

第 252 回研究講演会「Docking Mechanism 再考」報告

2005 年 4 月 20 日に開催された本会は、創薬方法論懇談会における議論を基に開催された初めての研究講演会となりました。創薬方法論懇談会とは、企業研究者が集まって創薬の現場における課題や watch すべき新しい技術について議論を行い、それを研究講演会の企画等 CBI 学会の運営に役立てようとするものです。神沼先生の号令の下、昨年 10 月 14 日の準備会を経て今年 1 月 7 日に会合が持たれ、その場で 5 つの研究講演会が提案されました。その中の一つが今回の「Docking Mechanism 再考」で、これはこの会合においてゾイジーンの松崎先生の方法論、即ちタンパク質とリガンドの形の相補性が非常に重要であるという考え方について話題が集中したこと、及び私を含めて複数の研究者が、結合様式の精確な予測が重要かつ困難な課題であるという認識を示したことから企画されたものです。このような技術的な課題がテーマでありますから、当然現場の企業研究者にケーススタディを通して現状の問題点、課題を挙げて頂くような講演を行って頂き、その後解決策となり得る可能性がある新規な方法論や着眼点を、松崎先生を始めとする先生方に御講演頂こうと講師のお願いを始めました。しかしながら後半はすんなり決まったものの、企業研究者の講師がなかなか決まりませんでした。近年ますます企業の外部発表に対する制限が厳しくなっていることを実感させられる経験でした。そんななか快く講師を引き受けてくださったエーザイ（株）の川上先生には、この場をお借りして改めて御礼を申し上げます。

その川上善之講師からは、中性子回折を用いたタンパク質の構造解析についての紹介がありました。X 線回折が電子分布を観測するのに対し、原子核を観測するために水素（プロトン）が見えること、室温で測定できること、などの利点がある一方、1mm 角という大きな結晶が必要であることや、測定に時間がかかることなどが課題であるとの事でした。また 1Å を切るような非常に高い解像度の X 線解析についても触れられ、これによってこれまで見えなかった弱い相互作用（CH- π など）や二重配座、水のネットワークなどについても解析できるようになってきていると紹介されました。MM というモデルを電子密度にフィッティングさせるのではなく、直接原子の位置を観察できるわけですから、これらのデータはタンパク質-リガンド相互作用を評価する上での貴重な知見を提供すると考えられます。この他、docking simulation に関してはスコア関数や induced fit、水分子の関与など多くの問題点があると指摘され、複数の docking プログラムを比較した文献の紹介もして頂きました。同じ骨格の低分子化合物が同じサイトに結合する場合でもその結合様式が異なっていたり、化合物によって結合サイト周囲の蛋白構造が異なる変化を示したりと、実際に構造解析をしてみないと本当の結合状態は分からないというのは、タンパク質の構造を用いて仕事をしている多くの研究者の実感であると思われますし、さらにそれさえも静的な描像であって、それだけでは“結合のし易さ”をきちんと評価できない可能性

もあります。計算機によって正しい結合様式と結合自由エネルギー（に相当する値）を現実的な時間内で求められるようになるまでには、まだまだ多くのブレイクスルーが必要なようです。

ゾイジーンの松崎尹雄講師は、新規な *de novo* デザインの手法について講演されました。結合サイトに仮想原子を最密充填で詰めて MD で振ると、自然に化合物の構造を内包する”molecular frame”が現れ、次に静電ポテンシャルに従ってヘテロ原子を割り当て、可能な化合物の“創生”あるいはデータベースからの選択を行うのだそうです。もちろん仮想原子の相互作用パラメタや frame からの化合物の抽出方法など、実際には様々な試行錯誤やノウハウが必要であったのではないかと推察されるのですが、タンパク質の結合サイトの形から、それと相補的なリガンドの形が自然発生するというのは非常に興味深い話でした。これまでの適用例では、非常に少ない化合物からかなり高い確度で活性化化合物を見出すことが出来ているとの事です。また、話の本筋とは離れるのですが、初期には実際に 1mM 以上活性があったものを成功例として示していたものの、近年では 100 μ 、さらには 10 μ 以上と厳しくしてもよいほど高い活性のものを見出せるようになってきており、その原因が母集団の数、すなわち virtual screening の対象となるデータベースに含まれる化合物数が、初期の十数万から最近では 400 万あまりにまで増えてきたことによる、という話は興味深いものでした。実際の HTS においても、どの程度の強さの活性化化合物を見つけるためには、どの程度の数のライブラリ化合物をそろえておく必要があるか、を考えるにあたって参考となるデータではないでしょうか。

