

2P091

リボヌクレアーゼ HI の RNA 加水分解反応機構に関する計算化学的研究

(阪大蛋白研)

鷹野優¹・喜多真琴¹・中村春木¹

Computational study of RNA hydrolysis of DNA/RNA hybrid by RNase HI

(Institute for Protein Research, Osaka University)

Yu Takano¹, Makoto Kita¹, Haruki Nakamura¹

【序論】

リボヌクレアーゼ(RNase)HI は Mg^{2+} の存在下でDNA/RNAハイブリッド二重鎖中のRNA主鎖のリン酸ジエステル結合(P-O3'結合)を分解する酵素である。その性質からセントラルドグマ（複製・転写・翻訳）におけるさまざまな生化学反応（RNAプライマーの生成や分解除去、転写過程で生じるR-loopの分解除去、DNA複製時に誤って取り込まれたRNAの除去など）に深く関与している [1]。近年*Bacillus halodurans* (枯草菌) やヒト由来のRNase HI-DNA/RNAハイブリッド二重鎖複合体の高解像度結晶構造が決定され [2]、その構造を用いて種々の計算科学的研究が行われてきた。しかし活性中心における Mg^{2+} の数や活性に関与する残基数、各残基のプロトン化状態、プロトンの転移経路など、RNase HIの詳細な触媒機構については未だ様々な議論が行われている

[3-5]。

本研究では、活性中心の Mg^{2+} の数に着目し、活性中心に一つまたは二つの Mg^{2+} をもつ二種類のRNaseHI活性中心モデル錯体 (One-metal Model, Two-metal Model) を作成し、各モデルの水溶液条件における加水分解反応経路を探索した。両者の反応経路を比較することで、 Mg^{2+} の数の違いが酵素反応に与える影響を調べた。

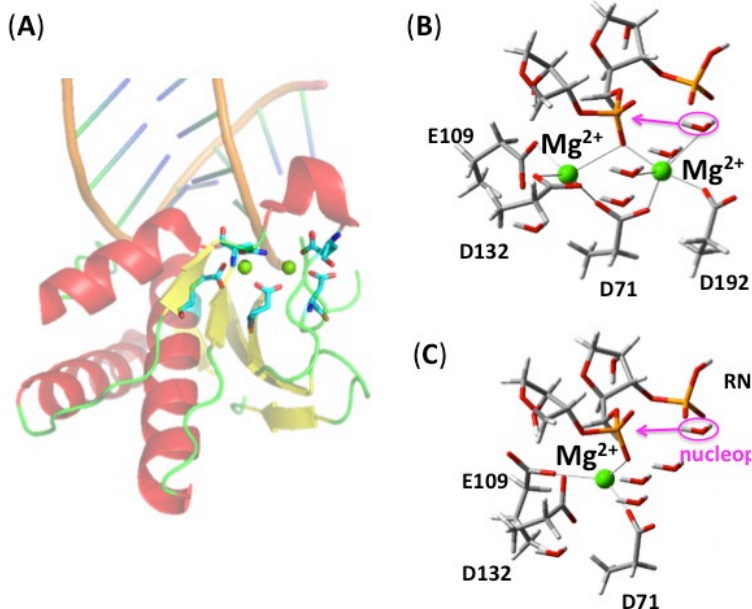


図 1. RNaseHI-DNA/RNA ハイブリッド複合体の結晶構造(A)、Two-metal モデル(B)、One-metal モデル(C)

【計算方法】

酵素反応に関与すると考えられる四つの残基(D71, E109, D132, D192)、活性中心に存在するMg²⁺、活性中心付近の基質RNA鎖と水分子のそれぞれを既知の結晶構造(PDBID: 1ZBL, 1RDD)から切り出すことで、図1(B), (C)のような二種類の錯体モデルを作成した。全ての残基は脱プロトン化していると仮定し、計算コストを考慮して基質RNA鎖中の塩基部分を除去した。計算にはB3LYP/6-31G(d)を使用し、各構造間の反応経路のつながりをIRC計算により確認した。溶媒モデルとしてIEF-PCMを採用し、誘電率の値には78.92、cavityにはUFFを使用した。

【結果・考察】

One-metal Model、Two-metal Modelとも二つの中間体を経る段階的な反応経路が観察された(図2)。Two-metal Modelの反応経路における反応物からの活性化ギブスエネルギーはOne-metal Modelのものと比較して10 kcal/mol程度低く、さらにOne-metal Modelの経路における生成物はエネルギーが高くなった。これは、One-metal ModelではMg²⁺による求核剤水分子の活性化や配向調整が行われないためであると考えられる。発表ではこれらモデル錯体の経路と、最も単純なリン酸ジエステル分子であるリン酸ジメチルアニオンの加水分解反応経路との比較結果についても報告する。

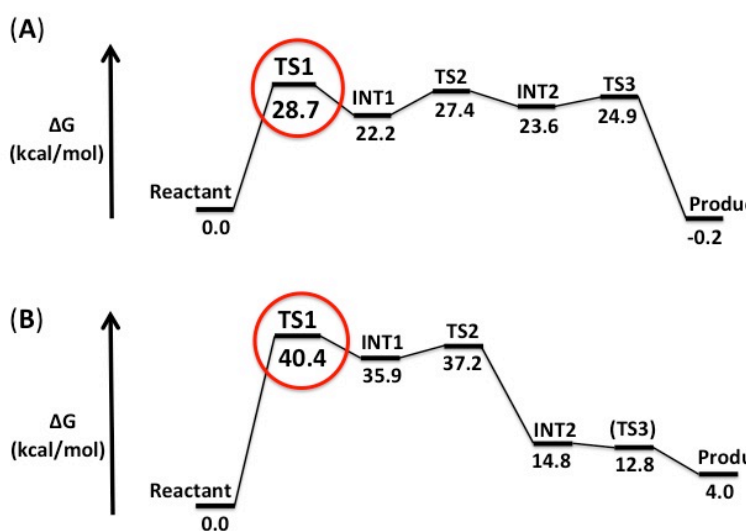


図 2. RNaseH のモデルに対するリン酸ジエステル結合の加水分解反応の Gibbs エネルギー: Two-metal モデル(A)、One-metal モデル(B)

【参考文献】

- [1] K. Katayanagi et al. *Proteins* 1993, 17, 337-346.
- [2] M. Nowotny et al. *Cell* 2005, 121, 1005-1016.
- [3] H. Nakamura et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 11535-11539.
- [4] M. D. Vivo et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 10955-10962.
- [5] B. Elsassner et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, 12, 11081-11088.
- [6] M. Kita, Y. Takano, H. Nakamura *Mol. Phys.* in press.