

2P088

## RNA ポリメラーゼ C 末端領域構造の分子シミュレーション研究

(近畿大・先端研高圧蛋白センター) ○米澤康滋

### Simulation study on the c-terminal domain of RNA polymerase

(Kinki University, ITL) ○Yasushige Yonezawa

(序) RNA ポリメラーゼ最大サブユニット Rpb1 の C 末端領域(CTD)は、転写開始、伸長、終結に関わる様々な mRNA プロセシング因子をリクルートして転写サイクルを精密に制御する重要な領域である。CTD はヒトにおいてはコンセンサス配列(YSPTSPS)と一部の残基が変異した非コンセンサス配列が混在して 52 回繰り返す、X 線結晶構造解析や NMR 構造解析では定まった構造を持たないことが示されている。CTD はリン酸化及び脱リン酸化によって構造を変化させてダイナミックにその機能を変えることが予想されているがその分子認識の詳細は殆ど明らかにされていない。またこれに加えてコンセンサス配列に含まれるプロリン残基のシス-トランス異性化も CTD のリクルート機能を変化させる役割を持つと予想され、プロリンのシス-トランス異性化酵素 Pin1 (Ess1) 等との関係が注目されている。

我々は、この CTD 領域の構造特性を分子原子レベルから高精度に明らかにするために分子動力学シミュレーションを用いた研究を展開している。これまでの研究成果として、1) リン酸化によってプロリンを中心とする特徴的なベータターンの構造分布確率が優位に増加し因子認識に寄与することを明らかにした。さらに 2) このベータターンの増加は、ベータターンに含まれるプロリンがシスに異性化することで強く抑制されることを明らかにした(Ref.1)。この結果は、プロリンのシス異性化が CTD のベータターンを抑制することを明確に示す知見であり Pin1 等プロリン異性化酵素との CTD 機能の関わりが重要であることも強く示唆するものである。現在、我々はさらなる CTD 機能の理解を目指して、a) コンセンサス配列が 2 回繰り返す長さの CTD ペプチドの構造空間探索、b) CTD に含まれる様々な非コンセンサス配列の構造空間探索、を目的とした一連の計算科学分子シミュレーションを展開しておりその結果を報告する。

(計算方法) 計算に用いた基本となる CTD ペプチド配列は、

**Ace-Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser-NMe**

**1a 2a 3a 4a 5a 6a 7a 1b 2b 3b 4b 5b 6b 7b**

である(2 行目はアミノ酸番号を示す)。ここで Ace と NMe はそれぞれ両末端の静電相互作用を抑制するための N 末端と C 末端のメチルキャップ残基を示す。シミュレーションに用いる系は、上記の CTD ペプチドを中心に置き、正方形の周期的境界条件下でペプチドの周りに顕な水のモデル(TIP3P)を配置し、さらに生理的イオン濃度(150mM)になるように Na<sup>+</sup>

イオンと Cl<sup>-</sup>イオンを配置した。この i) コンセンサス配列が 2 回繰り返すペプチド以外に、i) をベースとして ii) 2a と 2b の Ser がリン酸化されたペプチド、iii) 5a と 5b の Ser がリン酸化されたペプチド、iv) 7a と 7b がリン酸化されたペプチド、v) 7a と 7b が Lys に変異した非コンセンサス配列ペプチド、の 5 種類のペプチドを作成して計算に用いた。周期的境界条件の大きさはおよそ 50x50x50Å となった。系をエネルギー最小化の後、温度体積一定のシミュレーションさらに圧力温度一定のシミュレーションで平衡化した。平衡化した系を初状態としてマルチカノニカル分子動力学法を実施した。マルチカノニカル温度は 100K で、1ps 毎に構造を保存して解析に用いた。

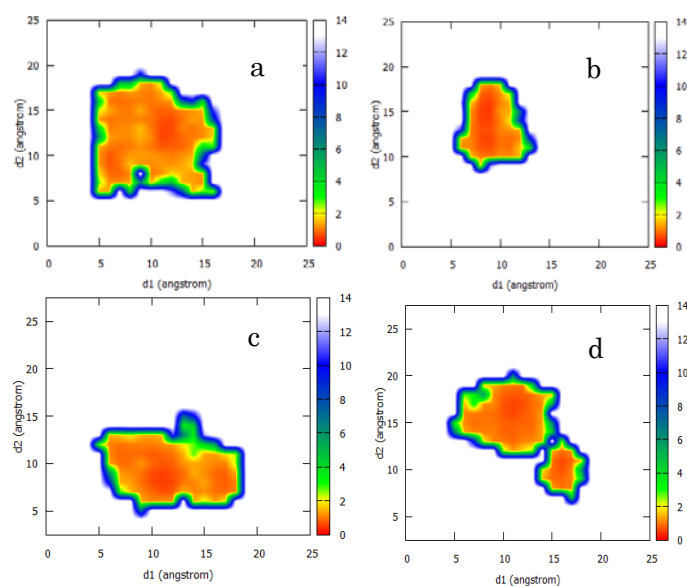


図 1  
a. リン酸化されていないコンセンサス配列 CTD ペプチドを d1 と d2 (本文参照) をベータターンの尺度座標として表した 2 次元構造分布、  
b. 2a と 2b の Ser がリン酸化された CTD ペプチドの構造分布  
c. 5a と 5b の Ser がリン酸化された CTD ペプチドの構造分布、  
d. 7a と 7b の Ser がリン酸化された CTD ペプチドの構造分布。

色付けされた構造分布の単位は、kcal/mol。結果は温度 310K に加重付けされている。

(結果と考察) 図 1 a から d に、OG-Ser(2a)~OG1-Thr(4a)間の距離と OG-Ser(2b)~OG1-Thr(4b)間の距離の和(d1)、及びOG-Ser(5a)~OG-Ser(7a)と OG-Ser(5b)~OG-Ser(7b)間の距離の和(d2)を、Pro 周りに形成されるベータターンの特徴的な尺度座標として、上記の様々なリン酸化パターン CTD ペプチドに対して得られた 2 次元構造分布プロットを示す。

これらの図から、2a と 2b 及び 5a, と 5b Ser のリン酸化は CTD ペプチドの構造分布をコンパクトに変化させている事が分かる。一方、7 番目の Ser がリン酸化された場合は Ser(7a) が Tyr (1b)を挟んだ Ser (2b) と水素結合を形成して全体的に伸長した構造を安定化する傾向が見られ CTD 機能との関わりからも大変興味深い。加えて Ser(7a,7b)のリン酸化により誘起される構造分布の変化は、他の Ser のリン酸化よりも複雑で現在さらなる解析を進めている。発表では様々なリン酸化が CTD 構造空間分布に与える影響と、非コンセンサス配列の構造特性についても詳細に報告する。