

平成23年 5 月 31 日現在

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2009～2010

課題番号： 21790124

研究課題名(和文)

計算機支援による合理的な薬剤最適化手法の開発

研究課題名(英文) Study on Effective Computational Method in Lead Optimization

研究代表者

沖本 憲明 (OKIMOTO NORIAKI)

独立行政法人理化学研究所・計算分子設計研究グループ・上級研究員

研究者番号： 3033321

研究成果の概要(和文)：

医薬品開発におけるリード最適化プロセスの合理化を図るため、主に4種の分子シミュレーションの技法(FMO法、QM/MM法、MM-PB/SA法、MP-CAFEE法等)を用いてタンパク質-薬剤間の結合親和性の予測精度と計算コストを評価することを試みた。ターゲットタンパク質としては、FK506-binding protein(FKBP)、キナーゼタンパク質(CDK2、ABL)を対象として評価を行ったところ、タンパク質によっては結合親和性の予測能が十分でない場合があることが明らかとなった。この問題点を改善するためには、更なる計算手法の修正が必要であることがわかった。

研究成果の概要(英文)：

In lead optimization for drug development, accurate computational prediction of binding affinity between protein and ligand is so important. So far many computational methods to predict binding affinity have been developed, but no proper comparison has been done yet. In the work, we have evaluated four computational methods (FMO method, QM/MM method, MM-PB/SA method, and MP-CAFEE method) for several proteins (FKBP, CDK2 and ABL). As a result, it is revealed that abilities of prediction of binding free energies are so different for respective proteins. For the problem, it is considered that the improvement of computational methods is necessary.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：ドラッグデザイン、分子動力学、量子化学、結合親和性

1. 研究開始当初の背景

医薬品開発は、(1) 創薬ターゲット分子の同定、(2) リード化合物探索、(3) リード化合物最適化、(4) 前臨床・臨床の4つのプロセスからなる。これら全過程には膨大な時間と費用が費やされ、1つの新薬開発には、期間として10年以上、金額として数百億円以上が必要とされる。この期間と費用を節約し、新規の医薬品を開発することは創薬における最大の関心事であり、このための技術革新は時々刻々行われ医薬品開発の現場に導入されている。特に、(2)と(3)は医薬品分子設計を行う段階であり、合理化が期待されているプロセスである。(2) リード化合物探索の過程においては、ロボット工学技術を導入したハイスループットスクリーニング(HTS)や基本化合物とその修飾基からすべての組み合わせの化合物を合成する手法(コンビナトリアル・ケミストリ)の導入により、創薬標的分子に対し多数の化合物の結合活性を短期間で評価することが可能となり、その効率を大幅に上げた。また、計算機支援による医薬品開発の手法の発達により、HTSが適用しにくい創薬ターゲットに対してもある程度の精度でスクリーニングを実行することができるようになってきた。これにより、リード探索の時間的節約がなされ、結果、医薬品設計における律速段階は(3) リード化合物最適化の過程となった。

(3)のリード化合物最適化の目的は、化合物探索により検出された医薬品候補化合物に化学修飾を施し、より強い薬理活性の薬剤に改変することである。この際、一般的には、薬物動態や毒性などを十分に考慮しながら、ターゲット分子との結合親和性を出発構造の約1000倍程度向上させる。しかし、実際の製薬現場において、このプロセスの合理的な方法は確立されておらず、合成担当者の直感や経験による試行錯誤によりこの最適化の作業が行われている。従って、この過程の計算科学への期待は非常に高く、上述したパラメータ(結合親和性、薬物動態、毒性)のうち、結合親和性だけでも高精度に予測できればその作業効率は大幅に向上する。

リード化合物最適化のプロセス内でも要求される計算精度は一樣ではなく、実験値からの結合自由エネルギー値と誤差1 kcal/mol以内の厳しい精度が必要な場合もあれば、もう少し精度は悪くとも順位付けが適切にできれば良いというような場合もある。こういった状況を踏まえて計算機支援による合理的な最適化のための計算手法を構築するためには、現在までに開発されている様々な分子シミュレーション技法の精度、コスト、特徴を正確に評価することが重要である。そして、これ

らの情報を基に状況に応じた計算技法の組み合わせを行うことで、実用的なリード化合物最適化手法を開発できる。

2. 研究の目的

今や計算科学の手法は物理学・化学・生物学の多くの分野において必須の技法となってきた。医薬品開発の分野でも、上述のリード化合物探索や最適化のプロセスを効率化するために計算機を使った様々な手法が開発されている。

本研究では、様々な創薬標的分子と低分子化合物の立体構造から相互作用を計算する手法の精度・コスト・特徴を評価し、その評価情報を基に作業状況に応じて適切なものを組み合わせて合理的な最適化手法を構築することを目的とする。

