

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		HGF-Met タンパク質間相互作用を制御するための計算科学的な創薬基盤の確立
研究代表者	所属・職名・氏名	九州工業大学情報工学研究院・准教授・青木俊介
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研究目的】	本研究では、HGF-Met タンパク質間相互作用を制御するための計算科学的な創薬基盤の確立を目指した。階層的結合シミュレーションによる <i>in silico</i> スクリーニング手法ならびに類縁化合物探索手法、π 結合やスタッキング相互作用の予測法 (PLIF/LI 法) 等を駆使することで抗癌剤の標的となりうる HGF-Met のタンパク質間相互作用部位に結合する低分子化合物を探索するための計算科学的な創薬基盤を確立する。最終的には、大規模な化合物立体構造ライブラリから計算科学的手法により HGF-Met のタンパク質間相互作用を阻害する高親和性の新規低分子化合物を複数種類同定することを目的とし、それらリード化合物からの有機合成展開も視野に入れた創薬研究を展開する。	
【研究内容・成果】	本研究の標的タンパク質の 1 つである HGF の立体構造に着目し、c-Met との分子間結合面に存在する潜在的な化合物結合部位となるポケット構造 (窪み部分) を探索した。HGF の立体構造 PDB ID : 4K3J を用い、結晶解析では検出されない水素原子を付加するとともに電荷の付加を行った。分子表面抽出ツール dms を用いてタンパク質のファンデルワールス表面上に水分子の仮想球を転がすことで HGF タンパク質の分子表面を抽出した。この分子表面構造から、ポケット構造探索ツールである sphgen を用い仮想原子球を入り込ませて、仮想原子球のクラスター (仮想低分子化合物) が入り込める c-Met との結合面にあるポケット構造を複数同定した。グリッドドッキング手法に基づくドッキングシミュレーションツール DOCK ならびに遺伝的アルゴリズムに基づくドッキングシミュレーションツール GOLD 等からなる階層的ドッキングシミュレーション手法を用いた <i>in silico</i> 化合物スクリーニングを HGF 立体構造を標的として行い、約 46 万化合物の 3 次元構造から構成される化合物構造ライブラリから HGF と結合し、c-Met への結合ならびに活性化作用を阻害する可能性を有する低分子化合物を選定した。また、HGF 分子表面に存在する潜在的結合ポケット全てに関してドッキングシミュレーションを行った。DOCK でのグリッド計算による一次スクリーニングにより約 46 万化合物から HGF と c-Met 受容体間の結合阻害化合物候補 2000 化合物を選定した。次に遺伝的アルゴリズムによる二次スクリーニング (GOLD) により一次スクリーニングによって選定された 2000 化合物の単一の初期配座のみを考慮した化合物構造に対して結合シミュレーションを行い、44 化合物に絞り込んだ。さらに選定された 44 化合物の複数配座を 1 つの化合物に対して最大で 10 配座を生成して、遺伝的アルゴリズムによる再シミュレーションを行い結合エネルギースコアの再計算を行った。その後、フィルタリングとして PLIF 解析ならびに LI 解析を行うとともにリピンスキーの法則等を考慮して、最終的に阻害化合物の候補を選定した。これら、選定された化合物を入手し HGF-Met タンパク質間相互作用に対する阻害活性を松本研究室において主として以下の 3 種の生物学的実験で評価した。(1) 細胞ベースの Met 受容体リン酸化 ELISA アッセイ、(2) FITC ラベル HGF を用いた Met の直接結合系での阻害アッセイ、(3) Met 固定化ビアコアによる HGF を用いた Met の直接結合系における阻害アッセイ。最終的に他の複数の増殖因子とそれらの受容体への結合は阻害せず HGF の Met への特異的相互作用を選択的に阻害し、HGF による Met のリン酸化も阻害する新規低分子化合物を 1 種同定することが出来た。	
【成果等】	【主な論文発表】 Sakai K., Aoki S., Matsumoto K., Hepatocyte growth factor and Met in drug discovery. J. Biochem. (2015) in press.	
	【学会発表】 なし	
	【その他特筆事項】 なし	