

拟南芥 TIR1 与生长素 IAA 相互作用的 分子对接及分子动力学研究

王 腾, 孙宏伟, 陈 兰, 沈荣欣, 赖城明
(南开大学化学学院, 天津 300071)

摘要 基于最新得到的拟南芥运输抑制剂响应蛋白质 1 (TIR1) 与吲哚乙酸 (IAA) 复合物的晶体结构, 使用分子对接方法和分子动力学方法对 TIR1 与生长素 IAA 相互作用的方式进行了研究. 分子对接结果表明, 通过逐级考察辅酶 InsP₆ 和中心水分子的影响, 发现辅酶 InsP₆ 和中心水分子对生长素 IAA 正确结合到活性位点有重要作用. 分子动力学结果表明, 复合物体系在整个模拟过程中较为稳定, 2 个水分子相继作为中心水分子与生长素 IAA 形成了稳定的氢键作用, IAA 与活性位点处残基的相互作用与晶体结构相比略有差异.

关键词 拟南芥 TIR1; 吲哚乙酸 (IAA); 辅酶 InsP₆; 分子对接; 分子动力学模拟

中图分类号 O641 **文献标识码** A **文章编号** 0251-0790(2009)09-1835-04

生长素是与植物生长等密切相关的重要激素. 2005 年, Estelle 和 Leyser 等^[1,2] 同时宣布发现了生长素受体——F-盒式蛋白质 TIR1. 2007 年郑宁等^[3] 得到了拟南芥 TIR1-ASK1 与生长素吲哚乙酸 (IAA) 复合物的晶体结构. TIR1 和 ASK1 蛋白是植物中 SCF (Skp1-Cdc53/Cul1-F-box protein)^{TIR1} 复合物的组成部分, 生长素与 TIR1 直接结合. 本文应用分子对接和分子动力学方法研究了 TIR1 与生长素 IAA 作用方式, 为新型生长素的发现及基于受体结构的计算机虚拟筛选工作提供理论依据.

1 计算方法

1.1 分子对接计算

受体结构取自晶体结构 (PDB 代号 2P1P). 由于 ASK1 与生长素没有直接作用, 为简化起见, 利用 Swiss-PDBViewer 软件包^[4] 除去 ASK1, 并补全 TIR1 中缺失的残基. 使用 AutoDockTools 软件包^[5] 加氢, 并赋予 Kollman 电荷. 辅酶 InsP₆、中心水分子和 IAA 使用 AutoDockTools 软件包加氢后并赋予 Gasteiger 电荷. 生长素 IAA 的结构式如图 1 所示. 分子对接采用 Autodock 3.05 程序^[6] 进行, 参数条件与文献^[7] 相同, 选择位置的均方根偏差 RMSD ≤ 0.15 nm 作为评价标准, 对 100 个对接结果进行聚类分析.

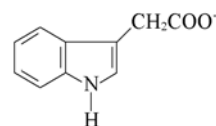


Fig. 1 Structure of auxin molecule IAA

1.2 分子动力学计算

使用 NAMD 2.5 程序^[8] 和 CHARMM22 全原子力场^[9], 以 InsP₆ 和 IAA 的晶体结构为初始构象, 使用 Gaussian 03 软件包, 在 HF/6-31G* 水平上进行优化并计算静电势拟合电荷^[10]. 在 NPT 系综下进行模拟, 温度为 298.15 K, 压力为 1.025 × 10⁵ Pa. 积分步长为 2 fs, 每 500 步取一个点进行轨迹分析, 先对体系进行 2000 步的优化, 然后进行 1.5 ns 的动力学模拟. 计算在“南开之星”超级计算机上完成.

2 结果与讨论

2.1 TIR1 与 IAA 的对接计算

从晶体结构得知活性位点中心存在一分子水, 辅酶 InsP₆ 与生长素分子没有直接作用, 为了研究

收稿日期: 2008-09-25.

基金项目: 国家高技术研究发展专项经费 (批准号: 2006AA10A213) 和南开大学“南开之星”高性能计算项目资助.

