

Cyclosporin A の水和自由エネルギー計算

(株)富士通研究所¹、富士通 (株)²○ 伊藤正勝^{1,2}、谷田義明^{1,2}、佐藤博之¹、松浦東^{1,2}、藤谷秀章^{1,2}

1. 序

Cyclosporin A(CsA)とそのレセプター(CyPA)との親和性はCsAの僅かな構造変化により著しい違いが生じることが知られており⁽¹⁾、その活性を改善することを目指して、CsAがレセプターに結合する過程は様々な研究により調べられてきた⁽¹⁻³⁾。特に、CsAが、レセプターと結合している時、水に溶けている時、無極性溶媒に溶けている時で、全く異なった配座をとることが、レセプターとの結合過程を理解する上で重要であると考えられる。CsAは無極性溶媒中のように、周囲との相互作用が弱い状態では、 β シート状の規則的な配座をとっているが、水中のように周囲との相互作用が強まると、複数の乱れた配座が共存するようになり、これらの中にレセプターと適合する配座が含まれることが示唆されている⁽³⁾。

そこで、我々は、CsAが周囲との相互作用に応じて配座を変えることに着目し、この変化と水和自由エネルギーの関連を探っている。しかしながら、自由エネルギー変化を計算するために、伝統的な方法では高精度の値を得ることが難しいため、BAR法による自由エネルギー計算⁽⁴⁾⁽⁵⁾を並列計算機システム(BioServer)に適用し、水和自由エネルギー計算を行っている。

2. 方法

分子動力学計算には(Standford 大学で改良された版の) GROMACS を用いた。力場パラメーターには GAFF と、CsA 分子に固有の電荷分布を表わすために AM1-BCC を用いた。初期原子座標としては、CyPA/CsA 複合体(PDB ID: 1CWA)から取り出した β シートを形成していない CsA 構造と、 β シート状構造の両方を用いた。自由エネルギーシミュレーションを行う前に、CsA 分子の周囲に水分子を配置し、構造を緩和させた後、室温・1 気圧で平衡化のための分子動力学計算を行った。

自由エネルギー計算では、リガンドと周囲の原子との相互作用を結合パラメーター λ で変化させ、この λ 変化に対する仕事分布から水和自由エネルギーを統計的に推定する⁽⁴⁾。クーロン相互作用を変化させるための λ (coulomb) は 12 点、Lennard-Jones 相互作用を変化させるための λ (vdw) は 21 点をとった。それぞれの λ 点ごとに 20 本の分子動力学トラジェクトリーを初期速度分布を変えて走らせ、隣接する λ 点への変化に必要な仕事をサンプリングした。これらの分子動力学計算を同時並行で走らせるために、BioServer の中で $33 \times 20 = 660$ 個の CPU (FR-V) を使用した。自由エネルギー変化 $\Delta G(t)$ を MD 計算が 100ps 進むごとに計算し、収束をモニターした。

3. 結果と考察

β シートの有無が力場パラメーターのなかの原子電荷に及ぼす影響を調べるために、複合体中の CsA 構造と、 β シート状構造の両方から AM1-BCC を計算し、比較した。原子電荷の差は最大でも 0.04e と、 β シート形成の影響は小さかったため、以後の計算では複合体由来の原子電荷を力場パラメーターとして用いた。

相互作用に対する CsA の配座変化を調べるために、 λ 点ごとに MLE6 の ϕ (C α -C) , ϕ (N-C α) の分布を調べた。MLE6 は、CsA が β シート状の構造をとっているときには、平行に走っている主鎖のほぼ中央に位置しているため、 ϕ 、 ϕ は一定の値をとることになる。 ϕ 、 ϕ をプロットする前に、 β シート状の CsA 構造⁽⁵⁾ を緩和させた後、それぞれの λ 点で温度を 100K, 200K, 298K と変化させながら、100ps ずつの MD 計算を行った。この後で、 λ 点ごとに MD を 5ns 走らせ、 ϕ 、 ϕ をプロットした (図 1)。CsA-水の相互作用が消えている場合 (λ (vdw)=1.0) には、分布は (ϕ ,

$\psi = (-150^\circ, 145^\circ)$ の周りに集中しているのに対し、相互作用が強まった場合 ($\lambda(\text{coulomb})=0.0$) には分布が広がっている。CsAは、相互作用が弱い場合には主鎖の環が閉じて、 β シート状の構造をとっているのに対し、相互作用が強められた場合には主鎖の環は開いて、 β シートは形成されない。

