

### 3P120 FMO 法による上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)の相互作用解析

(<sup>1</sup>産総研計算科学、<sup>2</sup>JST-CREST、<sup>3</sup>千葉大院・医、<sup>4</sup>九州大学情基セ)

○<sup>1,2</sup>渡邊寿雄、<sup>1,2</sup>石元孝佳、<sup>3</sup>田村裕、<sup>4</sup>稲富雄一、<sup>1,2</sup>梅田宏明、<sup>1,2</sup>長嶋雲兵

**【緒言】** 受容体型チロシンキナーゼ(RTK)である上皮細胞増殖因子受容体(Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)は、ファーストメッセンジャーである上皮細胞増殖因子(EGF)と特異的に結合するところにより、EGFRが二量化し、その結果としてチロシンキナーゼの活性化を促す。EGFRの変異はいくつかのタイプの癌で見つかっており、抗がん治療の標的分子として注目されている。EGFR標的治療薬であるイレッサやタルセバは、EGFRの自己リン酸化へのATP結合部位を阻害する。また、EGFRの基質結合部位への阻害剤の研究も盛んである。

近年の大規模分子軌道計算の新たな手法の開発や、急速な計算環境の発展により、巨大分子の分子軌道計算が技術的に可能になってきた。その中でもFMO法[1]は巨大分子を小さなフラグメントへ分割することにより計算量を大幅に削減する上に、広域分散計算環境にも非常に適している。また、FMO法によって得られるフラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)により、詳細な相互作用の解析が可能であり、基質-受容体間[2]やDNA-たんぱく質間[3]など、生体分子における特異的分子認識の解析には非常に有用であることが報告されている。

そこで、我々はEGF-EGFR複合体の相互作用解析をFMO法で行った。詳細な相互作用解析により、EGFRの特異的分子認識機構を明らかにするだけでなく、新規阻害剤の開発に有用な情報を得ることも目的とした。

**【モデル及び計算方法】** 計算に用いた構造は、Protein Data Bank (PDB)の構造1IVO[4]を元に作成した。1IVOはEGFR-EGFの二量体であるが、その片方のEGFR-EGF複合体に水素とMissing残基を追加し、古典力場(charmm22)にて束縛付き構造最適化を行った。それぞれの分子のサイズはEGFR(512残基、7837原子)、EGF(51残基、786原子)であり、FMO計算では詳細なフラグメント間相互作用エネルギーを得るために、1残基を1フラグメント(チオール結合は2残基=1フラグメント)とし、EGFR-EGF複合体を542フラグメントに分割して計算を行った。FMO計算にはHF/STO-3G及び6-31Gを用いて行った。計算プログラムはABINIT-MP Ver. 20021029を、AISTスーパークラスター(ASC)のF-32部(Dual Xeon 3.06GHz×272ノード)及びP-32(Dual Opteron 2.0GHz×1072ノード)を使用して計算を実行した。EGFR-EGF複合体のFMO-HF/STO-3G計算はASC F-32部を64ノード(128プロセス)にて、3時間弱(10599秒)で終了した。

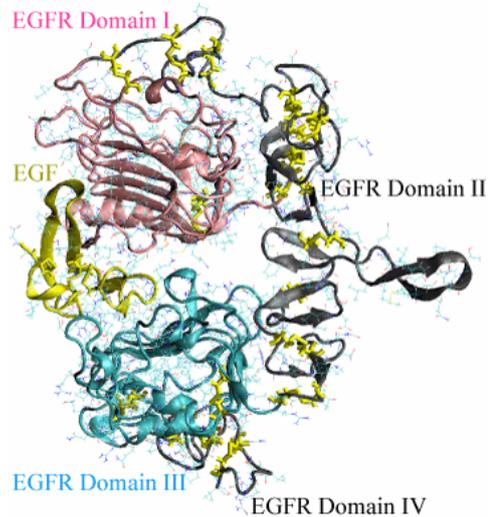


図1 : EGRF-EGF複合体の構造

**【計算結果】** EGFとEGFRの各DomainとのIFIEsを、表1に示した。EGFとEGFR-Domain IIIとのIFIEが659.1kcal/molと、他のDomainよりも著しく大きくなった。これは、Domain IIIが持つ正電荷とEGFの分子が持つ負電荷との間の相互作用が非常に大きいことを示している。このことより、構造的には非常に似通って見えるEGFとDomain I及びIIIとの結合が、まったく異なるものであることが分かる。この結果は、Schlessingerが提案しているEGF結合誘起型のEGFR二量化機構[5]が、まずEGFがDomain IIIと結合することによって開始される機構であ

