

アミノ酸側鎖による塩基配列認識： 相互作用自由エネルギーによる考察

(広島大院理・広島大 QuLiS) ○ 吉田智喜、相田美砂子
(九州工大情報工) 皿井明倫
(産総研生命情報科学研究セ) Michael M. Gromiha

【序】

DNA 結合蛋白質は、配列特異的に DNA と結合し特異的複合体を形成することで、遺伝子の発現とその制御において重要な役割を果たしている。この、蛋白質による DNA の特異的認識に対して、X 線や NMR による構造解析よりわかっていることは、あるアミノ酸側鎖が単独の塩基とのみ相互作用している場合もあれば、二つの塩基間にわたって架橋している場合など、相互作用構造に多くのパターンが存在しているということである。すなわち、DNA 結合蛋白質は塩基配列と一対で相互作用するが、個々のアミノ酸レベルではそのような対応が見られず、DNA 結合蛋白質がなぜ特定の塩基配列を認識し結合することができるのかはわかっていない。

そこで、アミノ酸側鎖が取り得る数多くの構造を考慮することによって、アミノ酸側鎖と塩基配列との間の相互作用の自由エネルギー($\Delta\Delta G$)を計算する[1][2]。 $\Delta\Delta G$ 値は塩基配列まわりの空間の各点で異なる値をもつため、そのまわりの $\Delta\Delta G$ マップとして表現する。 $\Delta\Delta G$ マップを用いることで、アミノ酸側鎖が塩基配列まわりのどの位置に存在したときに自由エネルギー的に安定であるかを評価することができる。

この $\Delta\Delta G$ マップを用いることにより、アミノ酸側鎖と塩基配列との相互作用に、配列依存性は存在するのだろうか。DNA 上において、アミノ酸側鎖の結合位置を予測することができるかどうか。について明らかにする。

【方法】

今回はアミノ酸側鎖として、アスパラギン(Asn)とセリン(Ser)を考える。これらは、DNA 結合蛋白質と DNA との複合体中で、DNA を直接認識しているアミノ酸側鎖として比較的多く見出されるものである。それぞれの側鎖について 32 通りのスタッキングした 3 塩基対(ヌクレオシドモデル分子対)との間の相互作用について調べた。

[$\Delta\Delta G$ マップの計算方法]

アミノ酸の主鎖は考慮せず、塩基配列を構成する核酸塩基には、O_{5'}位の H を CH₃ 基に置換したヌクレオシドモデル分子を用いた。塩基配列は標準的な B 型 DNA の構造とした。中心の塩基対平面を Z=0 の平面とし、X 軸はその塩基対を構成するピリミジンの N₁ からプリン N₉ を結ぶ直線、Y 軸は主溝側を指し、Z 軸は螺旋軸の方向とした(Fig. 1)。

塩基配列の主溝側の格子(0.5 間隔)を定義し、アミノ酸側鎖の C_α 原子をこの格子点上に置く。 C_α 原子を中心として側鎖の配向、およびねじれ角の組を系統的に変化させることで 2,344,950 個の構造を発生させた。これらの構造各々について系のエネルギーを力場により求めた。非結合原子間の相互作用エネルギーには ab initio potential [3]を使用した。これは、ab initio MO 法計算による相互作用エネルギーを再現するようにパラメータ

が導かれているものである。発生させたすべての構造に対するエネルギーの Boltzmann 平均をとることで、その位置における ΔG 、 ΔH 、 $T\Delta S$ を計算し、相互作用エネルギーの最小値 $\Delta E_{\min}$ 、その構造などの情報を得た。この操作をすべての格子点上において行った。 C_α 原子が核酸塩基対から遠く離れており、相互作用していないときの対応する値を引くことにより $\Delta\Delta G$ 、 $\Delta\Delta H$ 、 $T\Delta\Delta S$ 、 $\Delta\Delta E_{\min}$ としマップを描いた。系の温度は 298.15K とした。

このようにして計算された $\Delta\Delta G$ マップはアミノ酸の C_α 原子の存在確率を表すものである。

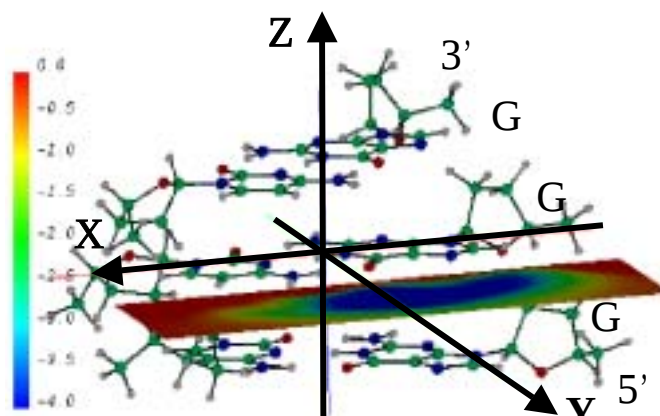


Fig. 1. $\Delta\Delta G$ map of GGG ($Z=0.0$) (塩基配列は通常の記法に則り、5'末端から 3'末端の向きに表記)

【結果】

3 塩基対の長さの塩基配列に対して計算された 32 通りの $\Delta\Delta G$ マップ ($Z=0.0$) から、上下にどのような塩基対が存在するかによって $\Delta\Delta G$ マップに違いあることがわかった。さらに、それらを組み合わせることで、5 塩基対長の塩基配列まわりの $\Delta\Delta G$ 等値面を描いた。塩基配列によって $\Delta\Delta G$ 等値面が異なっており、アミノ酸側鎖と塩基配列との相互作用には配列依存性が存在していることがわかった。また、一つの塩基対が変わる (例えば G-C 塩基対が C-G 塩基対に変わる) だけでも、側鎖による塩基配列の認識に大きな違いが生じ得ることがわかった。

PDB データより選んだ蛋白質-DNA 複合体の DNA 塩基配列に対して、それが理想的な B 型 DNA であるとしたときの、そのまわりの $\Delta\Delta G$ 等値面を描き PDB データと比較した結果、自由エネルギー的に安定な領域にアミノ酸の C_α 原子が存在していることを確認することができた。同様の等値面を相互作用エネルギー $\Delta\Delta E_{\min}$ について描くと、PDB データとの対応は見られなかった。すなわち、 $\Delta\Delta G$ マップによって Asn 側鎖の C_α 原子の存在する位置を予測することができる。

【参考文献】

- [1] Pichierri, F.; Aida, M.; Gromiha, M. M.; Sarai, A. J Am Chem Soc, **121**, 6152-6157, 1999
- [2] Yoshida, T.; Nishimura, T.; Aida, M.; Pichierri, F.; Gromiha, M., M.; Sarai, A., Biopolymers, **61**, 84-95, 2002.
- [3] Aida, M.; Corongiu, G.; Clementi, E., Int. J. Quantum Chem, **42**, 1353-1381, 1992.