

| | | |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 演 題 | 分子動力学計算による CYP2D6 と基質の相互作用の研究 － Bufuralol エナンチオマー代謝選択性のシミュレーション ー | |
| 発 表 者 (所 属) | 増田和文、○大西利佳、成松鎮雄、玉懸敬悦 (岡山大学) | |
| 連 絡 先 | 〒700-8530 岡山市津島中1-1-1 岡山大学薬学部 | |
| キーワード | Bufuralol, CYP2D6, Molecular Dynamics, Enantiomer, Diastereomer, Selectivity | |
| 開 発 意 図 適 用 分 野 期 待 効 果 特 徴 など | ヒトの薬物代謝酵素 CYP2D6 の Bufuralol に対するエナンチオマー選択性の機構を解析し新規薬物設計の基礎とするため、CYP2D6 活性部位と Bufuralol の複合体モデルを構築して分子動力学シミュレーションを行った。初期座標構築は、基質を別途作製した活性部位の空洞に対して配置することで効率よく行えた。これは、他の酵素-基質モデル構築にも応用できるものと思われる。 | |
| 環 境 | 適 応 機 種 名 | SGI Oxygen, Octane, PC/AT |
| | O S 名 | IRIX, Windows |
| | ソース言語 | Fortran77, Visual Basic 6.0 |
| | 周 辺 機 器 | |
| 流 通 形 態 (右 の い ず れ か に ○ を つ け て く だ さ い) | ・日本コンピュータ化学会の無償利用ソフトとする ・独自に頒布する ・ソフトハウス、出版社等から市販 ・ソフトの頒布は行なわない ・その他 | 具 体 的 方 法 当研究室までご連絡下さい。 |
| | | ・未定 |

1. 緒 言

薬物代謝酵素と基質である薬物との相互作用を構造化学的に研究することは、薬物設計の基礎として重要である。シトクロム P450 は、細菌からほ乳類に至る広範囲の生物に分布している酸化酵素の総称で薬物代謝酵素として重要な役割を果たしている。数百種類ある P450 は、一次配列の相同性からファミリー、サブファミリーに分類され、CYP2D6 はヒト体内で多くの薬物を代謝する酵素として臨床的にも注目されている。

CYP2D6 (Wild Type) は、 β 遮断薬である Bufuralol (BF) に対し R-BF \gg S-BF の基質エナンチオマー選択性を示し、R-BF, S-BF いずれを基質とした場合も 1”R-OH<1”S-OH の代謝物ジアステレオマー選択性を示すことが知られている。

ここでは、この代謝の機構を理解するため、CYP2D6 (WT)-BF, CYP2D6 (F120A)-BF 複合体について分子動力学計算を行った結果を報告する。

2. 方法

(1) 初期座標の構築

CYP2D6 の構造は、その結晶が得られていないため結晶構造が得られているウサギ由来の CYP2C5 を鋳型として SWISS-MODEL において構築し、活性中心の 1224 原子を切り出してこれを酵素モデルとした。BF の塩基性窒素が、活性部位にある酸性アミノ酸 (Glu-216, Asp-301 等) と静電的に相互作用していると考えられるが、この初期座標を作る作業は相当煩雑である上、のちの計算結果にも大きく影響がある可能性があり重要である。そこで開発したプログラム CG (Visual Basic) を用いて活性中心付近の空洞を作成し、その空洞に BF をドッキングさせることで効率よく初期座標を構築した。

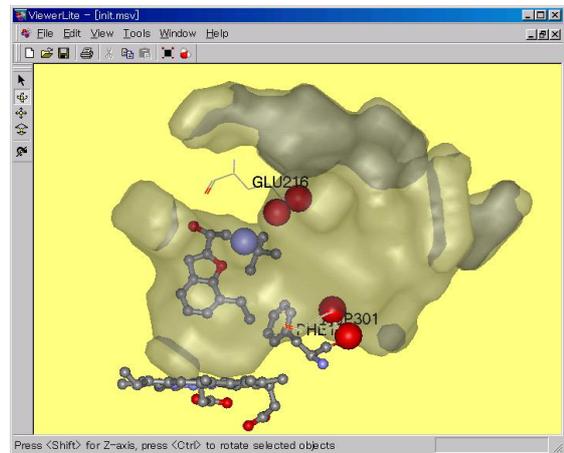


Fig.1 活性部位の空洞とBF. 赤,青の球はそれぞれ酸素,窒素

(2) 計算条件

解離性アミノ酸のイオン化、酵素の周りに 5Å の厚みで水分子を配置、さらにその外側に 5Å の固定した水分子を配置した。また α 炭素を空間に束縛し、ヘムの骨格を空間に固定して Oxygen (SGI) 上の Insight II / Discover で minimize・annealing の後 50ps の分子動力学計算を行った。

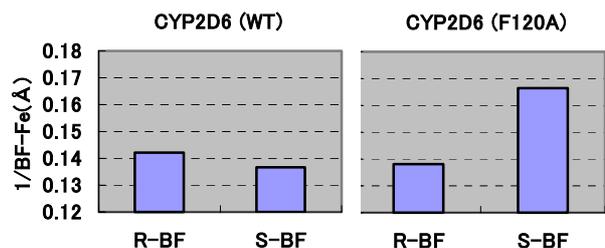
3. 結果

目で基質を酵素の活性中心に配置させるのに、空洞側と基質の関係から捉えることは直感的に理解しやすく有効であった。

BF の水酸化を受ける炭素とヘム Fe 間の平均距離を Table I に示す。この値が小さいほど代謝の活性が高いと考えて、距離の逆数を取りグラフ化する。

Table I BF の水酸化を受ける炭素とヘム Fe 間の平均距離(Å)

| | CYP2D6 (WT) | CYP2D6 (F120A) |
|-----------|-------------|----------------|
| R-BF...Fe | 7.04 | 7.24 |
| S-BF...Fe | 7.32 | 6.01 |



この活性の大小関係は、成松らによる実験結果と一致しており、また別の初期モデルの計算でも同様の結果が得られている。さらに BF の塩基性窒素は、活性部位の空洞に面する Glu-216 または Glu-222 のカルボニル酸素と静電的に強く相互作用し、近い距離 (3Å 前後) に位置する傾向が見られたが、Asp-301 との相互作用は弱い (7~10Å) という結果が得られた。代謝物ジアステレオマー選択性についても検討し報告する。

[1] 空洞表示プログラムによる酵素活性中心の視覚化 第 11 回バイオイメージング学会

[2] 酵素活性中心空洞の視覚化によるシトクロム P450 と基質の相互作用の研究 第 40 回日本薬学会中四国支部大会