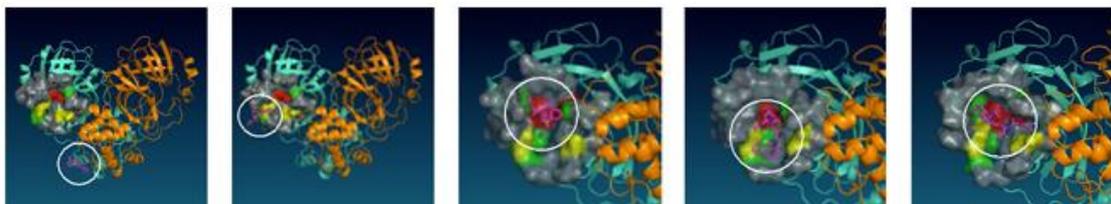


新型コロナウイルスタンパク質の柔らかい構造、薬分子結合過程の分子動力学シミュレーション

理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター計算分子設計研究チームの小松輝久研究員、沖本憲明上級研究員、泰地真弘人チームリーダーらの研究チームは、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の原因ウイルスである「SARS-CoV-2」のメインプロテアーゼ（M^{pro}）タンパク質と7種類のヒト免疫不全ウイルス（HIV）プロテアーゼ阻害薬が結合する過程の分子動力学（MD）シミュレーションを行いました（動画：<https://youtu.be/w0O0cyJ98WE>）。

ウイルスは、感染した細胞にウイルスタンパク質を作らせることで増殖します。SARS-CoV-2のM^{pro}は、細胞に作らせたタンパク質を適切な箇所で切断して完成させるハサミ（プロテアーゼ）として機能します。M^{pro}はHIVのプロテアーゼと類似していることから、既存のHIVプロテアーゼ阻害薬をSARS-CoV-2の治療に応用することが期待されています。

研究チームは、7種類のHIVプロテアーゼ阻害薬について、それぞれM^{pro}表面に接触する過程のMDシミュレーションを行い、結合しやすい場所（結合ポケット）の分類と、プロテアーゼ活性部位への結合しやすさを調べました。さらに、結合ポケットの構造変化の解析によって、この構造が非常に揺らいでいることや、阻害薬と結合した状態でもさまざまな形や配置を取り得ることが分かりました。阻害薬と標的タンパク質の動的な結合を例示した本研究成果は、薬候補分子の発見の新たな可能性を拓くものです。



HIV 阻害薬（ネルフィナビル=白丸で囲んだ分子）が M^{pro} に結合する様子

研究手法と成果

研究チームは、新型コロナウイルスのメインプロテアーゼ (M^{pro}) を阻害する薬分子の開発に役立てるために、HIV 阻害薬として既に利用されている 7 種類の薬分子と M^{pro} との結合過程を分子動力学 (MD) 計算によりシミュレートしました。MD 計算の実行には、理研情報基盤センター HOKUSAI システムおよび専用計算機 MDGRAPE-4A を使用しました。

シミュレーションに用いた SARS-CoV-2 M^{pro} の立体構造は Liu らの報告注 1) をもとにし、溶媒としての水分子数は 3 万弱、系の総原子数は 10 万弱としました。7 種類の薬分子それぞれについて、M^{pro} の入った水溶液中に薬分子 1 分子を加えた系の 0.2 マイクロ秒 (1 マイクロ秒は 100 万分の 1 秒) 間のシミュレーションを 28 試行ずつ行い、M^{pro} 表面に薬分子が取り付く様子を観察しました。全試行 (7 × 28 試行) のデータで得られた薬分子と M^{pro} の接触データから、M^{pro} 表面の薬が接着しやすい場所 (結合ポケット) を分類し、そのうちの 하나가 M^{pro} のハサミとしての機能に直接関わる部位 (プロテアーゼ活性部位) に位置することを同定しました (図 1)。また、0.2 マイクロ秒間にわたる結合の過程を調べたところ、実際に薬分子が活性部位に結合していく様子が確認されました (図 2)。

