

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：基礎研究 (A)

研究期間：2007 ～2010

課題番号：19200024

研究課題名 (和文) 既存医薬分子 - タンパク質相互作用の *in silico* 解析研究課題名 (英文) *in silico* analysis of molecular interactions between commercially available drugs in Japan and proteins

研究代表者

平山 令明 (HIRAYAMA NORIAKI)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：70238393

研究代表者の専門分野：創薬科学

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：医薬分子、タンパク質、分子認識、ドッキング、分子力学

## 1. 研究計画の概要

現在国内で使用されている医薬分子はおおよそ1000種類ほどあり、これらの分子は有用な薬理活性を示すと共に、副作用も有している。これら典型的な医薬分子がそれらの標的分子を含めて、生体内の種々のタンパク質とどのように相互作用するかを知ることは非常に重要である。そうした知見は新たな医薬分子の発見に有用なだけでなく、医薬分子の副作用や機能未知のタンパク質の機能を理解する上でも、非常に重要である。

しかし、これらの相互作用をウェット実験で測定することは、経済的にもまた時間的にも事実上不可能である。本研究課題の最終目的は、これらの相互作用を *in silico* 解析によって求めることである。本研究においては、X線解析で立体構造が明らかになっているヒト由来の重要なタンパク質と現在日本国内で使用されている医薬分子との相互作用を主にドッキング・シミュレーションで解析する。この目的を達成するために、新しい方法論の研究および開発も併せて行う。

## 2. 研究の進捗状況

### (1). 医薬分子結合部位の予測法に関する研究

タンパク質の表面には複数の窪み (concavity) が存在する。これら全ての concavity について医薬分子との結合性をシミュレーションすることは、非常に非能率的である。本テーマでは、これらの concavity の内、どれが結合部位として適するかを判断するアルゴリズムの研究を行った。その結果、医薬分子様の低分子が結合する concavity 周辺のアミノ酸組成が非常に特徴的であるこ

とを見出した。即ち、リガンド結合部位には特徴的なアミノ酸選好性 (propensity for ligand binding: PLB) があり、その選好性を適切に表現する PLB 指数を利用することにより、リガンド結合部位を絞り込むことが可能であることが分かった。そこで、PLB 指数を用いてリガンド結合部位を予測する PLB 法を開発した。PLB 指数が第 2 位までの concavity を選択すると、X線解析が行われているタンパク質 - 低分子複合体構造中の結合部位を 90% 近く予測できることが分かった。本研究では、PLB 法でリガンド結合部位と予測された部位に対してドッキング・シミュレーションを行うことにした。

PLB 法が非常に有用であることから、我々はこの概念をさらに拡張した。その結果、特定の低分子群とそれらが結合する concavity には明確な対応関係のあることが明らかになった。我々はその低分子群を canonical molecular group として対応する concavity を chemocavity と名付けた。この概念を用いると、タンパク質表面には特定の低分子群に結合する concavity が予め用意されていると考えることができる。医薬分子様の分子群は一つの canonical molecular group と見做される。このような考え方は既に断片的されて来たが、本研究で行った系統的な解析により、初めてその考え方の妥当性が明確に示された。chemocavity の概念は、標的分子を制御する低分子を創製・探索する上で非常に重要なものであると我々は考えている。

### (2). プレ・ドッキング法の開発

正確なドッキング計算を実行するには、高速のコンピュータを用いても相当な時間が

かかる。現在は、PLB法で絞った複数個の concavity に対してすべての医薬分子をドッキングさせているが、それでもなお多くの計算時間が必要である。もし concavity の大きさや性質によって、結合性が予想できる分子のみを選択してドッキングできれば、計算時間を大幅に短縮できるだけでなく、計算資源を有効に活用することで、より精密なドッキング計算が可能になる。そこで、PLB法で絞った concavity の性質から、予めその位置に対して結合することが予測される分子を選択するアルゴリズム Alpha Sphere Filter (ASF)法を研究・開発した。ASF法を既存医薬分子データベースに適用した所、20倍以上の濃縮率で標的分子に結合する分子を絞り込めることが実証された。従ってASF法は、本研究に有用であるだけでなく、巨大な仮想分子ライブラリーから特定のタンパク質と相互作用できる分子を *in silico* スクリーニングする上でも非常に有用な方法であると思われる。

