

課題名(タイトル): Analysis on mechanisms of allosteric inhibition of P38 α using cosolvent method

利用者氏名: 〇浦長瀬 正幸

理研における所属研究室名: 生命機能科学研究センター 計算分子設計研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係する課題との関係
タンパク質のアロステリックサイトを利用した薬物を開発することは、これまで標的としづらかったタンパク質への適用や選択性向上に伴う副作用の抑制につながるため、創薬における重要なテーマの一つに数えられている。しかし、従来の実験によるアプローチではその開発において運に頼る部分もあるため、時間及び金銭面のコストが非常に大きくなることが問題であった。そのコスト削減を目的として in silico によるアロステリック創薬の手法開発に力が注がれている。共溶媒法はタンパク質水溶液中に小さなプローブ分子を追加した系の分子動力学(MD)シミュレーションにより、アロステリックサイト候補を検出する手法である。本課題ではタンパク質キナーゼの一種であり、種々の病気との関連が指摘されている p38 α に対し共溶媒法を含めた in silico 解析を適用し、p38 α での新たなアロステリックサイトの探索及びアロステリック阻害のメカニズムの解明を目的としている。今年度は特に共溶媒法でのプローブ分子によるアロステリックサイト検出能力の違いに着目したシミュレーションを実施した。

2. 具体的な利用内容、計算方法

タンパク質構造データベースに登録されている p38 α の構造(PDB ID: 3FC1、図1参照)を元にモデリングしたタンパク質水溶液およびそれにプローブ分子(ベンゼン、イミダゾール、イソプロパノール)を追加した系の MD シミュレーションを各 1 μ s 実施した。MD シミュレーションには Gromacs 2023.3 を、シミュレーション結果の解析の一部には Amber 22 をそれぞれ用いた。これらのソフトウェアはいずれも HBW2 に既にインストールされているものを使用した。

3. 結果

図1に各プローブ分子が集積する箇所をメッシュにて示している。p38 α には複数の既知のアロステリックサイトがある。そのうちの一つは基質結合サイト近傍にあり、キナーゼの Type II 阻害剤で利用される領域であるが、そのサイトではイミダゾールが集積する領域が大きかった。それ以外のアロステリックサイトとして脂質結合ポケットと呼ばれる箇所が知られている。脂質結合ポケットは基質結合サイトから離

れており、その箇所に結合することで機能を阻害するリガンドはキナーゼの Type IV 阻害剤と呼ばれる。脂質結合ポケット内ではベンゼンが集積する領域が大きかった。また、そのポケット内にはイミダゾールも短時間ではあるが滞在していた。それに対してイソプロパノールがポケットに入ることは全く見られなかった。

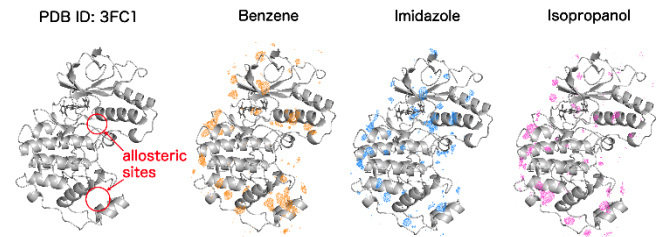


図1 p38 α の構造(PDB ID: 3FC1)及びベンゼン、イミダゾール、イソプロパノールの集積箇所(密度がバルクの 50 倍以上)。

4. まとめ

タンパク質キナーゼの一種である p38 α に対して共溶媒法を実施し、プローブ分子によるアロステリックサイトの検出能力の違いについて検討を実施した。得られた結果を総合するとイミダゾールとベンゼンがそれぞれ Type II 及び Type IV 阻害剤に対応するアロステリックサイトを検出する能力が高かった。この傾向は p38 α の別の構造(PDB ID: 3KF7)を用いて行ったシミュレーション(本チームが開発した MDGRAPE-4A で実施。解析の一部に HBW2 を利用)でも同様であったが、脂質結合ポケットへのプローブ分子の入りやすさに違いがある等タンパク質構造による違いについての知見も得られた。

5. 今後の計画・展望

今年度実施した解析はアロステリックサイト探索に主眼を置いていたが、共溶媒法により見出されたアロステリックサイトの候補が実際に機能阻害を達成できるかどうかを調べるためには別の解析が必要である。例えばアロステリックサイトと基質結合サイト間の関係性についての解析がネットワーク理論等を用いて行われている。今後はそのような解析を目的とした MD シミュレーション及び解析方法の妥当性についての検証を行う予定である。

2024 年度 利用研究成果リスト

【ポスター発表】

浦長瀬 正幸、沖本 憲明、藤田 茂雄、森本 元太郎、泰地 真弘人、「共溶媒法による p38 α のアロステリックポケット探索」、第 38 回分子シミュレーション討論会（2024 年 12 月 2 日、アクリエひめじ）