

レチノイド X レセプターのヘリックス 12 に関する理論的研究

(神戸大院自然科学^a, JST-CREST^b, みずほ情報総研^c, 立教大理^d, 国立衛研^e)

○伊藤三香^{a,b}, 福澤薫^c, 望月祐志^{b,d}, 石川岳志^{b,d}, 中野達也^{b,e}, 田中成典^{a,b}

【序】レチノイド X レセプター α (RXR α) は、核内レセプタースーパーファミリーに属するリガンド誘導性転写制御因子であり、リガンドの作用に関わる標的遺伝子群の発現を転写レベルで制御する[1]。RXR α の内因性リガンドである 9-*cis*-レチノイン酸 (9C-RA) は、生体内では形態形成制御作用や細胞の分化増殖制御作用を持っており、その投与は、エイズ患者によく見られるカポジ肉腫の治療に有効であることが報告されている[2]。RXR α の転写促進能には、リガンド結合による RXR α のリガンド結合領域 (LBD) の構造変化と、それに伴う共役転写活性化因子 (コアクチベーター) との相互作用が必須であることが知られている。また、この LBD の構造変化は、主に、リガンドと直接的には接触しないヘリックス 12 (H12) の移動に現れ、移動後の H12 とコアクチベーター内の LXXLL モチーフとの接触によって、RXR α とコアクチベーターが相互作用するということが知られている[3]。また、近年、コアクチベーターと接触している H12 の不安定化によって RXR α の転写活性が低下するということが報告されている[4]。このような実験から、H12 は RXR α の転写促進能において重要な役割を果たしていると考えられるが、どのような役割をどのように果たしているのか、その詳細は十分明らかにはされていない。そこで、本研究では、RXR α の転写促進能における H12 の役割を明らかにすることを旨とし、その第一段階として、RXR α の LBD に 9C-RA とコアクチベーター SRC-1 のペプチドが結合した複合体内部の電荷移動と相互作用における H12 の役割についてフラグメント分子軌道 (FMO) 法を用いた量子化学計算により検討した。

【方法】 RXR α LBD に 9C-RA と SRC-1 ペプチドが結合した複合体構造は、Protein Data Bank (PDB) に登録されている X 線結晶構造 (PDBID: 1FM9) を用いた。X 線結晶構造を基に AMBER99 力場を用いて水素の付加と最適化を行い、複合体モデルを作成した (Figure 1)。このモデルを用いて、複合体内部の電荷移動と相互作用を FMO 法により計算した。FMO 計算には、波動関数に Hartree-Fock (HF) 法と Møller-Plesset 2 次摂動 (MP2) 法を、基底関数に Pople らの 6-31G を用い、計算プログラムに ABINIT-MP を用いた。FMO 計算結果の表示には、BioStation Viewer を用いた。

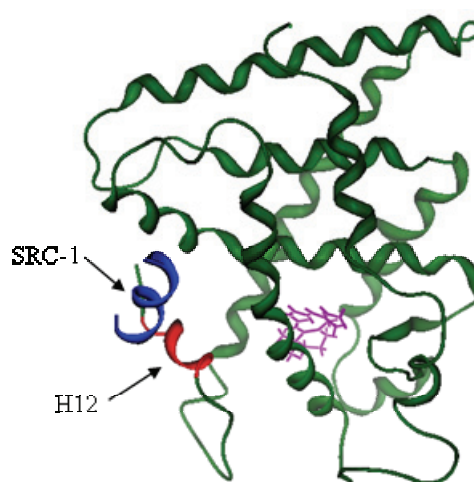


Figure 1. Ribbon display of the RXR α LBD (green) complexed with 9C-RA (purple) and SRC-1 peptide (blue). The position of H12 (red) is also displayed.

