

## フラグメント MO 法による DNA とエストロゲン受容体の相互作用解析

○渡邊寿雄<sup>1,2</sup>, 稲富雄一<sup>1</sup>, 福澤薫<sup>3</sup>, 田中成典<sup>4</sup>, 中野達也<sup>5</sup>, Nilsson Lennart<sup>6</sup>, 長嶋雲兵<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>産総研グリッドセンター(〒305-8568 つくば市梅園 1-1-1 中央第 2)、<sup>2</sup>科学技術振興機構、  
<sup>3</sup>富士総研、<sup>4</sup>東芝、<sup>5</sup>国立衛研、<sup>6</sup>カロリンスカ研究所

【緒言】 エストロゲン受容体 (ER) は核内受容体スーパーファミリーの 1 つで、エストロゲンとの結合によって活性化され、二量体として DNA のエストロゲン応答配列 (DNA-ERE) と配列特異的に結合し、標的遺伝子の転写制御因子として働く。ER の DNA への結合は、Zn Finger モチーフを基礎とした ER の DNA 結合部位 (ER-DBD) が二量体として DNA-ERE へ結合することが、結晶構造解析により分かっている。その配列認識能に関しては結晶構造の解析や、古典 MD を用いた研究 [1] がなされているが、ER の DNA 結合機構に関しては DNA の電子状態の変化が重要であるため、その詳細は明らかにされていない。そこで、大規模生体分子の電子状態をあらわに扱うが可能なフラグメント分子軌道 (FMO) 法を用いて、DNA-ERE と ER-DBD 間の詳細な相互作用解析を行い、結合機構の解析を行った。

【方法】 ER-DBD と DNA-ERE の複合体の結晶構造 (1HCQ) を元に、MD 計算を行って得られたスナップショット構造 [1] を用いて FMO-HF/STO-3G 計算を行った。MD 計算は球状の水分子と対イオンを加えて行ったが、FMO 計算は水分子及び対イオンは除いて計算を行った。ER-DBD 及び DNA-ERE のフラグメント分割は、それぞれ 1 残基 / 1 フラグメント及び 1 ヌクレオチド / 2 フラグメント (リン酸 / 糖、塩基) で計算を行った。得られた結果はフラグメント間相互作用エネルギーを用いて詳細な解析を行った。

【結果】 Fig 1 にはフラグメント間相互作用エネルギーを用いて求めた、DNA-ERE の各塩基対 (x 軸) と 2 つの ER-DBD のリン酸 / 糖及び塩基の間の相互作用エネルギーを示した。実線で示したものが MD 計算で得られた構造を用いた結果であり、点線は DNA-ERE と (ER-DBD)<sub>2</sub> との距離を 1 Å ずつ 5 Å まで離れた際の結果である。コンセンサス配列は斜体太字で示した。まず、配列特異的認識の源であるコンセンサス配列の塩基と ER-DBD の相互作用に注目するとコンセンサス配列の領域で 50-100 kcal/mol 程度の相互作用があるのが分かる。この相互作用は水素結合などの短距離相互作用であるため、DNA-ERE と (ER-DBD)<sub>2</sub> との距離を離すと大きく減衰する。一方で、負電荷を持つリン酸基と ER-DBD との相互作用に注目すると、まず全体的に 200 kcal/mol 程度の相互作用があるのが分かる。これはリン酸基の -1 の負電荷と ER-DBD の +5 の正電荷の相互作用であり、ER-DBD が DNA へと接近する際に重要な役割を果たす。また AT 及び TA の所で特異的に大きな相互作用のピークがある。このピークは DNA-ERE と (ER-DBD)<sub>2</sub> との距離を離すと大きく減衰し、5 Å ではほぼ隣の塩基対と同様な値となる。これは Arg の正電荷と Zn 周りの負電荷による双極子としての振る舞いと、Zn 周りの大きな分極相互作用によるものである。二量体ではこの 2 つの大きな相互作用によって (ER-DBD)<sub>2</sub> が DNA の上に固定されることによって、先に述べた配列特異的な相互作用を引き出されると思われる。

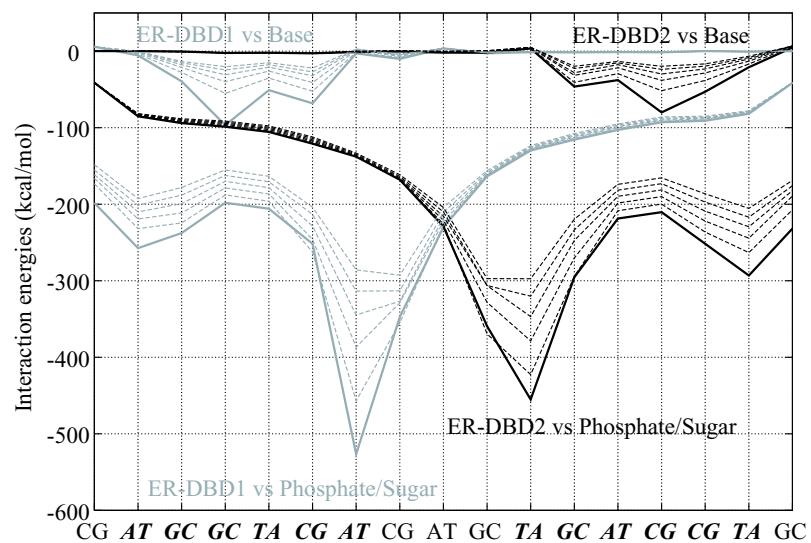


Fig. 1 Each DNA basepairs (Consensus sequences are shown in Bold Italic style)

参考文献 [1] M. A. L. Eriksson, L. Nilsson, *Eur. Biophys. J.*, (1999) **28**, 102-111.