

1P133

アドレナリン α_2 受容体 - 薬物複合体における相互作用基盤の解析

(安田女子大・薬) ○源内 麻未, 下堂 靖代, 柴田 瑩

Interaction analysis on adrenergic α_2 receptor and ligand complexes

(Yasuda Women's University) ○Mami Gennai, Yasuyo Shimodo, Akira Shibata

【序論】

Gタンパク質共役受容体 (GPCR) の一つであるアドレナリン α_2 受容体はシナプス前膜のオートレセプターで、神経伝達物質の調整因子である。よって、標的リガンドには中枢性交感神経抑制薬あるいは亢進薬としての効果が期待される。論理的な薬物設計においては、標的タンパク質の立体構造だけでなく、薬物との相互作用基盤について理解することが不可欠である。

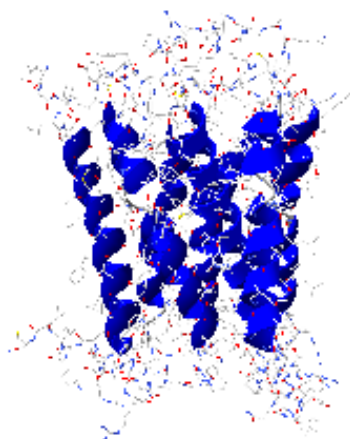
この点において、インシリコ創薬技術の果たす役割は重大で、その中核の一つを担う計算科学分野では、定量的な解析手法の確立が待たれる。なかでも、低分子で成功を収めた *ab initio* 法を生体高分子系へ適用することを可能にしたフラグメント分子軌道法[1]およびフラグメント密度汎関数理論 (FDFT) [2]は、現在、最も信頼性の高い手法として位置付けられる。

本研究では、アドレナリン α_2 受容体サブタイプのうち、創薬ターゲットとして重要な α_{2A} 受容体における薬物の結合部位、そして生理活性をもたらす作用部位の解明に取り組む。

【方法】

人体に存在する GPCR としては、アドレナリン β_2 受容体の三次元構造が明らかにされている。 α_{2A} 受容体の三次元構造は、Protein Data Bank に登録されている複数の β_2 受容体構造をもとに SWISS-MODEL サーバーによるホモロジーモデリングで予測した。ここでは、LEU30~LYS224, ASN367~CYS442 の領域をモデリングした α_{2A} 受容体構造について分子動力学 (MD) シミュレーションを実行し、本研究で採用する α_{2A} 受容体構造を吟味した。また、膜貫通領域予測サーバー TMHMM により α_{2A} 受容体の膜貫通領域を予測し、モデリングされた構造と対応することを確認した (図)。

さらに、 α_{2A} 受容体を標的とする作動薬には noradrenaline, adrenaline, isoprenaline を採用し、これらの複合体構造は、 β_2 受容体-リガンドの配向を参考にモデリングした。各薬物に応じた精度の高い複合体構造を得るため、310K で 10ns 程度の MD シミュレーション



図：ホモロジーモデリングにより予測された α_{2A} 受容体構造
(リボン表示は TMHMM による膜貫通領域)

を行い、平衡時のスナップショットをいくつか抽出した。MD 計算は AMBER12 で実行した。ここで、タンパク質の力場には leaprc.ff99SB を用い、複合体中の薬物の力場は、薬物の電子状態をいずれも中性とし、B3LYP/6-311G (d,p) 計算で得られた電荷から GAFF を用いて作成した。

各複合体について抽出した複数のスナップショットに対して、FDFT PBE0/6-31G(d) による電子状態計算を実行し、フラグメント間相互作用エネルギー ΔE_{IJ} 値を得た。

【結果】

α_{2A} 受容体構造を得るため、複数の β_2 受容体構造をもとにモデリングを行い、これらを初期構造として MD シミュレーションを実行した。その結果、一種のモデルを除いて、その他はエネルギーの等しい平衡状態に収束した。本研究では、このうち複合体中のリガンド構造が本作動薬と共通した部位をもつ 3SN6 (PDB ID) をもとにモデリングされた α_{2A} 受容体構造を採用することとした。

フラグメント間相互作用エネルギー ΔE_{IJ} のうち、薬物と α_{2A} 受容体中のアミノ酸残基間の ΔE_{IJ} についてとった和は、複合体の結合エネルギーに相当するとみなすことができる。この値から、複合体の安定性は、adrenaline > noradrenaline > isoprenaline の順に低くなり、これは α_{2A} 受容体に対する薬物の親和性を説明するものであった。特に、isoprenaline は、 β_2 受容体をターゲットとする作動薬であって、 α_{2A} 受容体との親和性は極めて低い。

これらの結果により、各複合体について合理的な構造を得たことが確認された。したがって、 ΔE_{IJ} 値を詳細に解析し、 α_{2A} 受容体における結合部位および作用部位の解明を進める。また、 ΔE_{IJ} 値から膜貫通領域間の相互作用エネルギーを求め、薬物標的タンパク質 GPCR の解析において新たな知見を呈することを試みる。

[1] K. Kitaura, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **313**, 701 (1999).

[2] Y. Shimodo, *et al.*, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **770**, 163 (2006).