【結果】

1) 分子単位の電荷移動

Table 1に、複合体構成分子であるRXR α と9C-RAとSRC-1それぞれの複合体形成前後の電荷 (Mulliken Charge) の変化について、HF法を用いて得られた結果を示す。複合体形成後の電荷 $q(\text{RLC})$ は、RXR α が-0.022、9C-RAが-0.778、SRC-1が+2.800と計算され、複合体分子全体は+2の電荷を持っている。複合体形成前の電荷 $q(\text{R+L+C})$ は、RXR α が0、9C-RAが-1、SRC-1が3であることから、 Δq_3 に示すように、複合体を形成することで、9C-RAからRXR α およびSRC-1へ、それぞれ約-0.02および-0.20の電荷が移動しており、9C-RAからSRC-1への長距離の電荷移動が主であることがわかる。この長距離の電荷移動について、9C-RAおよびSRC-1の結合が及ぼす影響を解析した。 Δq_1 の値から、9C-RAの結合によって、9C-RAからRXR α へ約-0.23の電荷が移動し、 Δq_2 の値から、SRC-1の結合によって、RXR α からSRC-1へ約-0.20の電荷が移動していることがわかる。したがって、複合体分子全体では、9C-RAからRXR α への電荷移動 (Process 1) に続き、RXR α からSRC-1への電荷移動 (Process 2) が起こり、その結果、9C-RAからSRC-1への長距離の電荷移動が起こることが示された。

2) 残基単位の電荷移動

さらに、残基単位の電荷移動について、HF法を用いて解析した結果、Process 1では、リガンド結合ポケットを構成する残基の電荷移動が大きく、H12部分には大きな電荷移動は見られないことがわかった。一方、Process 2では、H12を構成する7残基すべての電荷移動が大きく、H12に隣接している残基の電荷移動も大きいことが示された。また、Process 1, 2のどちらにおいても、大きな電荷移動が見られる残基は、極性・非極性残基の両方であることが示された。

【考察】以上の結果から、9C-RAからSRC-1への長距離の電荷移動において、H12とSRC-1との相互作用が重要であることが予測された。現在、MP2法を用いた解析により、電荷移動と残基間相互作用との相関などについて検討中である。

Table 1. Charge differences between receptor-ligand-coactivator complex (RLC), receptor-ligand complex (RL), and individual molecules (R+L+C).

	$q(\text{RLC})$	$q(\text{RL+C})$	$q(\text{R+L+C})$	Δq_1	Δq_2	Δq_3
RXR α	-0.022	-0.227	0.000	-0.227	0.205	-0.022
9C-RA	-0.778	-0.773	-1.000	0.227	-0.005	0.222
SRC-1	2.800	3.000	3.000	0.000	-0.200	-0.200

$\Delta q_1 = q(\text{RL+C}) - q(\text{R+L+C})$, $\Delta q_2 = q(\text{RLC}) - q(\text{RL+C})$, and $\Delta q_3 = q(\text{RLC}) - q(\text{R+L+C})$.
All values are in a.u. calculated at HF/6-31G level.

【参考文献】

- [1] Mangelsdorf, D. J.; Thummel, C.; Beato, M.; Herrlich, P.; Schütz, G.; Umesono, K.; Blumberg, B.; Kastner, P.; Mark, M.; Chambon, P.; Evans, R. M. *Cell* **1995**, *83*, 835–839.
- [2] Miles, S. A.; Dezube, B. J.; Lee, J. Y.; Krown, S. E.; Fletcher, M. A.; Saville, M. W.; Kaplan, L.; Groopman, J.; Scadden, D. T.; Cooley, T.; Von Roenn, J.; Friedman-Kien, A. *AIDS* **2002**, *16*, 421–429.
- [3] Freedman, L. P. *Cell* **1999**, *97*, 5–8.
- [4] Pogenberg, V.; Guichou, J-F.; Vivat-Hannah, V.; Kammerer, S.; Pérez, E.; Germain, P.; Lera, A. R.; Gronemeyer, H.; Royer, C. A.; Bourguet, W. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 1625–1633.