ることを示している。

EGF の各アミノ酸残基と EGFR との IFIEs のより詳細な解析を行った。EGF の荷電アミノ酸が、EGFR の荷電アミノ酸との大きな静電相互作用をしている。図 2 には、EGF 近傍で特に強い相互作用を示したサイト対を示した。これらの相互作用サイトは結晶構造解析で報告されている結合サイトに一致する[4]。EGF が持つ正負で対になった荷電アミノ酸(Lys28 と Glu40、及び Arg41 と Glu51)が、Domain I (Glu90 と Lys13)及び Domain III (Asp355 と Lys443, 465)にある逆符号の荷電アミノ酸対と強い相互作用を示した。EGF は 51 残基の中に 3 つの S-S 架橋結合を有する安定な 3 次構造を持つため、Domain I と相互作用する荷電アミノ酸対の位置及び配向は、EGF が Domain III に結合した時点で固定される。そのため、Domain I と EGF の相互作用は、この荷電アミノ酸対によって選択的な相互作用を実現すると思われる。

**【結言】** EGF-EGFR 複合体の相互作用解析を FMO 法により行った。それより、EGF 結合誘起型の EGFR 二量化の機構は、まず EGF が Domain III と結合することにより、開始されることが示された。また EGF は、Domain I 及び III と相互作用する際に、正負の荷電アミノ酸対同士で相互作用をしている。これが EGFR の選択的リガンド結合の実現に大きな役割を果たすと思われる。

### 【参考文献】

- [1] K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.*, **312** (1999) 319, K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.*, **313** (1999) 701, T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.*, **318** (2000) 614.
- [2] K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **26** (2005) 1.
- [3] K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **27** (2006) 948, T. Watanabe et al., *J. Phys. Chem. B*, in press.
- [4] H. Ogiso et al., *Cell*, **110** (2002) 775.
- [5] Schlessinger, J., *Cell*, **110** (2002) 669-672.

表 1 EGF と EGFR の各 Domain との IFIEs (kcal/mol)

	IFIEs
EGF vs EGFR	-931.2
EGF vs EGFR-Domain I	-181.0
EGF vs EGFR-Domain II	-101.4
EGF vs EGFR-Domain III	-659.1
EGF vs EGFR-Domain IV	10.2
EGFR-Domain I vs III	-118.5

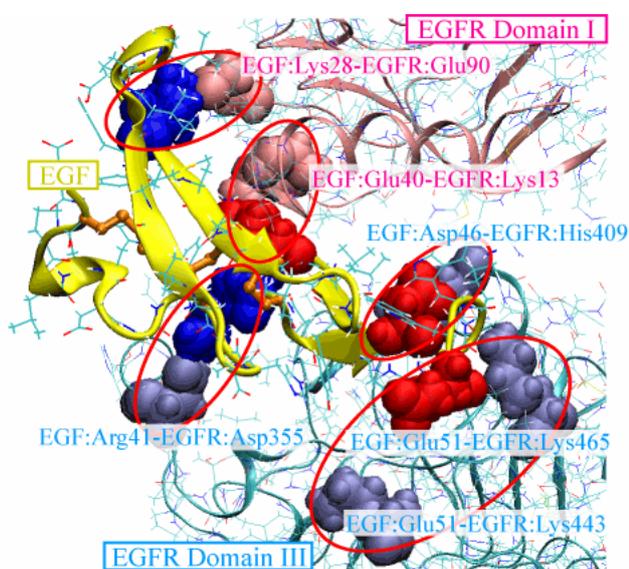


図 2 EGF と EGFR との相互作用サイト