

機関番号：35408

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009 年度～2010 年度

課題番号：21890292

研究課題名（和文）

フラグメント法による GPCR-リガンド化合物の相互作用解析への新規展開

研究課題名（英文）

Theoretical Analyses on Interactions between GPCR and Ligand Compounds with Fragment Method

研究代表者

下堂 靖代（安田女子大学・薬学部・助手）

研究者番号：70551175

研究成果の概要（和文）：

$\beta$  アドレナリン受容体-リガンド複合体の活性部位を特定するため、 $\beta$  受容体内のアミノ酸残基とリガンド化合物との相互作用について、フラグメント密度汎関数理論 (FDFT) を用いて解析した。 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 3$  サブタイプの同位の ASP において、作動薬/拮抗薬との非常に強い引力的な相互作用がみられた。同位の SER においては、作動薬と引力的な相互作用がみられたのに対し、拮抗薬との相互作用はほとんどみられなかった。さらに、この SER と作動薬の相互作用エネルギーには、 $EC_{50}$  値との対応があった。したがって、 $\beta$  受容体の主な結合部位と作用部位は、それぞれ同位の ASP と SER であることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

The interaction energies between the amino acid residues in  $\beta$  adrenergic receptors and ligand compounds were analyzed with Fragment Density Functional Theory (FDFT), to assign active sites of these complexes. The strongly attractive interactions between the ligands and ASP at the same positions of the respective  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  receptors, were observed. Furthermore, SER at the same positions attractively interacted with the agonists, but hardly with the antagonists. The interaction energies between the SER and the agonists were found to be corresponding to the  $EC_{50}$  values. Therefore, it was concluded that the ASP and SER in the receptors were the major binding and active sites, respectively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	780,000	234,000	1,014,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,780,000	534,000	2,314,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：医薬分子設計，計算科学

## 1. 研究開始当初の背景

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情報だけでなく、リガンド化合物との相互作用基盤について理解することも不可欠である。そのためには、これらの

相互作用を高精度で予測できる信頼性の高い計算手法が必要である。研究代表者は、これまでに生体高分子系を対象とした電子状態計算手法の改良・開発に参画してきた。なかでも、フラグメント密度汎関数理論 (FDFT)

は、高精度かつ実用的な手法である上に、任意のフラグメント間の相互作用解析を容易に可能にする。

また、G タンパク質共役受容体 (GPCR) は、重要な薬物標的タンパク質であるにもかかわらず、計算化学的な手法を用いて詳細に研究された例は少ない。タンパク質内のアミノ酸残基とリガンドとの相互作用を定量的に解析することは、分子設計に直結する知見を得ることにもなる。信頼性の高い知見を得るには、電子的な効果を考慮することは不可欠である。

## 2. 研究の目的

近年、人体に存在する G タンパク質共役受容体 (GPCR) として、初めて  $\beta 2$  アドレナリン受容体の三次元構造が明らかになった。GPCR は薬物標的タンパク質であることから、この解明により新薬・改良薬開発の効率化が期待される。本研究では、研究代表者が開発に参画した FDFT による電子状態計算から、 $\beta$  受容体 - リガンド複合体について、活性の差異を決定付ける因子を電子レベルで明らかにする。この因子の解明は、薬物設計において重要な知見を与えるものと考えられる。

## 3. 研究の方法

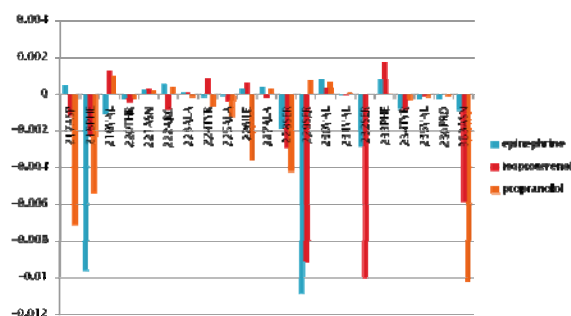
$\beta$  受容体には  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  のサブタイプがあるが、 $\beta 1$  および  $\beta 3$  受容体の三次元構造は明らかでないため、 $\beta 2$  受容体の結晶構造をもとにホモロジーモデリングにより予測した。これらの各サブタイプと非選択的な作動薬 (epinephrine, norepinephrine, isoproterenol) および拮抗薬 (propranolol, pindolol) との複合体をモデリングし、300K, 310K, および 325K で 2ns の分子動力学 (MD) シミュレーションを行った。これらのシミュレーションにおける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) による電子状態計算から、フラグメント間相互作用エネルギー  $\Delta E_{IJ}$  を求めた。

