

## 2P067 プロリンのシス - トランス異性化反応についての理論化学的研究

(広島大院理<sup>1</sup>・広島大QuLiS<sup>2</sup>・藤沢薬品(株)化学研<sup>3</sup>)

原田隆範<sup>1,2</sup>、白井文幸<sup>3</sup>、相田美砂子<sup>1,2</sup>

【序】タンパク質のコンホメーションの決定要因には様々なものがあるが、タンパク質の種類によらず、それを構成するアミノ酸残基のペプチド結合に関してはほとんどがC=OとN-Hが逆方向になるトランス型のみをとる。しかし、プロリン残基については、他の残基に比べるとその直前の残基とのペプチド結合にシス型(図1)をとりやすいことが知られており、タンパク質中にもその存在が多く見出されている。また、プロリン残基のシス - トランス異性体はタンパク質のフォールディングにおいても重要であり、その過程においてシス - トランス異性化反応がフォールディングの速度を決定する要因となることもある。生体内には、プロリン残基のペプチド結合の異性化反応を触媒する酵素(プロリルイソメラーゼ)が広く存在している。このプロリルイソメラーゼとそれに結合しているシス型およびトランス型プロリンとの相互作用の強さの違いを調べることは、酵素が関与するペプチド結合の異性体の安定性および異性化反応を検討するうえで重要である。本研究では、プロリルイソメラーゼの1種であるシクロフィリン(165残基)とプロリンを含む基質との複合体を対象としてフラグメント分子軌道(FMO)法<sup>1-5)</sup>による計算を行い、シス・トランス異性体の残基間相互作用の強さの変化について解析を行った。

【計算】シクロフィリンの構造には、シス型・トランス型それぞれのプロリン残基を含むオリゴペプチド(基質)が結合している複合体(PDB ID : 1RMH(シス型), 1AWQ(トランス型))を用いた。まずこれらの結晶構造に水素原子を付加したのち、AMBER力場を用いてシクロフィリンの水素原子およびオリゴペプチド全体を最適化した。このようにして作成した構造についてFMO法を用いたHF/STO-3Gによる一点計算を行い、シス型・トランス型プロリン(およびその前後の残基)が関係する残基間相互作用エネルギーを求めた。なお、FMO法による計算は、1残基を1フラグメントとして行った(図2)。また、プロリンを含むモデル分子をこれらの構造から切り出して作成し、MP2/6-31G\*\*による構造最適化を行ってシス型とトランス型のエネルギー差を求めた。

【結果】シクロフィリン - 基質中のプロリン残基間の相互作用エネルギーに関して、シス型

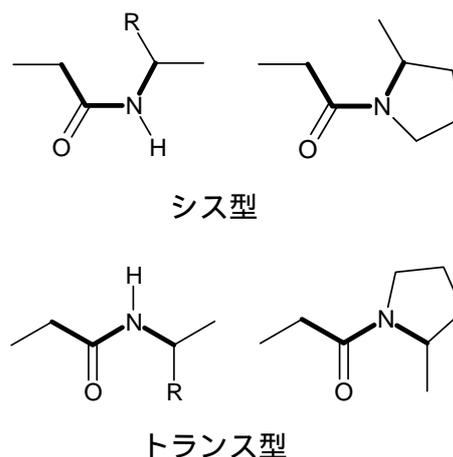


図1 ペプチド結合まわりのコンホメーション(右側がプロリン残基)

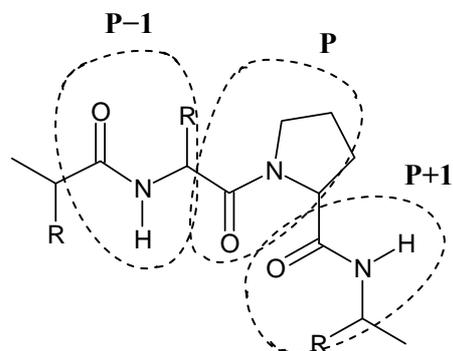


図2 フラグメント分割方法(基質中のプロリン残基前後の例)

