際にチューブ状に連結することが透過電子顕微鏡で観察されており²⁰⁾、界面活性剤のドデシル硫酸ナトリウムの添加で意図的に GroEL 同士を脱着できることも報告されている²¹⁾。HDOCK による

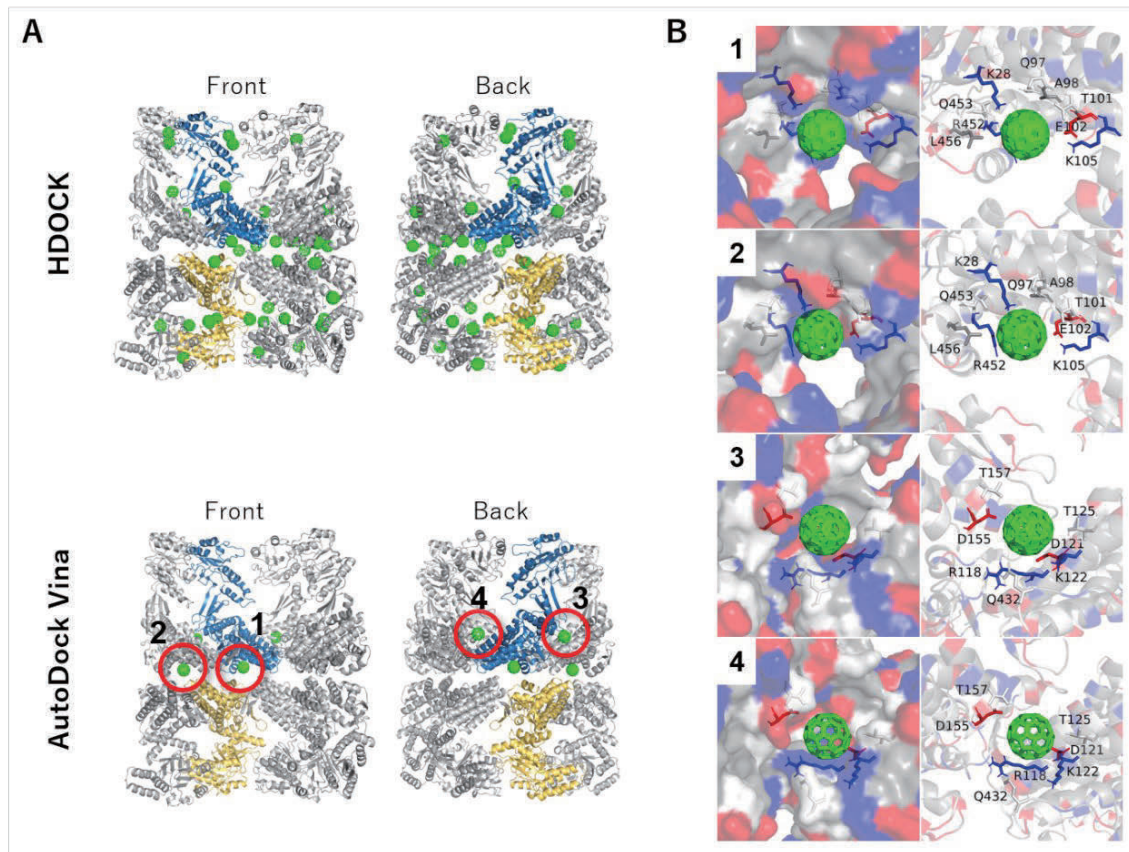


Fig. 3 Docking simulation of GroEL and C₆₀.

(A) Binding prediction sites from 100 simulations performed using HDOCK and AutoDock Vina, (B) predicted amino acids involved in C₆₀ binding at four binding prediction sites identified by AutoDock Vina. In (A), the chain B of the *cis*-ring was shown in teal, the chain N of the *trans*-ring was shown in yellow, and the predicted positions of C₆₀ from 100 simulations were depicted in green. The circles and numbers assigned on the octameric GroEL of AutoDock Vina represented the four C₆₀ binding sites. In (B), the C₆₀ binding sites were indicated as (1) below the chain B of the *cis*-ring, (2) below the chain A of the *cis*-ring, (3) between the equatorial domain of the chains A and B in the *cis*-ring, and (4) between the equatorial domain of the chains B and C in the *cis*-ring. The color coding of amino acids in the octameric GroEL was the same as in Fig. 2B. The left panel showed the surface of protein molecule near the C₆₀ binding site of the 8-mer GroEL, while the right panel showed the amino acids present within 4 Å of C₆₀.

