

タンパク質の凝集性向を予測する DS Protein Aggregation (AggMap)

Predicting aggregation propensity of proteins by DS Protein Aggregation (AggMap)

高岡 雄司^a

Yuji Takaoka

1. はじめに

Discovery Studio (DS)¹ は、創薬において求められるモデリング・シミュレーションの幅広い領域をカバーする統合ソフトウェアであり、単一のインターフェースから X 線結晶構造解析、配列解析、タンパク質モデリング、分子動力学シミュレーション、ファーマコフォアモデリング、ドッキングシミュレーション、リガンドデザイン、QSAR、ADMET 予測、ライブラリ設計など、多彩な作業をシームレスに実施できる。近年、多くの製薬企業が従来の低分子創薬に加えて、抗体に代表される生物製剤の研究・開発に注力し始めたのを受け、2010年にリリースされたバージョン 3.0以降は、タンパク質、特に抗体の研究に役立つツール群が大幅に強化されている。DS Protein Aggregation (AggMap) は、2011年にリリースされたバージョン 3.1以降で利用可能な機能であり、タンパク質同士が水溶液中で凝集する際の相互作用面を予測する事ができる。

2. 背景

抗体医薬は代謝や安全性、副作用など、低分子医薬が開発途中でドロップする原因となる様々な問題に悩まされることが少ない事などから、近年多くの製薬企業が参入して開発を行っているが、一般的に投与濃度が高いため、その凝集が製剤設計上の大きな課題となっている。抗体が凝集してしまうと抗原に対する認識能が低下するばかりでなく、それ自体が免疫源となってしまう可能性もある。またタンパク質の凝集は抗体に限らず、創薬ターゲットとなるタンパク質の調製（可溶性）や構造を解くための結晶化においても問題となることがある。このためタンパク質の凝集性向や、凝集に関わる領域を予測できる手法の開発が望まれていた。

3. 手法の概要

マサチューセッツ工科大学の Trout 教授らはこの問題を解決するため、SAP 法 (Spatial Aggregation Propensity) と呼ばれる手法を開発し、大手製薬企業との共同研究によってその有用性を検証している^{2,3}。アクセルリスは同大学からライセンスの供与を受け、コードを最適化して DS に組み込んでおり、汎用的な PC で抗体の計算が 1~2 分で終了する。

SAP 法においてはまず、アミノ酸の種類によって決められた疎水性パラメタ⁴と、アミノ酸側鎖のタンパク質表面への露出度からスコアを計算する。

$$(\text{スコア})_{\text{原子}_i} = \sum_{\substack{\text{原子 } i \text{ から見て、少} \\ \text{なくとも一つの側鎖} \\ \text{の原子が半径 } R \text{ 内に} \\ \text{ある全ての残基}}} \left(\frac{\text{半径 } R \text{ 内にある側鎖の} \\ \text{接触可能表面積}}{\text{完全に露出した場合の} \\ \text{側鎖の接触可能表面積}} \times \text{残基の疎水性} \right)$$

ここで、和は半径 R 以内に少なくとも一つの側鎖原子がある全ての残基について行う。また、残基のスコアはそれを構成する原子のスコアの平均として与えられる。なお、疎水性パラメタはグリシンが 0 になるようにスケールされており、プラスの値が疎水性であることを意味する。従ってスコアが高い部分 (Figure 1 の赤色部分) は、疎水的なア

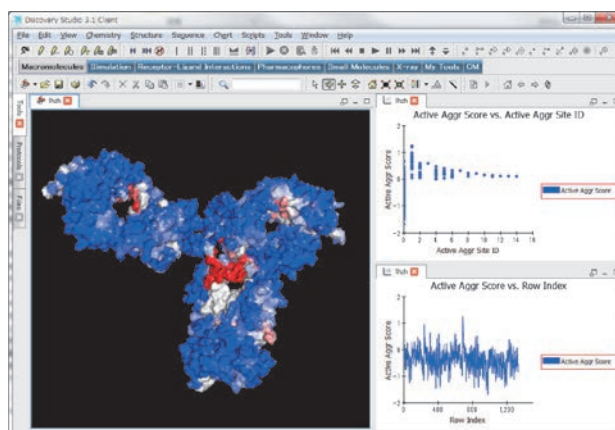


Figure 1. Example protein aggregation map for IgG1, showing predicted sites of aggregation in red. [PDB: 1HZH]

