

## 2P078 FMO による FKBP とリガンドの相互作用解析

(京都大院薬<sup>1</sup>・産総研計算科学<sup>2</sup>)

村田克美<sup>1</sup>, 仲西 功<sup>1</sup>, Dmitri G. Fedorov<sup>2</sup>, 北浦和夫<sup>1,2</sup>

**【序】**蛋白質とリガンドの結合エネルギーの評価は、これまでは、主に AMBER、CHARMM などの力場計算によって行われてきた。いくつかの成功例はあるものの、力場計算では汎用性と信頼性に欠ける。特に、パラメータがない場合などは、代用パラメータの使用による計算精度の低下が問題となる。我々は、タンパク質とリガンド間の相互作用を量子化学計算によって評価することで、汎用性と信頼性の高い結合エネルギーの計算方法を確立することを目指している。FKBP (FK506-binding protein) は、原核細胞生物から真核細胞生物まで殆どの生物種に存在している。免疫抑制剤 FK506 は FKBP と結合した後、カルシニューリン (CN) と呼ばれるプロテインフォスファターゼに結合する。CN はサイトカインの発現に必要な T 細胞特異的転写因子 (NFAT) を脱リン酸化することにより核内に移行させ、さらにそこに留める役割を担っている。FKBP-FK506 複合体が結合することによって CN の NFAT 脱リン酸化反応が阻害され、IL-2 などの種々のサイトカインの発現が抑制される。このように、FKBP は免疫抑制に関わる重要な蛋白質であり、これまでに様々な実験や計算が行われてきた。本研究では、FKBP に結合する 4 種類のリガンド (図 1) と FKBP の相互作用をフラグメント分子軌道計算 (FMO) によって評価し、最適化した構造と X 線結晶構造との比較及び分子認識について考察した。

**【方法】**計算は各リガンドと FKBP との複合体の X 線結晶構造 (1FKB(Rapamycin), 1FKF(FK506), 1FKG, 1FKI) を初期構造として行った。構造最適化にはモデル構造を用いた。モデル構造はリガンドの各原子の vdw 半径の 2 倍の距離以内にある FKBP のアミノ酸残基を取り出して、ペプチドの断片を水素原子で cap したものとリガンドから構成されている。このモデルの構造最適化を HF/3-21G で行った後、取り出した構造に埋め戻して、エネルギーの計算を MP2/6-31G\*で行った。

**【結果と考察】**各複合体の結晶構造と計算により最適化されたリガンドの構造の重ね合わせを図 2 に示す。各複合体とも結合ポケットの底に位置するピペコリン酸部分の構造は、実験値とよく一致していた。一方、蛋白質との接触がない領域 (各リガンドの右側部分) のずれは大きく、特に 1FKG では 0.80 という RMSD 値が示すように、他の 3 つの構造より変位が大きかった。これは 1FKG 以外の構造はリガンドが環状構造であるため 1FKG よりも自由度が小さいため動きが制限されているためと思われる。次に、リガンドとアミノ酸残基との相互作用エネルギーの解析を行った。リガンドは図 1 のようにフラグメントに分割し、各フラグメントとアミノ酸残基との相互作用エネルギーを計算した。リガンドは 4 種類あるが、これらは部分的に共通の構造 (ベース部分) を持っている。このベース部分が特定のアミノ酸残基と強く相互作用していることが分った。相互作用エネルギーの詳細な比較及び結合エネルギーに関する考察は当日報告する。

