

Specific interactions between the dimer of lactose repressor protein and DNA:  
molecular simulations combined with MD and *ab initio* FMO methods

(Toyohashi University of Technology) Tatsuya Ohyama, Yuki Matsushita, Noriyuki Kurita

## 【はじめに】

生体内では、常に DNA の情報が mRNA に転写され、その情報を基に様々なタンパク質が生成されている。転写抑制タンパク質ラクトースリプレッサー(LacR)は、アロステリックタンパク質の一種であり、通常は DNA に結合し、DNA から mRNA への転写を抑制している。しかし、ラクトースのようなリガンドが存在すると、LacR はリガンドが結合することにより構造を変化させ、DNA から分離する、あるいは DNA により強く結合することが実験で報告されている[1]。LacR に対するリガンドは、結合による LacR と DNA 間の結合特性への影響の違いにより、インデューサとアンチインデューサに分類される。インデューサは、LacR に結合し、LacR と DNA 間の結合を弱め、LacR と DNA を分離させ、転写を活性化する。一方、アンチインデューサは、LacR と結合し、LacR と DNA 間の結合を強め、転写をより抑制する。

我々[2]は、これまでに、LacR に結合するリガンドの違いによる LacR の構造、及び電子状態の変化を解析し、LacR とリガンド間の結合に重要な LacR のアミノ酸残基、及び LacR 単量体と DNA 間の結合に重要な LacR のアミノ酸残基と DNA 塩基を明らかにした。しかし、リガンドが結合した LacR と DNA 間の結合特性が、リガンドの種類によって異なる理由の解明には至っていない。実際は、LacR は四量体で機能し、二量体が DNA を挟む形で結合する。そこで、今回の研究では、より現実的なモデルとして、LacR 二量体、DNA 及びリガンドから成る複合体を考え、古典分子動力学(MD)計算とフラグメント分子軌道(FMO)計算を用い、LacR に結合するリガンドの違いが、LacR と DNA 間の特異的相互作用にどのような影響を及ぼすかを、電子レベルで解析した。

## 【計算手順】

## 1. LacR 二量体-DNA 複合体の水和構造の変化の解析

先行研究[2]では、LacR のリガンド結合領域周辺の水分子が、LacR とリガンド間の結合に重要であることが明らかになった。そこで、本研究では、該当領域に存在する結晶水の位置情報も含む LacR 二量体と DNA の複合体として、Protein Data Bank (PDB) の 1EFA を初期構造として採用

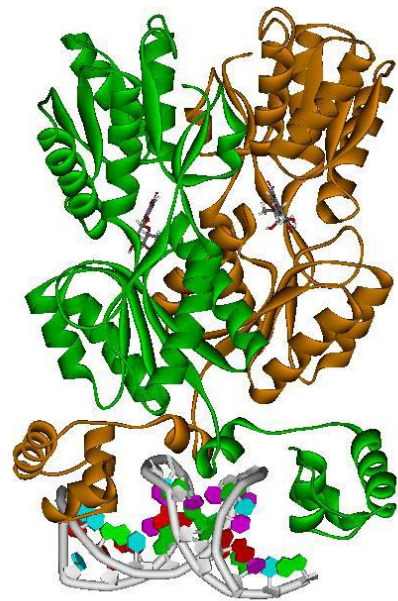


Fig. 1 Structure of LacR-dimer  
+ DNA + ONPF complex

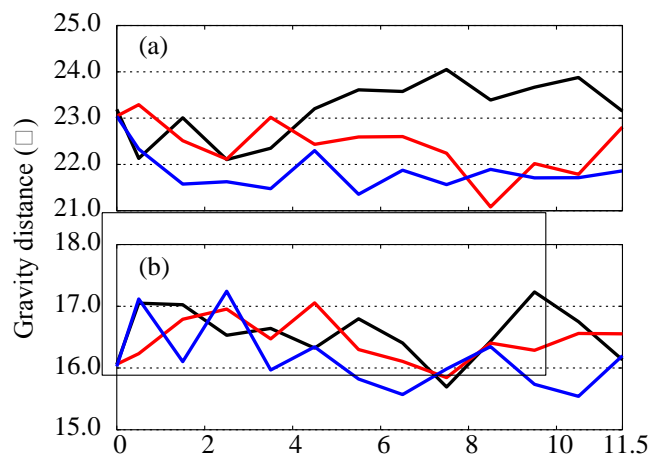
した。この構造はリガンドとしてアンチインデューサ ONPF を含んでおり、この PDB 構造の DNA 骨格のリン酸基にカウンターイオンとして  $\text{Na}^+$  を付加し、LacR 二量体-DNA-ONPF の初期構造とした。さらに、LacR 二量体にインデューサ IPTG が結合した PDB 構造(ID: 2P9H)と LacR 二量体-DNA-ONPF を、LacR の  $\text{C}\alpha$  原子が出来るだけ重なり合うようにフィッティングし、LacR 二量体-DNA-ONPF 中の ONPF を IPTG に置換した構造を、LacR 二量体-DNA-IPTG の初期構造とした。さらに、LacR 二量体-DNA-ONPF の構造から ONPF を除去して、LacR 二量体-DNA の初期構造を作成した。これらの3つの構造を水分子で覆い、古典 MD 計算プログラム Gromacs を用い、300 K で 10 ns の MD 計算を行い、複合体の水中での構造変化を解析した。

## 2. LacR と DNA 間、及び LacR 単量体間の特異的相互作用の解析

LacR と DNA 間、及び LacR 単量体間の特異的相互作用を明らかにするため、MD 計算で得た構造の電子状態を FMO 計算プログラム ABINIT-MP ver. 4.3 のマルチレイヤー法を用いて解析した。LacR と DNA 間の相互作用解析の際は、LacR の DNA 結合ドメイン(2-61 残基)、DNA、LacR と DNA 間に存在する水分子、及びカウンターイオン周辺の水分子を MP2/6-31G 法で、その他の領域を HF/6-31G 法で扱った。一方、LacR 単量体間の相互作用解析においては、単量体から 5 Å 以内に存在するアミノ酸残基、及び水分子を MP2/6-31G 法で、その他の領域を HF/6-31G で扱った。

### 【結果と考察】

MD 計算で得た構造に対し、LacR 単量体の重心と DNA の重心間の距離を測定し、LacR に結合するリガンドの種類により、LacR と DNA の複合体構造がどのように変化するかを解析した。Fig. 2 (a)に示す LacR monomer-A と DNA 間の重心間距離に関しては、ONPF が結合した LacR は DNA により近づくことが分かった。一方、リガンドが無い LacR 単量体+DNA 複合体においては、MD 計算の経過時間と共に、距離が離れる傾向にある。インデューサ IPTG が結合した場合は、LacR monomer-A と DNA 間の距離が時間と共に大きく変化し、インデューサ結合の影響を定性的に説明できる。現在、MD 計算で得た幾つかの構造に対し、FMO 計算により、LacR と DNA 間の特異的相互作用を解析中であり、その結果については当日のポスターにて発表する。



**Fig. 2 Distance between the gravities of LacR and DNA; (a) LacR monomer-A and DNA, and (b) LacR monomer-B and DNA (black lines: no-ligand, red lines: IPTG, blue lines: ONPF).**

### 【参考文献】

- [1] R. Daber, *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 2007, 340, 609.
- [2] T. Ohyama, *et al.*, *J. Comput. Chem.*, 2011, 32, 1661.