

Induced-Fit を考慮した Glide/Prime による タンパク質ーリガンド相互作用解析

Glide/Prime Induced-Fit Docking

島田 裕三^a

Yuzo Shimada

はじめに

医薬分子の標的になるタンパク質と低分子の結合相互作用解析（ドッキングシミュレーション）によるバーチャルスクリーニングにおいては、基本的に共結晶構造中の標的タンパク質は固定されており、主にリガンド側の構造最適化を行っている。しかしながら、標的タンパク質とリガンドが結合する多くの場合において、「Induced-Fit（誘導適合）」が起こっており、ドッキングシミュレーションで得られた仮想的な結合様式と実際の結合様式が異なることが考えられる。実際に Protein Data Bank (PDB) に登録されている共結晶を比較すると、活性サイトでのアミノ酸残基の配座が大きく異なる場合が多い。また、シミュレーションにおける相互作用エネルギー（Score）と活性の相関が困難であることも、Induced-Fit の問題が起因していると言える。

数百万化合物ライブラリーを対象するバーチャルスクリーニングにおいて Induced-Fit を加味したドッキングシミュレーションは計算コストから考えると見合わない、その為、高活性リガンドとの複数の共結晶を構成する受容体とリガンドの総当り式ドッキング（クロスドッキング）を行い、一つの受容体にて出来るだけ多くのリガンド POSE を再現できる特徴的な鑄型（複数可）を選出することで、Induced-Fit の問題を極力軽減でき、標的タンパク質に対する化合物データベースの濃縮率を向上させることが可能だと考えられる。配座の異なる複数個の鑄型に対して行うドッキング法は Ensemble Docking と言われ、SCHRÖDINGER Suite に含まれるバーチャルスクリーニング自動化ワークフロー Virtual Screening Workflow (VSW) に搭載されている。

しかし、既知活性化合物との共結晶構造データが全ての標的タンパク質に対して用意されているわけではなく、X線構造解析のデータが乏しい場合や、化合物最適化フェーズにて高い精度での相互作用エネルギーを見積る場合、Induced-Fit を考慮したシミュレーションによって、既知活

性化合物に対する複合体モデルを構築することが重要となる。

現在まで、分子動力学計算等による Induced-Fit の検討が多数報告されているが、活性サイト内で起こり得る、構造変化を的確に捉えるには困難な状況と言わざるを得ない。

Schrödinger 社の Induced-Fit の問題への取り組み

Schrödinger 社では Induced-Fit の問題に対する一つのソリューションとして Glide（高速・高精度ドッキングプログラム）/Prime（蛋白質立体構造予測プログラム）両プログラムを相互に組み合わせた解析プロトコルを提案している。共通グラフィカルユーザーインターフェースの Maestro には Glide/Prime Induced-Fit Docking を実行する専用設定パネルが備えられている為、ユーザー側からは1つのプログラムのように利用できる。Induced-Fit の解析プロトコルは Figure 1 に示すように基本3つのステップから成り立つ。

1. Glide による初期配座探索ドッキング

受容体、リガンドともに vdw を小さくスケールング、もしくは活性サイト内にて Induced-Fit の原因となる自由度の高い残基を ALA 残基に置換しての初期配座創

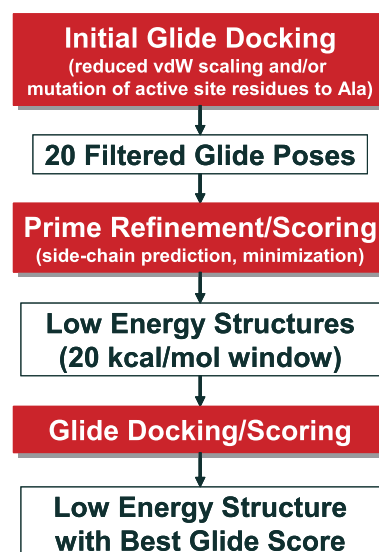


Figure 1. Flowchart of the Induced-Fit Docking calculation.

^a シュレーディングер株式会社

連絡先 〒100-0005 東京都千代田区丸の内1-8-1 丸の内トラストタワーN館17階

電子メール info-japan@schrodinger.com

出 (POSE 探索)

2. Prime による受容体モデリング

1 で得られた POSE を初期構造として, リガンドの 5 Å 範囲にある残基に対し, Side-Chain Prediction, 続いて, 構造最適化計算を実施。この際, 1 で変更した vdW スケーリング, ALA 置換は本来の状態に戻す。

3. Glide による再ドッキングとスコアリング

2 で得られた複合体に対して, 最もエネルギーの低い構造から 20 Kcal/mol 範囲にある複合体に対して, Glide による再ドッキングならび, Prime Energy と GlideScore による評価で複合体構造を決定。

上記の一連のプロトコルにより, 従来型の受容体側の座標固定に対するフレキシブルリガンドドッキング (Docking RMSD before Induced-fit) に比べて共結晶におけるリガンドの配置を精度良く再現できることが Ligand RMSD after Induced Fit の結果から示される (Table 1)。

Table 1. RMSD of Top-Ranked Poses Returned by Induced Fit.

