九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

フラグメント分子軌道法による化学物質・核内受容体タンパク質複合体の安定化エネルギーの算出 ： 内分泌撹乱化学物質リスク評価の精鋭化に向けて

岡田, 浩幸
九州大学大学院理学府

https://doi.org/10.15017/1495404

出版情報：九州大学情報基盤センター広報 ： 全国共同利用版. 5 (3), pp.146-148, 2006-02. 九州大学情報基盤センター広報
バージョン：
権利関係：

成果報告 5

フラグメント分子軌道法による化学物質・核内受容体タンパク質複合体の安定化エネルギーの算出：内分泌撹乱化学物質リスク評価の精鋭化に向けて

九州大学大学院理学府　岡田　浩幸

1 序論

近年、環境中の化学物質が生体内の核内受容体タンパク質と結合することでホルモンバランスを撹乱し、様々な健康障害、代謝障害等々を誘起する可能性が問題となっており、このような化学物質は「環境ホルモン」と呼ばれている。しかし、どのような化学物質がどのような環境ホルモン作用を示すのかは不明であり、危険性のある化学物質については、随時、複雑なスクリーニングをしなければならないのが現状である。そのため、膨大な数の化学物質が流通、使用されている現状において、*in silico*で迅速かつ正確に化学物質の受容体結合性の評価を行う技術には大きな意味がある。

ところで、Gaussianに代表される*ab initio*計算法は、近年のコンピュータの高性能化とともに一般化学物質の構造や諸物性について精度良く計算結果を与える手法として一般的となった。一方、タンパク質のような巨大分子に対しては膨大な分子軌道計算を必要とするため、高性能化の飛躍的展開が常に求め続けられてきている。これまでは、経験的パラメーターを導入した分子動力学(MD)法などによって鋭意に解析されてきた。

こうしたなか最近、タンパク質に対する新規の*ab initio*計算法がいくつか作出され、そのプログラムが一般に入手可能となった [1]。このようなプログラムの一つに、分子軌道をフラグメントに分割（Fig. 1. 参照）して計算コストを低減させることでタンパク質のエネルギー計算を可能とするフラグント分子軌道（FMO）法がある。今回の研究では、FMO 法を実行するプログラム（ABINIT-MP）のソースコードを入手し、実際にタンパク質を対象に実用的なレベルでのエネルギー計算が実行可能かどうかの確認を行うとともに、環境ホルモン問題の主たる研究対象である女性ホルモン受容体（ER）のリガンド結合部位（LBD：256アミノ酸）について、化学物質との結合によるエネルギー安定化の観点から、化学物質の結合性評価を試みた。

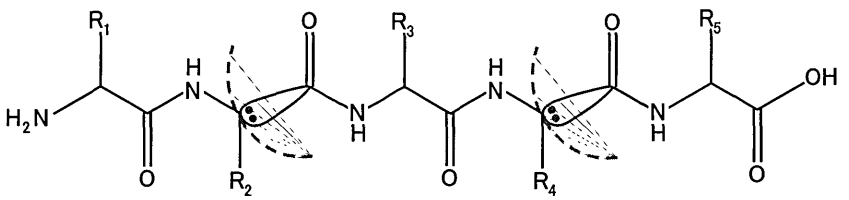

Fig. 1 タンパク質のフラグメント化模式図
これにより分子の全電子エネルギーを近似的に計算する
$E_{elec} = \Sigma E^{elec}_{ij} - (N - 2)\Sigma E^{elec}_{i}$
E_i：フラグメントの全電子エネルギー E_{ij}：フラグメントペアの全電子エネルギー N：フラグメントの個数 i, j：フラグメントの番号
（アドバンスソフト社フラグメント分子軌道法入門より引用）

2 研究概要

本研究ではこれまでに、分子モデリングソフトウエア「Discover/InsightII」における複合体計算プログラム「Affinity」を用いて種々の女性ホルモン受容体とリガンド複合体の構造予測計算を実施し、複合体の立体構造をpdbファイル形式として出力した。さらに、得られた複合体のエネルギーを高性能演算サーバー上でFMO法により計算した。FMO計算については、ソースコード（ABINIT-MP Ver.20020626；無償版）をWeb上からダウンロード後、コンパイル（AIX 5.3）して使用した。

