

1P104 プロリル結合のシス - トランス異性化に関する理論化学的研究

(広島大QuLiS¹・広島大院理²・アステラス製薬(株)³)

原田隆範^{1,2}、白井文幸³、相田美砂子^{1,2}

【序】タンパク質を構成するアミノ酸残基間のペプチド結合にはシス型とトランス型が存在するが(図1)、タンパク質中においてはほとんどの場合トランス型をとる。しかし、プロリン残基とそのN末端側の残基とのペプチド結合(プロリル結合)においては、比較的シス型をとりやすいことが知られている。タンパク質中においてはシス型かトランス型のどちらかをとり得ることから、プロリル結合のコンホメーションはタンパク質のフォールディングにおいて重要であり、シス - トランス異性化反応はその速度を決定する1つの要因となっている。

プロリル結合の異性化反応に関して、生体内にはそれを触媒する働きを持つ酵素(プロリルイソメラーゼ)が複数種存在することが知られている。これらのイソメラーゼ(を構成する残基)とそれに結合している基質中のプロリンとの相互作用の強さを調べることは、プロリル結合の異性化反応における酵素の寄与を解明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についてフラグメント分子軌道(FMO)法¹⁻⁶⁾による量子化学計算を行い、シス型・トランス型および遷移状態構造のプロリンとシクロフィリンのそれぞれの残基との間の相互作用の強さの変化について解析を行った。

【計算】タンパク質の構造は、シクロフィリンにシス型・トランス型両方のプロリンを含む基質が結合している複合体(PDB ID: 1M9Y)を用いた。

ただし、基質は一部のみを切り出した構造を用い、また複合体に溶媒分子は加えていない。これらの構造に水素原子を付加したのち、ONIOM法により複合体全体を最適化した。このようにして作成した構造についてFMO法によるHF/STO-3Gを用いた一点計算を行い、シクロフィリンおよび基質を構成する各残基間の相互作用エネルギーを求めた。なお、FMO法による計算は、シクロフィリン・基質ともに1残基を1フラグメントとして行った。図2に基質プロリン前後のフラグメント分割について示した。

遷移状態の構造は、プロリン分子の最適化構造(MP2/6-31G**)を基質に当てはめて作成し、計算はシス型・トランス型の場合と同じ方法を用いて行った。

【結果】シクロフィリン - 基質プロリン間の相互作用エネルギーをそれぞれのコンホメーションについて比較すると、シクロフィリンのほとんどの残基については相互作用エネルギー

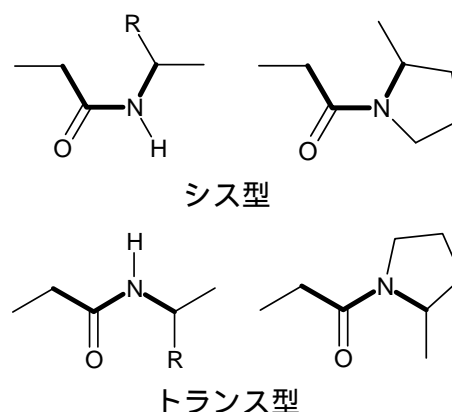


図1 ペプチド結合(プロリル結合)のコンホメーション

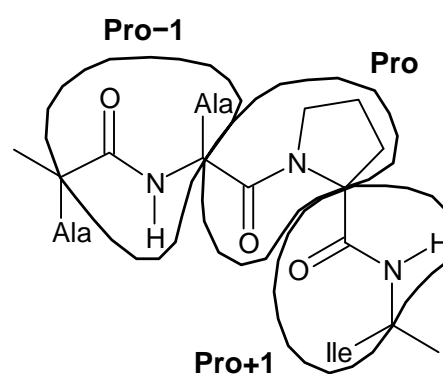


図2 FMO法におけるフラグメント分割方法

の変化は小さいことから、シクロフィリン全体に及ぼすプロリル結合のコンホメーション変化の影響は小さい。また、プロリンおよびプロリン前後の残基と強く相互作用する残基はその近傍に存在し、その1つ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(フラグメントPro+1), 図4)。遷移状態においては、シス型・トランス型と同様のArg55との水素結合のほかに、相互作用エネルギーから判断するとそれほど強くはないものの、プロリンの窒素原子との間にもう1つ水素結合を形成する。この水素結合がシクロフィリンのプロリルイソメラーゼとしての働きにおいて重要な相互作用であると考えられる。その他には、Asn102の主鎖が基質プロリンよりもN末端側にある残基と水素結合を形成し、シス型とトランス型では結合様式が異なることが分かった。

