

1006 タンパク質活性部位探索—ペプチド配列活性評価システムの開発

○増田尚之¹, 孫林玉¹, 相田拓洋², 西垣功一², 後藤仁志¹¹豊橋技術科学大学大学院工学研究科 (〒441 - 8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘 1 - 1)²埼玉大学大学院理工学研究科 (〒338 - 6570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255)

【緒言】

癌や関節リウマチなどの未だ有効な治療法がない領域において医薬品開発の主流は抗体医薬であり、実際、2008年の世界売上高上位15位以内のうち6製品が抗体医薬である[1]。しかし、動物細胞を利用する抗体医薬は生産コストが高いという課題があるため、有機合成が可能で比較的生産コストが低いペプチド医薬も創薬ターゲットとして注目されている。

埼玉大学の西垣等は、標的タンパク質に活性を示す多様なペプチドアダプターを獲得することができる高速分子進化技術[2]を開発した。この高速分子進化技術では、ペプチド分子の多様な変異体集団で1次ライブラリを作成し、標的タンパク質に対してスクリーニング(淘汰)を行うことで、活性のあるペプチドライブラリを作成する。さらに、このペプチド配列情報を基に、より多様な変異体集団ライブラリの構築と淘汰を繰り返す。このように高次ペプチドライブラリに進化させることで高機能な活性ペプチドの獲得が期待され、このライブラリ作成サイクルがほぼ自動化されたこともあって、ペプチド医薬や抗体医薬の開発を高速に進めることができる新しい医薬品開発手法として期待されている。

高速分子進化技術において、機能性を求めてペプチド長を長くすると配列の組み合わせも多様化するため、分子シミュレーション技術を応用して、より効果的に進化を加速できるペプチド配列の活性評価システムが必要になる。しかし、高速分子進化技術では標的タンパク質の活性ペプチドの配列情報は得られるが、活性部位に関する情報は得られない。そこで我々は、高速分子進化技術に適したペプチド配列活性評価システムを開発するため、標的タンパク質の活性部位の位置と形状を高速に予測するプログラムを開発中である。ここでは、ノースカロライナ大の Tropsha 等が提案する4体ポテンシャル法[3]とタンパク質の表面解析技術を組み合わせた新しい手法を概説する。また、この手法を活性部位が既知であるタンパク質に適用した結果を紹介する。

【方法】

4体ポテンシャル法は、タンパク質を構成するアミノ酸残基を粗視化した代表点で表し(Fig. 1 a), 近接する4つの代表点を頂点とする四面体の集合体として表現する(Fig. 1 b) [4]。次に、本研究では表面解析法を用いて標的タンパク質を多面体で包含し、分子表面に配置された多面体接点を

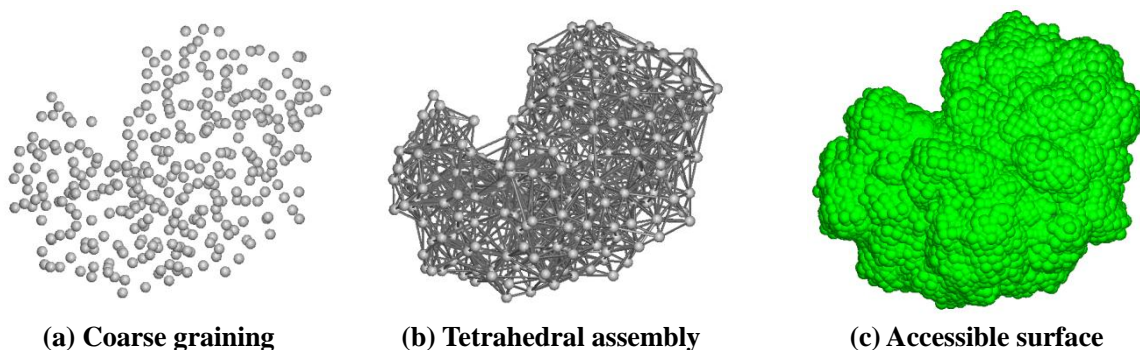


Fig.1 Descriptions of target protein structures

新たな頂点としてドロネー四面体分割を行う。これにより、タンパク質表面はアミノ酸残基の代表点で密に覆われる (Fig. 1 c)。こうすることで、隣接する表面代表点を含む四面体に 4 体ポテンシャルを適用し、積算スコアを求めることが可能になり、任意のペプチド配列がタンパク質表面に結合した時の安定性を評価出来るようになる。また、指定したペプチド配列が最も結合しやすい活性部位を探索するアルゴリズムとして、CONFLEX で採用される貯水池注水法を適用し、4 体ポテンシャルの積算スコアが最大となるタンパク質表面の位置とペプチド構造を予測した。