同様に、 $\beta 3$  サブタイプの変異体と作動薬との複合体をモデリングし、310K で 2ns の MD シミュレーションを行った。ここでのスナップショットを抽出して、FDFT 計算を行い、 $\Delta E_{IJ}$  を求めた。

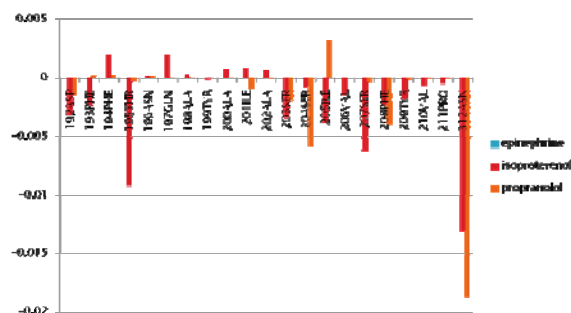
分子動力学計算は AMBER10 を、FDFT 計算は ABINIT-MP (+DFT version) を用いて実行した。

## 4. 研究成果

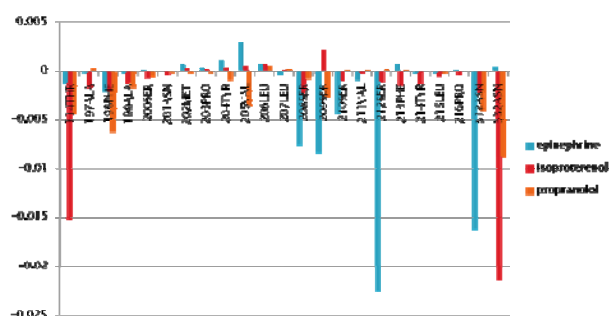
受容体のアミノ酸残基とリガンドの相互作用エネルギーに相当する  $\Delta E_{IJ}$  を解析したところ、 $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  受容体のそれぞれ ASP138, ASP113, ASP117 において、いずれのリガンドとも強い引力的な相互作用がみられた。また、 $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  受容体のそれぞれ SER232, SER207, SER212 においては、作



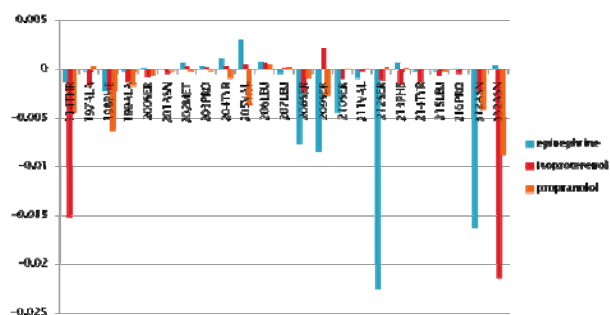
a)  $\beta 1$  receptor and ligands\*



b)  $\beta 2$  receptor and ligands\*



$\beta 2$  receptor and ligands\*\*



c)  $\beta 3$  receptor and ligands\*

Figure 1 : Interfragment energy  $E_{IJ}$  (a.u.) between ligand and each of amino acid residues in adrenergic receptors.  $|E_{IJ}|$  which is relatively larger and  $E_{IJ}$  which is considered to be more important than others are shown. In FDFT calculations, 2.0 ns MD simulations at 300K\* and 325K\*\* snapshots were employed, for geometries of complexes

動薬と引力的な相互作用がみられたのに対し、拮抗薬との相互作用はみられなかった (Figure 1).

さらに、これらの SER とリガンドの  $\Delta E_{IJ}$  には  $EC_{50}$  との対応がみられた。したがって、 $\beta$  受容体の主な結合部位と作用部位は、それぞれ同位の ASP と SER あり、これらは複合体構造上も合理的であった。

また、脂肪分解を抑制する因子を明らかにするため、 $\beta 3$  受容体の変異型と種々の作動薬との複合体について、同様に  $\Delta E_{IJ}$  を解析した。変異型の複合体は、野生型の複合体に比べて、リガンドがプロトン化されることにより、顕著に不安定化することが示された。この複合体の不安定化が、脂肪分解を抑制する因子の一つであることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 1 件)

下堂 靖代

「フラグメント法による  $\beta$  アドレナリン受容体-リガンド複合体の相互作用解析」

日本化学会 第 4 回関東支部大会

平成 22 年 8 月 30 日 筑波大学 (茨城県)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

下堂 靖代 (安田女子大学・薬学部・助手)

研究者番号 : 70551175

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし