

4P107

Ras-GAP 複合体における GTP 加水分解反応に関する理論的研究

○東 雅大¹, 小林 千草¹, 斉藤 真司¹

¹分子研

mhigashi@ims.ac.jp

低分子量 G タンパク質 Ras は、細胞増殖の制御に重要な役割を果たすタンパク質である。Ras が GTP と結合している時には、シグナルが「ON」の状態となり細胞が作られる。一方、Ras が GDP と結合している時には、シグナルが「OFF」の状態となる。この GTP から GDP への加水分解は、GTPase 活性促進タンパク質(GAP)によって促進される。しかし、Ras の Gln61 のような特定の残基が変異すると、GAP の活性効果が現れず、シグナルが「ON」のままになってしまう。このことが細胞のガン化の原因の 1 つと考えられている。

このように、Ras-GAP 複合体における GTP 加水分解反応は非常に重要であるにも関わらず、その詳細は未だによく分かっていない。そこで、本研究は、Ras-GAP 複合体における GTP 加水分解の反応機構を QM/MM 法を用いて明らかにすることを目的とする。QM/MM 法において、QM 領域は図 1 のように含まれる原子が 83 個と大きく取り、QM 領域の電子状態計算には高精度な M06-2X 密度汎関数法を用いた。

まず、GTP に水が直接攻撃するような反応経路を探索したところ、反応物と生成物をつなぐ遷移状態を発見した。しかし、その活性化エネルギーは 38.4 kcal/mol で、実験から見積もられる値(約 25 kcal/mol)よりも非常に高かった。そこで、新たな反応経路を探索したところ、二重プロトン移動反応による Gln61 のケト・エノール異性を伴う反応経路を見つけた(図 2)。Gln61 を変異させると GAP の活性効果が得られないのは、Gln61 が反応に直接関わっているからだと考えられる。得られた活性化エネルギーは、実験値とほぼ一致している。また、最初の GTP からリン酸が切れるステップの遷移状態(TS1)の構造も、遷移状態類似体の X 線構造解析で得られた構造とよく一致している。次に、どの遷移状態が律速過程かを調べるために速度論的同位体効果(KIE)を計算したところ、TS1 の KIE が実験値をよく再現した。従って、この反応が律速と考えられる。さらに、反応物と生成物の振動スペクトルを計算し、実験で観測されているスペクトルの同定を行った。計算により得られた振動スペクトルは、同位体効果も含めて実験をよく再現した。

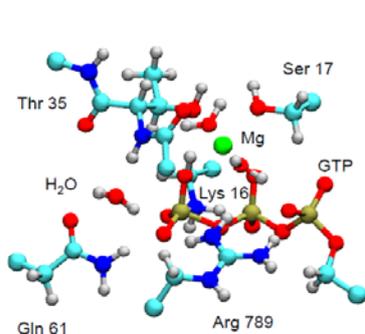


図 1 : 本研究の QM 領域

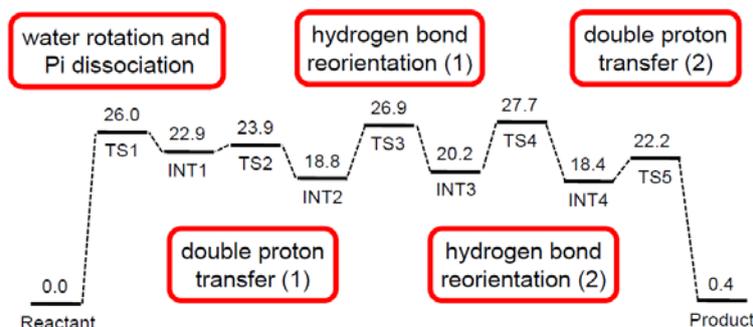


図 2 : 本研究で得られた反応経路