^a アクセルリス株式会社

連絡先 〒 100-0013 東京都千代田区霞が関 3-7-1 霞が関東急ビル 17F
電子メール yuji.takaoka@accelrys.com

ミノ酸が表面に露出していることを示している。

こうして計算された各残基のスコアを基に、DS では凝集面になる可能性が高い一続きの領域を特定し、それらを別々に表示、解析する事が可能である。

4. 計算結果の検証, 応用

ある抗体に対する計算結果から、1か所あるいは2か所の疎水性残基（ロイシンまたはイソロイシン）をリシンに変換した5種類のタンパク質を調製したところ、そのすべてにおいて野生型よりも安定性が向上したという結果が得られている³。DSには、タンパク質の任意の残基を変異させたときのタンパク質自体の熱安定性、およびリガンドに対する親和性がどのように変化するかを予測するツールも備わっているため、実際にこのような実験を行う前に、どの残基をどのように変更すればタンパク質の安定性やリガンド親和性を保持、あるいは向上させつつ物性（凝集性）を最適化できるか、優先順位を付けることも可能である。

また、本プログラムではタンパク質表面に露出している疎水性の表面部分をはっきりと示すことができるため、抗体の凝集サイトの予測以外にもいくつかの有用な利用方法がある。

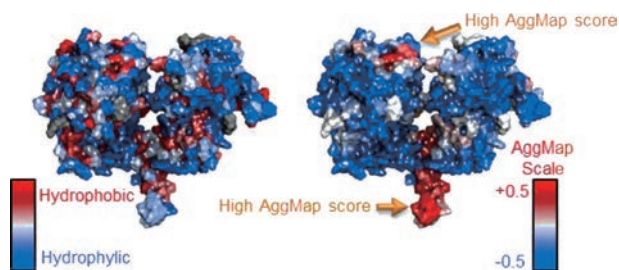


Figure 2. Hydrophobicity parameter mapped on EGFR surface (left), and AggMap score on the same protein (right). [PDB: 1IVO]

例えばEGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) を計算した Figure 2 の右では、2か所高いスコアを示す部位があるが、これらはそれぞれEGFやTGF α (Transforming Growth Factor) が結合する領域 (上部)、別のEGFRに結合する領域 (下部) に相当する⁵。単に疎水性パラメタをタンパク表面に張り付けただけ (Figure 2 の左) では、これほどはっきりとタンパク質-タンパク質相互作用面を特定することは難しい。さらにEstrone Sulfatase を計算した Figure 3 から明らかのように、本プログラムは膜貫通領域など、脂質膜に埋め込まれている領域を特定する目的でも利用可能である。

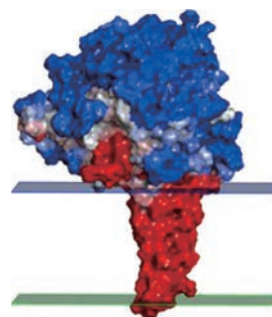


Figure 3. Protein aggregation map calculated for human estrone sulfatase. Blue and green plane indicate membrane/water boundaries. [PDB: 1P49]

5. 今後の方針

近年ではリガンド (抗原) に対して親和性が高い抗体を得る事自体はそれほど難しくなくなってきており、多くの開発候補の中から物性等で絞り込む作業に重点が移ってきている。抗体の水溶液中での安定性は、本プログラムで計算される疎水性表面の強さや広さだけでなく、pHに依存して変化するタンパク質全体の電荷にも依存する事から、Trout 教授らはこれらの指標を組み合わせたDI (Developability Index) を開発し、開発候補のランク付けに利用できるとしている⁶。

また、DS3.1では特定の構造 (snapshot) について一点計算した結果のみを出力しているが、特に糖鎖が結合していることから構造変化が大きいと考えられるFc領域の予測精度を上げる為には、ダイナミクスを考慮に入れて計算する事が重要であると考えられる。

今後DSのバージョンアップに伴い、上記のような観点から機能強化が図られる予定となっている。抗体の研究・開発に関わる研究者だけでなく、タンパク質を扱う多くの研究者に役立つツールとなるよう、今後も開発を続けていく方針である。

引用文献

- (1) <http://accelrys.co.jp/products/discovery-studio/>
- (2) Chennamsetty, N.; Voynov, V.; Kayser, V.; Helk, B.; Trout, B. L. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 6614–6624.
- (3) Chennamsetty, N.; Voynov, V.; Kayser, V.; Helk, B.; Trout, B. L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106*, 11937–11942.
- (4) Black, S. D.; Mould, D. R. *Anal. Biochem.* **1991**, *193*, 72–82.
- (5) Chennamsetty, N.; Voynov, V.; Kayser, K.; Helk, B.; Trout, B. L. *Proteins* **2011**, *79*, 888–897.
- (6) Lauer, T. M.; Agrawal, N. J.; Chennamsetty, N.; Egodage, K.; Helk, B.; Trout, B. L. *J. Pharm. Sci.* **2012**, *101*, 102–115.

(受理日 2011年12月12日)