

3次元 RISM 理論による嗅覚受容体の分子認識に関する理論的研究

(1総研大, 2分子研) ○清田泰臣¹, 吉田紀生^{1,2}, 平田文男^{1,2}

【緒言】

タンパク質による分子認識は、多くの生体内反応の初期過程であり、その機構を解明することは生理作用、薬理作用を分子論的に議論する際の基点となる。特にケモセンサーである嗅覚受容体の始動メカニズムは、その選択性からも興味深い分子認識機構の一つといえる。嗅覚受容体は、G タンパク質複合受容体の一つで 7 回膜貫通のタンパク質である(図 1)。

我々の研究グループでは、これまで液体の統計力学理論に基づいた 3D-RISM 理論を提案し、多くのタンパク質について分子認識過程に関する理論的解析を行ってきた[1,2]。本理論は溶質周りの溶媒分布や溶媒和自由エネルギー、部分モル体積などを求めることが出来る理論である。従って、リガンド分子を溶媒種と見なすことで、タンパク質へのリガンド分子の配位の様相を分布関数として求め、分子認識機構を研究してきた。

本研究では 3D-RISM 理論を用いてマウスの嗅覚受容体、mOR-EG 及び mOR-EV に対する匂い分子の分子認識機構に関する研究を行った。mOR-EG と mOR-EV はアミノ酸配列において 70%以上という高い相同性を持つにも関わらず、異なるリガンド親和性を示すことが知られている[3]。mOR-EG は eugenol 及び vanillin (図 2) の両方を認識するが、mOR-EV は vanillin しか認識出来ない。嗅覚受容体は膜タンパクであるため、X 線構造解析など実験的手法による構造解析が困難であり、変異体を用いた実験により大まかに認識部位が決められているのみである[3]。従って、選択性に寄与する構造を突き止め、嗅覚受容体による選択的分子認識機構を理論的に解析する。そのために、匂い分子である vanillin や eugenol のような多サイトを持つ分子を 3D-RISM 理論で扱えるようにすること、また多サイトをもつ分子による分布関数からリガンドの構造を再現する手法を開発することを目的とした。

【理論・検証】

これまでの 3D-RISM 理論を用いた分子認識の研究では、タンパク質を溶質として、リガンド分子を含む水溶液を溶媒として取り扱うことが多かった。このような溶質-溶媒系では、溶媒のサイト数(すなわち原子数)が多いと、OZ 方程式の要請より解くべき変数の数が増大し、それにともない計算が困難となった。この問題について近年、吉田により uu 3D-RISM

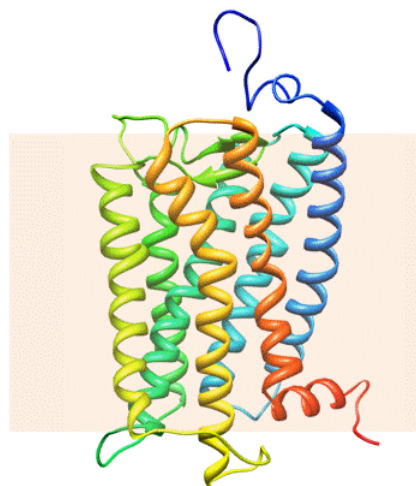


図 1. 7回膜貫通タンパク質であるマウス嗅覚受容体.

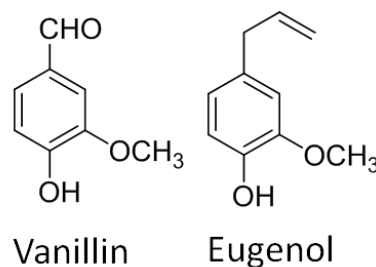


図 2. Vanillin 及び eugenol の構造.

