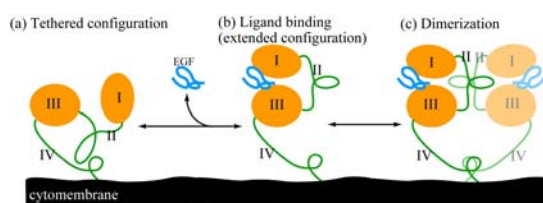


(<sup>1</sup>産総研計算科学、<sup>2</sup>JST-CREST、<sup>3</sup>千葉大院・医、<sup>4</sup>九州先端研)

○<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) 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 [1]。EGFR はリガンドである EGF との特異的結合によって生じた大きな構造変化により二量化接合面が露出することによって、二量化が誘導される。そして二量化した情報が細胞膜貫通領域を経て細胞内に伝わることにより、チロシンキナーゼ活性を発現する (Scheme 1)。EGFR の阻害標的部位は、細胞内の ATP 結合部位や細胞外のリガンド結合部位、EGFR の二量化接合面などがあり、様々な阻害剤の研究が盛んに行われている。



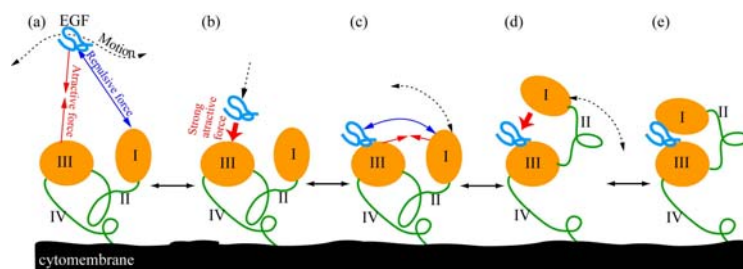
Scheme 1. リガンド誘導型二量化機構

近年の大規模分子軌道計算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可能になってきた。その中でも FMO 法 [2] 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し、また広域分散計算環境にも適している。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-受容体間や DNA-たんぱく質間など、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 [3]。そこで我々は EGF-EGFR 複合体の相互作用解析を FMO 法で行い、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した。

**【モデル及び計算方法】** 計算に用いた構造は、リガンド EGF が結合した活性型として Protein Data Bank (PDB) の 1IVO [4]、また不活性型として 1NQL [5] を元に作成した。活性型 EGFR-EGF 複合体では EGF が EGFR domain I 及び III の両方に挟み込まれる形で結合している。PDB の構造に水素と欠損残基を補い、古典力場 (charmm22) にて束縛付き構造最適化を行った。活性型における系のサイズは 563 残基、8623 原子となり、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)、542 フラグメントに分割した。FMO 計算は HF, MP2/STO-3G 及び 6-31G を用いて行った。計算プログラムは ABINIT-MP を、AIST スーパークラスター (ASC) の P-32 部 (2-Way Opteron 2.0GHz × 1072 ノード) を使用して計算を実行した。活性型の FMO-MP2/6-31G 計算は ASC P-32 部 64 ノードにてほぼ 1 日 (85880 秒) で終了した。

**【計算結果】** 得られた結果を元に IFIE 解析と静電ポテンシャル (ESP) 解析を行い、その結果を元にリガンド結合機構を提案した (Scheme 2)。まず ESP 解析の結果を図 1, 2 に示した。図 1a, 2b は、

ESP の絶対値を比較するために ESP 値がゼロを中央値にして示しており、図 1b, 2b は ESP の相対値を強調して示した。これを見ると domain I と EGF は共に正の ESP 値を持ち反発的に相互作用



Scheme 2. 提案しているリガンド結合機構

するのに対し、domain III と EGF は引力的相互作用を示すことがわかる。これより EGF は domain III へ先に接近し(Scheme 2a)、domain I へは domain III と結合後に接近してくる(Scheme 2c)ことがわかった。また結合サイト 1, 3 は正負が対となった ESP 値を持つことも分かる。これらの結合サイトは強い配向依存性を持ち、また距離依存 IFIE 解析より近距離相互作用であることが分かった。一方で結合サイト 2 は EGF:Arg41 と EGFR:Asp355 の間の塩橋結合を形成し、より遠距離まで相互作用が残る。そのため domain I と EGF が結合する際、サイト 2 にて結合後、EGF の配向を調整してサイト 3 の結合が形成される(Scheme 2b)ことがわかった。

**【結言】** FMO 計算の結果を元に IFIE 解析と ESP 解析を行い、リガンド結合機構(Scheme 2)を提案した。この機構では、多段階の結合過程と、強い配向依存性を持った結合サイトにより、EGFR の高いリガンド認識能が達成されていることがわかった。

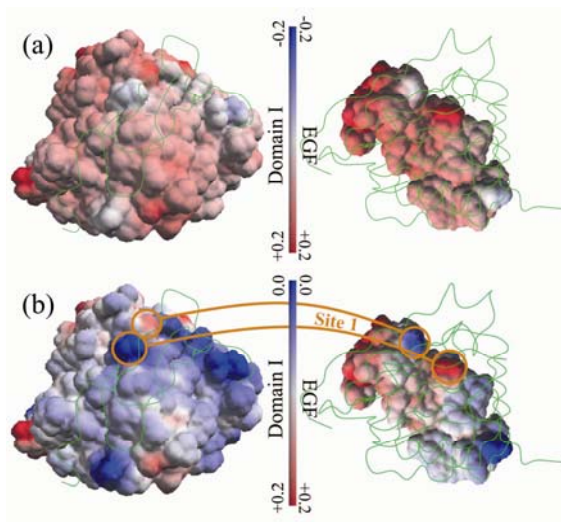


図 1. EGFR domain I と EGF との結合面における ESP 図。

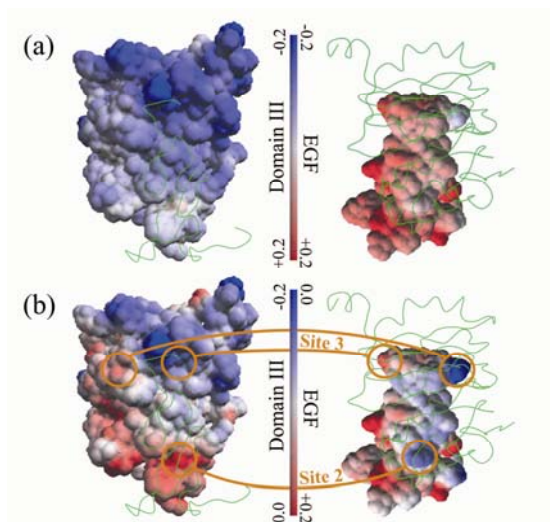


図 2. EGFR domain III と EGF との結合面における ESP 図。

**【参考文献】** [1] P. Blume-Jensen and T. Hunter, *Nature*, **411** (2001) 355, T. Holbro et al., *Exp. Cell Res.* **284** (2003) 99. [2] K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.*, **312** (1999) 319, [3] K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **26** (2005) 1, K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **27** (2006) 948, T. Watanabe et al., *J. Phys. Chem. B*, **111** (2007) 9621. [4] H. Ogiso et al., *Cell*, **110** (2002) 775. [5] K.M. Ferguson et al., *Mol. Cell*, **11** (2003) 507.