联系人简介: 孙宏伟, 男, 博士, 教授, 主要从事分子模拟及结构化学研究. E-mail: sunhw@nankai.edu.cn

辅酶和水分子对 IAA 结合到活性位点所起的作用, 对接计算分别考虑了 3 种情况: (1) 不加辅酶和中心水分子; (2) 只加辅酶不加中心水分子; (3) 辅酶和水分子都加入. 计算结果(图 2)表明, 不加入辅酶和中心水分子时, 100 次对接结果中有 93 次 IAA 完全不能对接到活性位点, 而是进入到活性位点附近的一个“口袋”内, 晶体结构中辅酶 InsP_6 正好处于这个非活性“口袋”的入口处. 在加入辅酶和中心水分子后, IAA 可以正确地对接到活性位点处, 且 100 次独立对接聚类均为同一类簇, 结果与晶体构型基本吻合. 比较两种对接的第一类簇的平均对接能和最低能量构象的对接能可以发现, 从能量上看, IAA 更倾向于进入到非活性位点的“口袋”内, 但辅酶将这个“口袋”的入口堵住, 使 IAA 不能进入, 只能进入到活性口袋内. 这可能就是辅酶 InsP_6 对生长素结合到活性位点处所起的作用. 若只加入辅酶而不加入中心水分子, 100 次独立对接的构象可分为两簇, 两者构型相差较大. 与同时加入辅酶和水分子的对接结果相比, 中心水分子对 IAA 与受体结合存在一定的影响, 主要是因为水分子与 IAA 的羧基氧原子有一定的氢键作用, 有利于 IAA 与受体的结合.

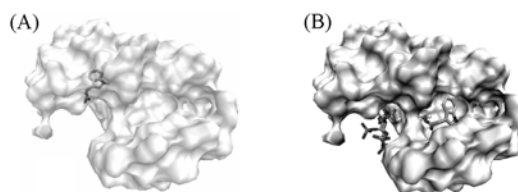


Fig. 2 Interaction information between TIR1 and IAA

(A) Without InsP_6 and central water molecule;

(B) with InsP_6 and central water molecule.

2.2 TIR1 与 IAA 复合物的分子动力学模拟

2.2.1 模拟体系的动力学稳定性 使用 VMD 程序^[11]分析模拟轨迹文件, 得到蛋白质 TIR1 主链、IAA 以及 InsP_6 中的非氢原子位置随时间变化的均方根偏差(RMSD). 可以看出, 蛋白质体系在开始阶段有些波动, RMSD 呈上升趋势; 大约在 1200 ps 以后, 受体基本达到平衡, RMSD 值保持在 0.23 nm 附近. 而 IAA 和 InsP_6 分别在 400 和 600 ps 时达到平衡, RMSD 值分别保持在 0.02 和 0.13 nm 附近. 这说明了在 1200 ps 以后, 整个体系达到动力学平衡.

2.2.2 活性位点重要氨基酸残基的稳定性 从复合物晶体结构可知, 生长素 IAA 可以通过羧基上的 2 个氧原子及吡啶环上的 NH 基团与活性位点处的 Arg403, Ser438, Leu439 这 3 个氨基酸形成 4 个氢键, 且吡啶环上的苯环区与 Phe79 和 Phe82 有疏水相互作用, 这些都对 IAA 稳定结合到活性位点起到重要作用. 图 3 给出了这几个重要残基非氢原子的 RMSD 值随时间的变化情况.

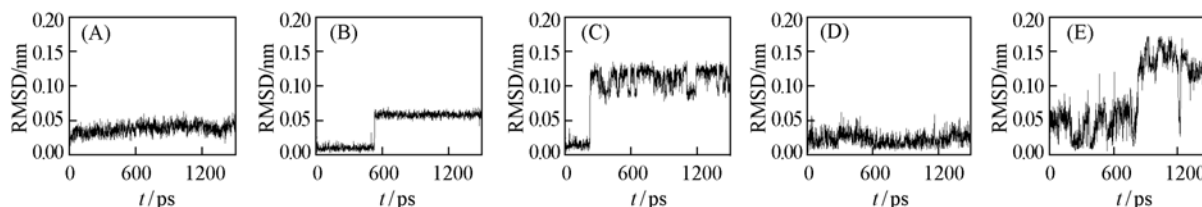


Fig. 3 RMSD of Arg403 (A), Ser438 (B), Leu439 (C), Phe79 (D) and Phe82 (E) compared with the crystal structures