GroEL 分子間のドッキングシミュレーションの結果は、これらの結合相互作用を予測しているとともに現象の解明に役立つ情報を提供するといえる。

3.2. シャペロニン-リガンド間のドッキングシミュレーション

GroEL と C₆₀ のドッキングシミュレーションについて、HDOCK と AutoDock Vina の結果を示す構造ファイルを Fig. 3A に示した。14 量体 GroEL の PDB ファイルは原子座標の一部が AutoDock Vina で解析できる座標の範囲を超えるため通常では予測を行えないが、GroEL の 7 回対称性の構造を利用してサブユニットを一部削除すること、さらに Grid Box で解析範囲を限定することによって実行することが可能となった。HDOCK による C₆₀ 結合の 100 件の予測部位は、上位 20 位まではリング界面、以後 40 位までは *cis*-ring の頂点ドメイン、50 位までは *trans*-ring の中間ドメイン、100 位までは *cis*-ring または *trans*-ring の赤道ドメインに集中した。*cis*-ring では、頂点ドメインで 5 か所、中間ドメインで 2 か所、赤道ドメインで 3 か所がサブユニットごとに現れ、そのいずれもサブユニット界面であった。リング界面では複数のサブユニットにまたがって 11 か所が予測された。*trans*-ring では 8 量体 GroEL の端に位置するサブユニットの赤道-中間ドメイン間に 1 か所、4 つのサブユニットの中間-頂点ドメイン間で計 10 か所、頂点ドメインでは計 3 か所が予測された。HDOCK によるシミュレーションは、結合予測された上位の順位から、C₆₀ が GroEL のリング界面に結合しやすいことを暗示したといえる。

AutoDock Vina による上位 100 件の C₆₀ 結合予測部位は、上位 50 位まではリング界面、以後 100 位までは *cis*-ring のサブユニット界面に集中した。これらの結合予測部位は大きく分けて 4 つに集約され、(1) *cis*-ring の B 鎖下に 28 件、(2) *cis*-ring の A 鎖下に 32 件、(3) *cis*-ring の赤道ドメインの A-B 鎖間に 24 件、(4) *cis*-ring の赤道ドメインの B-C 鎖間に 16 件予測された (Fig. 3)。それぞれの結合熱量 (kcal/mol) は順に -11.42 ± 0.1475 , -11.24 ± 0.1794 , -11.01 ± 0.05036 , -10.96 ± 0.07188 であった。GroEL は 7 回対称性の分子であるため、異なるサブユニット間でも同じドメインに予測された結合部位では類似の分子間相互作用が働くと考えられることから、AutoDock Vina では *cis*-ring 寄りのリング界面に C₆₀ が結合しやすいことを示したといえる。

AutoDock Vina と HDOCK の結合予部位が重複した位置は C₆₀ が結合する可能性が高いと考え、AutoDock Vina でアウトプットされた構造ファイルをもとに、C₆₀ の結合に関与するアミノ酸を PyMOL で探索した (Fig. 3B)。各所の C₆₀ 予測結合部位で最も結合熱量が低い C₆₀ を選び、一般に分子間相互作用が生じるとされる 4 Å 以内の GroEL のアミノ酸側鎖を表示したところ、予測部位の (1) では B 鎖の K28, Q97, A98, T101, Q435, R452, L456 の 7 アミノ酸、(2) では A 鎖の K28, Q97, A98, T101, E102, K105, Q435,