化学物質の受容体への結合性の評価は、その化学物質が結合することによる受容体の安定化エネルギーを算出し、生体内での正常なリガンドである17・-estradiol（E2）の結合による安定化エネルギーと比較することで行なうため「受容体のみ」「化学物質のみ」のエネルギー計算も必要である（Fig.2. 参照）。そこで今回は、高性能演算機サーバーを用いて受容体と5種の化学物質、およびそれらの複合体のエネルギー計算を実施し、計算による受容体安定化エネルギーと実験により求められた受容体結合性との相関性を試験した。

$$\Delta E_{ligand} = E_{complex} - E_{ER} - E_{ligand}$$

ΔE_{ligand} :リガンド結合後のエネルギー変化
$E_{complex}$:リガンド -ER複合体のエネルギー
E_{ER} : ERのエネルギー
E_{ligand} :リガンド分子のエネルギー

$$\Delta\Delta E = \Delta E_{ligand} - \Delta E_{E2}$$

$\Delta\Delta E$: E2結合安定化エネルギーとの差

Fig. 2. エネルギー計算によるリガンド結合性の相対評価

3 計算結果

今回、ER-LBD全体に対するFMO 計算は実行に際し、中途で計算停止となり完遂することができなかった。その主な理由は、*ab initio*計算を行なう場合、計算に用いる分子の分子軌道がゆがんでいると正しい計算結果が求められない（計算が走らない）ことにあると考えられた。すなわち、前もって実行した分子力学法に基づくグリッド法によるドッキング計算の結果が、*ab initio*レベルでの適切な構造を取っていない可能性が指摘された。これは従前実施されてきたMD法などを用いた計算の際には問題とならなかった新たな問題点である。

そこで、受容体構造の一部分を削除し、リガンド周辺の構造のみに対してFMO計算を行なったところ、計算が可能となった。結局、150 残基程度のタンパク質（約100残基削除）に対して*ab initio*計算を行ない、そのエネルギー計算が1複合体あたり約15000秒（16CPU使用）で実施可能であることが分かった。最終的な計算結果をTable 1に示す。FMO法によるエネルギー計算は rHF-STO-3G、リガンド（低分子化合物）のエネルギー計算は Gaussian 03を用いた rHF-6-31Gで計算した。結果として、今回の計算結果からは実験値によるRelative Binding Activity（RBA）との相関がみられなかった。これは、受容体構造の一部分を削除した結果、実際の化学物質との結合から乖離が生じたものと考えられる。

Table 1 計算結果一覧

	E receptor	*E* complex	*E* ligand	Δ*E* ligand	ΔΔ*E* ligand(1ERE)	ΔΔ*E* ligand(E2)	Rba%
1ERE	−48650.83487	−49487 31038	−836.38638	−0.08913	0	2.14869	100
E2	−48652.70692	−49489.99707	−835 05233	−2 23782	−2.14869	0	100
DES	−48659.07342	−49491 5415	−832.57034	0.10226	0.19139	2 34008	88 9
Gen	−48659 09586	−49668.87195	−936.05769	−73.7184	−73 62927	−71.48058	0 12
Tes	−48659 08568	−49533.86339	−874 81006	0 03235	0.12148	2 27017	0
4EtPhenol	−48656.55194	−49035 40135	−378.88873	0 03932	0.12845	2.27714	0

1H=627.51 kcal/mol

4 まとめ

今回、FMO計算の導入と高性能演算機サーバーの利用という２つのシステムの新規導入を試みた。まず、FMO計算については、計算に使用するタンパク質の初期構造に大きな制約があることが分かり、事前に安定化計算などを施すなどの必要があることが判明した。また、無償版ABINIT-MPを使用していたため、開発元からのサポートが受けられずコンパイル等に多くの時間を費やした。このため、LBD全体の計算を行なうには今回の高性能演算機サーバー利用期間（30日）だけでは時間が足りない結果となった。一方、高性能演算機サーバーを用いた16CPUによる計算では迅速に計算結果を得られることが確認され、今回のような新規計算プログラムの導入や試行錯誤を繰り返す研究を行うには、高性能演算機サーバーは最適の環境であることが判明した。今後は製品版ABINIT-MPを導入し、LBD全体を対象にFMO計算を行なう予定である。また、計算精度の向上を目的に基底関数をSTO-3Gから6-31Gに改めて計算を行なうため、引き続き高速演算機サーバーの活用を考えている。

5 謝辞

ABINIT-MPのコンパイルにあたり、九州大学情報基盤センターならびに同センター助教授の渡辺善隆先生には大変お世話になりました。この場を借りて御礼申し上げます。

6 参考文献

[1] http://moldb.nihs.go.jp/abinitmp/log.htm (for ABINIT-MP Ver.20020626)
http://www.fsis.iis.u-tokyo.ac.jp/result/software/ (for AMINIT-MP ver. 2.0)
[2] Fukuzawa et al., *J. Comput. Chem.*, (2004) 26, 1-10
[3] Nakano et al., *Chem. Phys. Lett.*, (2002) 29, 475-480