从图 3 看出, 残基 Arg403 在整个模拟过程中比较稳定, RMSD 始终保持在 0.04 nm 附近, 这主要是由于 Arg403 与 IAA 形成了 2 个氢键的结果. 在前 522 ps 内残基 Ser438 的 RMSD 值在 0.01 nm 附近, 但于 522 ps 处发生了构象变化, 然后一直保持在 0.06 nm 附近. 模拟轨迹表明, 此构象变化对应于羟基氧原子位置的变动, 从而引起 C—O 键指向的变化. 晶体结构表明, IAA 羧基上的一个氧原子可以与 Ser438 上的羟基形成氢键, 所以此构象变化可能是为形成更有利的氢键作用而形成. 在 224 ps 以后, 残基 Leu439 的 RMSD 值发生了较大变化, 主要是由其侧链异丁基的构象变化引起的. 残基 Phe79 在模拟过程中较为稳定, 但其侧链苯环与晶体结构相比有一定程度的翻转; Phe82 的 RMSD 变化较大, 主要是由其侧链中苯环的翻转引起的. 这些都可能引起 IAA 与氨基酸残基之间疏水作用的改变.

2.2.3 生长素 IAA 与中心水分子的相互作用 对接结果表明, 中心水分子对 IAA 与受体的结合有一定的影响. 由于水分子的流动性, 它的作用在实验上很难得到确认, 分子动力学模拟则可以有效地解决这个问题. 通过观察动力学过程回放, 以及使用 Gopenmol 软件^[12,13]监控相关的距离和角度数据发现, 在整个模拟过程中有 2 个水分子(W1 和 W2)相继作为中心水分子与生长素 IAA 的一个羧基氧原

子(OA)产生了氢键相互作用. 从 94 ps 开始到 1028 ps, W1 和 IAA 的 OA 有氢键相互作用, W1O 与 IAA 的 OA 间距离大约保持在 0.25 ~ 0.30 nm 之间; 从 1028 ps 到 1500 ps 结束, W2 取代了 W1 的位置和 IAA 的 OA 形成氢键相互作用. 分别研究了 2 个水分子与 IAA 的作用, 结果表明, 水分子的 2 个氢原子(H1 和 H2)交替与 IAA 的羧基氧原子作用. 为直观地表现水分子中氢原子与羧基氧原子的相互作用, 提取每一时刻 W1 和 W2 中最近的 WH 与 OA 的距离, 以及与之对应的 WO—WH—OA 角度和 WO—OA 的距离, 得到图 4. 可以看出, 模拟从 94 ps 开始到 1500 ps 结束, WO 与 OA 的距离保持在 0.25 ~ 0.30 nm 之间, WH 与 OA 的距离保持在 0.2 nm 附近, 对应的夹角 WO—WH—OA 在 160° 左右, 中心水分子与 IAA 的羧基氧原子形成了稳定的氢键作用, 保证羧基的取向及其结构的动力学稳定性, 从而促进 IAA 的羧基与 Arg403 和 Ser438 等残基的相互作用, 使其能够正确结合到活性位点处.

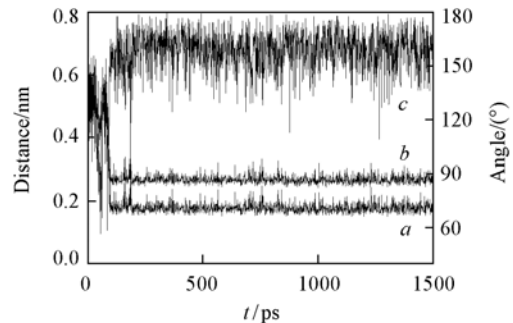


Fig. 4 Time dependence of WH—OA(a), WO—OA(b) and WO—WH—OA(c)

2.2.4 模拟体系的平均构型分析 根据前面的分析, 体系在 1200 ps 以后基本达到平衡, 使用 Gopenmol 软件提取了 1200 ~ 1500 ps 的平均构型作为平衡构型. 模拟后的平均构型与晶体构型基本保持一致, α -螺旋和 β -折叠等二级结构没有发生大的变化, 构型比较稳定.

