

1D1b

プロリル結合のシス - トランス異性化反応に関する 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^{1,3}，相田美砂子^{1,2}

【序】ペプチド結合にはシス型とトランス型があるが(図1)、ほとんどのペプチド結合はトランス型をとる。一方、プロリンN末端側のペプチド結合(プロリル結合)はシス型も比較的とりやすく、この部位のシス - トランス異性化はタンパク質のフォールディングの速度を決める重要な要素の一つとなっている。この異性化反応は酵素(プロリルイソメラーゼ)によって促進されるが、このとき基質のプロリン直前の残基の種類により異性化に対する活性値が大きく変化する¹⁾。本研究では、イソメラーゼとプロリンを含む基質との複合体を対象とし、プロリル結合のコンホメーションを変化させて量子化学計算を行い、この基質特異性について検討を行った。

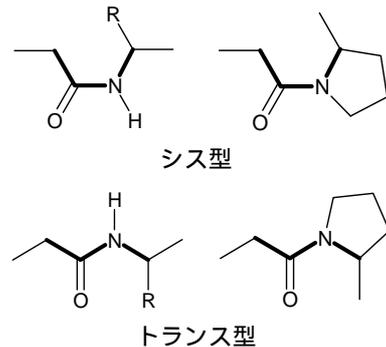


図1 ペプチド結合(プロリル結合)のコンホメーション

【計算】複合体の構造は、イソメラーゼの1種FKBPの結晶構造(PDB ID: 1FKB)にシス型・トランス型・遷移状態のそれぞれのプロリンを含む4残基の基質ペプチド(2種類: 残基の配列はAAPI, AEPF)を結合させて作成し、ONIOM法により複合体全体を最適化した。これらの複合体について、フラグメント分子軌道法(FMO法)を用いた全系の量子化学計算(HF/STO-3Gによる一点計算)を行うことでFKBP - 基質ペプチドの各残基間の相互作用エネルギーを求め、それぞれの基質について比較を行った。

【結果】図2にFKBP - 基質ペプチド複合体の遷移状態における構造を示す。プロリンN末端側の残基がアラニンの場合(基質AAPI)、プロリル結合のカルボニル基と基質近傍に存在するTyr82との間に水素結合を形成し、それがプロリル結合の回転についての遷移状態を安定化するものと考えられる。残基をグルタミン酸に置換すると(基質AEPF)、側鎖とTyr82の間に水素結合を形成するが、プロリル結合との水素結合が切れるため遷移状態の安定性に対する寄与は小さくなる。このことがアラニンはグルタミン酸よりも活性値が約100倍大きいという基質特異性¹⁾につながっているものと考えられる。

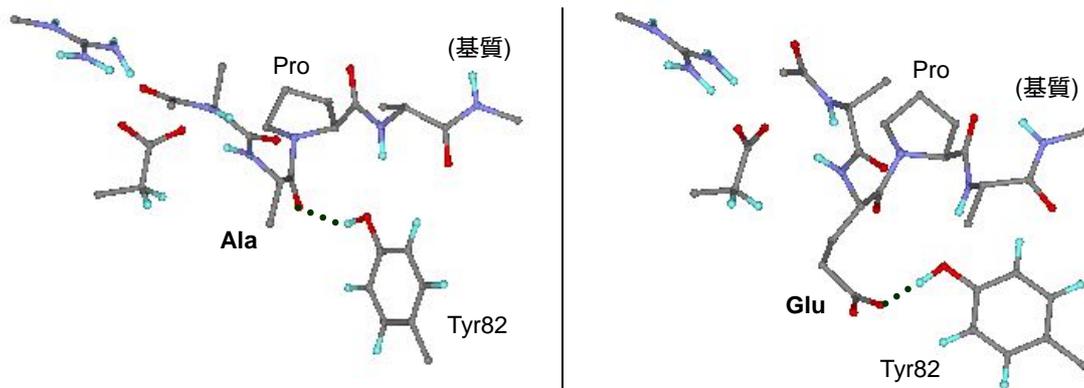


図2 FKBP - 基質ペプチド複合体の遷移状態における構造(左: AAPI、右: AEPF)
(点線は基質 - Tyr82間の水素結合を示す)

1) R. K. Harrison, R. L. Stein, *Biochemistry* **29**, 3813-3816 (1990).