まず、本研究において評価する結合親和性予測のための計算手法を以下に示す。

A. 量子化学計算

フラグメント分子軌道(FMO)法、QM/MM法

B. 分子動力学計算

MM-PB/SA法[1]、MP-CAFE法[2]

ここに示した4つの計算方法(量子化学的手法、分子動力学的手法)を基本として評価する。

3. 研究の方法

(1) 複合体の結晶構造と実験的に結合親和性が既知の化合物セットの準備

3つのタンパク質(FK506-binding protein(FKBP), cyclin dependent kinase 2(CDK2), Abelson tyrosine kinase(ABL))を評価の対象とした。各タンパク質に対して実験的に活性があることが知られている化合物を7-10個程度選定し、その複合体構造のモデリングを行う。FKBPは4つのX線結晶構造(PDBID:1FKG, 1FKH, 1FKI, 1FKF)を利用して構造を作成した。同様に、CDK2、ABLもX線結晶構造(PDBID:1QMZ, 1OPJ)を利用して複合体構造を構築し、各複合体構造に対しエネルギー極小化を十分に行い計算の初期構造とした(図1参照)。

(2) 計算方法

A. 量子化学計算

上記(1)で作成した複合体構造について、FMO法とQM/MM法により、複合体、タンパク質、薬剤の構造から1点計算のエネルギーを算出し、差し引きして相互作用エネルギーを得る。FMO法についてはソフトウェアとしてGAMESSを使用し、QM/MMについてはQSITEを使用した。この際、計算方法(Hartree-Fock(HF), Møller-Plesset second order perturbation(MP2))や基底関数を変化させて評価を行った。

また、FKBPについては、溶媒効果(FMO法では分極連続体モデル(PCM)法、QM/MMではPoisson-Boltzmann(PB)法)も考慮して検討を行った。

B. 分子動力学計算

上記(1)で作成した複合体構造に溶媒分子を発生させ、周期境界条件下での分子動力学計算を行った(図2参照)。

MM-PB/SA法については、温度298 Kでの構造緩和(10 ns以上)を行った。次に、得られた座標データを使ってMM-PB/SA計算を実施し、薬剤の結合自由エネルギーを算出した。この際、分子動力学計算プログラムにはAMBERを用いて、専用計算機“MDGRAPE-3”を使用し計算を行った。

MP-CAFEE法では、温度298 Kでの構造緩和を行い、その後、MP-CAFEE法を適用し、薬剤の結合自由エネルギーを算出した。MP-CAFEE法は、MDプログラムにGROMACSを使用して行った。MP-CAFEE法は、1化合物の結合親和性を計算するために、380本程度の自由エネルギー摂動計算(リガンド分子部分を除く)を実施する必要があるが、原子数の大きなタンパク質CDK2やABLでは十分な計算ができなかった。

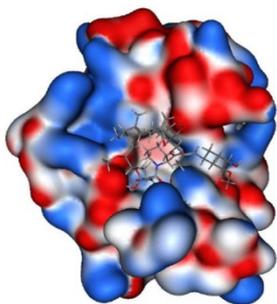


図1 FK506-binding protein (FKBP) - 薬剤複合体のエネルギー極小化構造

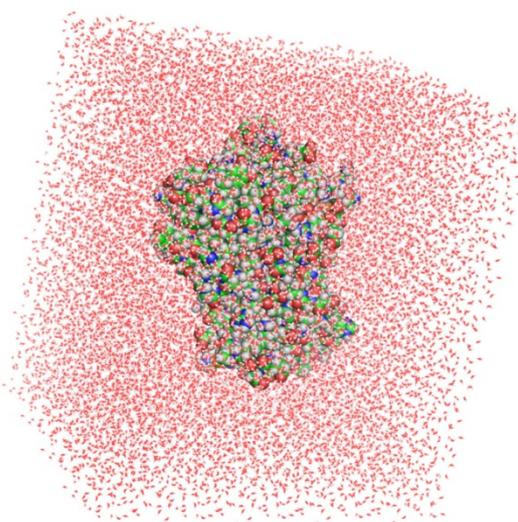


図2 ABL-薬剤複合体の分子動力学計算の初

期構造

4. 研究成果

3種のタンパク質(FKBP, CDK2, ABL)に対して、4つの計算手法(FMO法、QM/MM法、MM-PB/SA法、MP-CAFEE法)の性能評価を試みた。

FKBPについては、いずれの方法から得られた結合親和性も実験データと比較的良好な相関を示した(相関係数0.8以上)。特に、MP-CAFEE法により予測された結合親和性と実験データは極めて高い相関(相関係数0.98)を示していた。一方、MP-CAFEE法と比較すると性能は低くなるものの、MM-PB/SA法、QM/MM法(MP2/6-31G)、FMO法(MP2/6-31G*/PCM)でも実験値と比較的良好な相関(相関係数0.8-0.9程度)を示すことがわかった。QM/MM法やFMO法は計算手法、基底関数、溶媒効果によって大きく予測能が変化するので使用時には十分な注意が必要であることが示された。

