

4P083 ラクトースリプレッサー二量体と DNA 間の特異的相互作用：
分子動力学計算及び第一原理フラグメント分子軌道計算を用いた解析
(豊橋技術科学大学) ○松下祐貴、大石叡人、大山達也、栗田典之

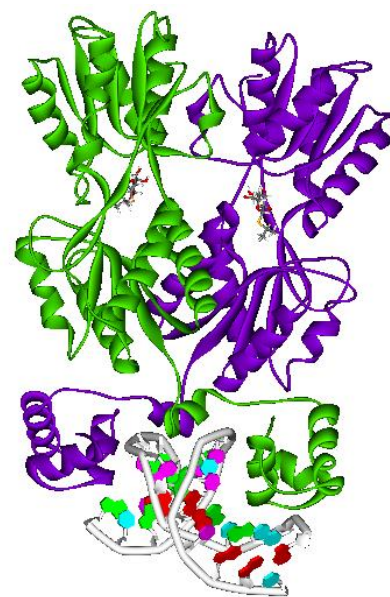
**Specific interactions between the dimer of lactose repressor protein and DNA：
molecular dynamics simulations and *ab initio* FMO calculations**

(Toyohashi University of Technology)

○Yuki Matsushita, Masato Oishi, Tatsuya Ohyama, Noriyuki Kurita

【はじめに】

生体内では、常に DNA 情報が mRNA に転写され、それを基にタンパク質が生成されている。転写制御タンパク質ラクトースリプレッサー (LacR) は、通常は DNA に結合し、mRNA への転写を抑制している。しかし、様々なリガンドが LacR に結合することにより、LacR と DNA 間の結合特性が変化し、転写機構が調節されることが実験で明らかになっている[1]。インデューサが LacR に結合すると、LacR と DNA 間の結合を弱め、LacR が DNA から分離し、転写が活性化する。一方、アンチインデューサが LacR に結合すると、LacR と DNA 間の結合が強まり、転写を抑制する。我々[2]は、これまでに、第一原理フラグメント分子軌道 (FMO) 計算により、LacR 単量体とリガンド間、及び LacR 単量体と DNA 間の特異的相互作用を解析し、これらの相互作用に重要な LacR のアミノ酸残基を明らかにした。しかし、結合するリガンドの種類による LacR と DNA 間の結合特性の変化は解明できなかった。



**Fig. 1 Structure of LacR-dimer
+ DNA + IPTG complex**

本研究では、Fig. 1 に示すように、LacR 二量体と DNA から構成される複合体を考え、そこにリガンドが結合した際の構造変化を、古典分子動力学 (MD) 計算により解析した。更に、MD 計算で求めた幾つかの構造に対し FMO 計算を実行し、結合するリガンドの種類により、LacR と DNA 間の特異的結合状態がどのように変化するかを電子レベルで解析した。

【計算手順】

1. MD 計算による LacR 二量体+DNA+リガンド複合体の水和構造の変化の解析

結晶水を含む LacR 二量体、DNA 及びアンチインデューサ ONPF の複合体の結晶構造 (PDB ID: 1EFA) を、LacR+DNA+ONPF の初期構造として採用した。この構造の DNA 骨格のリン酸基にカウンターイオンとして Na⁺を付加した。また、LacR にインデューサ IPTG が結合し構造 (PDB ID: 2P9H) を参考に、LacR と IPTG 間の相対位置を求め、その情報を基に、LacR+DNA+ONPF 中の ONPF を IPTG に置換し、LacR+DNA+IPTG の初期構造を作成した。さらに、LacR+DNA+ONPF の ONPF を削除した構造を、LacR+DNA の初期構造とした。これら 3 つの構造の周囲に水分子を置き、古典 MD 計算プログラム GROMACS により、300 K で 100 ns の MD 計算を実行し、複合体の水中での構造変化を解析した。

2. 第一原理 FMO 計算による LacR と DNA 間の特異的相互作用の解析

リガンド結合による LacR 二量体と DNA 間の特異的相互作用の変化を明らかにするため、MD 計算で得た複数の構造の電子状態を FMO 計算プログラム ABINIT-MP ver. 6.0 の MP2/6-31G 法を用いて解析した。その際、LacR と DNA 間、及びカウンターイオン周囲の水分子のみを考慮した。