【結果】

活性ペプチドとの共結晶構造が既知である 10 種類のタンパク質を標的として、本手法の評価テストを行った。探索の結果得られた積算スコアで上位 15 位以内にある予測ペプチド構造について、共結晶構造内の結合ペプチドの重心点と代表点構造に対する GTGD (Geometric center To Geometric center Distance, Fig. 2) と RMSD (Root Mean Square Deviation) を求めた。それらの最小値を Table 1 に示す。GTGD 最小値から本手法が少なくとも活性部位中心を予測可能であることがわかる。しかし、RMSD 最小値のばらつきが大きいことから、ペプチド構造の予測精度は改善する必要があることがわかった。

今後は、ペプチド配列の構造予測精度を向上させるため、タンパク質の立体構造に関わる水素結合を考慮した 4 体ポテンシャル法[4]を適用して評価テストを行う。

謝辞

本研究の一部は、文部科学省地域イノベーションクラスタープログラム、および (財) 埼玉県中小企業振興公社の援助により行われました。関係者各位に謝意を表します。

参考文献

- [1] ユート・ブレイン株式会社, 世界の大型医薬品売上高ランキング 2008, <http://www.utobrain.co.jp/news-release/2009/0730/NewsRelease0730.pdf>
- [2] K. Kitamura, C. Yoshida, Y. Kinoshita, T. Kadowaki, Y. Takahashi, T. Tayama, T. Kawakubo, M. Naimuddin, Md. Salimullah, N. Nemoto, K. Hanada, Y. Husimi, K. Yamamoto, K. Nishigaki, *J. Mol. Biol.*, 387, 1186-1198 (2009).
- [3] B. Krishnamoorthy, A. Tropsha, *Bioinformatics*, 19, 1540-1548 (2003).
- [4] 石飛秀斗, 孫林玉, 増田尚之, 相田拓洋, 西垣功一, 後藤仁志, SCCJ2011 春季年会, 2P13 (2011).
- [5] 蔵内伸悟, 西垣功一, 後藤仁志, SCCJ2011 春季年会, 2P13 (2011).
- [6] T. Aita, K. Nishigaki, Y. Husimi, *Comput Bio. Chem.*, 34, 53-62 (2010).
- [7] C. S. Pomelli, J. Tomasi, *J. Comput Chem*, 19, 1758-1776 (1998).

Table 1 Evaluation tests for predicted peptide structures

PDBID	Peptide length	Min	
		GTGD(Å)	RMSD(Å)
1TJK	5	7.4	8.8
2GNS	5	5.6	7.9
1SP5	5	5.2	8.6
2DUJ	5	2.9	9.4
1ABT	6	6.9	11.9
1TP5	6	4.5	6.4
1AWQ	6	4.5	7.5
1P7W	7	1.2	3.8
1TZS	8	5.4	7.1
1LDP	9	2.6	4.2

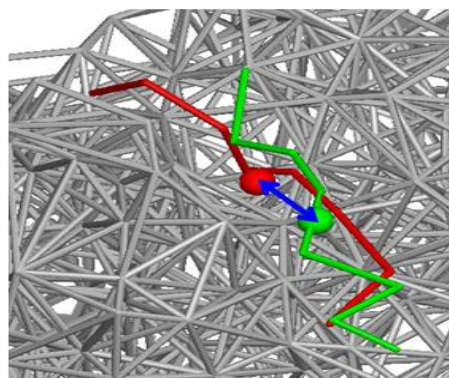


Fig.2 GTGD of a predicted peptide structure