およびトランス型の場合を比較すると、シクロフィリンを構成する大部分の残基については相互作用エネルギーの差は小さく、プロリン残基のペプチド結合のコンホメーション変化による全体構造への影響は小さいことが分かる。また、プロリン(およびその前後の残基)と強く相互作用する残基はその近傍に多く存在し、Arg55はプロリンのカルボニル基と特に強い水素結合を形成する(図3, 4)。トランス型からシス型へコンホメーションが変化すると、Arg55との水素結合は少し弱くなる。しかし、プロリンの前にある残基のカルボニル基がトランス型にはないAsn102主鎖のN-H基との水素結合を形成し、それがシス型プロリンの安定化に寄与するものと考えられる。

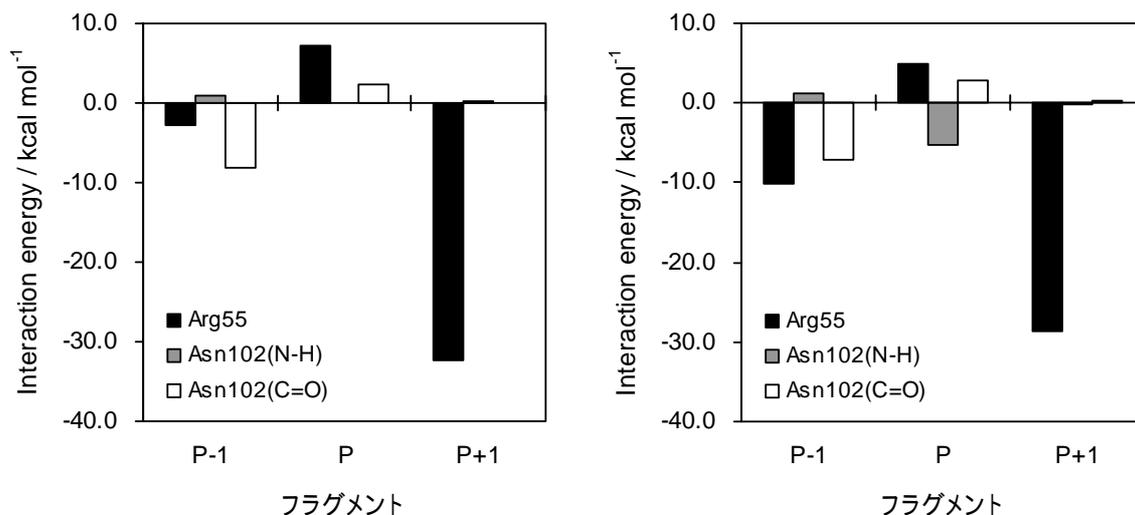


図3 シクロフィリン - 基質中のプロリン(およびその前後にある残基)間の相互作用エネルギー(左: トランス型、右: シス型)  
(フラグメントP-1, PおよびP+1は図2のものに対応する)

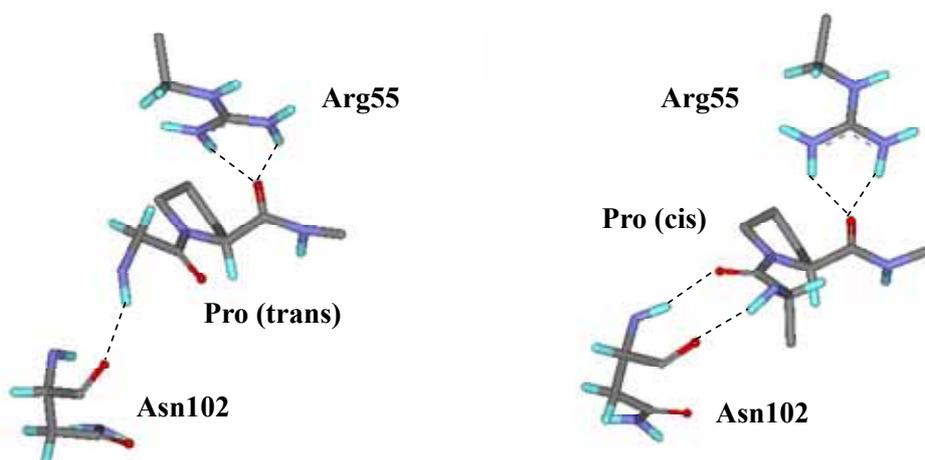


図4 基質中のプロリンおよびその前後の残基と強く相互作用するシクロフィリンの残基(左: トランス型、右: シス型)

#### 【参考文献】

- (1) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **312**, 319 (1999).
- (2) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **313**, 701 (1999).
- (3) T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.* **318**, 614 (2000).
- (4) K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **336**, 163 (2001).
- (5) T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.* **351**, 475 (2002).