

RNA アプタマーと標的タンパク質の 分子間相互作用解析

SATテクノロジー・ショーケース2018

■ はじめに

RNAアプタマーは約20-80塩基から成る短い一本鎖核酸分子であり、標的となるタンパク質との結合において、抗体と同等の高い親和性と特異性を持つ。このことから、RNAアプタマーは、抗体に代わる次世代技術として、医薬品分野や診断薬分野などで注目されている。しかし、RNAアプタマーはリン酸基による負の電荷を帯びているため、タンパク質の正の電荷をもつアミノ酸領域でなければ強く結合しないと考えられており、多種多様なタンパク質に対して強く結合するRNAアプタマーを自在に開発できるのか懸念されていた。

近年、ヒトが持つ一般的な抗体であるヒト免疫グロブリンG(IgG)のFcドメインに結合するRNAアプタマーが取得された[1]。このRNAアプタマーは、X線結晶構造解析の結果、一般的なRNAアプタマーとは異なり、IgGの中性アミノ酸領域に結合していることが明らかになった[2]。このことから、RNAアプタマーがクーロン相互作用だけでなく多様な相互作用により特異的な強い結合を達成でき、多種多様なタンパク質を標的とすることが可能であることが示された。

しかし、RNAアプタマーがどのようにIgGの中性アミノ酸領域に結合しているのか、その結合メカニズムについては、明らかとなっていない点が多い。

本研究では、RNAアプタマーとIgG複合体の電子状態を分子シミュレーションにより詳細に解析し、その結合メカニズムについて、原子・分子レベルで明らかにすることを旨とした。

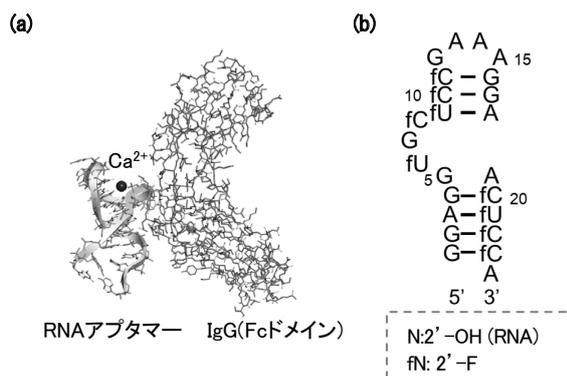


Figure 1. IgGに特異的に結合するRNAアプタマーの構造
(a) RNAアプタマーとIgGの複合体結晶構造
(b) RNAアプタマーの塩基配列

■ 計算方法

RNAアプタマーとIgGとの複合体の立体構造は、X線結晶構造(PDB:3AGV)を基に分子モデリングソフトを用いて作成した(Figure 1a)。RNAアプタマーは23塩基から成る一本鎖構造をとっている(Figure 1b)。

RNAアプタマーとIgGの複合体全体に対して、フラグメント分子軌道(FMO)法による量子化学計算を行い、その電子状態を決定した。FMO計算では、RNAアプタマーはリボース-5-リン酸と塩基の2つの部位にフラグメント分割し、IgGはアミノ酸1残基ごとに分割した。計算レベルは、MP2/6-31G**レベルで実行し、計算プログラムにはPAICSを用いた。

■ 結果

RNAアプタマーが標的タンパク質をどのように認識し結合するか、その結合メカニズムを解析するために、RNAアプタマーとIgGの複合体構造に対してFMO計算を行い、その間に働く相互作用を解析した。この時、RNAアプタマーとIgGとの間に働く相互作用エネルギーを、塩基ごとに、静電力とファンデルワールス(分散)力に分割し算出した。

RNAアプタマーとIgGとの相互作用エネルギーをFMO計算により詳細に解析した結果、RNAアプタマーのG7リボース-5-リン酸部位はLys340の側鎖(-NH₃⁺)部位と-134.3 kcal/molの静電力による強い安定化相互作用を形成していた。また、G7塩基部位はTyr373の側鎖芳香環と-6.6 kcal/molの分散力による安定化相互作用を形成していることが明らかとなった(Figure 2)。さらに、特定した重要な部位の二分子モデルを作成し、量子化学計算を行うことで、相互作用に対する直接的な影響を明らかとした。

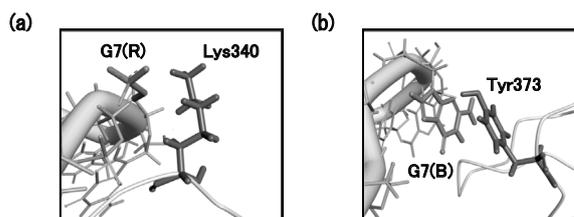


Figure 2. RNAアプタマーとIgGとの結合に重要な部位
(a) 静電相互作用による結合が最も強い部位
(b) ファンデルワールス力による結合が最も強い部位

■ 参考文献

- [1] S. Miyakawa, et al., *RNA*, **14**, 1154, 2008.
[2] Y. Nomura, et al., *Nucleic Acids Research*, **38**, 7822, 2010.

代表発表者 吉田 尚恵(よしだ ひさえ)
所属 日本大学大学院工学研究科
(日本学術振興会特別研究員 DC)
問合せ先 〒963-8642 福島県郡山市田村町徳定字中河原 1
TEL: 024-956-8659 FAX: 024-956-8659
E-mail : cehs17001@gnihon-u.ac.jp

■キーワード: (1) RNAアプタマー
(2) 量子化学計算
(3) 分子間相互作用
■共同研究者: 山岸 賢司¹、都築 誠二²
1. 日本大学工学部
2. (国研)産業技術総合研究所