2.2.5 平均构型中生长素 IAA 与受体的相互作用方式 使用 Ligplot 程序^[14]分析得到平均构型中生长素 IAA 与受体 TIR1 之间的氢键及疏水作用[图 5(A)]. 同晶体构型相比, 与 IAA 存在氢键作用的残基缺少了 Leu439, 而疏水作用残基缺少了 Ser462, Val463 和 Ala464 等. 进一步比较晶体构型[图 5(B)]和平衡构型[图 5(C)]中活性位点处的三维结构发现, 模拟得到的结构中生长素 IAA 的羧基以及吲哚环的取向与晶体结构相比有一定的差异. 观察动力学模拟过程的回放发现, 羧基绕 C—C 键的旋转幅度并不大, 在整个模拟过程中比较稳定; 而吲哚环平面以 C—C 键为轴摆动程度较大, 与晶体结构差异比较明显. 在平均结构中羧基上的 2 个 O 原子略微更接近残基 Arg403 和 Ser438, 而吲哚环上的 N 原子在一定程度上远离了残基 Leu439, 这一点从氢键供体和氢键受体原子间的距离就可以看出. 因此造成了 IAA 吲哚环上的 N 原子与 Leu439 上的羰基 O 原子距离变大, 无法形成比较强的氢键作用; 同时由于吲哚环取向的影响, IAA 不能形成与残基 Ser462, Val463 和 Ala464 等的疏水相互作用.

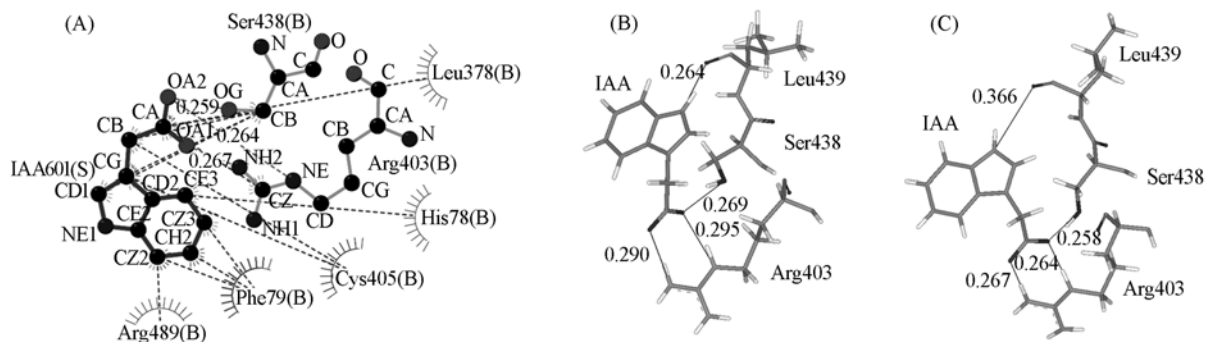


Fig. 5 2D and 3D schemes of interaction between IAA and surrounding TIR1 residues

(A) Represents the average structure; (B) represents the crystal structure; (C) represents the average structure. Distance in unit nm.

使用 Gopenmol 软件统计了整个模拟过程中 IAA 的 OA1 与 Arg403 的 NH2、IAA 的 OA2 与 Arg403 的 NE、IAA 的 OA2 与 Ser438 的 OG 以及 IAA 的 NE1 与 Leu439 的 O 之间的距离随时间的变化情况(具体的原子编号详见图 5), 结果表明, 前 3 对原子间的距离在整个模拟过程中都比较稳定, 保持在 0.27 nm 附近; 而 IAA 的 NE1 与 Leu439 的 O 之间的距离由于受到吲哚环取向的影响变化较大, 并且距离值也比较大. 这也进一步解释了晶体构型与平均构型中 IAA 与几个重要残基相互作用差异的原因. 同时统计了 IAA 中 4 个比较重要的二面角 CA—CB—CG—CD1, CA—CB—CG—CD2, OA1—CA—CB—CG, OA2—CA—CB—CG 随时间的变化情况, 结果发现, 二面角 CA—CB—CG—CD1 和 CA—CB—CG—CD2 在模拟中分别在 -100° 和

70°附近变化,二面角 OA1-CA-CB-CG 和 OA2-CA-CB-CG 分别在 -90°和 90°附近变化,这 4 个二面角在一定程度上反映了吲哚环及羧基的取向的变化,从而也说明这种变化导致了平均构型中 IAA 与活性位点残基间相互作用与晶体结构相比有所不同. 由于在晶体条件下体系存在着晶胞堆积力,而计算是在水溶液中进行的,故体系的柔性较大,这可能是造成模拟结构与晶体结构差异的根本原因.

