

氏名	武田 一貴
所属	毒性学教室
学年	D4
出張先	ノースカロライナ州立大学
出張期間	2019 年 6 月 23 日-7 月 6 日
目的	In silico シミュレーションによるタンパク質-リガンド結合性の評価

活動内容

背景

報告者の専攻は毒性学であり、特に殺鼠剤と殺鼠剤抵抗性齧歯類を研究対象としている。野生齧歯類はペストをはじめ種々の人獣共通感染症を媒介するため時として殺鼠剤で駆除する必要がある。しかこれに抵抗性を示す個体群が世界各地に出現し駆除が困難である。日本でもこれらの存在は確認されており、東京ではその 8 割を抵抗性群が占めるという報告もある。

抵抗性群の多くは殺鼠剤の標的分子であるビタミン K エポキシド還元酵素 (VKOR) に遺伝子変異を有しており、これにより殺鼠剤の結合性が低下すると考えられている。しかしながら東京の個体群が主に有する変異は殺鼠剤の結合部位や VKOR の活性中心からは離れており (図 1)、どのように抵抗性に影響を与えているのかは不透明であった。そこで、この解析手法としてドッキングシミュレーションや分子動力学シミュレーションといった *in silico* シミュレーション手法に着目した。

ドッキングシミュレーションはタンパク質と低分子化合物 (リガンド) の結合エネルギーや結合構造の予測評価をする。分子動力学シミュレーションではタンパク質-リガンド複合体を構成する各粒子間に働く化学結合、静電気力、分子間力などから各原子が受ける加速度を求め各原子の動的な変化をシミュレートする。

本演習ではノースカロライナ州立大学 Dr. Denis Fourches 研究室にて上記シミュレーションで変異 VKOR と殺鼠剤の結合性を解析する事を目的とした。

滞在先

ノースカロライナ州立大学は 1887 年創立のノースカロライナ州ローリーに位置する総合大学である (図 2)。総学生数は約 35,000 人、大学院生はそのうちの約 28% を占める。米国政府の研究助成金の割り当て金額で常にトップ 5 にラン

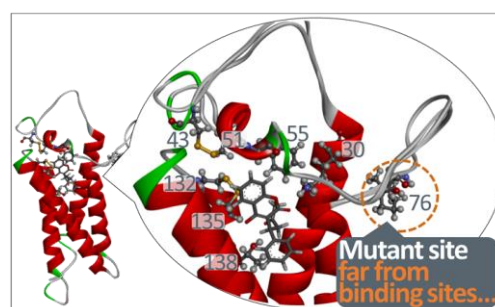


図1: VKOR 立体構造。中心にビタミン K が配位している。変異部位(76 位)はビタミン K を取り巻く活性部位や結合部位と異なる場所にある。



図2: ノースカロライナ州立大学の外観 (同大学 web サイトより)

クインする米国屈指の研究機関としても知られている。

受入れ研究者の Dr. Fourches はケモインフォマティクスを専門としており、上記の各シミュレーションを用いた創薬支援研究を行っている。報告者は氏を 2018 年の SaSSOH(本学主催国際学会)で招待講演者として招聘しており、その際に本研究計画についてディスカッションを交わし本共同研究が実現した。

内容

1: ドッキングシミュレーション

Schrödinger 社の Glide ソフトウェアを用い、抵抗性群と感受性群それぞれの VKOR と、日本で主に用いられている殺鼠剤であるワルファリンとのドッキングシミュレーションを実施した(図3)。その結果、抵抗性群では低いドッキングスコアを示した(図4)。本結果から抵抗性群の変異 VKOR では殺鼠剤との結合性が低下している事を示唆された。



図3：報告者の滞在中作業デスク。

2: 分子動力学シミュレーション

上記の抵抗性群での低い結合性のメカニズムを解明するために、より詳細にタンパク質-リガンドの相互作用を解析することができる分子動力学シミュレーションにて抵抗性群と感受性群それぞれの VKOR とワルファリンの複合体を解析した。本シミュレーションは Schrödinger 社の Maestro ソフトウェアを GPU 搭載 PC で動作させ実施した。

図5ではワルファリンに対する VKOR の各アミノ酸の親和性が2次元的に描写されている。VKOR とワルファリンの結合には55番目のフェ

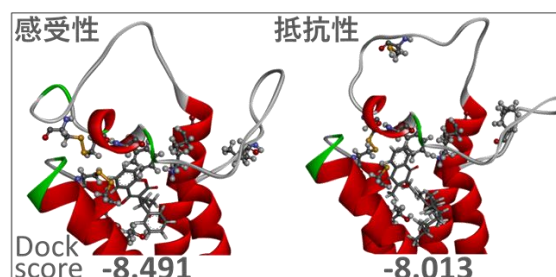
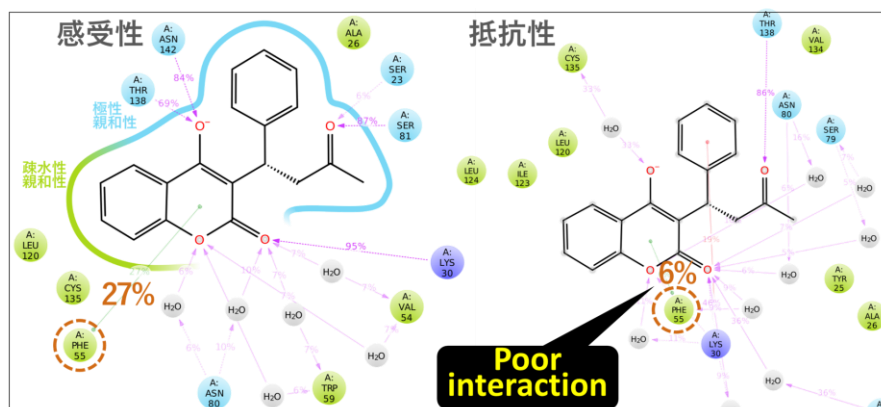


図4：ドッキングシミュレーション。ドッキングスコアは絶対値が大きい程高い結合性を示している。



ニルアラニン(Phe55)とワルファリンの芳香環の結合が重要である事が知られているが、左に示す感受性群では Phe55 とワルファリンの芳香環が 27%の結合性を示した(100ns のシミュレーション中 27ns 結合した事を意味する)。一方、抵抗性群では同結合はわずか6%であった。また、本2芳香環間の距離も測定した所、抵抗性群では常に距離が遠い事が判明した。以上より、抵抗性群では76位の変異により55位フェニルアラニンの位置が変わり、ワルファリンとの結合性が低下する事が示唆された。

(海外実践疫学演習・海外共同研究演習) 指導教員評：次ページ