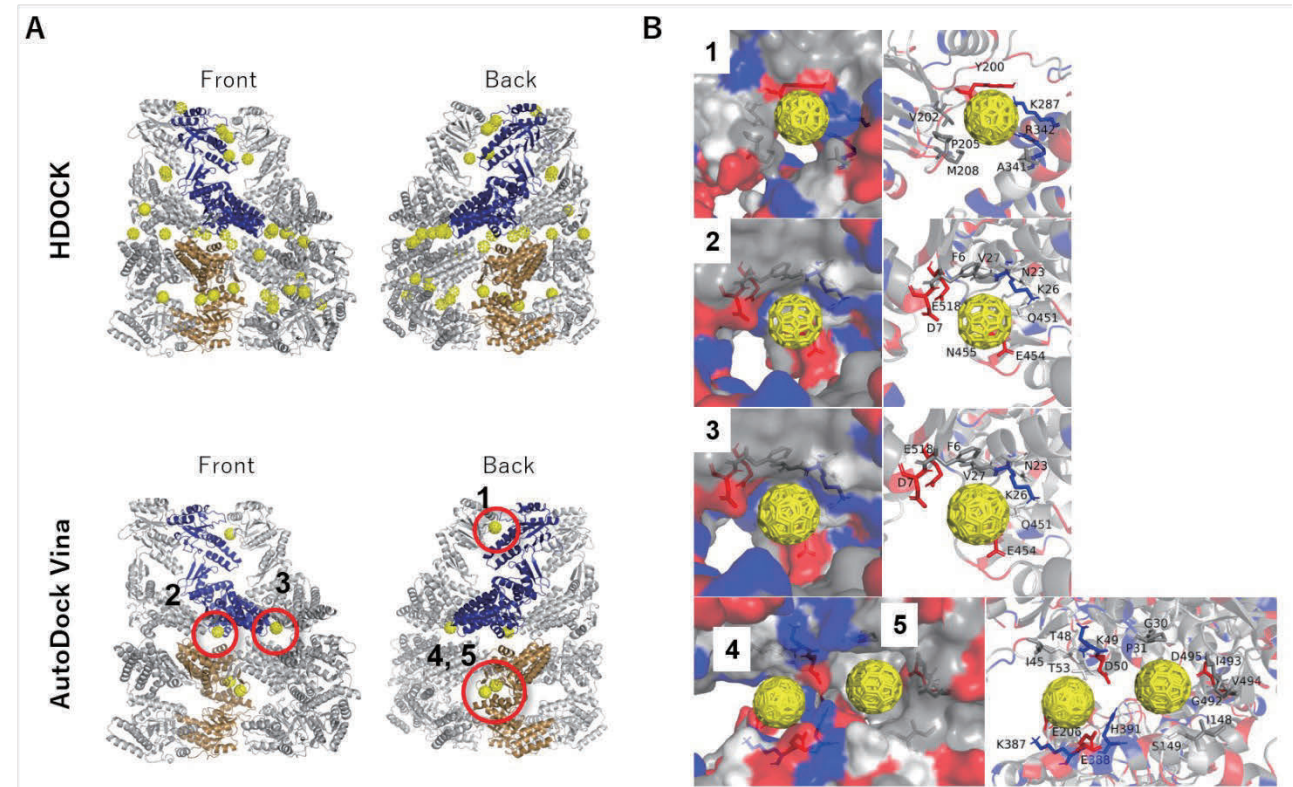


Fig. 4 Docking simulation of the 7-mer Cpn60 and C₆₀.

(A) Binding prediction sites from 100 simulations performed using HDOCK and AutoDock Vina, (B) predicted amino acids involved in C₆₀ binding at five binding prediction sites identified by AutoDock Vina. In (A), the chain A of the *cis*-ring was shown in navy blue, the chain H of the *trans*-ring was shown in brown, and the predicted positions of C₆₀ from 100 simulations were depicted in yellow. The circles and numbers assigned on the heptameric Cpn60 of Autodock Vina represented the five C₆₀ binding sites. In (B), the C₆₀ binding sites were indicated as (1) between the apical domains of chains A and B in the *cis*-ring, (2) between chains A and B at the ring interface, (3) between chains A and G at the ring interface, and (4) inside and (5) outside of the intermediate domain of the chain N in the *trans*-ring. The color coding of amino acids in the 7-mer Cpn60 was the same as in Fig. 2B.