Target	Receptor	PDB source of ligand structure	RMSD of Top-Ranked Poses Returned by Induced Fit	
			Docking RMSD before Induced Fit (Å)	Ligand RMSD after Induced Fit (Å)
Aldose reductase	2acr	1ah3	6.5	0.9
Antibody DB3	1dba	1dbb	7.6	0.3
CDK2	1dm2	1aq1	6.2	0.8
CDK2	1aq1	1dm2	0.6	0.8
COX-2	3pgh	1cx2	11.1	1.0
COX-2	1cx2	3pgh	6.6	1.0
Estrogen receptor	1err	3ert	5.3	1.0
Estrogen receptor	3ert	1err	2.3	1.4
Factor Xa	1ksn	1xka	9.3	1.5
Factor Xa	1xka	1ksn	5.3	1.5
HIV-RT	1rth	1c1c	2.5	1.3
HIV-RT	1c1c	1rth	12	2.5
Neuraminidase	1nsc	1a4q	3.9	0.8
Neuraminidase	1a4q	1nsc	1	1.7
PPAR - gamma	1fm9	2prg	9.1	1.8
Thymidine Kinase	1kim	1ki4	4.7	0.4
Thymidine Kinase	1ki4	1kim	0.5	1.2

Prime Loop Prediction との組み合わせ

上記に述べた Induced-Fit Docking プロトコルに Prime の Loop サーチ機能を組み合わせれば, 側鎖のみならず Loop 構造の大きな変化を伴う系に対しても対応可能となり, タ

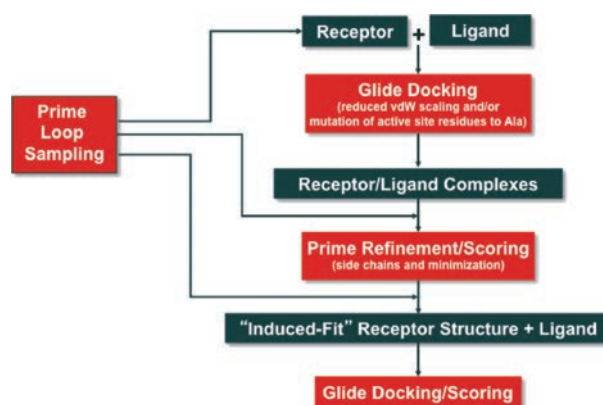


Figure 2. Flowchart of the Induced-Fit Docking calculation with Loop sampling.

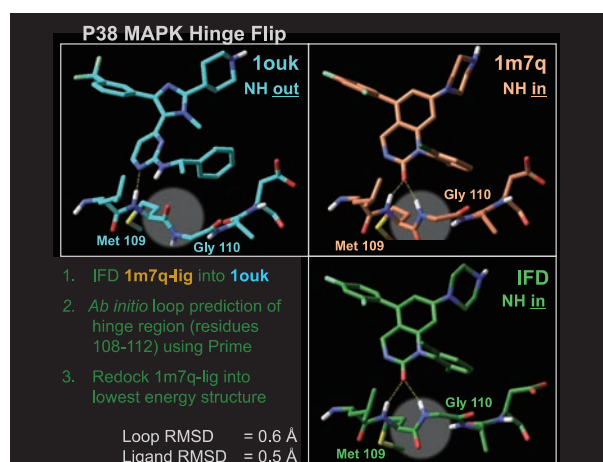


Figure 3. Structure of the binding pocket of 1ouk (NH-out), 1m7q (NH-in) and the induced fit structure generated from the 1ouk structure and 1m7q ligand.

ンパク質の構造変化を十分に考慮した複合体予測が可能となる。キナーゼにおける DFG-in, out の問題や “Hinge Flip” 等の構造変化に対しても既に事例が報告されている。

Glide/Prime Induced-Fit Docking により, X 線結晶構造解析が困難な既知活性化合物の複合体予測を高精度に行うことが可能となった。活性サイトでの分子認識, 相互作用情報を分子シミュレーションからも多く入手することができれば, Structure Based Drug Design (SBDD) によるバーチャルスクリーニングの更なるヒット率向上や詳細な相互作用メカニズムの解明による化合物最適化への貢献が期待できる。

参考文献

- (1) Sherman, W.; Day, T.; Jacobson, M. P.; Friesner, R. A.; Farid, R. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 534–553.
- (2) Sherman, W.; Beard, H. S.; Farid, R. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2006**, *67*, 83–84.

(受理日 2012年4月12日)