

2P12

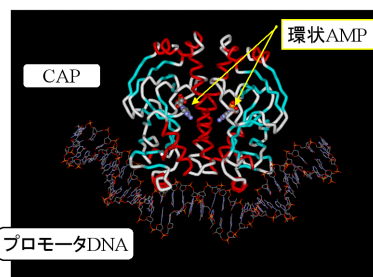
転写制御タンパク質とリガンド分子の相互作用の解析

○田中成典¹、薄木亮²、仙石康雄²、栗田典之²

¹東芝研究開発センター、²豊橋技術科学大学知識情報工学系

DNA の遺伝情報がタンパク質に転写される分子機構の解明はポストゲノム研究における重要課題である。転写活性タンパク質の一つである大腸菌の cAMP 受容タンパク質 CRP は、環状 AMP (cAMP) と結合して cAMP-CRP 複合体となり、DNA の特定部位に結合して RNA ポリメラーゼが DNA に結合するのを助け、lac オペロンの転写を促進する。この調節機構は、(1) グルコース (アデニル酸シクラーゼを阻害) の減少、(2) アデニル酸シクラーゼ (ATP を cAMP に変化させる触媒) の活性化、(3) cAMP 量の増加、(4) cAMP-CRP 複合体が DNA に結合、(5) lac オペロンの転写の促進、のように起こると考えられている。しかしながら、cAMP-CRP 複合体が DNA に結合しやすくなり、転写を促進する機構は未だ解明されていない。本研究では、CRP と cAMP の複合体の結合状態を解析することにより、cAMP-CRP 複合体がどのように DNA と結合し、転写を促進するかを解明する足がかりとする。具体的には、野生型 CRP 及びアミノ酸置換した変異型 CRP と cAMP との結合エネルギーや結合による構造変化などを計算することにより、CRP のどのアミノ酸が cAMP との結合に重要な役割を持つか、またそれによって DNA との結合性にどういった影響が期待できるか等を明らかにする。

まず、Protein Data Bank (PDB) に登録されている cAMP-CRP の構造(1G6N)を入手し、また、HyperChem を用いて、cAMP と水素結合している CRP のアミノ酸を置換し、その部分のみ分子力場法 (AMBER 力場) で最適化して変異体の分子構造を作成した。これらの野生体と変異体それぞれに対して MOPAC の PM3 法を用いて水中 (COSMO 法) や真空中、末端処理など様々な条件に対して電子状態を計算し、cAMP-CRP、CRP、cAMP のエネルギーを計算して結合エネルギーを算出した。ここでは、CRP 中のアミノ酸のうち、72 番 (Glu) と 82 番 (Arg) のアミノ酸を置換すると CRP と cAMP の結合が弱まり、128 番 (Ser) など他の水素結合をしているアミノ酸を置換した場合は結合に影響はないという実験結果があるので、72 番、82 番、128 番のアミノ酸をグリシンに置換し、cAMP との結合エネルギーを計算して比較した。さらに、cAMP がある場合とない場合で CRP の構造がどのように変化するかを水中の分子動力学シミュレーションを用いて検討した。結果の詳細は当日のポスターにおいて議論する。



cAMP-CRP (CAP) 複合体と DNA との結合様式