

Grid inhomogeneous solvation theory を用いた 血液凝固因子 Xa の水和サイト解析

○佐藤 博之、松浦 東

富士通研究所(〒243-0197 厚木市森の里若宮 10-1)

【緒言】

近年、京などに代表される超並列計算機の普及に伴い、分子シミュレーションによる創薬の研究が盛んになってきた。中でもタンパク質の構造データから、薬の候補となる化合物(リガンド)を設計する技術は、中心的な研究分野の一つである。リガンドの設計に際して重要となるファクターは、設計リガンドとタンパク質との結合活性の強さであるが、これまでの研究結果から、タンパク質とリガンドとの結合活性には、タンパク質の水和サイトが大きく影響していると考えられている。タンパク質の水和サイトは、タンパク質の重原子を拘束した MD 計算を用いて、様々なリガンドの結合活性に対する影響が解析され、実験値と整合性のある結果が得られてきた。しかし血液凝固因子タンパク質 Xa (fXa) とリガンド RDR, RRR[1]については、水和サイトの解析結果とリガンド結合活性の実験値との整合が取れないことが報告されている[2]。

今回我々は、側鎖の拘束を緩和した MD 計算を実施し、予測された fXa の水和サイトが、従来計算により予測される水和サイトからどのように変化するか調査した。また fXa の水和サイトに存在する水と、バルクの状態にある水との自由エネルギー差を、Grid inhomogeneous solvation theory (GIST) [3]を用いて評価し、リガンドの結合活性に対する水和サイトの影響を調査した。

【方法】

fXa とリガンドの共結晶構造データには 1NFX.pdb, 1NFW.pdb, 1NFU.pdb, 1NFY.pdb を用いた。水和サイトの導出には、リガンドの重原子を拘束した MD 計算(アンサンブル: NPT)結果の時間平均を初期構造として、リガンドから 5Å 以上離れたアミノ酸残基の重原子を拘束した MD 計算(アンサンブル: NPT, 10 ns)の軌跡を用いた。ここで圧力制御には Parrinello-Rahman 法を用い、タンパク質の力場には Amber99SB-ILDN-GORD を、水の力場には TIP3P を、リガンドの力場には General amber force field (GAFF)を用いた。MD 計算のプログラムには Gromacs v4.6.5 を用い、GIST によるエントロピーの計算には nearest neighbor 法[4]を用いた。

【結果】

今回の解析に用いた共結晶のリガンドは、いずれもリンカ部位にスルホンアミド構造を持ち、分子サイズも結合ポーズも類似している。ただし fXa の S1 ポケットに結合する部位が、RRR (1NFW) ではクロロチオフェンであるのに対し、他のリガンドではクロロベンゾチオフェンになっている点が大きく異なる。従来のタンパク質重原子拘束 MD による解析では、チオフェンを持つ RRR では排除されないが、他のリガンドではベンゾチオフェンにより排除される水和サイトが存在することで、リガンド結合活性の実験値と整合が取れなかった。しかし今回、側鎖の動きを考慮する MD で水和サイトを解析したところ、問題となる水和サイトは得られなかった。この結果から、従来手法で得られた問題の水和サイトは、タンパク質側鎖が拘束されることで人工的に生じたサイトである可能性が考えられる。そこで実際に、側鎖の動きを考慮する MD で得られた水和サイトの水とバルクの状態にある水との自由エネルギー差を、GIST を用いて評価したところ、リガンド結合活性の実験値と整合性のある結果が得られた。詳細は当日発表する。

参考文献

- [1] A. Maignan et al., J. Med. Chem. 46, 685-690 (2003).
- [2] A. Abel et al., J. Am. Chem. Soc. 130, 2817-2831 (2008).
- [3] C. L. Nguyen et al., J. Chem. Phys. 137 044101 (2012).
- [4] H. Singh et al., Am. J. Math. Manage. Sci. 23, 301-321 (2003).