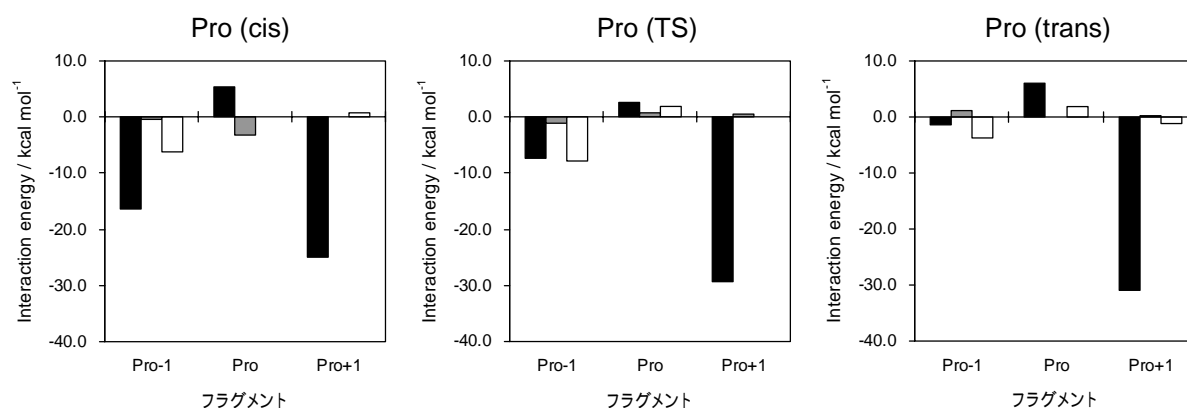


図3 シクロフィリン - 基質プロリン(およびその前後の残基)間の相互作用エネルギー (: Arg55、 : Asn102主鎖N-H、 : Asn102主鎖C=O) (フラグメントPro-1, ProおよびPro+1は図2のものに対応)

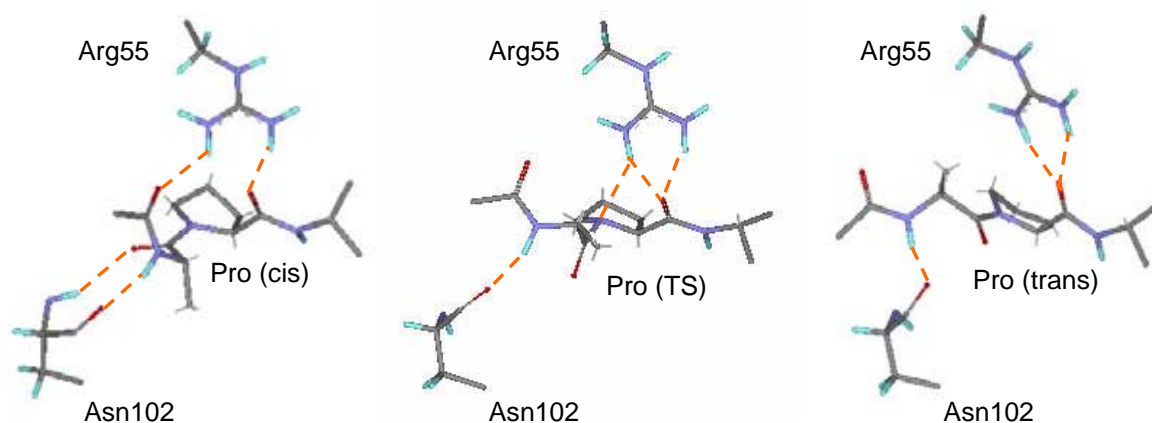


図4 基質プロリンおよびプロリン前後の残基周辺の構造(点線は水素結合) (左からシス型、遷移状態、トランス型)

【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).
- (6) K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.* **26**, 1 (2005).