R452, L456 の 7 アミノ酸、(3) では A 鎖の R118, D121, K122, T125, Q432 と B 鎖の D155, T157 の 9 アミノ酸、(4) では B 鎖の R118, D121, K122, T125, Q432 と C 鎖の D155, T157 の 7 アミノ酸が示された。部位の (1, 2)、(3, 4) はそれぞれ類似の C₆₀ 結合予測であるため、表示されたアミノ酸側鎖はほぼ重複したが、リング界面の *cis-ring* 側の部位である (1, 2) では酸性アミノ酸、中性アミノ酸、疎水性アミノ酸が 1/3 程度ずつ C₆₀ 結合に関与する予測であるのに対し、赤道ドメイン付近のサブユニット間の部位である (3, 4) では塩基性アミノ酸、酸性アミノ酸、中性アミノ酸が 1/3 程度ずつ関与する予測であった。サブユニットに挟まれた部位では C₆₀ の 4 Å 以内に疎水性アミノ酸は表示されなかったが、極性アミノ酸で取り囲まれる空間でも C₆₀ が入り込んで留まる可能性があるのかもしれない。

次に、Cpn60 と C₆₀ のドッキングシミュレーションについて、HDOCK と AutoDock Vina を用いて行った (Fig. 4A)。GroEL 同様、Cpn60 もサブユニットの一部削除と解析範囲の限定により AutoDock Vina を実行することが可能となった。HDOCK による C₆₀ 結合の 100 件の予測部位は、上位 20 位まではリング界面、以後 100 位までの多くが *trans-ring* の中間ドメインに集中し、しばしば *cis-ring* の頂点ドメインまたは *trans-ring* の赤道ドメインの部位も予測された。これらの予測部位は計 32 か所に分かれ、*cis-ring* の A-B 鎖間、*cis-ring* と *trans-ring* のリング界面、*trans-ring* の中間ドメインに集中した。

AutoDock Vina による 100 件の C₆₀ 結合予測部位は、上位 50 位までは *trans-ring*、以後 60 位まではリング界面、以後 100 位までは *cis-ring* または *trans-ring* のサブユニット界面に集中し、計 5 か所に分かれた。同じ予測部位の件数と平均結合熱量±標準偏差 (kcal/mol) は、(1) *cis-ring* 頂点ドメインの A-B 鎖間が 15 件で -11.8 ± 0.0828 、(2) 界面の A-B 鎖間が 16 件で -11.9 ± 0.0931 、(3) 界面の A-G 鎖間が 5 件で -11.8 ± 0.1304 、(4) *trans-ring* の N 鎖の中間ドメイン内腔側が 47 件で -12.4 ± 0.0956 、(5) *trans-ring* の N 鎖の中間ドメイン外側が 17 件で -11.8 ± 0.0772 であり、*trans-ring* の中間ドメイン内腔側が最も結合しやすい部位であることが予測された (Fig. 4B)。

AutoDock Vina の 5 か所の予測結果は HDOCK の予測部位の一部とほぼ重複したため、AutoDock Vina のアウトプットファイルを用いて C₆₀ 結合予測部位から 4 Å 以内の Cpn60 のアミノ酸を探索した (Fig. 4)。予測部位の (1) では A 鎖の K287, A341, R342、B 鎖の Y200, V202, P205, M208 の 7 アミノ酸、(2) では A 鎖の F6, D7, E518、B 鎖の N23, K26, G26, Q451, E454 の 8 アミノ酸、(3) では A 鎖の N23, K26, V27, Q451, E454, N455、G 鎖の E518, F533, D534 の 9 アミノ酸、(4) では N 鎖の I45, T48, K49, D50, T53, E206, K387, E388, H391 の 9 アミノ酸、(5) では N 鎖の G30, P31, I148, S149, G492, I493, V494, D495 の 8 アミノ酸が示された。部位の (1, 5) では疎水性アミノ酸が、(2, 3, 4) では極性アミノ酸が半数以上を占めており、疎水性アミノ酸だけでなく極性アミノ酸も C₆₀ の捕捉に寄与する可能性が示された。

GroEL または Cpn60 と C₆₀ の各ドッキングシミュレーションは、HDOCK と Autodock Vina で類似の結果を示したといえる。また、C₆₀ は、GroEL と Cpn60 のリング界面に結合しやすい可能性が暗示され、GroEL では *cis-ring* 寄りのリング界面にいつそう結合しやすく、Cpn60 ではリング界面だけではなく *trans-ring* 側にも結合しやすいことが予測された。今回のドッキングシミュレーションにはシャペロニンの片方のリングにだけ ADP を結合している弾丸型複合体の構造ファイルを使用したため、タンパク質が結合するヌクレオチドがリガンドの結合に影響を与える可能性が考えられた。

