

局所的基準振動解析に基づくノイラミニダーゼーリガンド複合体の自由エネルギー解析

○ 後藤 仁志

豊橋技術科学大学大学院工学研究科(〒441-8580 豊橋市天伯町雲雀ヶ丘 1-1)

【はじめに】

創薬研究に利用されているバーチャル (*in silico*) スクリーニング法において、ある程度リード化合物が絞られた段階では、標的タンパク質の活性部位に様々な医薬候補化合物 (リガンド) を導入した複合体を形成し、そのタンパク質に対するリガンドの結合自由エネルギーを精密に評価することが求められるため、しばしば、分子シミュレーション技術が駆使される。また、候補化合物がタンパク質に結合する時に誘起されるリガンド配座の変化や、誘導適合によるタンパク質の構造変形を考慮すること、さらには、熱振動などによって自発的に誘起されたタンパク質の構造変化や、現実的な活性作用機序を考慮することなども重要であるとされている。このため、分子シミュレーション技術による効率的な複合体構造の網羅的探索法と、動力学や熱力学を考慮した自由エネルギー評価法が大きな課題となっている。

本研究では、タンパク質内における低分子リガンドの自由エネルギーを比較的高速かつ精密に求めるため、リガンド部分に関わる局所的ヘシアン行列ブロックのみの対角化から求めた基準振動解析に基づいて自由エネルギーを算出する手法を開発し、インフルエンザ治療薬として知られるオセルタミビル (タミフル) **1** と、その標的タンパク質であるノイラミニダーゼの共結晶構造に対して適用する。また、タミフルのリード化合物であるシアル酸遷移状態類縁体 **2** やもう一つの治療薬ザナビビル (リレンザ) **3**、および SSH (スーパー・サイエンス・ハイスクール) に指定された愛知県立時習館高等学校の生徒が、本学の体験実習で設計した 12 種類の候補化合物 (SSH0901-SSH0912) **4-15** に対して、同手法で結合自由エネルギーを求め、比較する。

【方法】

リガンド **1-15** のノイラミニダーゼに対する結合自由エネルギーの算出は次の手順で行った：
 1) ノイラミニダーゼーオセルタミビル複合体の立体構造 (PDB ID: 2HU4) を使って、候補化合物 **2-15** の複合体を作成する。2) 複合体 **1-15** の全水素の位置を最適化した後に、タンパク質内で各候補化合物の構造最適化を行う。この際にノイラミニダーゼの構造は固定する。3) 各候補化合物のヘシアン行列ブロックのみの局所的基準振動解析を行い、複合体 **1-15** の自由エネルギー (G_{Complex}) を求める。4) リガンド **1-15** のそれぞれについて単体で構造最適化を行い、自由エネルギー (G_{Ligand}) を求める。5) 複合体 **1** (PDB ID: 2HU4) からリガンド **1** を取り除いたノイラミニダーゼに対して最適化を行い、ノイラミニダーゼのみの自由エネルギー ($G_{\text{Neuraminidase}}$) を求める。以上より、各自が設計した候補化合物のノイラミニダーゼに対する結合自由エネルギー (G_{Binding}) を式(1)から求めることができる。

$$G_{\text{Binding}} = G_{\text{Complex}} - (G_{\text{Ligand}} + G_{\text{Neuraminidase}}) \dots\dots (1)$$

$$\approx G_{\text{Complex}} - (G_{\text{Ligand}} + E_{\text{Neuraminidase}})$$

【結果と考察】

Table 1 に自由エネルギー計算の結果を示した. ここで式(1)の近似式において, $E_{\text{Neuraminidase}}$ はノイラミニダーゼの水素の位置だけを最適化した構造に対する立体エネルギーである. 今回は, 全ての複合体において, 候補化合物のみを構造最適化しただけであり, ノイラミニダーゼの立体エネルギーは変化しないことから, 全ての G_{Binding} の計算において $E_{\text{Neuraminidase}}$ は同じ値を適用した. また, 候補化合物をドッキングする際に複合体 **1** の立体構造 (PDB ID: 2HU4) を基準にして作成したことから, その G_{Binding} をゼロとした時の相対エネルギーとして $\Delta G_{\text{Binding}}$ を算出した.

複合体 **1–3** の $\Delta G_{\text{Binding}}$ から阻害活性が期待できる候補化合物の $\Delta G_{\text{Binding}}$ は 50 kcal/mol 以下と推定することができる. これを基準とすると, 生徒たちが設計した 12 種類の候補化合物の中でも, **4, 5, および 14** の $\Delta G_{\text{Binding}}$ はこの範囲内にあり, これらの候補化合物がノイラミニダーゼ阻害薬として期待できることを示唆している.

複合体 **1** の立体構造 (PDB ID: 2HU4) の活性部位周辺を Fig. 1(a) に示した. 中央の Ball&Stick モデルで描画された阻害薬オセルタミビル **1** は, 活性部位の形状に適合しており, また, 水素結合によってしっかりと活性部位に係留されている様子が分かる. 一方, 生徒たちが設計した **4–15** において, 特に三環構造を持つリガンド **5** が, 比較的優位な結合自由エネルギーを示したことは大変興味深い. Fig. 1(b) を観察すると, オセルタミビルと同程度に水素結合を形成し, 隙間無く活性部位空間内に納まっていることが分かる. ノイラミニダーゼ阻害薬の開発に向けたリード化合物としても有望な候補化合物の一つとして検討に値すると思われる.

詳細については, 当日報告する.

Table 1 Binding Free Energies of Complexes (kcal/mol)

Mol (Complex) ID	G_{Binding}	$\Delta G_{\text{Binding}}$
Oseltamivir 1	-195.23	0.00
Sialic Acid Analog 2	-165.30	29.94
Zanamivir 3	-147.65	47.58
SSH0901 4	-199.92	-4.69
SSH0902 5	-192.36	2.87
SSH0903 6	30.04	225.27
SSH0904 7	-96.61	98.62
SSH0905 8	-76.34	118.89
SSH0906 9	-113.48	81.76
SSH0907 10	45.47	240.70
SSH0908 11	3.42	198.66
SSH0909 12	-124.88	70.35
SSH0910 13	-107.96	87.28
SSH0911 14	-163.07	32.16
SSH0912 15	-98.52	96.71

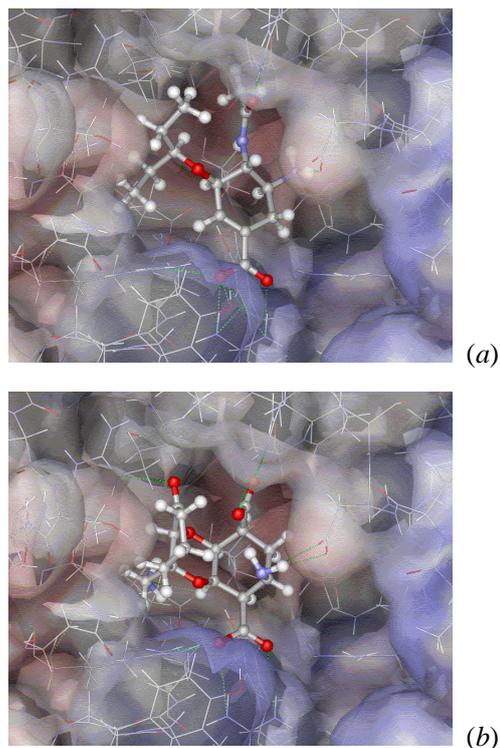


Fig. 1 Illustrations of Oseltamivir® and the second predominant compound in the binding site of Neuraminidase