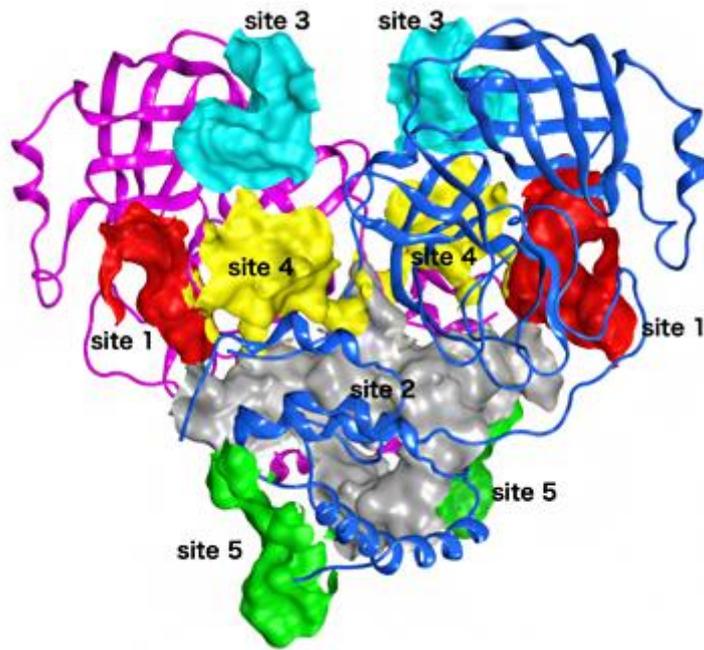


図 1 SARS-CoV-2 メインプロテアーゼ (M^{pro}) の結合ポケット

M^{pro}は、二つのサブユニットからなるホモ 2 量体として機能する。7 種類の薬分子の結合データから M^{pro}表面の結合ポケットを分類し、主要な五つのサイト(site1-site5)を示した。赤で示した site1 がプロテアーゼ活性部位と重なる。

