

3G18

FMO 法と PLS 回帰による相互作用解析に基づいた CDK2 阻害剤の 3 次元定量的構造活性相関 (北里大学・薬) ○吉田智喜、広野修一

3D-QSAR of CDK2 inhibitors based on the interaction analyses using PLS regression and FMO calculation (Kitasato Univ. School of Pharmacy) ○Tomoki Yoshida, Shuichi Hirono

【序】 3次元定量的構造活性相関(3D-QSAR)は、リガンドの3次元構造を反映するパラメータと活性間の関係であり、これを統計学的手法によって見出すことでリガンドの活性予測に応用する。フラグメント分子軌道法(FMO)法[1]は、大きな分子系全体を小さなフラグメント単位に分割して量子化学計算を実行し組み合わせることで、大きな分子系全体の量子化学計算を近似的に実行可能とする計算手法である。創薬における FMO 法の大きな魅力は、フラグメント間のペア相互作用エネルギー(PIE) (IFIE とも呼ばれる)の解析[2]によって、薬とタンパク質間の相互作用をフラグメント単位で量子化学的に解析できることであるが、FMO 法で計算された PIE を 3D-QSAR に直接用いた解析手法の報告例はほとんど無い。

本研究では、FMO 法による複合体全体の量子化学計算から得られるリガンド-アミノ酸残基間 PIE を説明変数として用いた PLS 回帰[3]による 3D-QSAR 解析を報告する。PLS 回帰では、元の説明変数から新しい一次独立な変数を重要なものから予測能が最適となる数(目的変数との共分散が最大かつ互いに独立になるという条件の元で)作成し、これらを用いて目的変数の回帰を行う。そのため、説明変数間の相関が高い場合や、目的変数の数よりも説明変数の個数が多い場合に有効な線形回帰分析手法である。阻害定数 K_i が既知の CDK2 タンパク質阻害剤を研究対象とし、本解析手法によって、実験的あるいは経験的パラメータを全く用いずに、物理の基本法則である量子力学に基づいて生物学的活性を定量的に予測可能なモデルを作成できるだけでなく、得られた回帰モデルの解析によって、どのアミノ酸残基との相互作用が CDK2 阻害剤の生物学的活性の改善に重要であるかを見出すことができることを示す。

【方法】 <複合体構造の準備と FMO 法による PIE の計算>

CDK2 タンパク質に対する阻害活性 K_i 値が既知である 16 通りの阻害剤をリガンドとして含む CDK2 タンパク質複合体 X 線構造を計算対象とした(図1)。複合体構造に対して水素原子の付加、欠損残基の補填などの構造の不備を補った後、複合体全体の構造最適化 [OPLS_2005 力場、AGBNP 溶媒モデル使用、使用プログラムは Impact, (Schrödinger, LLC)]を行った。次に、リガンドのみを QM 領域として取り扱った QM/MM 法 [QM: HF/LACVP*, MM: OPLS_2005 力場、使用プログラムは Qsite, (Schrödinger, LLC)]によって、リガンドのみを対象とした構造最適化を行った。得られた複合体構造それぞれに対して、FMO 法による一点計算(計算レベルは FMO2-MP2/PCM[1(2)]/6-31G(d)、1 残基 1 フラグメント、1 リガンド 1 フラグメントに分割)を実行し、リガンドと CDK2 を構成する 296 アミノ酸残基間の PIE を得た [使用プログラムは GAMESS]。

<PIE を説明変数、 pK_i を目的変数とした PLS 回帰> 得られたリガンド-アミノ酸残基間

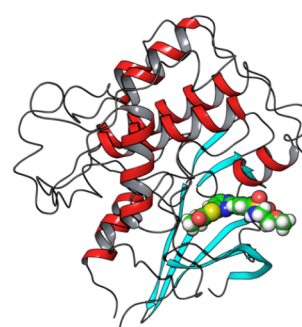
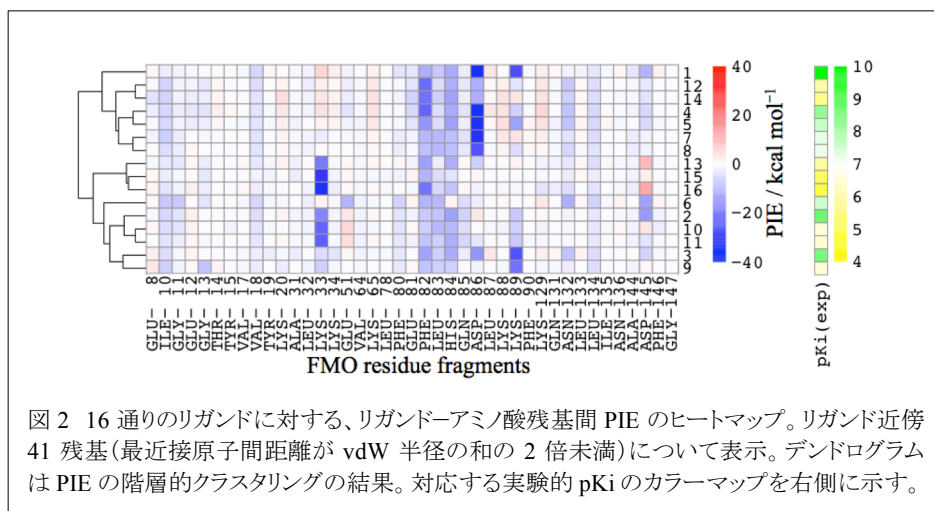