このように β シート状の初期構造から出発した場合には、実験から示唆される相互作用と β シートとの関係が再現されたのに対し、複合体由来のCsAを初期構造として用いた場合には、そのような関係は再現されなかった。この場合の ϕ, ψ プロットを図2に示す。 ϕ, ψ をプロットする前に $\lambda(\text{coulomb})=0.0$ で構造を緩和させ、平衡化させた後で、それぞれの λ 点で6nsのMDを走らせて、 ϕ, ψ をプロットした。ここでは、相互作用が無くなり、 $\lambda(\text{vdw})=1.0$ となっても、 ϕ, ψ は散らばったままで、 β シート状構造の周りに収斂していない。

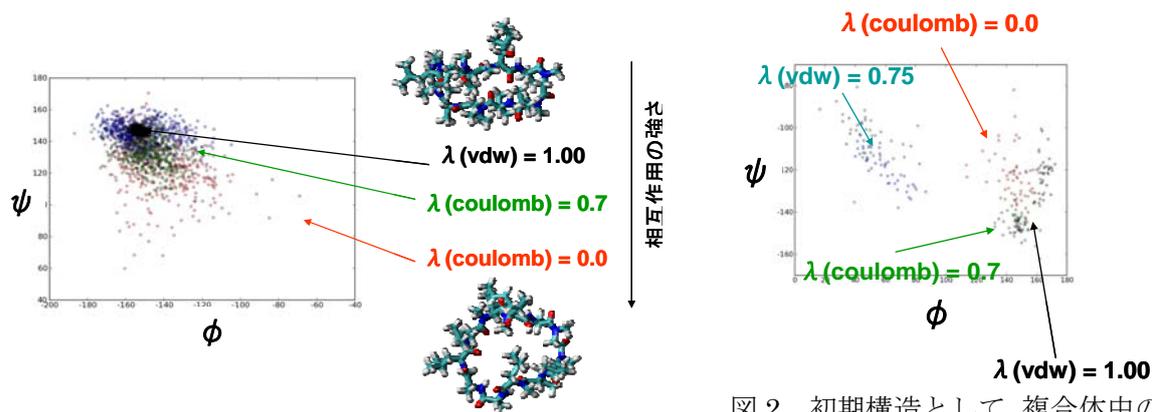


図1 $\lambda(\text{vdw})=1.0, \lambda(\text{coulomb})=0.7, 0.0$ における配座分布 (MLE6の ϕ, ψ)

図2 初期構造として、複合体中のCsA構造を用いた場合の、 ϕ, ψ プロット

水和エネルギー $\Delta G(t)$ も、 β シート状構造を初期構造に用いた場合には、4.9nsの計算で、 -55kcal/mol となったのに対し、複合体中のCsAを初期構造に用いた場合には、 -54kcal/mol と、 1kcal/mol の違いが見られた。この違いは、 $\lambda(\text{coulomb}) < 0.8, \lambda(\text{vdw}) \sim 0.8$ の領域で顕著であり、すべての λ 領域で配座分布が異なっていることを反映していると考えられる。現在、配座分布の収縮が水和自由エネルギーに与える影響を解析しており、詳細は当日議論する予定である。

参考文献

- (1) J.Kallen, V.Mikol, P.Taylor and M.D.Walkinshaw, *J.Mol.Biol.* **283**, 435(1998).
- (2) N.El.Tayar, A.E.Mark, P.Vallat, R.M.Brunne, B.Testa and W.F. van Gusteren, *J.Med.Chem.* **36**, 3757 (1993); J.Kallen, C.Spitzfaden, M.G.M.Zurini, G.Wider, H.Widmer, K.Wuthrich, M.D.Walkinshaw, *Nature*, **353**, 276(1991).
- (3) T.J. Petcher, H.-P.Weber, A.Rügger, *Helv.Chim.Acta*, **59**, 1480 (1976)
- (4) M.R.Shirts, E.Bair, G.Hooker, and V.S.Pande, *Phys.Rev.Lett.* **91**, 140601(2003).
- (5) H.Fujitani, Y.Tanida, M.Ito, G.Jayachandran, C.D.Snow, M.R.Shirts, E.J.Sorin, and V.S.Pande, *J. Chem. Phys.* **123**, 84108(2005).