

フラグメント MO 法による Epidermal Growth Factor (EGF) 受容体の解析

○^{1,2} 渡邊寿雄、^{1,2} 石元孝佳、³ 田村裕、⁴ 稲富雄一、^{1,2} 梅田宏明、^{1,2} 長嶋雲兵
¹産総研計算科学（〒305-8568 つくば市梅園 1-1-1 中央第二）、²JST-CREST、
³千葉大学大学院医学研究院生命情報科学、⁴九州大学情報基盤センター

【緒言】 受容体型チロシンキナーゼ (RTK) である上皮細胞増殖因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) は、ファーストメッセンジャーである上皮細胞増殖因子 (EGF) と特異的に結合するところにより、EGFR が二量化し、その結果としてチロシンキナーゼの活性化を促す。EGFR の変異はいくつかのタイプの癌で見つかっており、抗がん治療の標的分子として注目されている。EGFR 標的治療薬であるイレッサは、EGFR の自己リン酸化への ATP 結合部位を阻害する。また、EGFR の基質結合部位への阻害剤の研究も盛んである。

近年の大規模分子軌道計算の新たな手法の開発や、急速な計算環境の発展により、巨大分子の分子軌道計算が技術的に可能になってきた。その中でも FMO 法 [1] は巨大分子を小さなフラグメントへ分割することにより計算量を大幅に削減する上に、広域分散計算環境にも非常に適している。また、FMO 法によって得られるフラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) により、詳細な相互作用の解析が可能であり、生体分子における特異的分子認識の解析には非常に有用であることが示されている。 [2]

そこで、我々は EGF-EGFR 複合体の相互作用解析を FMO 法で行った。詳細な相互作用解析により、EGFR の特異的分子認識機構を明らかにするだけでなく、新規阻害剤の開発に有用な情報を得ることも目的とした。

【モデル及び計算方法】 計算に用いた構造は、Protein Data Bank (PDB) の構造 1IVO を元に作成した。1IVO は EGFR-EGF の二量体であるが、その片方の EGFR-EGF 複合体に水素を付加し、古典力場 (AMBER99) にて構造最適化を行った。それぞれの分子のサイズは EGFR (511 残基、7823 原子)、EGF (47 残基、734 原子) であり、FMO 計算では詳細なフラグメント間相互作用エネルギーを得るために、1 残基を 1 フラグメント (チオール結合は 2 残基 = 1 フラグメント) とし、EGFR-EGF 複合体を 537 フラグメントに分割して計算を行った。FMO 計算には HF/STO-3G 及び 6-31G を用いて行った。計算プログラムは ABINIT-MP Ver. 20021029 を、AIST スーパークラスター (ASC) の F-32 部 (Dual Xeon 3.06GHz × 272 ノード) 及び P-32 (Dual Opteron 2.0GHz × 1072 ノード) を使用して計算を実行した。EGFR-EGF 複合体の FMO-HF/STO-3G 計算は ASC F-32 部を 64 ノード (128 プロセス) にて、3 時間弱 (10599 秒) で終了した。

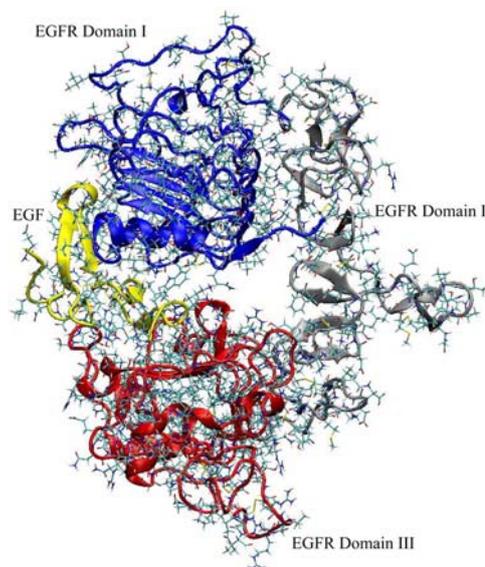


図 1 : EGRF-EGF 複合体の構造

【計算結果】 EGF と EGFR の各 Domain との IFIEs を、表 1 に示した。EGF と EGFR-Domain III との IFIE が 659.1 kcal/mol と、他の Domain よりも著しく大きくなった。これは、Domain III が持つ +10 の正電荷と EGF の分子が持つ双極子との間の相互作用が非常に大きいことを示している。このことより、構造的には非常に似通って見える EGF と Domain I 及び III との結合が、

まったく異なるものであることが分かる。この結果より、Schlessingerらが提案しているEGF結合誘起型のEGFR二量化[3]は、まずEGFがDomain IIIと結合して、その後Domain Iと結合する機構であると思われる。

EGFの各アミノ酸残基とEGFRとのIFIEsのより詳細な解析を行った。EGFの荷電アミノ酸が、EGFRの荷電アミノ酸との大きな静電相互作用をしている。図2に示した相互作用サイトは、特に強い相互作用を示したサイト対である。EGFは、Domain I及びIIIと相互作用する際に、正負で対になった荷電アミノ酸で相互作用をしている。これにより、選択的な相互作用を実現していることが分かった。

【計算結果】 EGF-EGFR複合体の相互作用解析をFMO法で行った。それにより、EGF結合誘起型のEGFR二量化の機構は、まずEGFがDomain IIIと結合して、その後Domain Iと結合する機構であると思われる。またEGFは、Domain I及びIIIと相互作用する際に、正負で対になった荷電アミノ酸で相互作用をしている。これにより、選択的な相互作用を実現している。

表1 EGFとEGFRの各DomainとのIFIEs(kcal/mol)

	IFIEs
EGF vs EGFR	-931.2
EGF vs EGFR-Domain I	-181.0
EGF vs EGFR-Domain II	-101.4
EGF vs EGFR-Domain III	-659.1
EGF vs EGFR-Domain IV	10.2
EGFR-Domain I vs III	-118.5

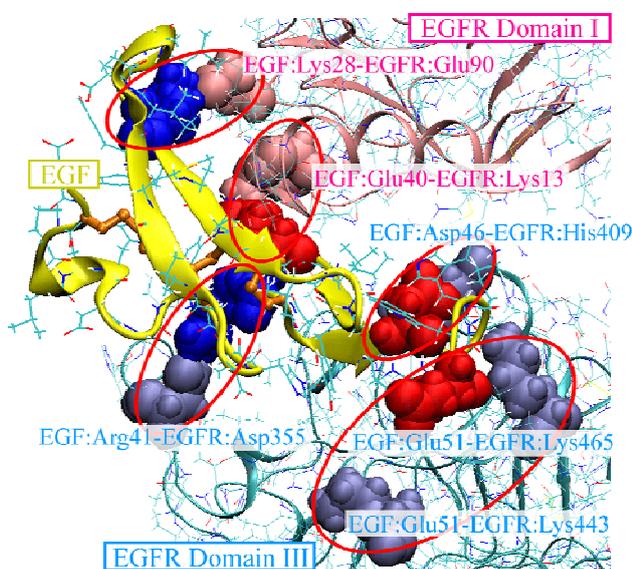


図2 EGFとEGFRとの相互作用サイト

【参考文献】 [1] K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.*, **312** (1999) 319, K. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.*, **313** (1999) 701, T. Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.*, **318** (2000) 614. [2] K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **26** (2005) 1, K. Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, **27** (2006) 948. [3] Schlessinger, J., *Cell*, **110** (2002) 669-672.