

4P081

アセチルコリンエステラーゼと阻害剤間の特異的相互作用： フラグメント分子軌道計算と生化学実験

○村川孟¹、岡田翼¹、M. T. H. Khan²、栗田典之¹
(¹豊橋技術科学大学大学院、²University of Tromsø)

Specific interactions between acetylcholinesterase and its potent inhibitors: *ab initio* fragment molecular orbital calculations and biochemical experiment

○T. Murakawa¹, T. Okada¹, M. T. H. Khan², N. Kurita¹
(¹Toyohashi University of Technology、²University of Tromsø)

【はじめに】

神経細胞は、神経信号の受信とともに対応する動作を決定し、隣接細胞へ新たな信号を発信する[1]。その情報処理において、アセチルコリン (ACh) は、主に運動神経細胞から筋肉細胞へ神経信号を伝える働きをしている[2]。神経細胞は、特有の信号を神経系から受け取り、シナプスから筋肉細胞へ向けて ACh を放出し、それによって筋肉細胞の受容体が開き、筋肉は収縮する。信号伝達に使用された ACh は、筋肉細胞と神経細胞の間にあるシナプスに存在するアセチルコリンエステラーゼ(AChE)によって、コリンと酢酸に分解される[3]。この分解反応により、神経信号は効率的に遮断され、ACh の断片は次の神経信号に用いる新たな神経伝達物質の再構築のために利用される。AChE による ACh の分解反応を部分的に阻害する薬は、神経伝達物質の濃度上昇、及び筋肉細胞への神経信号の強化を促進する可能性がある。

本研究では、フラグメント分子軌道 (FMO)[4,5] 計算を用い、AChE と阻害剤間の特異的相互作用を電子レベルで解析し、既存の阻害剤の中で AChE に最も強く結合する阻害剤を明らかにし、生化学実験と比較できる結果を得た。その結果を基に、コンピュータ内で複数の新規リガンドを作成し、AChE との結合特性を解析し、ACh の分解反応を阻害する新規リガンドを提案した。

【計算手順】

タンパク質立体構造シミュレーションプログラム ICM (Internal Coordinate Mechanics) を用い、AChE と阻害剤の複合体構造を作成した。Figure 1 に示す 7 種類の阻害剤 (Bx) に着目し、置換基の位置や種類が AChE と Bx 間の特異的相互作用に与える影響を解明した。まず、AChE+Bx 複合体構造を古典分子力学 (MM) 計算プログラム AMBER12 を用い、水中で最適化した。その際、複合体表面から 8 Å 以内の領域に水和水を付加し、水和した複合体の構造を最適化した。さらに、AChE と Bx 間の結合特性を明らかにするため、最適化構造の電子状態を FMO 計算により解析し、AChE と Bx 間の結合エネルギー、及び特異的相互作用を明らかにした。その結果を基に、AChE により強く結合可能な新規リガンドを提案し、AChE との結合特性を解析した。

【計算結果と考察】

Figure 2 に示すように、FMO 計算により求めた AChE と Bx 間の結合エネルギー (B.E.) と生化学実験で求めた Bx の解離定数 K_d の間には、 $R^2 = 0.85$ の強い相関がある。従って、B.E. の大きさにより、Bx が AChE の機能を阻害する効果の強さを定性的に評価できる。また、AChE のどのアミノ酸残基が Bx の結合に重要であるかを明らかにするため、AChE の各アミノ酸残基と Bx 間の相互作用エネルギー (I.E.) を解析した。Bx との引力相互作用が最大の 3 個のアミノ酸を Table 1 に示す。多くの Bx が Asp74、Tyr124、Tyr341 と強く引力相互作用をしている。従って、荷電アミノ酸である Asp や芳香族アミノ酸である Tyr が、AChE と Bx 間の結合に重要であると言える。

7 種類の阻害剤 Bx の中で、結合エネルギーが最大である B7 は、Asp74、Arg296、Tyr341 と強く引力相互作用するが、Tyr124 との引力相互作用は弱い。このような特異的相互作用の原因を明らかにするために、B7 周辺の結合構造と電荷分布を調べた。Figure 3 に示すように、B7 の末端部の NO_2 基及びベンゼン環が、AChE のアミノ酸残基と弱い水素結合、あるいは Stacking 相互作用

をしている。これは B7 だけの特徴ではなく、全ての Bx に対して共通の特徴である。B7 の H 原子の電荷は 0.3、Asp74 の O 原子の電荷は -0.8 であり、これらの原子間の距離は 2.4 Å であるため、B7 と Asp74 間の相互作用エネルギーは、-28.1 kcal/mol と大きくなる。また、B7 と Tyr341 のベンゼン環同士が 3.6 Å の距離でスタッキング構造を形成しており、B7 と Tyr341 の間には、-11.9 kcal/mol の強い引力相互作用が生じる。さらに、B7 のみが有する NO₂ 基が Arg296 と弱い水素結合を形成し、その結果、B7 と Arg296 間に -11.8 kcal/mol の引力相互作用が生じる。この相互作用が、AChE と B7 間の結合エネルギーが既存リガンドの中で最大になった主な原因であると考えられる。そこで、B7 をベースにして、様々なリガンドを作成し、AChE のリガンド結合部位に結合させ、AChE と新規のリガンド間の結合特性を FMO 計算で解析し、AChE の阻害剤として機能する可能性のある新規リガンドを提案した。詳細は、当日のポスターにて発表する。