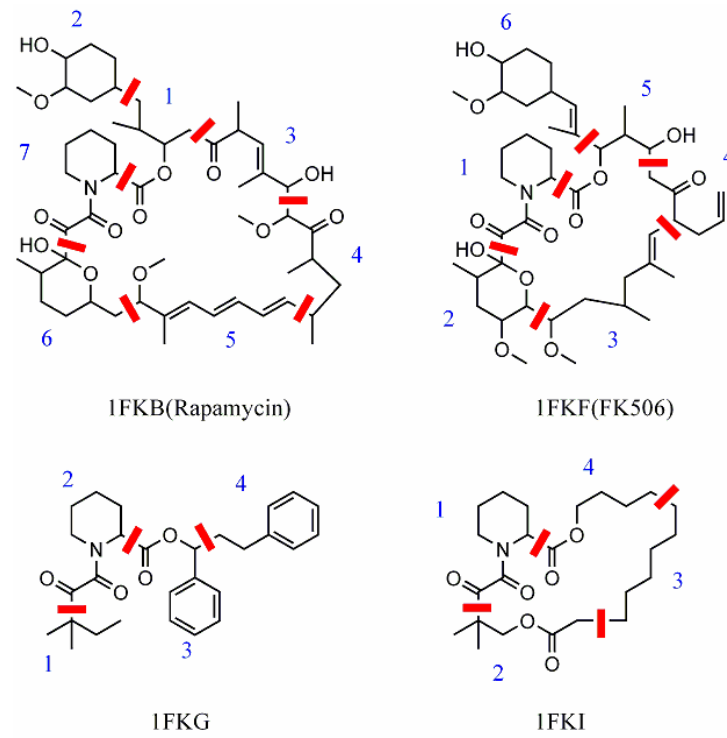


図 1: FKBP リガンドの構造と FMO 計算によるフラグメント分割 (青字はフラグメント部分)

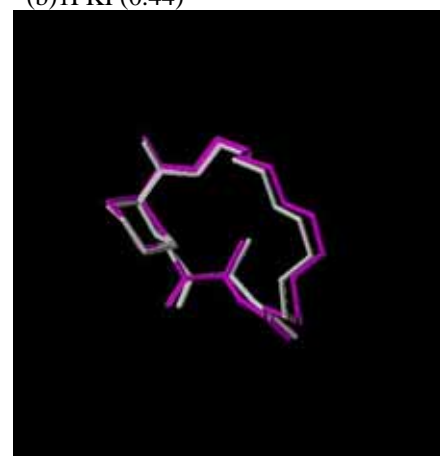
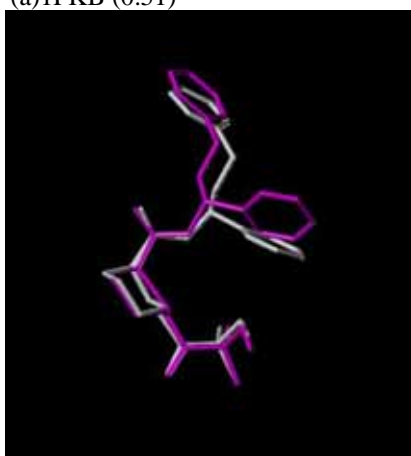
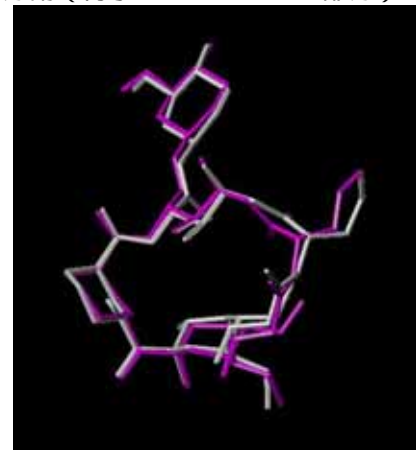
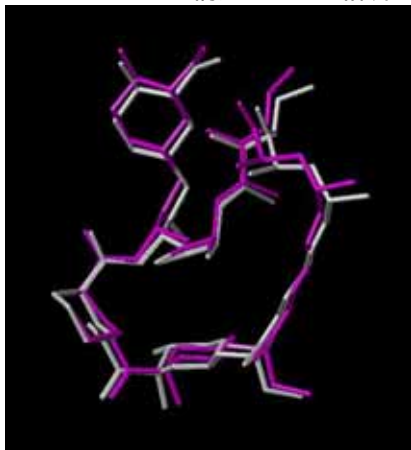


図 2: 複合体結晶構造中のリガンドと最適化構造の重ね合わせ (白: 結晶構造, 紫: 計算) 水素原子は表示していない。( ) 内の値は重原子による RMSD 値 (Å)