

MOE による共有結合ドッキングシミュレーション

甘利真司（株式会社菱化システム 科学技術システム事業部）

1. はじめに

標的タンパク質の活性部位に薬剤が共有結合して作用する共有結合医薬品は、一般的に高い持続性を示します。ターゲットタンパク質と共有結合を形成する医薬品をデザインすることは、より持続性の高い医薬品を開発することにつながります。

EGFR チロシンキナーゼ阻害剤（EGFR-TKI）として、第一世代の非小細胞肺癌（NSCLC）治療薬のゲフィチニブや エルロチニブ、第二世代のアファチニブが知られています。第一世代のゲフィチニブやエルロチニブは EGFR に対する結合は共有結合を伴いませんが、第二世代のアファチニブでは EGFR のヒンジ部位 Cys797 に対し共有結合することで、共有結合しないものと比べ持続性が高まります。ここでは、CCG 社製統合計算化学システム MOE を用いて EGFR に対して共有結合するリガンドの相互作用の特徴を調べ、次いで共有結合性の EGFR-TKI についてドッキングシミュレーションを行った例についてご紹介します。

2. EGFR-リガンド複合体の相互作用の特徴

MOE には SBDD 研究の標的として使われるアノテーション付された 14 種のタンパク質ファミリーデータベースと、これらのデータベースから構造、配列、リガンド類似度や構造的特徴を元に検索するアプリケーションが提供されています。このファミリーデータベースには、基準の構造に対して重ね合わせを行い、重要残基に対するラベルや配色が行われた分子構造データが保存されています。ファミリーデータベースのうち、キナーゼデータベースには、5275 件の立体構造情報が収録されており、生物種、クラス、ファミリー、DFG-in/out、alpha-C ヘリックス、リガンド分類、相互作用部位などのアノテーション情報が付加されています。

EGFR の 793 番目の残基は Met であることが

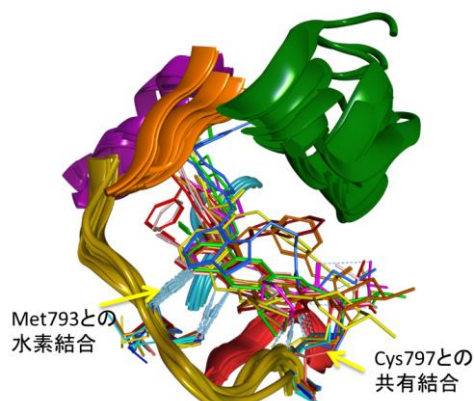


図 1. EGFR に対してリガンドが共有結合した共結晶構造の重ね合わせ。水色破線は、水素結合。

多く、リガンドを含む EGFR の立体構造データ 117 件から、リガンドと Met793 が水素結合するデータを検索したところ、102 件を検出することができました。このことから Met793 とリガンドとの相互作用が重要であることが示唆されます。

一方、Cys797 とリガンドが共有結合している EGFR を検索したところ、21 件のデータを見つけることができました。さらに、アファチニブと MACCS キーのフィンガープリント類似性が 0.6 よりも高いものに限定すると 8 件に絞り込まれます。この 8 件のリガンド構造は重なり度合いは高くありませんが、どのリガンドも EGFR の Met793 と相互作用を形成しています（図 1）。

3. X 線結晶構造における共有結合の再現

MOE には化学反応ルールに基づきリガンドの受容体への共有結合を再現するドッキングシミュレーション機能が搭載されています。MOE には予めよく利用される 20 の化学反応ルールが登録されていますが、ユーザーが独自に反応ルールを設定することも可能です。

ここでは、アファチニブが EGFR の Cys797 に共有結合するドッキング配座を予測します。アファチニブはマイケル付加反応によって、ヒンジ部位 Cys797 の硫黄原子に対して共有結合します（図 2）。ここでは、この反応を指定したリドッキ