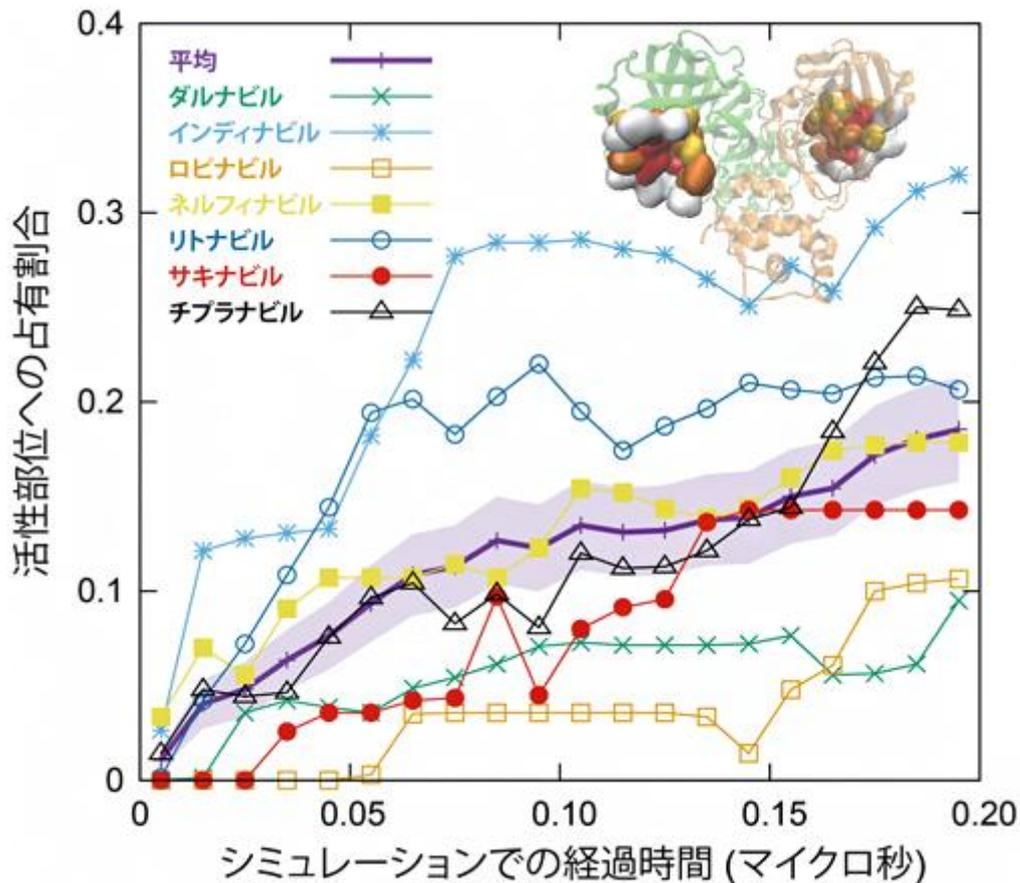


図 2 薬分子の活性部位への結合過程

7種類の薬分子を用いたMDシミュレーションにおいて、各薬分子がプロテアーゼ活性部位を占有していた割合を時間経過で見た図。0.2マイクロ秒間の間に、活性部位への結合が増えていることが読み取れる。サンプル数の制約のため、各薬分子の優劣を正確に予測することは難しいが、インディナビル(水色)は有意にダルナビル(緑)よりも親和性が高い傾向を見せている。

次に、薬分子が結合した M^{pro} の構造変化を捉えるため、前述のシミュレーションにおいて、各薬分子が最終的に活性部位に結合していた23試行についてMD計算を延長し、1マイクロ秒までの動態を観察しました。その結果、結合ポケットの形状は大きく揺らいでいることが分かりました。さらに3試行について計算時間を6マイクロ秒まで延長したと

ころ、時折、薬分子が結合ポケットの中で向きを変える様子を観察できました(図 3)。これは、薬分子と標的タンパク質との結合が、従来考えられてきたよりもはるかに柔軟なものであることを示すものです。

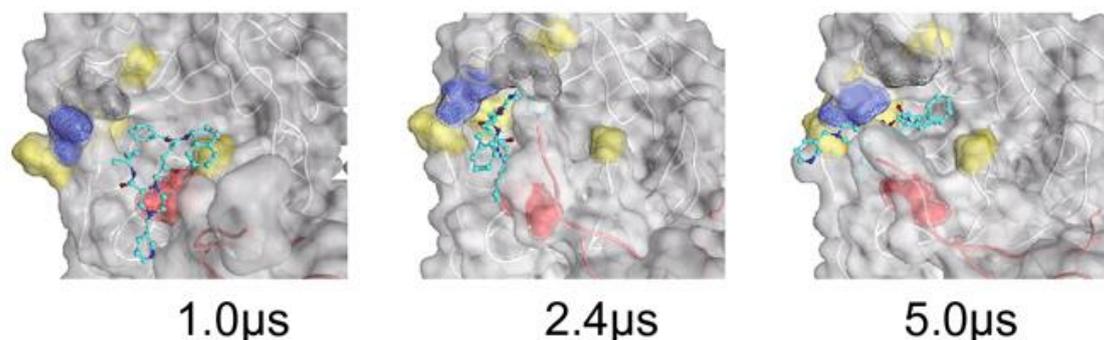


図 3 結合ポケットの中で向きを変える薬分子

インディナビル(水色の主鎖で示したスティックモデル)と結合ポケット site-1(活性部位)の結合を6マイクロ秒間にわたってMDシミュレーションした結果。インディナビルの向きが1.0マイクロ秒(μ s)、2.4マイクロ秒、5.0マイクロ秒で大きく変わっている。M^{pro}は空間充填モデルで表し、インディナビルとの結合に関わるアミノ酸残基を赤(166番グルタミン酸)、青(189番グルタミン)、黄(44番システイン、143番グリシン、187番アスパラギン酸、188番アルギニン、190番スレオニン)、灰(49番メチオニン)で示した。これらの位置関係も揺らいでいることが分かる。

今後の期待

今後、研究チームは、薬分子候補の探査および新しい薬分子の開発に向けたデータを取得する目的で、SARS-CoV-2 M^{pro}や SARS-CoV-2 中にコードされる他の潜在的創薬ターゲットタンパクのシミュレーションをより幅広い薬分子について行っていく予定です。

注1) Title: The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3, Entry authors: Liu, X., Zhang, B., Jin, Z., Yang, H., Rao, Z., Initial deposition on: 26 January 2020

タイトル : Drug binding dynamics of the dimeric SARS-CoV-2 main protease, determined by molecular dynamics simulation

雑誌 : Scientific reports

DOI : [10.1038/s41598-020-74099-5](https://doi.org/10.1038/s41598-020-74099-5)

日本語発表資料

https://www.riken.jp/press/2020/20201110_3/index.html

文 JST 客観日本編集部