

2P121 リガンド結合によるラクトースリプレッサー二量体と DNA 間の
特異的相互作用の変化機構の解析：古典 MD 及びフラグメント MO 計算

(豊橋技術科学大学) 松下祐貴、島村香奈子、大石叡人、大山達也、○栗田典之

**Change of specific interactions between the dimer of lactose repressor protein
and DNA induced by ligand-binding : MD and *ab initio* FMO calculations**

(Toyohashi University of Technology)

Yuki Matsushita, Kanako Shimamura, 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。本研究では、LacR 二量体と DNA から構成される複合体を計算対象とし、リガンドが結合した際の複合体の構造変化を古典分子動力学 (MD) 計算により解析し、得られた構造に対し FMO 計算を実行し、LacR に結合するリガンドの種類に依存して、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。その結果を基に、リガンドと LacR 二量体による転写制御機構モデルを提案した。

【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 が結合した構造 (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付加し、古典 MD 計算プログラム GROMACS を用い、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、リガンド結合による LacR+DNA の構造の変化を明らかにした。

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. 1 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 のアミノ酸残基を中心に LacR 全体に及ぶことを示している。また、IPTG が結合した構造は、時間経過とともに RMSD 値が徐々に増加しており、IPTG が結合した影響が IPTG 周囲のみでなく、LacR 全体に及んでいることを示している。

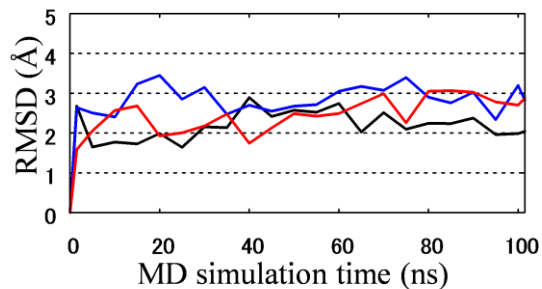


Fig. 1 Change in RMSD of LacR residues during MD simulations (black: no-ligand, red: IPTG, blue: ONPF)

IPTG が結合した LacR 二量体は、Fig. 2 に示すように、92.1 ns 時に LacR が DNA に沿った方向に大きく揺らぎ、100 ns の MD 計算中同様の揺らぎが観測された。これは、Fig. 3 のモデルに示すように、IPTG のイソプロピル基 (疎水性) と LacR の Asn125 や Asp149 を含む α -helix との反発により引き起こされる。この反発により、 α -helix が別の LacR monomer の DBD (DNA binding domain) の方向へ押し出され、DBD と水素結合を形成し、その結果、LacR 全体が傾いたと考えられる。一方、ONPF が結合した場合は、ONPF のフコース (親水性) と Asn125 や Asp149 が水素結合を形成し、 α -helix が DBD の方向に押し出されることがなく、LacR の構造が大きく傾くことはない。このように、LacR に結合するリガンドの僅かな構造の相違により、LacR 二量体+DNA の構造が大きく異なることが、今回の MD 計算により明らかになった。現在、MD 計算によって得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。

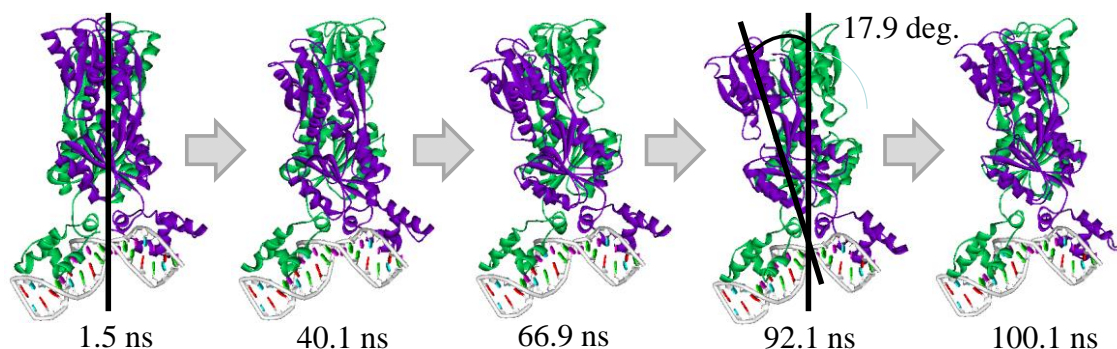


Fig. 2 Change in relative conformation between LacR + IPTG dimer and DNA in the MD simulation: at 1.5, 40.1, 66.9, 92.1 and 100.1 ns

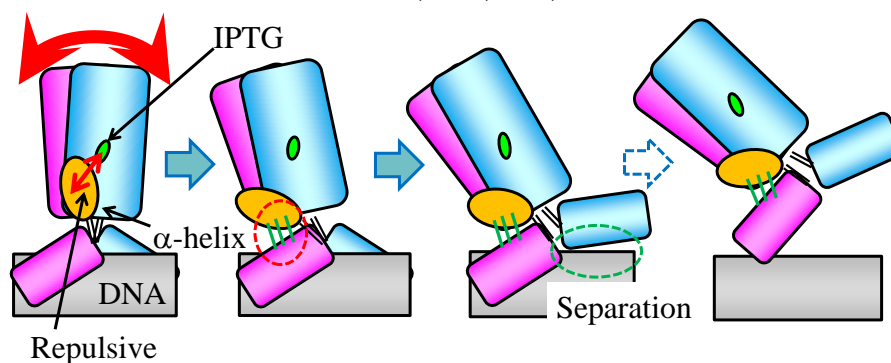


Fig. 3 Schematic pictures for the structural change of LacR+IPTG+DNA

【参考文献】 [1] R. Daber *et al*, J.Mol.Biol. 2007,340,609. [2] T. Ohya *et al*, J.Comput.Chem. 2011,32,1661.