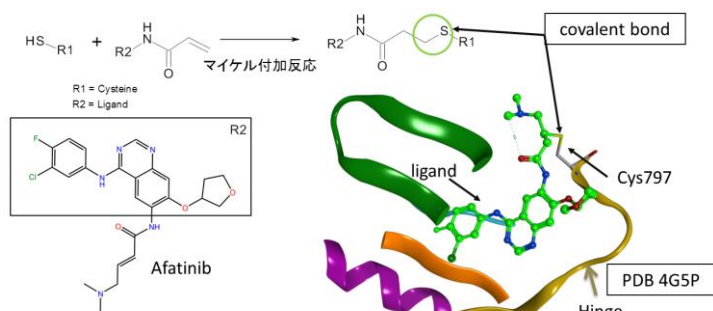


図 2. マイケル付加反応によるアファチニブの EGFR への共有結合

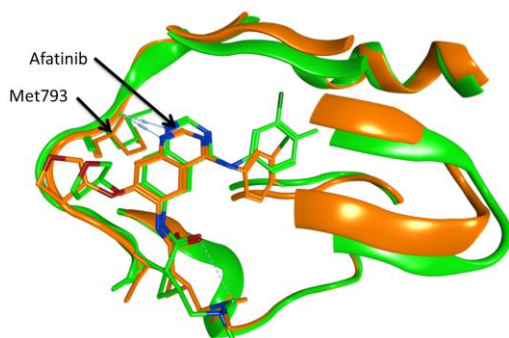


図 3. EGFR に対するアファチニブの共有結合構造の再現。(橙)ドッキング構造 (EGFR (PDB ID: 3IKA)+ Afatinib)、(緑) X 線構造 (PDB ID: 4G5P)

ングシミュレーションを行い、既知の X 線結晶構造との比較を行いました。受容体構造 (EGFR) として、アファチニブと類似したリガンドをもつ PDB ID: 3IKA を用いました。

ドッキング構造 (EGFR-アファチニブ複合体構造) と X 線結晶構造 4G5P とをヒンジ部位を中心に重ね合わせを行ったところ、リガンドの RMSD は 1.8\AA であることがわかりました (図 3)。ドッキング構造の EGFR との相互作用も類似しており、EGFR のヒンジ部位の Met793 の主鎖とリガンドのキナゾリンとの水素結合が再現されました。

4. EGFR と薬剤との共有結合の予測

既に作用することがわかっている薬剤でも、受容体との複合体構造としては公開されていないものは少なくありません。このような場合、薬剤の結合状態を予測する手段としてドッキングシミュレーションは有効な手段になり得ます。

ここでは、EGFR とオシメルチニブとの共有結合ドッキングを行いました。オシメルチニブは T790M 変異をもつ EGFR が関わる NSCLC 患者の治療薬に有効性が認められ、2016 年 3 月に

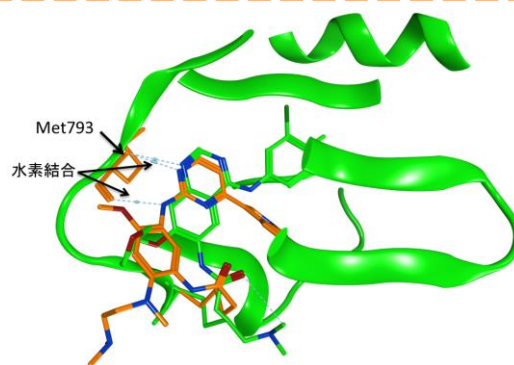


図 4. EGFR に対するオシメルチニブの共有結合構造の予測。(橙)ドッキング構造 (EGFR + Osimertinib)、(緑) X 線構造 (EGFR + Afatinib (PDB ID: 4G5P))

承認を受けた第三世代の NSCLC の治療薬です。EGFR-オシメルチニブ複合体構造は 2016 年 6 月現在 PDB には公開されておりません。

EGFR (PDB ID: 4G5P) とオシメルチニブとの共有結合ドッキングを行ったところ、リガンドのピリミジン骨格が Met793 と水素結合の形成が見られました (図 4)。オシメルチニブの開発元であるアストラゼネカ社 Cross らの論文*1に掲載されているオシメルチニブと EGFR との複合体の予測構造では、ピリミジン骨格と Met793 との間の水素結合が示されており、MOE の共有結合ドッキングでも同様の結果が得られました。

5. まとめ

MOE に搭載されているファミリーデータベースを用いて、EGFR-阻害剤の複合体構造とそれらの分子間相互作用の特徴を抽出することができました。また、MOE を使って化学反応を指定して共有結合を伴うドッキングを行うことができ、X 線結晶構造が得られていない共有結合医薬品との共結晶構造を予測することができました。

MOE は創薬、生命科学研究に必要とされるさまざまな解析機能を搭載しており、多彩な機能を連携することで、ユーザーの研究活動を強力に支援します。詳細は弊社ホームページをご覧ください。

参考文献

*1 Cross, D. A. E. *et al.*, Cancer Discovery, **4**, 1046–1061 (2014)

CCG 社日本総代理店
株式会社菱化システム 科学技術システム事業部
〒131-0045 東京都墨田区押上 1-1-2 東京スカイツリーイーストタワー
TEL: 03-6830-9724 FAX: 03-5610-1161
E-mail: support@rsi.co.jp URL: <http://www.rsi.co.jp/>