

## 2C2b

# フラグメント分子軌道法によるプロリルイソメラーゼの 基質特異性に関する研究

(広島大QuLiS<sup>1</sup>・広島大院医歯薬<sup>2</sup>・広島大院理<sup>3</sup>・アステラス製薬(株)<sup>4</sup>)

原田隆範<sup>1,2</sup>, 白井文幸<sup>1,4</sup>, 相田美砂子<sup>1,3</sup>

【序】タンパク質のフォールディング速度を決定する重要な要因として、ジスルフィド結合の形成の他に、プロリル結合(プロリンとそのN末端側の残基とのペプチド結合)のシス・トランス異性化反応がある。プロリル結合はシス型とトランス型の両方が安定に存在し得るので、フォールディングの進行にはタンパク質固有のコンホメーションに異性化する必要があるためである。

プロリルイソメラーゼはこの異性化反応に関与する酵素であり、FKBP(107残基)やシクロフィリン(165残基)がある。シス型からトランス型への異性化反応においては、いずれも基質ペプチドのプロリン直前の残基に依存する基質特異性を示すが、FKBPはシクロフィリンよりもかなり大きな特異性を示す点が異なる<sup>1)</sup>。本研究では、プロリルイソメラーゼの基質特異性の大きさの違いを決定する要因を明らかにするため、フラグメント分子軌道(FMO)法を用いたイソメラーゼ・基質複合体全体の量子化学計算を行い、それぞれのイソメラーゼにおける異性化反応の反応過程ごとの構造および分子間相互作用の強さの変化について比較を行った。

【計算】イソメラーゼの複合体は、FKBP(PDB ID: 1FKB)およびシクロフィリン(PDB ID: 1M9Y)に、シス型・トランス型および遷移状態構造のそれぞれのプロリル結合を含む4残基の基質ペプチド(Ala-X-Pro-Phe (X = Ala, Glu))を結合させて作成した。それぞれの複合体について、ONIOM法により構造最適化したのち、FMO法によるHF/6-31Gを用いた一点計算を行い、複合体の全エネルギーおよびイソメラーゼ・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。

【結果】基質プロリン周辺の構造と残基間相互作用エネルギーのパターンに着目すると、いずれのイソメラーゼでも、シス型・トランス型においては残基Xによらず類似していることから、シス型・トランス型の過程は特異性に関与しないと考えられる。一方、遷移状態構造においては、FKBPで違いが見られた。このときのプロリン周辺の構造を比較すると、X = Alaの基質ではプロリル結合のカルボニル基とTyr82の間に水素結合を形成し、遷移状態構造の安定化に寄与しているが(図1)、X = Gluの基質ではこの水素結合はグルタミン酸(X)の側鎖により阻害される。

一方、シクロフィリンは遷移状態でも残基Xによらず類似した構造をとり、プロリンC末端側のペプチド結合とArg55の間に水素結合を持つが、FKBPにおいて見られたプロリル結合との水素結合は形成しない(図1)。このことは、遷移状態構造におけるプロリル結合との水素結合形成が、イソメラーゼの基質特異性の大きさの違いを決定する主要因であることを示している。

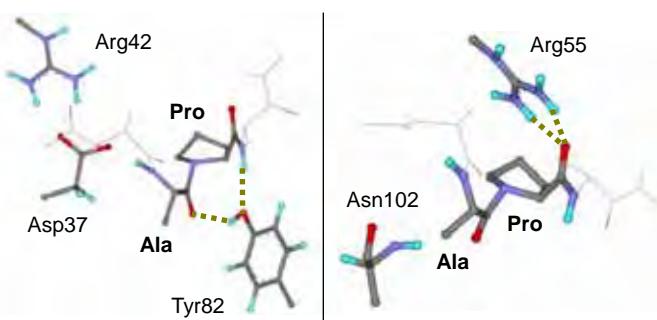


図1 イソメラーゼ・基質ペプチド(遷移状態)複合体における基質周辺の構造 (左: FKBP、右: シクロフィリン)  
[点線は酵素・基質間の水素結合]

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