

3P101

分子ドッキングと分子動力学シミュレーションを用いたシトクロム P450(CYP1A2)活性部位における化合物の結合分布解析

(¹理化学研究所 生命システムセンター 生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ, ²北陸先端大学院大学 マテリアルサイエンス) ○齋藤 大明¹, 水上 卓², 平野 秀典¹, 大塚 教雄¹, 沖本 憲明¹, 泰地 真弘人¹

Population analysis of compound binding poses on active site of human Cytochrome P450 (CYP1A2): a molecular dynamics and docking study

(¹Laboratory of computational molecular design computational biology, computational biology research core, RIKEN Quantitative Biology Center (QBiC), ²Department of Materials Sciences, Japan Institute of Science and Technology (JAIST)) ○Hiroaki Saito¹, Taku Mizukami², Yoshinori Hirano¹, Takao Otsuka¹, Noriaki Okimoto¹, Makoto Taiji¹

【序】

医薬品の研究開発は、薬剤の代謝や毒性のプロファイリング不足により開発化合物の約50%が臨床試験の初期段階で撤退する現状にあり[1]、創薬研究における時間と費用の大きな損失となっている。このことから、創薬の早期の段階から薬剤代謝を高精度に予測し、心疾患リスクのある化合物シリーズを除くための手法の開発が切望されている。薬剤の代謝予測には化合物の代謝部位(SOM)の予測が重要であり、そのためには対象化合物と薬剤代謝酵素(シトクロム P450:CYP)との相互作用や結合構造の予測が不可欠である。化合物のどの部位がCYPにより代謝されるのかを調べる実験は一度に少数しか実施できず、解析に膨大な時間と費用がかかるという問題がある。そのため、インシリコによる代謝部位予測が担う役割は大きい。

本研究では分子シミュレーションによる薬剤代謝予測を目的に、分子ドッキングと分子動力学(MD)シミュレーションを用いた薬剤代謝酵素(シトクロム P450:CYP1A2)の活性部位における化合物の結合分布解析を行う。MDシミュレーションによりサンプルされたCYPのレセプター構造に対して薬剤分子のドッキング計算を行い、CYPの活性部位周辺に結合された化合物の結合分布解析(アクセシビリティ解析)から薬剤の代謝部位(SOM)を予測する。

【方法・計算モデル】

本研究で扱う対象のタンパク質は、シトクロム P450(CYP1A2)とする。シトクロム P450は人体においてほとんどの薬物代謝に関与することが知られる重要創薬ターゲットタンパク質である。計算に用いたCYP1A2のX線構造解析を図1に示す。活性部位(図の中心部位付近)にヘムを有し、ヘム上部に化合物の結合サイトが存在する[2]。CYP1A2のPDBファイル(PDB-ID:2HI4)からリガンド分子を取り除き、レセプターの周りに水分子を配置させて初期構造を作成する。始めに定温・定圧MD計算($T=300\text{K}$, $P=1\text{atm}$)を実行し、タンパク質の溶媒和された平衡構造を作成する。ヘムの力場はShahrokh等が開発したAmber力場を用い[3]、水分子のモデルはTIP3Pを用いた。MD計算にはGROACS5.2.1を用いた。

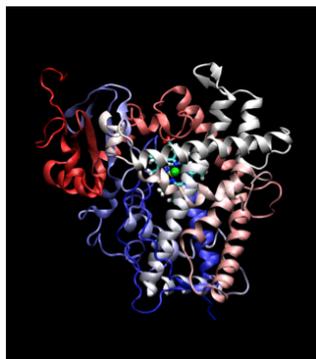


図 1. CYP1A2 の結晶構造

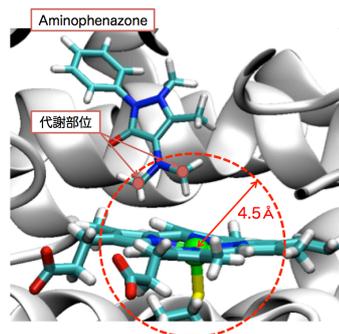


図 2 活性部位付近での結合ポーズ例

本研究では実験によって代謝部位 (SOM) が同定されているテストセット化合物 (19 化合物) を用意し、これらを MD 計算によって生成されたレセプターのアンサンブル構造に対し分子ドッキング計算を行う。ドッキングによって得られた結合ポーズから活性部位周辺に結合された化合物の結合分布解析を行い、薬剤の代謝部位(SOM)を予測する。ドッキング計算は Gold5.1.2 を用い、スコア関数は CYP 用の ChemScore_csd を用いた[4]。

【結果】

図 2 に CYP1A2 の活性部位付近での化合物(Aminophenazone)の結合ポーズの一例を示す。本研究では、ヘム鉄から 4.5 Å 以内に実験的に同定されている代謝部位が存在すれば、代謝に必要な結合ポーズが予測されると定義した。図 3 に 10,000 個のドッキング構造を用いて作成した、化合物(Phenacetin)の原子とヘム鉄との距離に対する原子分布の様子を示す。これら原子分布データから、カットオフ距離 (4.5Å) までにヘムに配位している原子の分布割合をランク付けし、Top3 までの原子を代謝部位 (SOM) の候補とした (図 4)。解析の結果、Phenacetin の場合、2 位で正解の SOM が予測される結果が示された。最後に、予測した化合物の SOM 候補 (Top3) のうち、少なくとも 1 つが実験で知られている SOM である確率を評価した。同解析を全てのテストセット化合物に適用したところ、Top3 までに 78.9%の確率で正解の化合物の SOM を予測する結果が得られ、本研究で用いた手法の有効性が示された。詳細はポスターにて報告する。

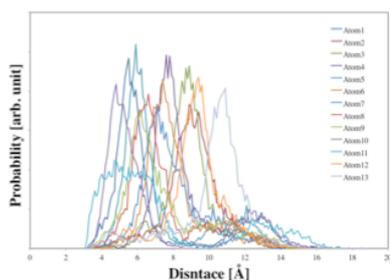


図 3. 活性部位付近での化合物の原子分布

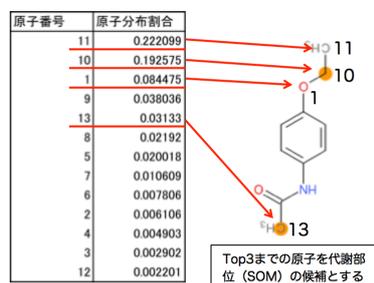


図 4. Phenacetin の原子分布割合と代謝部位

【参考文献】

- [1] Diabetes Voice, 48 (2), (2003) 28.
- [2] J. Biol. Chem., 282, 14348–14355(2007).
- [3] J. Comput. Chem. 33, 119-33, (2012).
- [4] PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics 58:836–844 (2005).