

分子動力学シミュレーションによる Spt5-CTR 領域構造へのリン酸化の影響

(近畿大学 先端技術総合研究所) ○米澤 康滋

Molecular dynamics study on
the phosphorylation effect of the CTR region of Spt5
(Kindai Univ. Adv. Tech.) ○Yasushige Yonezawa

【序】

DSIF は RNA ポリメラーゼ II (Pol2) に結合して転写過程に大きな影響を及ぼしている超分子集合体の一つである。DSIF を構成する因子の一つである Spt5 の C 末端近くに位置する CTR 領域は 7 アミノ酸残基が繰り返す Pol2 の CTD と同様に、特有のアミノ酸残基繰り返し配列を持ち Thr 残基の部位特異的なリン酸化に依存して様々な転写因子を結合することで RNA ポリメラーゼ II が関わる転写過程を制御する重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。様々な研究からリン酸化が CTR 構造・機能に大きな影響を与えているがその分子機構の詳細は明らかにされていない。CTR のリン酸化による転写因子認識機構を解明するために、我々は分子動力学シミュレーションを活用してリン酸化による CTR 構造変化のビックデータを構築し、さらに多変量解析の手法を駆使して詳細に研究した。その結果、リン酸化は CTR 構造を進展させる大きな効果を持つことを明らかにした。

【計算方法】

分子動力学シミュレーション計算に用いた CTR のリン酸化されていないアミノ酸配列 (47 アミノ酸残基) を以下に示す。

RTP MY GSQTP MYGS GSRTP MY GSQTP LQD GSRTP HY GSQTP LHD GSRTP

太い赤色で示した Thr 残基がリン酸化されることで CTR 領域の転写因子がリクルートされて転写過程を制御することが知られている。N 末端と C 末端が強く静電相互作用の影響を受けないように、メチル基でキャップした。初期状態は伸長型の主鎖骨格を持ち状態とし、周りに水分子モデル TIP4PD を配置した。TIP4PD モデルは IDP (Intrinsic Disorder Protein) の構造を再現する為に D.E.Shaw 等によって最近提案された新しい水モデルである。溶媒のイオン強度が 150mM になるように NaCl イオンをこの水分子モデルと入れ替え、周期的条件下に配置した。温度 310K、圧力 1 気圧まで平衡化を実施したのちに、2ps 毎に系のトラジェクトリーデータ (wCTR) を収集した。温度制御には Bussi-Parinello のランジュバン型熱浴を用い、圧力制御には Andersen の方法を用いている。分子動力学シミュレーションプログラムには、Gromacs4-5-5 を用いた。さらに Thr 残基がリン酸化された CTR ペプチドを中心に置く系 (pCTR) を同様に構築してデータ収集を実施した。

【結果】

図 1 に、wCTR と pCTR の 2 次構造の時間変化を示す。2 次構造は標準的に良く用いられている DSSP プログラムで決定した。

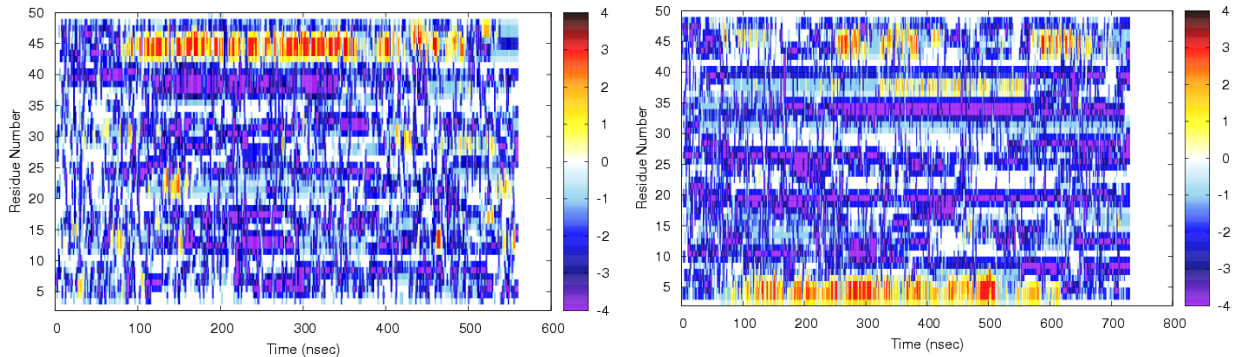


図 1 MD シミュレーションから得られた、wCTR (左) と pCTR (右) の 2 次構造の時間変化。縦軸はアミノ酸番号、横軸は時間 (単位 nsec) を示す。空色は、水素結合を形成するターン構造、青色は単独のシート構造、濃い青色は伸長 (β シート) 構造を示し、紫色はベント構造を示している。また黄色は β ヘリックス、オレンジ色は 3_{-10} ヘリックス、赤色は α ヘリックス構造を示している。

図 1 からは、wCTR と pCTR 共に特徴的な 2 次構造が形成されていることが分かる。pCTR ではその特異性が顕著である。すなわち Thr 残基リン酸化の影響によると思われる安定なベンド構造が、10 番目残基付近と 20 番目及び 25、35 番目残基付近に観測できる。このベント構造は対象となる転写因子の認識と結合に寄与していると考えられる。

wCTR から得られた構造アンサンブル空間分布 (d_{ij}^2 行列; 500x500 次元) を、Multi-Dimensional Scaling Method (MDS) で 2 次元に次元圧縮した結果を図 2 に示す。構造ペア間の類似性は、各々のペプチドの Ca 原子間距離がどの程度変化したかの差に関する 2 乗平均値 ($dRMSD$) を用いている。

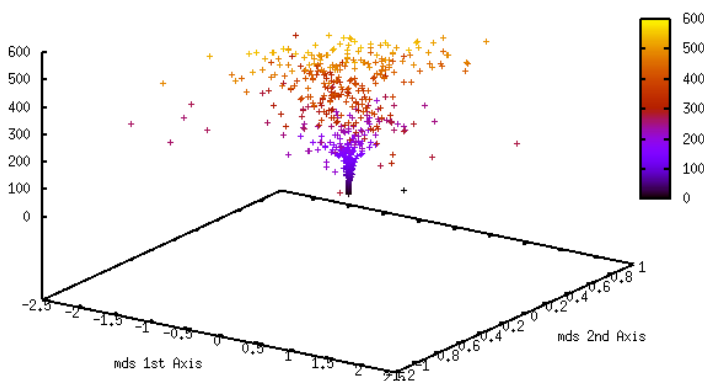


図 2 MDS による wCTR 構造アンサンブルの 2 次元に圧縮した結果。垂直軸は 2 次元分布の時間変化を示している。

詳細については発表時に解説・議論したい。