

## cAMP 受容蛋白質の転写制御機構に関する理論的考察

(東芝・富士総研・国立衛研・産総研・豊橋技科大・科技団)

○田中成典・福澤薫・中野達也・古明地勇人・

薄木亮・仙石康雄・杉木真一郎・栗田典之

cAMP 受容蛋白質 (cAMP Receptor Protein ; CRP) は、cAMP (cyclic 3':5'-adenosine monophosphate) との結合によって DNA との結合が誘発され、糖代謝系遺伝子の転写を促進する転写制御因子である。本研究では、特に CRP レセプターとリガンド分子である cAMP との結合に注目し、特定のリガンド分子の結合がいかんにして CRP と DNA との特異的結合や転写開始につながっていくのか、その初期過程に関する理論的な解析を試みる。

行った解析は以下の通りである。

(1) CRP と cAMP の結合親和性が、CRP のアミノ酸置換によって大きく変化することが知られている。リガンド分子とレセプター蛋白質の特異的結合のメカニズムを探る目的で、半経験的ならびに非経験的分子軌道 (MO) 法を用いた結合エネルギーの計算を行って、結合親和性のアミノ酸置換効果に関する実験結果と比較する。野生型の蛋白質の結晶構造に関しては Protein Data Bank (PDB) の構造データを用い、アミノ酸置換を行った場合については AMBER 力場による構造最適化を行う。

(2) 実験的に、CRP にリガンド分子が結合していない場合、cAMP が結合した場合、さらには類似したリガンド分子である cGMP が結合した場合で、CRP 蛋白質全体の構造、とくに DNA 結合領域 (DNA Binding Domain ; DBD) の構造が変化し、このことが DNA との結合親和性の変化に影響することが示唆されている。このメカニズムを分子レベルで探るために、上の3通りの場合に対して水中で CRP 蛋白質系の分子力学/分子動力学 (MM/MD) シミュレーションを行い、最安定構造 (の候補) を求め、リガンド結合領域 (Ligand Binding Domain ; LBD) の情報が DBD にどのように伝達されるかを構造的な側面から考察した。

(3) (2) で得られたそれぞれの場合に対する安定構造に基づき、LBD および DBD 部分を切り出して MO 計算を行い、前者に対してはリガンド分子との結合エネルギーを、また後者に対してはフロンティア軌道分布や静電ポテンシャル分布等を解析して電子論的な側面からリガンド分子の効果を考察した。

解析結果の詳細に関しては当日のポスター発表で紹介する。

本研究は、科学技術振興事業団・計算科学技術活用型特定研究開発推進事業の研究課題「DNA のナノ領域ダイナミクスの第一原理的解析」の援助を受けて行われた。

