

1P138

Ras-GAP の GTP 加水分解触媒作用に関する理論的研究

(京大院理¹, 琉球大理²)

○公文 啓瑛¹, 東 雅大², 林 重彦¹

Theoretical study on the GTP hydrolysis catalysis of the Ras-GAP

(Kyoto University.¹, University of Ryukyu.²)

○Keiei Kumon¹, Masahiro Higashi², Shigehiko Hayashi¹

Ras タンパク質は小さな G-protein であり、GTP 加水分解触媒作用を持つが、反応は非常に遅く (0.0047 s^{-1})、GAP(GTPase Activating Protein)と Ras-GAP 複合体 (Fig.1)を形成すると効率的に GTP 加水分解を行う (19 s^{-1})[1]。Ras タンパク質は細胞の成長に関する分子スイッチとして作用し、GTP が結合している状態で on、GDP が結合している状態で off となる。Ras タンパク質のアミノ酸に変異が起こると GTP 加水分解反応が進行しなくなり、スイッチ on・off の過程が乱れ、癌の原因となるため、医学的な面から盛んに研究が行われている。

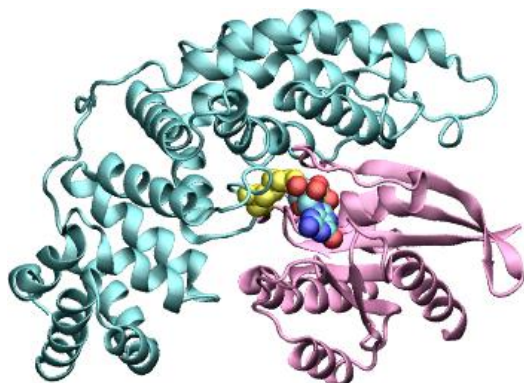


Fig.1 Ras-GAP の構造 (1WQ1)

Ras-GAP 類縁体の Ras-NF1 で時間分解 FTIR を用いて GTP 加水分解反応を追跡した実験では、活性化エントロピーが反応障壁の低下に寄与していることが明らかとなっている (Table.1)。実験を行った Kötting らは、シミュレーション[2]及び Ras-GAP の複数の X 線構造の比較から、Ras-GAP の GTP 加水分解触媒作用の本質は、GAP の arginine finger が反応の際に活性部位に移動し、活性部位内に束縛されていた水分子が自由に運動できる環境へ放出されることによるエントロピーの増加であると提案しているが[3]、実験で観測された結果は大域的な変化であり、触媒作用に重要な遷移状態の議論は行っていない。

Table.1 GTP 加水分解反応の反応障壁の実験値 (kcal/mol)

	Water	Water/Mg ²⁺	Ras	Ras-GAP ³³⁴	Ras-NF1 ³³³
ΔH^\ddagger	25.0	27.1	19.8	n.a.	23.6
$-T\Delta S^\ddagger$	2.8	0.8	2.3	n.a.	-9.4
ΔG^\ddagger	27.8	27.9	22.1	15.9	14.2

本研究では、GTP 加水分解反応の反応経路を決定し、遷移状態での安定化の機構を調査した。QM/MM 法を用いて、ポテンシャルエネルギー面上で反応経路を決定した。しかし、QM/MM 法ではタンパク質の熱揺らぎは考慮されていないので、タンパク質の熱揺らぎを取り入れ、活性部位の構造変化を調べるために、タンパク質の熱揺らぎを平均場として取り扱う QM/MM-RWFE-SCF 法[4]を用いてサブマイクロ秒(本研究では 460 ns~880 ns)の MD トラジェクトリーの平均場での自由エネルギー面上で構造最適化を行った。結果的に、活性部位近傍で大きな変化が見られた(Fig.2)。詳細は当日発表する。

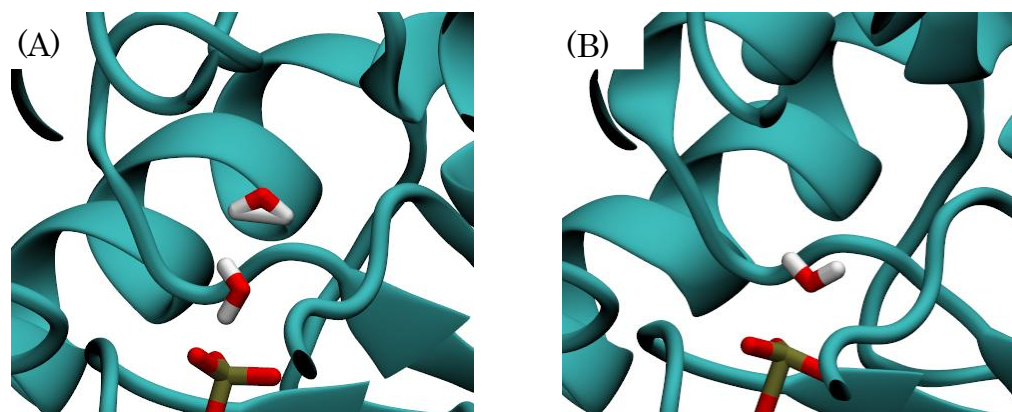


Fig.2 活性部位の変化(A-反応前、B-遷移状態)

- [1] Schweins et al. *Nat. Struct. Biol.* **2**, 36 (1995).
- [2] Heesen et al. *FEBS lett.* **581**, 5677 (2007).
- [3] Kötting et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 6260 (2008).
- [4] T. Kosugi and S. Hayashi. *J. Chem. Theory Comput.* **8**, 322 (2012).