

Cyclosporin A/Cyclophilin A の 結合自由エネルギーシミュレーション

○ 伊藤正勝、谷田義明、佐藤博之、松浦東、藤谷秀章
(株)富士通研究所 (〒243-0197 厚木市 森の里 若宮 10-1)

1. 緒言

リガンド分子とレセプターの親和性には、リガンド分子の僅かな構造変化により著しい違いが生じる。実際、cyclosporin A(CsA)の置換基がひとつ変わるだけでも IC_{50} 値には40倍ものばらつきが生じる⁽¹⁾。また、CsAは、レセプターCyclophilin A(CyPA)と結合することによって、あるいは、溶媒極性が変わることでも、構造が著しく変化する⁽²⁾。そこで、こうした分子構造の変化をシミュレーションによって結合自由エネルギーと関連付けることで、薬物分子の構造を設計する指針を得ることが期待されてきた。しかしながら、伝統的な方法で計算された自由エネルギー変化の値には無視できない誤差が含まれるため、ある構造変化によってリガンドがレセプターに結合しやすくなるかを判定するのは非常に困難であった。

これに対し、我々は、精度向上を目指し、BAR法による自由エネルギー計算⁽³⁾を並列計算機システム(BioServer)で行っている。並列度を上げて1000個のCPUを用いたときには、FKBPリガンドの構造変化に伴う結合自由エネルギー変化の誤差は1kcal/mol以下に抑えられた⁽⁴⁾。本研究では、CsAの活性をその分子構造と周囲との相互作用から調べる目的で、自由エネルギーシミュレーションを行った。

2. 方法

分子動力学計算には(Standford大学によって改良された版の)GROMACSを用いた。リガンドCsAのパラメーターにはGAFFと、リガンド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、PDBに登録されているCyPA/CsA複合体の構造(1CWA)から、リガンド部分を取り出して用いた。自由エネルギーシミュレーションを行う前に、リガンド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。

自由エネルギーシミュレーションでは、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 の変化に伴う仕事の分布から水和自由エネルギーを統計的に推定する⁽³⁾。クーロン相互作用を変化させるための λ は12点、Lennard-Jones相互作用を変化させるための λ 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。

3. 結果と議論

平衡化MDでは水素結合の増減に長期的な揺らぎがみられた。図1に、0-12ns、12-23ns、23-35nsの時間領域での水素結合数の分布を示す。0-12ns(赤い線)の分布が示すように平衡化の初期段階では分子内水素結合の数のピークは1であるのに対し、それ以降の段階ではピークは0に移っている。平衡化をその後も続けたが、90nsのMDが終わるまで、分子内水素結合のない構造が最もメジャーであり続けた。これはNMRの測定から知られているように、水中のCsAが複数のコンフォメーションの間をゆっくりと遷移している⁽²⁾ことに対応すると思われる。

こうした構造変化はCsAと水との相互作用エネルギーの変化も生じさせ、分子内水素結合が切れることに伴い、相互作用エネルギーが増加している。そこで、こうした相互作用の異なる2つ

の構造から、それぞれ自由エネルギー計算を始め、収束状況を調べるために 100ps ごとに水和自由エネルギー $\Delta G(t)$ をプロットした (図 2)。

どちらも $\Delta G(t)$ は 3ns ほど後にほぼ定常に達しているが、時間変化の方向は逆であった。平衡化時間が 10ns で、相互作用エネルギーが弱い構造から始めた場合は、 $\Delta G(t)$ は -54 から -56kcal/mol へと漸近していくのに対して、平衡化時間が 15ns で強い相互作用をもつ構造から始めた場合は、 $\Delta G(t)$ は -60 から -54kcal/mol へと近づいている。

こうした初期構造による $\Delta G(t)$ の振る舞いの違いは、CsA と周囲との相互作用が異なる複数のトラジェクトリーから生じている。一方で、実験からは、CsA は、周囲とのクーロン相互作用が強められる水中では分子内水素結合が形成されないのに対し、無極性溶媒のなかでは、分子内水素結合をしっかりと形成することが知られている。現在、このように周囲との相互作用が変化した場合の CsA の振る舞いが、水和エネルギーに及ぼす影響について解析を続けている。

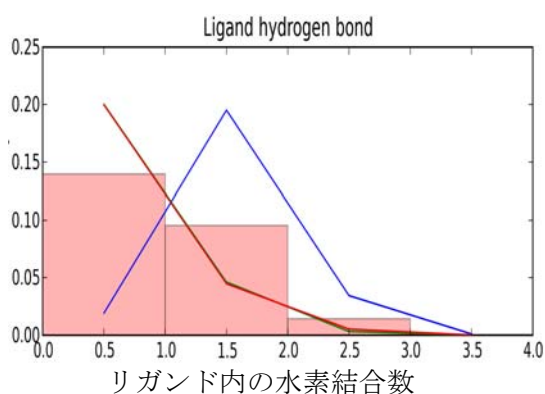


図 1 分子内の水素結合数の分布
青線 : 0-12 ns 緑線 : 12-23 ns
赤線 : 23-35 ns ヒストグラム :
0-35ns

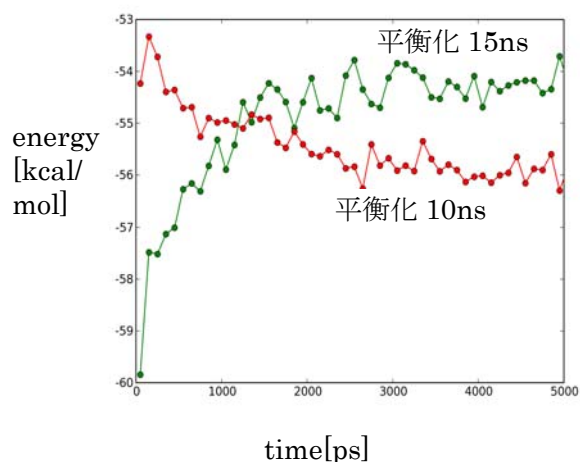


図 2 100ps ごとに求めた
水和自由エネルギーの時間変化

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) M.R.Shirts, E.Bair, G.Hooker, and V.S.Pande, *Phys.Rev.Lett.* **91**, 140601(2003).
- (4) 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).