

(様式 1-1)

提出日：2025 年 4 月 21 日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名（下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。）

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：神谷 成敏

所属機関名・部局名・職名：兵庫県立大学・情報科学研究科・特任教授

(3) 研究課題名（申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。）

分子動力学シミュレーションによる、蛋白質とリガンドの分子間相互作用や結合自由エネルギーの算出に関する研究

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：栗栖 源嗣（研究室名：蛋白質結晶学研究室）

(5) 研究成果の概要

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

血液凝固に関連する糖タンパク質複合体 glycoprotein (GP) Ib-V-IX は、天然のタンパク質リガンドである von Willebrand Factor (vWF) に結合し、傷口の血小板接着や初期の血栓形成に重要な役割を果たす。GPIb は GPIba と GPIbβ のサブユニットから成り、GPIba と vWF がタンパク質-タンパク質複合体を形成する。血栓形成を阻害するために、GPIba に結合するペプチドやタンパク、抗体が開発されている。これらの中で、ペプチドは抗体などの高分子に比べて生産コストが低く、低分子薬剤に比べて高い親和性や特異性が得られる利点がある。また、環状ペプチドは、直鎖のペプチドに比べて生体内で分解されにくい利点がある。そこで、GPIba と環状ペプチド(CTERMALHNLC、N, C 末端のシステインがジスルフィド結合を形成)を計算対象として、マルチカノニカル分子動力学法によるドッキング・シミュレーションを実施し、タンパク質-環状ペプチド複合体構造形成の過程を解析することを目的とする。なお、この GPIba-環状ペプチドの系は、Tsaban らの AlphaFold を改変したツールによる複合体構造予測で[Tsaban et al. *Nat. Commun.* **13**, 176 (2022)]、結晶構造を再現できなかった系である。

GPIba-環状ペプチド系に対して、計 60 μs の production run を実行し、自由エネルギー地形や結合経路を得た。常温における自由エネルギー最安定構造(r1)は、実験構造の近傍に存在した。r1 では、環状ペプチドの位置はほぼ実験構造と同一であるのに対して、GPIba の β-switch の構造はそれと異なった。自由エネルギー準安定な構造(r12)は、ペプチドと β-switch の構造が実験構造を完全に再現した。r1 を起点として、nearest neighbor にマルチカノニカルアンサンブルから構造抽出することで、ペプチドの結合/解離経路の解析したところ、環状ペプチドは encounter complex (r1)を経由して、天然構造(r12)が形成されることを明らかにした。なお、この研究は下記に掲載されている。

G.-J. Bekker et al. “Binding mechanism between platelet glycoprotein and cyclic peptide elucidated by McMD-based dynamic docking” *J. Chem. Inf. Model.* **64**, 4158-4167 (2024).