

## リガンド認識と受容体応答に関する理論的研究

(安田女子大・薬) ○下堂 靖代, 木村 仁美, 柴田 瑩

## Theoretical Study on Ligand Recognition and Response in Adrenergic Receptor

(Yasuda Women's Univ.) ○Yasuyo Shimodo, Hitomi Kimura, Akira Shibata

## 【序論】

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大きく、その中核の一つを担う計算科学分野では、信頼性の高い計算方法、また、これによる定量的な解析手法の確立が待たれる。

Gタンパク質共役受容体(GPCR)の一つである $\alpha_2$ アドレナリン受容体はシナプス前膜に存在する神経伝達物質の調整因子である。本研究では、 $\alpha_2$ アドレナリン受容体サブタイプのうち、創薬ターゲットとして重要な $\alpha_{2A}$ 受容体について、標的リガンドとの相互作用を解析することにより、受容体内で結合したリガンドの情報を認識する部位、これに応答する部位の解明を目指している。

## 【方法】

人体に存在するGPCRとしては、 $\beta_2$ アドレナリン受容体の三次元構造が明らかにされている。よって、 $\alpha_{2A}$ 受容体の三次元構造は、Protein Data Bank(PDB)に登録のある $\beta_2$ 受容体-リガンド複合体の構造をもとに、SWISS-MODEL サーバーによるホモロジーモデリングで予測した(図1)。アゴニストおよびアンタゴニストを含む複数のリガンドとの複合体構造をドッキングシミュレーションソフト Auto Dock により予測した。

各リガンドに応じた精度の高い複合体構造を得るため、310Kで20nsのMDシミュレーションを実行した。ここで、リガンドはアミノ基がプロトン化されたカチオン状態とし、受容体の主鎖に束縛を課した条件下と無条件下でシミュレーションを行った。各複合体について複数のスナップショットを抽出し、フラグメント密度汎関数理論(FDFT) PBE0/6-31G(d)による電子状態計算を実行した。これにより得られたフラグメント間相互作用エネルギー $\Delta E_{ij}$ からリガンドとアミノ酸残基間の相互作用について解析した。

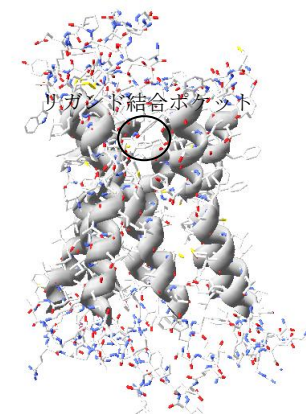


図1:ホモロジーモデリングにより予測された $\alpha_{2A}$ 受容体構造 (リボン表示はTMHMMによる膜貫通領域)

さらに、膜貫通(TM)領域との相互作用エネルギーを新たに評価し、リガンドと TM 領域の相互作用およびリガンド結合前後での TM 領域間の相互作用について解析した。

MD 計算には生体分子シミュレーションソフト AMBER12 を、FDFT 計算には非経験的量子化学計算プログラム ABINIT-MP (+DFT version) [1, 2]を用い、リガンドと TM 領域および TM 領域間の相互作用エネルギーを計算するルーチンを実装した。

### 【結果】

図 2 は、複数のスナップショットを対象とした FDFT 計算から得られた $\Delta E_{ij}$ を解析した結果、 $\alpha_{2A}$  受容体においてアゴニスト(Noradrenaline)およびアンタゴニスト(Tolazoline)と相互作用する主要なアミノ酸残基を表示したものである。いずれのリガンドも、第 3 膜貫通(TM3)領域との引力的な相互作用が非常に強く、これは TM3 領域にある 113ASP との相互作用に起因すること、受容体との結合エネルギーの大部分をこのアミノ酸残基との作用により獲得することがわかった。

また、アゴニストとアンタゴニストとでは、TM5 領域にあるアミノ酸残基との相互作用エネルギーに顕著な相違があった。図 3 に、リガンドと TM5 領域にあるアミノ酸残基との相互作用エネルギー $\Delta E_{ij}$ を示した。ここで、アゴニストと 200SER 間の引力と 204SER 間の斥力は、図 2 からそれぞれアゴニストのカテコール部位と 200SER および水酸基と 204SER との相互作用に起因するものであることが理解できる。したがって、 $\alpha_{2A}$  受容体は TM5 領域でリガンドを認識していることが明らかとなった。

さらに、リガンドの結合による受容体の応答について調べるため、リガンドの結合前後で受容体内の相互作用を解析した。しかし、束縛条件下と無条件下での MD シミュレーションから抽出したスナップショットを対象とした FDFT 計算では異なる傾向が示された。今後、リガンドが結合することで起こる受容体骨格の緩和について段階的に検討し、受容体側の応答について解明する。

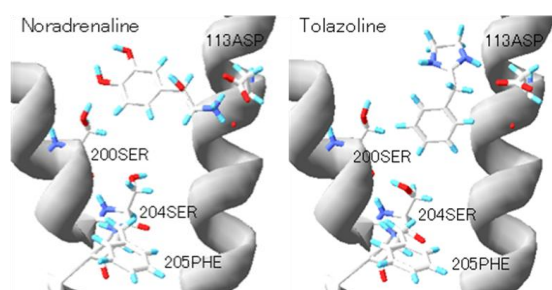


図 2:  $\alpha_{2A}$  受容体-リガンド複合体においてリガンドと相互作用する主要なアミノ酸残基(束縛条件下での MD シミュレーションから抽出した平衡化計算時 20ns のスナップショット)

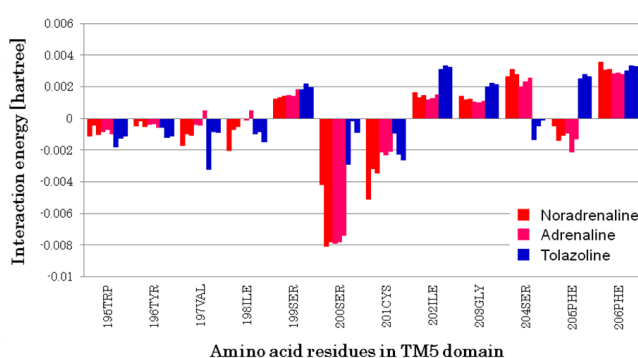


図 3:  $\alpha_{2A}$  受容体-リガンド複合体について複数のスナップショットを対象とした FDFT PBE0/6-31G(d) 計算で得られたリガンドと TM5 領域にあるアミノ酸残基との相互作用エネルギー $\Delta E_{ij}$

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

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