GroEL のタンパク質分子は、赤道ドメインにある ATP 結合部位のアミノ酸置換によって ATP 加水分解時間を調節できることがわかっている。52、398 番目の Asp を Ala へと二重置換した GroEL^{D52,398A} 変異体は、通常 8 秒間の ATP 加水分解時間を最長 12 日間まで延長したことが報告されている^{18,22}。また、アミノ酸配列の末端を分子の外側に向けている GroES は遺伝子工学的に機能性ペプチドを付加しやすい。タンパク質の構造と機能を利用して形成されたシグナル配列融合 GroES/GroEL^{D52,398A} 複合体は、培養細胞の培地添加後、最速 5 時間程度で細胞核に到達したことを我々は確認している²³。疎水性化合物の代表ともいえる C₆₀ とシャペロニンのドッキングシミュレーションの結果は、GroEL や Cpn60 が疎水性化合物をそのまま内包できる可能性を予測したが、実際に我々は GroEL-C₆₀ 複合体にすることで、C₆₀ の細胞送達効率が上昇する実験結果を得ている。この計算的アプローチは、水溶性環境で分散しにくい薬剤を分散、徐放、送達する薬剤キャリアとしてシャペロニンを利用する際、内包できる薬剤候補の選定に役立つだろう。

4. 結論

フットボール型 GroEL/GroES 複合体の結晶構造 (PDB ID: 3WVL) を用いた GroEL 同士のドッキングシミュレーションでは GroEL が頂点ドメインの H, I-helix 付近で互いに結合することが予測され、実際の実験でしばしば観察される試料中の GroEL 同士が結合する現象を支持するものと考えられた。GroEL (PDB ID: 1AON) または Cpn60 (PDB ID: 4V4O) と C₆₀ のドッキングシミュレーションでは、シャペロニンがリング界面や *trans-ring*、あるいは *cis-ring* のサブユニット間で疎水性化合物である C₆₀ を結合できることが予測された。これは、実際の実験結果を裏付ける計算的アプローチとして、あるいは実験プロセスを効率化し加速する仮想的調査としてドッキングシミュレーションが活用できる可能性を示すものである。

参考文献

- [1] 小池あゆみ, 田口英樹: 第 6 章 フォールディング ④ 分子シャペロン, 後藤祐児, 桑島邦博, 谷澤克行, 化学同人, 291-302, (2005).
- [2] Hiromi Yoda and Ayumi Koike-Takeshita: TEM and STEM-EDS evaluation of metal nanoparticle encapsulation in GroEL/GroES complexes according to the reaction mechanism of chaperonin, *Microscopy*, **70**, 289-296, (2021).
- [3] Guilin Chen, Armel Jackson Seukep, and Mingquan Guo: Recent advances in molecular docking for the research and discovery of potential marine drugs, *Marine drugs*, **18**, 545, (2020).
- [4] Izaz Monir Kamal and Saikat Chakrabarti: MetaDOCK: A Combinatorial Molecular Docking Approach, *ACS omega*, **8**, 5850-5860, (2023).
- [5] Jiyu Fan, Ailing Fu, and Le Zhang: Progress in molecular docking, *Quantitative Biology*, **7**, 83-89, (2019).
- [6] 柳澤浜甫: タンパク質立体構造情報を用いた薬剤パーチャルスクリーニング, *JSBi Bioinformatics Review*, **2**, 76-86, (2021).
- [7] Yumeng Yan, Di Zhang, Pei Zhou, Botong Li, and Sheng-You Huang: HDOCK: a web server for protein-protein and protein-DNA/RNA docking based on a hybrid strategy, *Nucleic acids research*, **45**, W365-W373, (2017).
- [8] Brian G. Pierce, Kevin Wiehe, Howook Hwang, Bong-Hyun Kim, Thom Vreven, and Zhiping Weng: ZDOCK server: interactive docking prediction of protein-protein complexes and

