

## SH2 ドメインによるリン酸化ペプチドの動的認識

(医薬健栄研<sup>1</sup>・阪大蛋白研<sup>2</sup>) ○李秀榮<sup>1</sup>・水口賢司<sup>1,2</sup>

Dynamic recognition of phosphopeptides by the SH2 domain of PI3K (<sup>1</sup>National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, <sup>2</sup>Institute for Protein Research, Osaka University) ○Suyong Re,<sup>1</sup> Kenji Mizuguchi<sup>1,2</sup>

Protein-protein interactions regulate intracellular signaling and thus also important for drug design. SH2 (Src homology 2) domain, which consists of about 100 residues, recognizes phosphorylated tyrosine (pY) and regulates the activity of kinases and/or phosphatases for signaling. SH2 domain has not only a pY recognition pocket, but also a highly variable pocket that recognizes the C-terminal residues of pY for binding specificity. X-ray crystallography and thermodynamic measurements have been used to investigate recognition mechanisms, but static structures alone are often insufficient to explain mechanisms. Here, we performed molecular dynamics simulations using the gREST method<sup>1)</sup> on the binding of the SH2 domain of PI3K to CD28 and CTLA4 peptides, and investigated the dynamic factors involved in recognition.

We found that the difference in binding strength between CD28 and CTLA4 peptide was related to the binding mode in the highly variable pocket in addition to the pY binding pocket. Furthermore, it was suggested that the CD28 peptide dynamically binds in multiple orientations to gain affinity. Each peptide binding affects differently the structure and dynamics of SH2 domain away from binding pockets, suggesting the possibility of allosteric regulation of functional motion.

*Keywords* : SH2 domain; phosphopeptide binding; molecular dynamics simulations; gREST

タンパク質間相互作用は細胞内シグナル伝達を制御しており、その適切な阻害は創薬でも重要である。SH2 (Src homology 2) ドメインは 100 残基程度からなるドメインで、リン酸化チロシン (pY) を認識しキナーゼやフォスファターゼの活性を調整、下流へとシグナルを伝達する。pY 認識ポケットに加え、pY より C 末端側残基を認識する可変性の高いポケットをもち、多様なリン酸化ペプチドを識別するのが特徴である。X 線結晶構造解析や熱力学測定から SH2 のペプチド認識が調べられているが、静的な構造だけでは説明できないものも多い。本研究では、PI3K の SH2 ドメインと CD28 及び CTLA4 ペプチドの結合について、gREST 法<sup>1)</sup>を用いた分子動力学シミュレーションを行い、認識に関わる動的な因子を検討した。

その結果、CD28 と CTLA4 ペプチドの結合では、pY 結合ポケットに加え、可変性の高いポケットでの結合様式の違いが結合の強さに関わっていることがわかった。さらに、CD28 ペプチドが複数の配向で動的に結合し親和性を獲得していることも示唆された。各結合が SH2 ドメインの遠隔構造に及ぼす影響にも違いが見られ、結合によるアロステリックな機能発現の可能性についても議論する。

1) Kamiya, M.; Sugita, Y. *J. Chem. Phys.* **2018**, *149*, 072304.