

1P160

フラグメント分子軌道法による、エストロゲン受容体-リガンド相互作用の理論的研究

福澤薫^{*1,*2}、望月祐志^{*2,*3}、中野達也^{*2,*4}、北浦和夫^{*2,*5}、田中成典^{*2,*6}

(^{*1}みずほ情報総研(株)、^{*2}JST-CREST、^{*3}アドバンスソフト(株)、^{*4}国立衛研、^{*5}産総研、^{*6}神戸大院)

【序】女性ホルモンの受容体タンパク質であるエストロゲン受容体(ER)は、核内受容体の一種であり、リガンド依存的に転写活性を制御する転写因子である。医薬品や環境中の女性ホルモン様の物質と結合して機能を発揮するため、創薬、環境問題などの重要なターゲットである。ERとリガンドとの相互作用の理論的解析はその機能を理解するための第一歩として重要であるが、分子間相互作用を精度良く見積もるためには、従来生体系に用いられてきた経験的手法に加えて量子化学的なアプローチが不可欠である。我々は、非経験的分子軌道法に基づくフラグメント分子軌道(FMO)法¹を生体高分子に適応させたプログラムABINIT-MP²を開発しており、これまでに 500 残基(約 8200 原子)のタンパク質の量子化学計算に成功している。本研究では、ER-リガンド間の相互作用を量子論的に考察することで、リガンド候補化合物の結合能予測を試みるとともに、結合認識のメカニズムを明らかにすることを目的としている。

【計算方法】ERとリガンド分子との複合体構造モデルには、リガンド結合ドメイン全体(241 残基)、50 残基、および 4 残基の 3 種類を用いた(図 1)。PDB結晶構造を基にCHARMm 力場、および部分的にHF/6-31G(d)を用いて最適化した。50 残基モデルを用いて 11 種のリガンドと ER との結合エネルギーの計算を FMO-HF/STO-3Gレベルで行い、実験値との比較を行った。次に内因性リガンドである 17 β -estradiol (EST)とERリガンド結合ドメイン全体の複合体に関して、FMO-HF/6-31G、6-31G(d)、6-31G(d,p) および FMO-MP2/6-31Gレベル³の計算を行った。フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)解析によりER-リガンド間の相互作用を残基単位で検討すると共に計算方法の評価を行った。さらに、望月らの開発した配置解析(CAFL、ポスター発表 1P161 を参考)^{4,5}により、4 残基モデルを用いて結合に伴う電荷移動や分極効果を軌道レベルで解析した。結果の表示には、BioStation Viewer²を用いた。

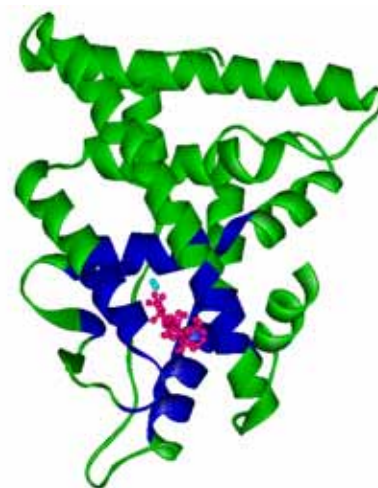


図 1 ER-リガンド複合体構造。青色部分が 50 残基モデル、全体が 241 残基モデルを表す。

【結果と考察】50 残基モデルの結果から、ESTを基準とした相対結合エネルギー値と相対結合能(RBA)の実験値の間に高い相関が得られた(相関係数 $R = 0.837$)。また原子電荷の比較により、Glu353 からリガンドへの電荷移動と結合エネルギーの間に相関があることが示された⁶。図 2 に示すように、リガンドが結合することによって、特にリガンドとGlu353、Arg394、His524 の間の電子密度分布が変化している。次にER(241 残基)の各アミノ酸残基とESTとの間のIFIE解析を行っ

たところ、全相互作用エネルギーには、特にGlu353-リガンド間の寄与が主要であることがわかった。また、Glu353 に代表されるリガンド周辺の幾つかの荷電アミノ酸残基との強い相互作用に加えて、周囲の疎水性残基とのvdW相互作用が同程度に重要であることが示された⁷。さらに、これらの相互作用を軌道レベルで解析するためにCAFI解析を行った。ER-リガンド間相互作用に対する結果の幾つかを図3に示す。Glu353 のカルボニル酸素のlone pairからリガンドフェノール基の σ_{OH}^* への電荷移動が最も大きく、続いて、リガンドの一方のフェノール基酸素のlone pairからArg394 の σ_{NH}^* 、および他方のフェノール基酸素のlone pairからHis524 の σ_{NH}^* への電荷移動が寄与している様子が明らかになった。以上の結果から、ER-リガンド間相互作用の詳細が明らかとなり、今後の創薬研究などに役立つことが期待される。