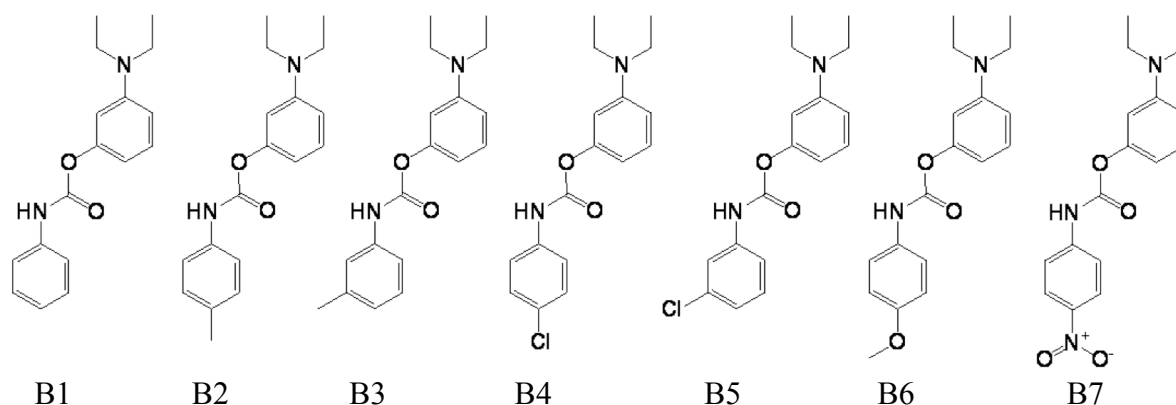


Figure 1 Structures of ligands Bx for inhibiting AChE function

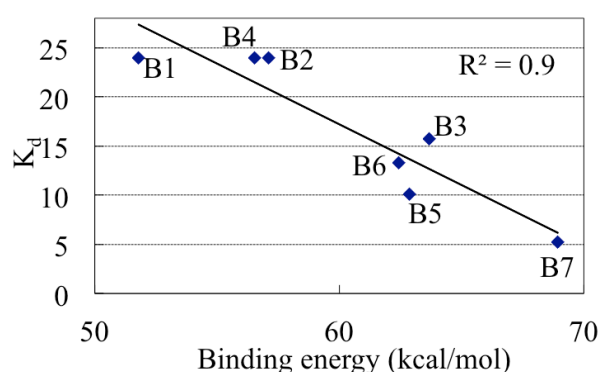


Figure 2 Correlation between binding energies for AChE+Bx complexes and the distribution coefficient K_d obtained by our experiment

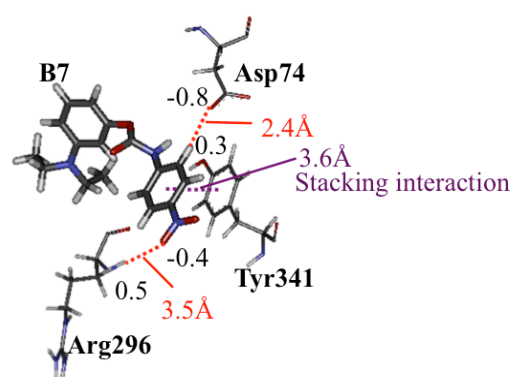


Figure 3 Interacting structure and charge density between B7 and AChE residues

Table 1 Interaction energies (I.E.) (kcal/mol) between AChE residues and Bx

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
Tyr124	-11.0	Tyr124 -10.6	Asp74 -15.1	Asp74 -31.6	Asp74 -23.8	Tyr124 -10.8	Asp74 -28.1
Tyr341	-7.6	Tyr341 -9.8	Tyr341 -10.9	Tyr341 -6.2	Tyr341 -11.1	Glu294 -8.6	Tyr341 -11.9
Phe295	-7.9	Phe295 -9.4	Tyr124 -9.9	Tyr124 -6.0	Phe295 -9.0	Tyr341 -8.0	Arg296 -11.8

- [1] K. A. Phelan, *et al.*, *J. Neurosci.* 1990, 10, 2699. [2] S. Camp, *et al.*, *J. Neurosci.* 2008, 28, 2459.
 [3] Y. Dudai, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1973, 70, 2476.
 [4] K. Kitaura, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 1999, 312, 319.
 [5] Y. Mochizuki, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, 2005, 410, 247.