

FMO 法によるエストロゲン受容体の 構造揺らぎを考慮した分子内相互作用解析

(東海大・情教セ¹、東大・生研²、みずほ情報総研³)

合田 (日向寺) 祥子¹, 渡邊千鶴^{1,2}, 福澤 薫³

Intramolecular Interaction Analysis of Estrogen Receptor α by ab initio FMO Method

(Tokai Univ.¹, Univ. of Tokyo², Mizuho Info&Res Inst.³)

Sachiko Aida-Hyugaji¹, Chiduru Watanabe^{1,2}, Kaori Fukuzawa³

1. 序

DNA の転写を制御するタンパク質の一種である核内受容体は、ホルモン等の低分子 (リガンド) と結合することによって引き起こされるアロステリック効果によりその制御機能を示す。結合するリガンドの種類によって変化する構造は異なり、核内受容体に結合するリガンドは転写活性の亢進剤 (アゴニスト) もしくは拮抗剤 (アンタゴニスト) として働くことが知られ、乳癌等の疾患と深く関わっている。したがって、この構造変化の原因を解明することは、創薬において重要な知見を与える。

核内受容体の一種であるエストロゲン受容体 α (ER α) において、結合するリガンドがアゴニストもしくはアンタゴニストとして働くかどうかは、C 末端に存在する α -ヘリックス (H12) の位置 (アゴニストポジション/アンタゴニストポジション) の違いが決められている。本研究では、ER α における H12 の位置決定メカニズムを解明するため、H12 の各残基に働く分子内相互作用の解析を行った。

2. 方法

まずは、ER α とアゴニスト (EST) およびアンタゴニスト (OHT) との複合体の X 線結晶構造を用い、フラグメント分子軌道 (FMO) 計算を、FMO-MP2/6-31G* レベル、真空中の条件下にて行った。FMO 計算の特徴として、フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) の解析を行えることが挙げられるが、本研究では H12 領域と相互作用して位置決定に寄与する ER α 内のアミノ酸残基を特定するため、この IFIE 解析を行った。

なお、生体内におけるタンパク質周辺の環境は、溶媒や熱などの影響を受けて揺らいだ構造をとる。本研究では、この揺らぎを考慮すべく、MD シミュレーション (力場: AMBER99SB、GAFF) により水溶液中における ER α - EST 複合体の揺らいだ状態を再現し、構造サンプリングを行った。これらの構造に対して、X 線結晶構造の時と同様の FMO 計算 (FMO-MP2/6-31G*、真空中)

および IFIE 解析を行い、リガンド周りの水素結合ネットワークや、H12 の位置決定に寄与するアミノ酸残基への影響を解析した。

3. 結果および考察

3-1. X線構造を用いた計算

H12 領域は負の電荷を持つため、周辺に位置する Lys と強く相互作用する傾向が見られた。

特に、ER α -EST (アゴニスト) 複合体においては、Lys529 が大きな相互作用エネルギーを示し、H12 をアゴニストポジションに固定しているものと考えられる。さらに、Glu339 と Glu419 が H12 の N 末端側にある Lys531 を強く引きつけることで、H12 がアゴニストポジションに折りたたまりやすくなっていると推測される。(図1)

一方、ER α -OHT (アンタゴニスト) 複合体では、リガンドサイズの影響を受けて Glu339 および Glu419 は Lys531 と相互作用できず、H12 は ER α のその他の領域から少し離れた場所に位置する。そのため Lys362 と強く相互作用することが可能となり、結果的にアンタゴニストポジションに固定されるものと考えられる。(図1)

3-2. 揺らぎを考慮した計算

まず、12ns~50ns の MD シミュレーションでは、X線構造から大きく構造が変化することはなかった。図2に MD のスナップショット構造を示す。

しかし、スナップショット構造の FMO 計算によりリガンド (EST) 周りの水素結合ネットワークを解析したところ、X線構造では Glu353、Arg394、His524 がリガンドを固定する働きを示していたのに対し、MD のスナップショット構造では Glu353、His524 のみが相互作用をしているという結果になった。Arg394 については、周辺に位置する Glu353 と相互作用する様子も観察され、リガンド結合については不安定な要素を含んでいる可能性が示唆された。

また、H12 と他のアミノ酸残基間の IFIE 解析では、X線構造を用いた計算の結果同様、Lys529 が特に強く H12 と相互作用しており、H12 をアゴニストポジションへ固定するメカニズムは生体内でも安定であるものと考えられる。

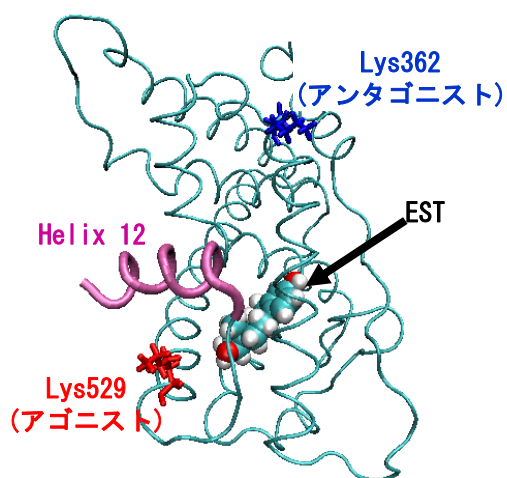


図1 : H12 と相互作用する Lys



図2 : MD のスナップショット構造