図1 計算対象とした16通りの複合体X線構造の一つ(PDB ID: 2XMY)。

PIE を説明変数 (296 変数) として用い (変数の中心化のみ実行)、目的変数である 16 通りの阻害剤に対する実験的 pK_i ($pK_i = -\log_{10}K_i$) を予測するための PLS 回帰モデルを作成した。PLS 回帰モデルの回帰係数から、阻害活性の改善に重要なリガンド-アミノ酸残基間相互作用を明らかにした。

【結果】 図 2 は FMO 法による一点計算の結果得られたリガンド-アミノ酸残基間 PIE のヒートマップである。ほぼ全てのリガンドは、Phe82~His84 との相互作用による安定化を共通して利用しているこ



とがわかる。いくつかのリガンドは、Lys33、Asp86、Lys89、Asp145 との相互作用による安定化を利用していることがわかるが、その安定化の有無と pK_i の大小を単純に結びつける特徴を抽出することは容易ではない。

図 3 に PLS 回帰による予測 pK_i と実験的 pK_i の相関を示す。化合物 {3, 4, 8, 10, 12, 16} を PLS 回帰モデルの予測性能を測るためのテストセットとし、残りの 10 化合物を PLS 回帰モデル作成のためのトレーニングセットとした。テストセットに対する予測性能が最大となる PLS 成分数 2 を用いて PLS 回帰モデルを作成した結果、まずまずの予測性能が得られた ($R^2 = 0.87$)。

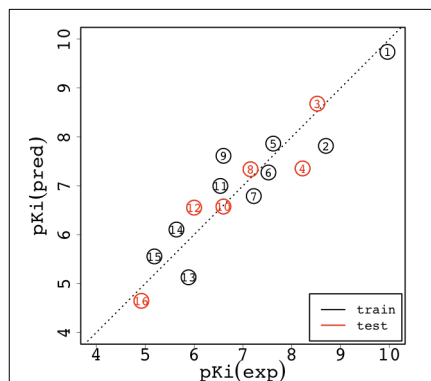
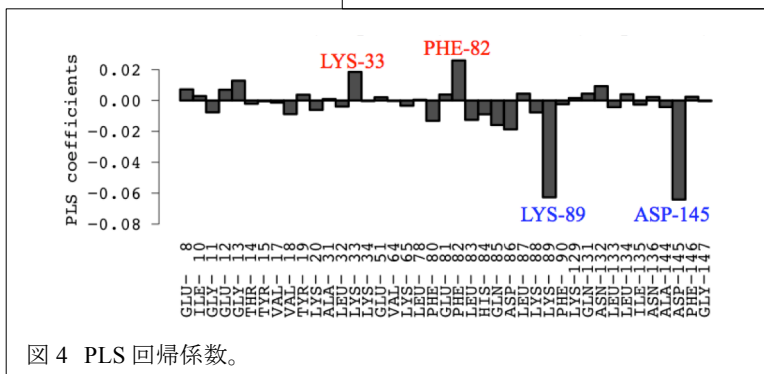


図 3 PLS 回帰による予測 pK_i (pred) と実験的 pK_i (exp) の相関。

図 4 に、作成した PLS 回帰モデルの PLS 回帰係数を示す。CDK2 阻害剤の生物学的活性の改善に重要な阻害剤-アミノ酸残基間相互作用として Lys33、Phe82、Lys89、Asp145 が見出された。Lys89、Asp145 との引力的相互作用は pK_i を増加させるが、Lys33、Phe82 との引力的相互作用は pK_i を減少させると読み取ることができる。共通して同程度の安定性をもつアミノ酸残基 (Leu83、His84) との相互作用は、PLS 回帰係数には現れず、活性の違いには大



きく寄与しないことがわかる。これら重要な残基との相互作用を最適化することによって、より強力な阻害剤を設計することができると期待される。

【参考文献】

- [1] K. Kitaura, T. Sawai, T. Asada, T. Nakano and M. Uebayashi, *Chem. Phys. Lett.*, **1999**, 312, 319-324.
- [2] D. G. Fedorov and K. Kitaura, *J. Phys. Chem. A*, **2007**, 111, 6904-6914.
- [3] S. Wold, M. Sjöström and L. Eriksson, *Chemom. Intell. Lab. Sys.*, **2001**, 58, 109-130.