法として改良が施された。uu 3D-RISM 法では、多サイトを持つリガンド分子を溶質（無限希釈下： $\rho_\gamma=0$ ）として扱うことで、今までの溶質-溶媒系の 3D-RISM 方程式を拡張した手法である。通常的手法では、リガンド分子を含んだ溶媒系(式(1))よりタンパク質-溶媒系(式(2))を導くのにに対して、uu 3D-RISM 法では、リガンド分子-溶媒系を式(2)で取り扱い、タンパク質-リガンド分子系(式(3))として 3D-RISM 方程式を解く。

$$h_{ab}^{vv}(1,2) = c_{ab}^{vv}(1,2) + \sum_c^{N_{\text{solvent}}} \rho_c \int c_{ac}^{vv}(1,3) h_{cb}^{vv}(3,2) d(3) \quad (1)$$

$$h_{ab}^{uv}(1,2) = c_{ab}^{uv}(1,2) + \sum_c^{N_{\text{solvent}}} \rho_c \int c_{ac}^{uv}(1,3) h_{cb}^{vv}(3,2) d(3) \quad (2)$$

$$h_{\alpha\beta}^{uu}(1,2) = c_{\alpha\beta}^{uu}(1,2) + \sum_c^{N_{\text{solvent}}} \rho_c \int c_{\alpha c}^{uv}(1,3) h_{c\beta}^{vu}(3,2) d(3) \quad (3)$$

【結果・考察】

まずマウス嗅覚受容体の X 線構造が実験的に得られていないことから、ホモロジーモデリングの手法を用いて各マウス嗅覚受容体 mOR-EG、mOR-EV の構造予測を行った。ホモロジーモデリングの条件はアミノ酸配列が 30%以上の相同性を持つことであるが、嗅覚受容体が属する G タンパク質複合受容体は非常に保存された 7 回膜貫通構造を持ち、種に依存しないため、既に X 線構造が存在する Bovine Rhodopsin (PDB ID: 1F88)を初期構造とした。得られた構造に対し uu 3D-RISM 法を用いてリガンド分子の分布を求めた。例として、mOR-EG に対する Vanillin の分布を示す (図 3)。Phe206 近傍に Vanillin 各サイトの強いピーク群が存在することを確認した。これは、Phe206 付近に結合サイトが存在する可能性を示しており、実験により示唆されている結合サイトと一致している。ポスターでは、結合サイトについて定量的な解析とともに、リガンド分子の構造を再現する方法についても詳細を報告する予定である。

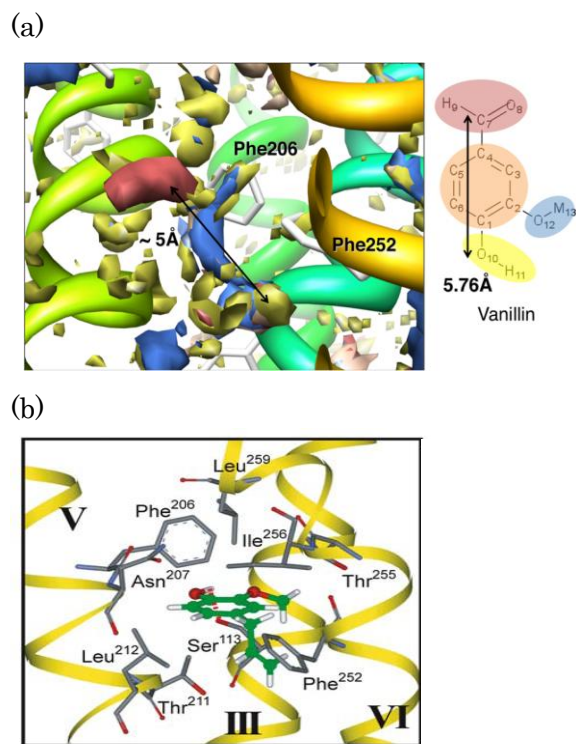


図 3. マウス嗅覚受容体 mOR-EG における Phe206 近傍の 3 次元分布関数の解析. (a)uu 3D-RISM 法により得られた分布. (b)実験により示唆されている結合サイト[3].

Refs.

- [1] T. Imai, M. Kinoshita, F. Hirata, *Chem. Phys. Lett.* **395**, 1-6 (2004).
- [2] Yoshida, N.; Phongphanphanee, S.; Hirata, F. *J. Phys. Chem. B*, **111**, 4588-4595 (2007).
- [3] S. Katada, T. Hirokawa, Y. Oka, M. Suwa, K. Touhara, *J. Neurosci.*, **25**, 1806-1815 (2005).