

## RNA 結合タンパク質 NOVA2 の塩基配列特異的結合機構の理論研究

(<sup>1</sup>神戸大院・自然科学, <sup>2</sup>みずほ情報総研, <sup>3</sup>国立衛研, <sup>4</sup>JST CREST, <sup>5</sup>立教大・理, <sup>6</sup>神戸大院・人間発達環境) 栗崎以久男<sup>1</sup>, 福澤薫<sup>2</sup>, 中野達也<sup>3,4</sup>, 望月祐志<sup>4,5</sup>, 渡邊博文<sup>4,6</sup>, 田中成典<sup>4,6</sup>

### 【序】

RNA 結合タンパク質(RBP)は、RNA の塩基配列に特異的、もしくは非特異的に結合し、安定化、分解、翻訳後調節などに関与することが知られている。RBP が生体内で正常に機能するためには、標的となる RNA を正確に認識し、結合することが必要とされるが、塩基配列特異的認識のメカニズムはいまだ明らかではない。RBP の一種である NOVA は、KH ドメインと呼ばれる約 80 残基からなる RNA 結合ドメインをもち、配列中に 5'-UCA<sup>Y</sup>-3'を持つ RNA を特異的に認識することが知られている(1)。NOVA の RNA 認識は、アミノ酸が塩基の形に似た

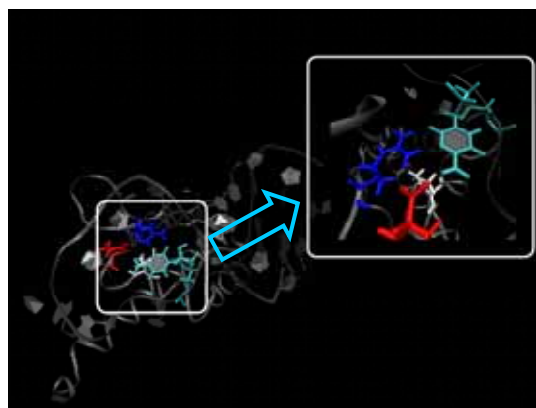


Fig. 1. NOVA における分子擬態による RNA 塩基特異的認識 (アミノ酸が塩基と水素結合を形成するように配置)

配置をとる分子擬態(Fig.1 参照)と、疎水性アミノ酸による van der Waals 力によると考えられている。これまでの構造生物学の研究では、立体構造の形状から、各原子の位置関係を比較、評価し、その間に働く力を推定することで構造と機能の相関を解釈してきた。一方で、分子認識は

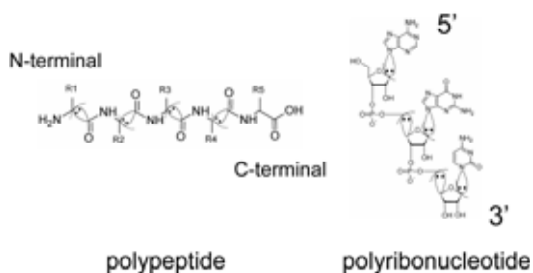


Fig. 2. タンパク質、RNA のフラグメント分割

電子状態の変化といった、量子論的性質が本質的な役割をになうと考えられている。しかし従来の量子化学計算では、原子数の 4 乗に比例して計算時間が爆発的に増加するために、タンパク質のように 1000 原子以上からなる分子を扱う場合は、結合部分の数残基とリガンドを切り出した部分系に対する量子化学計算以外は行われてこなかった。しかし近年開発された、フラグメント分子軌道(FMO)法では生体高分子全体をフラグメント(タンパク質ではフラグメントをアミノ酸残基に、核酸であれば塩基、骨格にとる: Fig.2 参照)として分割し、フラグメントのモノマーと、フラグメントペアダイマーのシュレディンガー方程式を解くことで計算時間の増加を原子数の 2 乗以下に比例する程度に抑え、現実的な時間内に系全体のエネルギーや電荷などについて高精度の計算結果を得ることに成功して

いる(2)。そのため、これまでリガンドとの結合エネルギーの算出などに活用されている(3)。本研究では、フラグメント分子軌道法を用いて RNA 結合タンパク質と RNA の相互作用エネルギーについて定量的な解析を行い、特異的に認識をうける塩基が、認識に関係しない塩基と比べ、安定性にどのような違いがあるかを検証する。

## 【計算方法】

Protein Data Bank に登録されている NOVA2-KH ドメインと RNA 複合体(1EC6;chain-A,D)を用いた。構造の歪みを取り除くために、Generalized Born 型の implicit water の中で極小化計算を行った。その後、MP2/6-31G レベルで FMO 量子化学計算を行った。FMO 計算の過程で得られるフラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)はフラグメント間の実効相互作用として解釈されるため、タンパク質-リガンド間の重要な相互作用部位の特定に利用できると考えられている。そこで、RNA 塩基と NOVA の間に働く相互作用エネルギーを評価するためにアミノ酸-塩基間の IFIE について解析を行なった。

## 【結果と考察】

残基塩基間で安定化に働く IFIE を調べた。塩基特異的認識を受けるとされる塩基と、それ以外の塩基に対してアミノ酸との IFIE を比較した。その結果、安定な複合体を形成している構造においては特異的認識を受ける塩基が複合体の安定化に特別大きな寄与をしているのではなく、安定化要因の一部であるという結果が得られた。このことは、相互作用エネルギーの安定化だけで、塩基特異的認識を説明することは不十分であることを示唆している。研究の詳細は当日のポスター発表にて行なう。

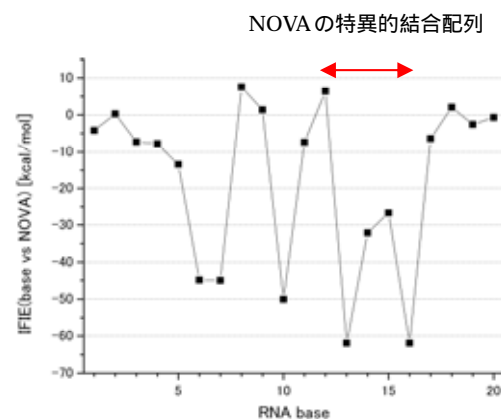


Fig. 3. 各塩基と NOVA の間の相互作用エネルギー

## 【参考文献】

- (1) Lewis, H.A. et al., Sequence-specific RNA Binding by a NOVA KH domain: implication for paraneoplastic disease and the Fragile X syndrome. *Cell* 2000, 100, 323-332.
- (2) Fedorov, D. G., Kitaura, K. in *Modern Methods for Theoretical Physical Chemistry of Biopolymers*, Starikov, E. B., Lewis, J.P., Tanaka, S., Ed.(Elsevier, 2006) Chap. 1, pp. 3-38.
- (3) Fukuzawa, K. et al., Ab initio quantum mechanical study of the binding energies of human estrogen receptor with its ligands: an application of fragment molecular orbital method. *J. Comput. Chem.* 2005, 26, 1-10.