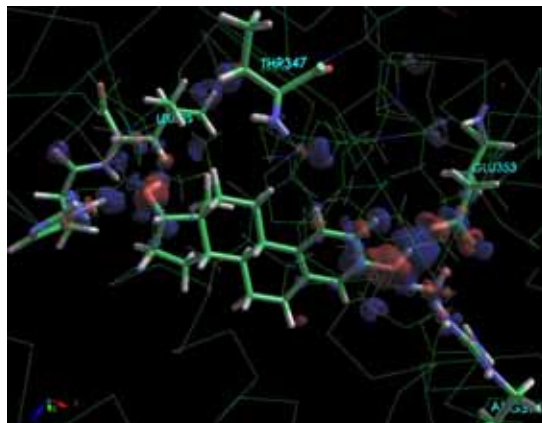
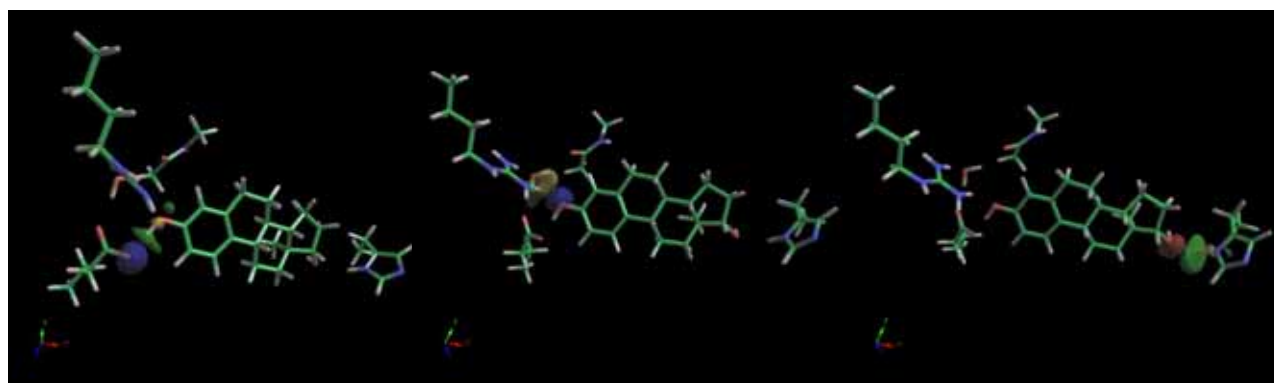


図2 リガンド結合による電子密度の変化。
 $\pm 0.002e/\text{Bohr}^3$ の等電子密度面



Glu353 $n_o(\pi) \rightarrow \text{EST } \sigma_{OH}^*$

EST $n_o(\sigma) \rightarrow \text{Arg394 } \sigma_{NH}^*$

EST $n_o(\sigma) \rightarrow \text{His524 } \sigma_{NH}^*$

図3 リガンド結合と荷電/極性アミノ酸残基間のCAFI解析

【謝辞】

本研究は、JST-CREST『フラグメント分子軌道法による生体分子計算システムの開発』プロジェクト、ならびに文部科学省 IT プログラム『戦略的基盤ソフトウェアの開発(FSIS)』プロジェクト (<http://www.fsis.iis.u-tokyo.ac.jp/>)・『戦略的革新的シミュレーションソフトウェアの研究開発(RSS21)』プロジェクトの支援によって行われている。

【参考文献】

[1] Nakano et.al. *Chem. Phys. Lett.* **351**, 475 (2002). [2] ABINIT-MPとBioStation Viewerのダウンロード先：<http://www.fsis.iis.u-tokyo.ac.jp/result/software/index.html>. [3] Mochizuki et.al., *Chem. Phys. Lett.* **396**, 473 (2004). [4] Mochizuki, *Chem. Phys. Lett.* **410**, 165 (2005). [5] Mochizuki et.al. *Chem. Phys. Lett.* **410**, 247 (2005). [6] Fukuzawa et.al., *J. Comp. Chem.* **26**, 1 (2005). [7] Fukuzawa et.al., in preparation.