東京大学の木下賢吾講師からは、タンパク質の一次構造（アミノ酸配列）や立体構造（原子の種類や原子核の座標）の類似性ではなく、むしろそれらの情報を捨てて結合サイトの分子表面及びその上の静電ポテンシャルによって類似性を評価し、タンパク質の機能を分類するアプローチの紹介がありました。リガンドの探索に対して機能の分類と、その目的は異なっているものの、これは松崎先生の「形の相補性」を重視する考え方と共通する方向であると感じました。計算された分子表面の静電ポテンシャルのデータベースは、eF-site として近々公開される予定だそうです。同じ表面静電ポテンシャルを持つものは同じリガンドを認識する可能性が高いわけですから、例えばターゲットとしているタンパク質のリガンドが知られていない場合に、その”類似”タンパク質を eF-site で検索し、もしヒットしたタンパク質のリガンドが知られていれば、まずはそれらをプローブとして用いてみるという使い方ができるかも知れません。もちろん、様々な副作用、毒性、（良い意味での）multi-function の可能性を検討する上でも役に立つでしょう。

最後に、産総研の福西快文講師から、prestoX を用いて複数のタンパク質×多くのリガンド分子の docking study を行い、それらを統計的に解析した結果及びその応用についての講演がありました。多くのタンパク質と低分子の affinity map を作成する研究は、(株) リバ

ーsproteoミクス研究所などの研究機関において実験的になされており、また理研においても **grid** 技術を用いた大規模な計算がなされていますが、これらが主に新規な創薬標的となるタンパク質の探索や副作用の予測などを目的としているのに対し、福西先生らはこの結果を統計的に解析し、そこから得られる知見を生かして **virtual screening** の精度を上げることを目的としている所が特徴的でした。通常 **docking simulation** を用いた **virtual screening** においては、ある単一のターゲットタンパク質に対する化合物の親和性を評価し、そのスコアが高い順に化合物を拾うのが普通ですが、それよりも **affinity map** を作成し、(他のタンパク質より) そのターゲット蛋白に付きやすいと統計的に判断された化合物を拾っていった方が、良い結果が得られたそうです。また、この **affinity map** から化合物がどの蛋白に結合しやすいか、その標準パターンとそこからのズレを評価し、これを **descriptor** として主成分分析することにより、活性化合物が局在化した化合物空間を構成することが出来たそうです。これは **focused library** を設計するための手段として有用であると考えられます。

以上、本研究講演会が開催された経緯と講演内容について簡単にご紹介させて頂きましたが、後者に関しましてはあくまでも私個人の“感想”であり、必ずしも講演内容を要約したものではなく、また講師の先生方の意図に反する記述がある可能性もあります。この点ご理解の上御了承頂きますよう、よろしくお願い申し上げます。

なお、6月22日には今講演会とペアで企画された講演会が、「**Virtual Docking から Fine Docking へ**」と題して開催されます。第一製薬の片倉さんと帝人ファーマの小泉さんが世話人となり、分子設計におけるドッキングツールの具体的な活用事例と新たなドッキング手法の開発について、さらに大規模計算を用いた精度の高い相互作用エネルギーの計算の新たな試みに関して、それぞれ最先端の研究をされている大学の研究者の方と **solution** を提供されている企業の方からの講演があるそうです。是非こちらにも足を運んで頂き議論に参加して頂ければ幸いです。

(講演会世話人)