#### (3). ドッキング・アルゴリズムの改良

タンパク質-医薬分子様低分子複合体の高質 X 線結晶構造を充分正確に再構築できるように、申請者らがこれまで開発してきたドッキング・アルゴリズムを改良すると共に、適切な計算プロトコルを作るための検討を行った。その結果、高質 X 線構造を用いる場合、十分な精度で X 線構造を再現できるプロトコルを見出すことができた。

#### (4). 炭水化物の代謝に関するタンパク質と既存医薬分子との相互作用解析

KEGG(<http://www.genome.ad.jp/kegg/>) に登録されているタンパク質の内、炭水化物の代謝に関係しているタンパク質を抽出した。それらの内、ヒト由来の 55 種類のタンパク質の結晶構造を Protein Data Bank から得た。現在国内で使用されている 997 種の医薬分子とこれらのタンパク質の結合性を上記の条件を用いてドッキング計算による *in silico* 解析を行った。相互作用できる分子を可能な限り見出すために、PLB 指数が高い 2 個以上の concavity を計算に含めた。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している  
(理由)

3 年を経過した段階で、本研究を遂行する上で必要なデータベース、ソフトウェアおよび計算法のプロトコルが一応完成した。さらに、実際に 55 個のヒト由来のタンパク質の結晶構造と現在国内で使用されている約 1000 種類の医薬分子のドッキング計算を実行することができた。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 生体分子の代謝に関わるタンパク質と医

### 薬分子の相互作用解析

これまでの研究では炭水化物の代謝に関係するタンパク質と医薬分子の相互作用を *in silico* で解析して来た。今後は、この研究に引き続き、アミノ酸、核酸などの生体内で重要な働きをしている各種分子の代謝に関係するタンパク質と医薬分子の相互作用をドッキング法を主に用いて解析する予定である。基本的な方法論はこれまでの 3 年間に開発してきたものを使用するが、対象タンパク質の大きさなどの諸性質により、方法論の変更が必要な場合には随時それらを包含する、より一般化されたプロトコルの開発も視野に入れて研究を遂行する。

#### (2) ドッキング・シミュレーションを用いた医薬分子の毒性予測への展開

本研究の実用的側面として重要なことに、医薬分子を含めた化学物質の毒性予測がある。医薬分子の毒性測定を実験的に行うことは、経済的にも技術的にも、非常に難しい。しかし、生体機能に重要な役割を果たすタンパク質の立体構造情報を有効に活用できれば、*in silico* で毒性予測が十分行える可能性がある。そこで、本研究の発展的テーマの一つとして、ドッキング法を主に用いた毒性予測のための基礎研究も展開し、本研究結果の実用的な応用につなげる方向を、残りの 1 年間で求めていきたい。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 7 件)

① M.Muta and N.Hirayama, 'Alpha Sphere Filter Method: Application of Pseudomolecular Descriptors in Virtual Screening of 2D Chemical Structures', *J. Comput. Chem.*, 31, published online Mar 25 (2010). 査読有

② S.Soga, D.Kuroda, H.Shirai, M.Kobori and N.Hirayama, 'Use of amino acid composition to predict epitope residues of individual antibodies', *Protein Eng.Des.Sel.*, 23, 441-448 (2010). 査読有

③ S.Soga, H.Shirai, M.Kobori and N.Hirayama, 'Chemocavity: specific concavity in protein reserved for the binding of biologically functional small molecules', *J.Chem.Inf. Model.*, 48, 1679-1685 (2008), 査読有

[学会発表] (計 9 件)

① S.Soga, H.Shirai, M.Kobori and N.Hirayama, 'Chemocavity: Specific concavity in protein reserved for the binding of biologically functional small molecules', 17th Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, 2009年7月1日、ストックホルム (スウェーデン)

② 平山 令明, 「PLB法を用いた低分子結合部位の差別化」第10回日本バイオインフォマティクス学会、2009年12月2日、木産業技術総合研究所 (東京)