【結果と考察】

リガンド結合が LacR に与える影響を解析するため、MD 計算開始時の LacR 構造と各時間における LacR 構造のアミノ酸の C α 原子の RMSD を解析した。Fig. 2 に示すように、リガンドが結合した LacR+DNA 複合体の構造に対する RMSD が大きくなる。これは、リガンド結合の影響がリガンド周囲の LacR アミノ酸残基を中心に LacR 全体に及ぶことを示している。

IPTG が結合した LacR 二量体は、Fig. 3 に示すように、0 ~ 30 ns 時に LacR が DNA に沿った方向に大きく揺らいでおり、その後も同様の揺らぎが観測された。LacR 二量体は、Fig. 4 に示すように、単量体それぞれの DNA binding domain (DBD) で DNA を挟む形で、DNA との複合体構造を形成している。IPTG は、疎水基のイソプロピル基を持ち、これが LacR に結合すると LacR の Asn125 や Asp149 と反発する。この反発により、 α -helix が DBD の方へと押し出され、それぞれが DBD と水素結合を形成する。これにより LacR 全体が傾いたと考えられる。

一方、ONPF は親水性のフコースを持つため、周囲のアミノ酸と反発せず、上記のような傾きは見られない。現在、MD 計算によって得られた複数の構造に対し、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、その結果は当日のポスターで発表する。

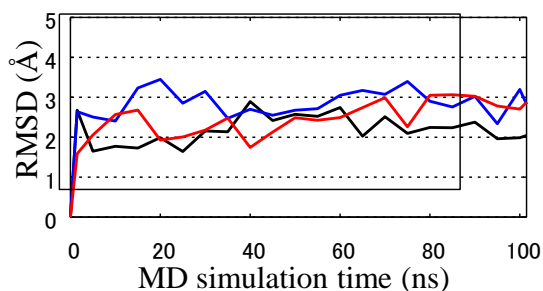


Fig. 2 Change in RMSD of amino acid residues of LacR during MD simulations (black: no-ligand, red: IPTG, blue: ONPF)

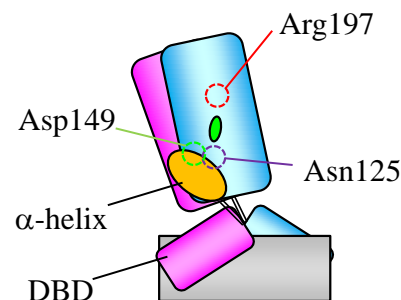


Fig. 4 Schematics view of the complex with LacR + IPTG dimer and DNA

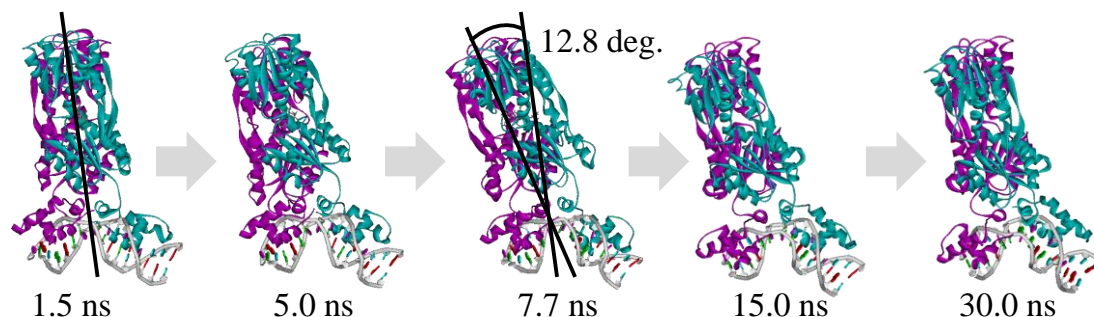


Fig. 3 Change in relative conformation between LacR + IPTG dimer and DNA in the MD simulation: at 1.5, 5.0, 7.7, 15.0 and 30.0 ns

【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.