- symmetric multimers, *Bioinformatics*, **30**, 1771-1773, (2014).
- [9] Aurelien Grosdidier, Vincent Zoete, and Olivier Michielin: SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS, *Nucleic acids research*, **39**, W270-W277, (2011).
- [10] Dima Kozakov, Dmitri Beglov, Tanggis Bohnuud, Scott E. Mottarella, Bing Xia, David R. Hall, and Sandor Vajda: How good is automated protein docking?, *Proteins*, **81**, 2159-2166, (2013).
- [11] Charles Christoffer, Siyang Chen, Vijay Bharadwaj, Tunde Aderinwale, Vidhur Kumar, Matin Hormati, and Daisuke Kihara: LZerD webserver for pairwise and multiple protein-protein docking, *Nucleic acids research*, **49** W359-W365, (2021).
- [12] Oleg Trott and Arthur J. Olson: AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, **31**, 455-461, (2010).
- [13] Jerome Eberhardt, Diogo Santos-Martins, Andreas F. Tillack, and Stefano Forli: AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and python bindings, *Journal of chemical information and modeling*, **61**, 3891-3898, (2021).
- [14] Garrett M. Morris, Ruth Huey, William Lindstrom, Michel F. Sanner, Richard K. Belew, David S. Goodsell, and Arthur J. Olson: AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of computational chemistry*, **30**, 2785-2791, (2009).
- [15] Eric F. Pettersen, Thomas D. Goddard, Conrad C. Huang, Gregory S. Couch, Daniel M. Greenblatt, Elaine C. Meng, and Thomas E. Ferrin: UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis, *Journal of computational chemistry*, **25**, 1605-1612, (2004).
- [16] Warren L. DeLano: "Pymol: An open-source molecular graphics tool, " *CCP4 Newsl. Protein Crystallogr.*, **40**, 82-92, (2002).
- [17] Zhaohui Xu, Arthur L. Horwich, and Paul B. Sigler: The crystal structure of the asymmetric GroEL–GroES–(ADP)₇ chaperonin complex, *Nature*, **388**, 741-750, (1997).
- [18] Ayumi Koike-Takeshita, Takatoshi Arakawa, Hideki Taguchi, and Tatsuro Shimamura: Crystal structure of a symmetric football-shaped GroEL:GroES₂-ATP₁₄ complex determined at 3.8 Å reveals rearrangement between two GroEL rings, *Journal of Molecular Biology*, **426**, 3634-3641, (2014).
- [19] Tatsuro Shimamura, Ayumi Koike-Takeshita, Ken Yokoyama, Ryoji Masui, Noriyuki Murai, Masasuke Yoshida, Hideki Taguchi, and So Iwata: Crystal structure of the native chaperonin complex from *Thermus thermophilus* revealed unexpected asymmetry at the *cis*-cavity, *Structure*, **12**, 1471-1480, (2004).
- [20] Jesse R. Harris, Andreas Plückthun, and Ralph Zahn: Transmission electron microscopy of GroEL, GroES, and the symmetrical GroEL/ES complex, *Journal of structural biology*, **112**, 216-230, (1994).
- [21] Jin Chen, Hisashi Yagi, Yuji Furutani, Takashi Nakamura, Asumi Inaguma, Hao Guo, Yan Kong, and Yuji Goto: Self-assembly of the chaperonin GroEL nanocage induced at submicellar detergent, *Scientific Reports*, **4**, 5614, (2014).
- [22] Ayumi Koike-Takeshita, Kaoru Mitsuoka, and Hideki Taguchi: Asp-52 in combination with Asp-398 plays a critical role in ATP hydrolysis of chaperonin GroEL, *Journal of Biological Chemistry*, **289**, 30005-30011, (2014).
- [23] 医療技術の革新に貢献するバイオ機能材料開発の研究拠点形 (事業番号: S1511019L) : 平成 27 年度~令和元年度 研究成果報告書, 神奈川工科大学, (2020), <https://www.kait.jp/topics/senryaku/news/news.html?id=147>, (参照 2023-9-30).

研究推進機構

機 構 長 脇田 敏裕

機構企画室長 井藤 晴久

神奈川工科大学研究報告

B-48 理工学編 通巻 48 号

令和 6 年 3 月 1 日 発行

編集兼発行者 神 奈 川 工 科 大 学

〒 243-0292 神奈川県厚木市下荻野1030

電 話 046-241-6221

印 刷 者 株式会社スクールパートナーズ

当該研究報告に掲載された論文の著作権は本学に帰属する。