3 结 论

基于拟南芥 TIR1 与生长素 IAA 复合物的晶体结构,采用分子对接和分子动力学的方法研究了两者之间的相互作用. 研究表明,辅酶 InsP_6 和中心水分子对生长素结合到活性位点具有重要作用,复合物体系在整个动力学模拟过程中较为稳定,生长素 IAA 与活性位点处残基的相互作用与晶体结构相比略有差别. 这为进一步应用分子对接和分子动力学方法进行潜在生长素分子的作用模式的预测提供了理论保证.

参 考 文 献

- [1] Dharmasiri N. , Dharmasiri S. , Estelle M. . Nature[J], 2005, **435**: 441—445
- [2] Kepinski S. , Leyser O. . Nature[J], 2005, **435**: 446—451
- [3] Tan X. , Calderon-Villalobos L. A. , Sharon M. , *et al.* . Nature[J], 2007, **446**: 640—645
- [4] Guex N. , Peitsch M. C. . Electrophoresis[J], 1997, **18**: 2714—2723
- [5] Sanner M. F. . J. Mol. Graphics[J], 1999, **17**: 57—61
- [6] Morris G. M. , Goodsell D. S. , Halliday R. , *et al.* . J. Comput. Chem. [J], 1998, **19**: 1639—1662
- [7] LI Qiong(李琼), CHEN Pei-Quan(陈沛全), CHEN Lan(陈兰), *et al.* . Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, **28**(8): 1552—1555
- [8] Phillips J. C. , Braun R. , Wang W. , *et al.* . J. Comput. Chem. [J], 2005, **26**: 1781—1802
- [9] MacKerell Jr. A. D. , Bashford D. , Bellott M. , *et al.* . J. Phys. Chem. B[J], 1998, **102**: 3586—3616
- [10] CHEN Pei-Quan(陈沛全), SUN Hong-Wei(孙宏伟), CHEN Lan(陈兰), *et al.* . Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(10): 1912—1915
- [11] Humphrey W. , Dalke A. , Schulten K. . J. Mol. Graphics[J], 1996, **14**: 33—38
- [12] Laaksonen L. . J. Mol. Graphics[J], 1992, **10**: 33—34
- [13] Bergman D. L. , Laaksonen L. , Laaksonen A. . J. Mol. Graph. Model[J], 1997, **15**: 301—306
- [14] Wallace A. C. , Laskowski R. A. , Thornton J. M. . Prot. Eng. [J], 1995, **8**: 127—134

Docking and Molecular Dynamics Simulation Studies of Interaction Between Arabidopsis TIR1 and Auxin IAA

WANG Teng, SUN Hong-Wei^{*}, CHEN Lan, SHEN Rong-Xin, LAI Cheng-Ming
(Department of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract On the basis of the complex crystal structure of transport inhibitor response 1 (TIR1) and indole-3-acetic acid (IAA) obtained recently, systematic docking and molecular dynamics studies of interaction between auxin IAA and TIR1 have been performed using autodock 3.0 and NAMD 2.5 packages. The docking results indicate that the co-factor InsP_6 and central water molecule play important roles in binding to the TIR1 pocket for auxin IAA correctly. The complex of TIR1 and auxin IAA was stable during the MD simulation, and stable hydrogen bond interaction had been formed between two water molecules which acted as central water molecule one after the other with auxin IAA. The interaction between auxin IAA and active residues around binding site was a little different from that in crystal structure.

Keywords Arabidopsis TIR1; Indole-3-acetic acid (IAA); InsP_6 ; Docking; Molecular dynamics simulation
(Ed.: H, J, Z)