CDK2のアミノ酸残基数は300程度であり、FKBP(107残基)に比べると3倍程度大きな分子である。これにより、MP-CAFEE法の計算コストが膨大となり、十分に精度が出せる計算が実施できなかった。一方、比較的計算コストの少ないMM-PB/SA法、QM/MM法(HF/6-31G/PB)から得られた結合親和性でも実験データと比較的良好な相関係数(相関係数0.78、0.94)を示した。FMO法について十分な相関が得られなかったが、FKBPの事例から溶媒効果を考慮することで改善がみられると考えられる。

ABLについては、化合物セットの結合親和性の範囲が狭いことから、FKBPやCDK2より難度が高い標的タンパク質であることがわかる。FKBPやCDK2の場合とは異なり、MM-PB/SA法、QM/MM法(HF/6-31G/PB等)からの予想される結合親和性と実験データとの相関は極めて低い値であった。また、FMO法についても、CDK2と同様、良い相関は得られなかった。MP-CAFEE法については、CDK2と同様、実施することができなかった。

以上の結果から、リード最適化プロセスを円滑に遂行するために次のような計算戦略を提案する。

- (1) 既知活性化化合物群に対し、計算コストの少ないQM/MM法で計算方法の調整を行う。(計算資源が十分にあればFMO法でも評価する)
- (2) QM/MM法で実験データとの相関が得られないようであれば、MM-PB/SA法で評価検討する。
- (3) (1), (2)でうまくいかない場合は、MP-CAFEE法で評価する。ただし、計算コストが十分に必要である。(MP-CAFEE法は、380本程度の自由エネルギー摂動の分子動力学計算を実施して1つの化合物の結合親和性が予測できる。)

本研究から、MP-CAFEE法とその他の計算手法の中間程度の計算コスト、計算精度の手法があれば、更に円滑な計算戦略が構築できると考えている。

(参考論文)

[1]Kollman, P. A. et al., *Accounts of Chemical*

Research 2000, 33, (12), 889-897
[2]Fujitani, H. et al., Phys. Rev. E. 2009
79, 021914.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Hirofumi Watanabe, Shigenori Tanaka, Noriaki Okimoto, Aki Hasegawa, Makoto Taiji, Yoshiaki Tanida, Takashi Mitsui, Mariko Katsuyama, and Hideaki Fujitani
「Comparison of binding affinity evaluations for FKBP ligands with state-of-the-art computational methods: FMO, QM/MM, MM-PB/SA and MP-CAFE approaches」Chem-Bio Informatics Journal, 10 (2010) 32-45pp. 査読有

[学会発表] (計4件)

1. 沖本 憲明, 山岸 淳也, 末永 敦, 星野 忠治, 泰地 真弘人 「計算機支援による合理的ペプチド設計手法の開発」日本薬学第131年会 静岡、2011年3月29日
2. 沖本 憲明, 山岸 淳也, 末永 敦, 岡田真里子, 今本公, 星野 忠治, 泰地 真弘人 「Computer-Aided Peptide Design: Application to Biomolecules」, 第3回バイオスーパーコンピューティングシンポジウム、神戸、2011年2月22日
3. 沖本憲明 「ハイパフォーマンスコンピュータを利用した次世代創薬研究」近畿化学協会コンピュータ化学部会 (ハイパフォーマンスコンピューティングによるバイオ・創薬シミュレーションの新展開)、大阪、2011年1月31日
4. 沖本憲明、二木紀行、末永敦、森本 元太郎、泰地真弘人 「分子動力学専用計算機 mdgrape3を使用した化合物スクリーニング」 並列生物情報処理イニシアティブ (IPAB)、東京、2010年12月3日
5. 沖本 憲明, 山岸 淳也, 末永 敦, 星野 忠治, 泰地 真弘人 「計算機支援による合理的ペプチド設計手法の開発」第24回分子シミュレーション討論会 福井、2010年11月25日
6. 沖本 憲明, 山岸 淳也, 末永 敦, 岡田真里子, 今本公, 星野 忠治, 泰地 真弘人 「Computer-Aided Peptide Design: Application to Biomolecules」, 第48回日本生物物理学会年会、仙台、2010年9月21日

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等
特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

沖本 憲明 (OKIMOTO NORIAKI)
独立行政法人理化学研究所・計算分子設計研究グループ・上級研究員
30333321

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし