

# KP05 マルチステージ・ドッキングシミュレーション：

## 高速Poisson-Boltzmannソルバーと再スコアリング法

(日本電気) ○島田 次郎、福西 広晃、鶴尾 巧、徳島 大介

(日本化薬) 倉持 浩

### 1. はじめに

分子の世界を最も精度良く記述できるのは、非経験的分子軌道法などの手法だが、ひとつの化合物を計算にも莫大な計算時間を要するので大量化合物スクリーニングに対しては現実的手法ではない。そのため、実用に耐えうる処理速度と精度を維持するために考えられるのは、粗いモデルから精密なモデルへと段階的に変化させて、逐次的にスクリーニングを行うことである。ここでは、比較的、ドッキングが難しい例として知られている DNA Gyrase を例として、このマルチステージスクリーニングを適用した結果を報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 計算分子系

DNA Gyrase は感染症の標的蛋白質として良く知られており、Roche 社で HTS(random screening)が不成功に終わった後、Boehm らが in Silico と併用することにより、新規ヒット化合物発見・構造最適化に成功した例としても有名である。その一方で、同じく Roche の Stahl らは FlexX を Gyrase に適用したが、その結果は良好とは言いがたい。そこで、この比較的難しい標的に対して、どの程度の結果が得られるかを調べることにした。用いた PDB ID は 1AJ6 である。欠損残基・原子は Sybyl でモデリングした。

#### 2.2 FlexX + 再 Scoring

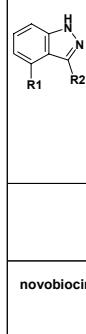
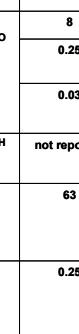
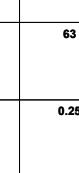
既知ヒット 7 個(Table1)と Maybridge 化合物ライブラリから選んだランダム化合物 1000 個の Docking を FlexX で行った。FlexX の Default 設定では、既知ヒットに対する Dock 構造は誤りだったので様々な工夫を試みた。Overlap 許容は非現実的構造を生成し効果的とは言えなかつた。複合体構造に対して事前に Energy Minimize を実施し、より妥当な Receptor 構造を用いるのが有効だった。得られた多数の pose に対して、ファーマコフォア・モデルに基づいて明らかに誤りのものを省いた後、rmsd = 1 Å のしきい値でクラスタリングを行い代表的 pose に対して、独自開発のスコア関数で、再スコアリングした。

#### 2.3 MM+PBSA 法 (implicit solvent model)

蛋白質分子やリガンド分子の原子間の相互作用を分子力学 (MM) モデルで表した場合に、implicit solvent model の枠組みで溶媒効果を取り込む方法は様々であるが、我々が今回採用したのは Honig らによって提案されたスキームである。この方法では、周囲の水を連続誘電体 (誘電率 80、Debye 長=約 7 Å) で置換え、分子を真空中から連続誘電体中に移行するのに必要な静電+分子表面エネルギーをもって溶媒和エネルギーとする。

この静電エネルギーを計算するには、Poisson-Boltzmann (PB) 方程式を差分法で数值的に解く必要がある。問題は、十分な精度を

**Table 1** Inhibitors of DNA Gyrase (*S.aureus*)(Boehm et al. *J.Med.Chem.* 2000, 43, 2664)

	ID	R1	R2	MNEC [ $\mu$ g/ml] <sup>a</sup>
	12a	—H	—H	>250
	4h	—H	—Ph	8
	13	—H		8
	22	—O—Ph		0.25
	23	—O—Ph—C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		0.03
	27	—O—Ph	—S—Ph—COOH	not reported
	5			63
novobiocin				0.25

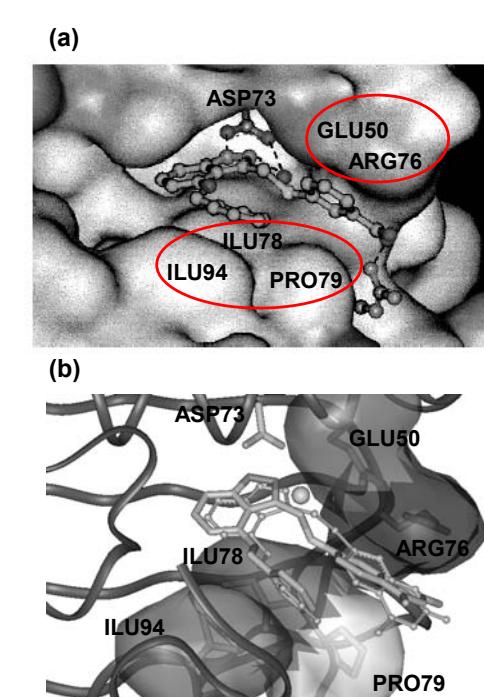
<sup>a</sup>MNECs are determined in the supercoiling assay, except for 12a.

得るには、最低 0.5 Å 程度の差分法用の細かいメッシュを用いて解くことが必要だが、計算時間が掛かり過ぎることであった。そこで、MultiGrid 法並びにその他の様々な工夫を行って、現実的に許容できる速度でドッキング途中に PB 方程式を解き「Force」を計算しながら、最安定構造を求める成功した。

初期構造は FlexX で得られた pose として、全エネルギーの最小化計算を行った。力場は、独自にインプリメントした Tripos5.2 と Gaff (AM1-BCC) で行ったが、以下の結果は Gaff のものである。また、リガンドの回転可能なボンドをランダムに回転し、リガンドの歪みの効果も考慮し、蛋白質の flexibility も重要残基に関して考慮した。

### 3. 結果

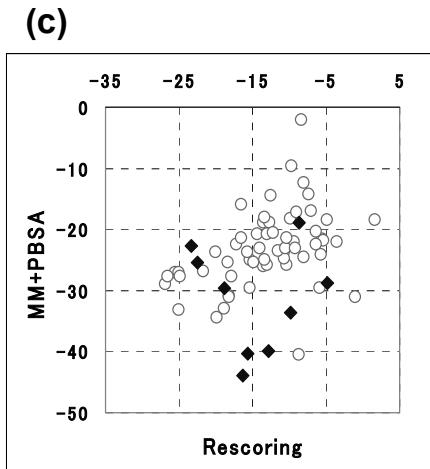
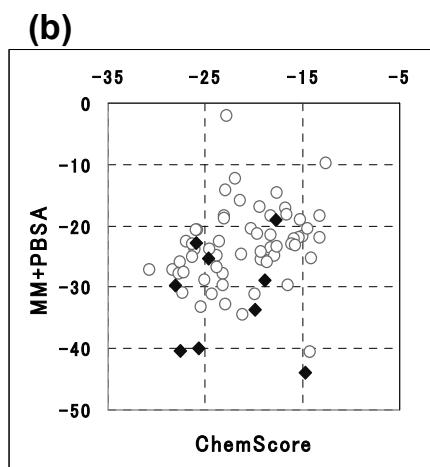
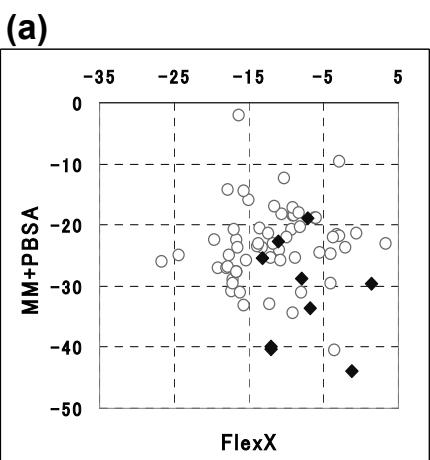
化合物 22 と Gyrase の複合体構造（ドッキング結果）を Fig. 1b に示した。Ball&Stick は再スコア法、Stick は MM+PBSA の Score の良い構造であって疎水部、塩橋部と良好にスタッツしておらず、類似化合物 27 の結晶構造（Fig. 1a）



**Fig.1** Comparison of complexed structures of DNA Gyrase. (a) X-ray structure of the 24KDa fragment (*S.aureus*) complexed with 27 (Boehm et al., *J. Med. Chem.* 2000, 43, 2664). (b) Modeled structure of 1AJ6 (*E.coli*) with 22. The ligand in orange was docked by FlexX and the ligand colored by atom was optimized by MM+PBSA. This was drawn by InsightII.

とも妥当な一致を示している。

今回開発した再スコア関数/MM+PBSA を、Sybyl の既存 Score と比較した。その一部を Fig. 2 にまとめた。図に示すように、FlexX のスコアではヒット選抜は困難であり低い性能にとどまっているが、再スコア/MM+PBSA を使えば、選抜効率は大幅に向上する。既存の方法の中では、ChemScore が最良であった。今回開発した再スコア法と MM+PBSA 法とは互いに相補的に用いれば、この最良の ChemScore とほぼ同等の結果が得られている [Table2 (a) (b)]。



**Fig. 2** MM+PBSA energy vs. various scores.  
(a) FlexX, (b) ChemScore, and (c) Rescoring.  
The symbols of ○ and ◆ represent random ligands and the known ligands for DNA gyrase, respectively.

Table2

FlexX < Gold, Dock, PMF < ChemScore (a)  
(Sybyl, Gyrase)

FlexX << ChemScore ~ 再スコア/MM + PBSA (b)  
(present work, Gyrase)

FlexX < ChemScore < Dock < Gold (c)  
(Wang et al., 100種の構造)

ChemScore は、Gyrase に関しては良い結果であったが、Wang らが最近、様々な Score について、100 種の複合体構造に対して調べた結果は、Table2(c) のように要約でき、ChemScore の成績は高くはない。Roche 社の発見したリガンドは、ChemScore 型のスコアが高いものを検索して得られたものなので、ChemScore が高い可能性もありえる。

溶媒効果の重要性は言うまでもないが、今回の計算ではあまり顕著な差がでていない (Fig. 3)。

#### 4. 今後の課題

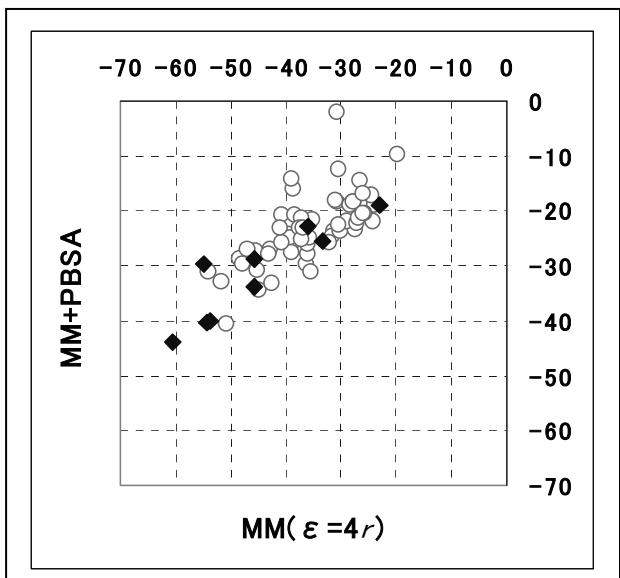
Implicit Solvent Model の現状での問題点を簡単にまとめておきたい。

(a1) 表面張力パラメータの提唱値に幅があり過ぎる ( $0.005 \sim 0.069 \text{ kcal/mol} \text{ Å}^2$ )。

(a2) 2つの溶質分子が接近したときには問題が有るという指摘 (Y. Fukunishi, Nakamura)

(a3) 蛋白質と連続体近似された水と間の vdw 相互作用が必要 (van Gunsteren ら・Levy ら)

(b1) 機能上重要な結晶水は、蛋白質の一部か否か、分類が難しい場合がある。



**Fig. 3** Comparison between MM ( $\epsilon = 4r$ ) and MM+PBSA energies. The symbols of ○ and ◆ represent random ligands and the hits for DNA gyrase, respectively.

の原因是、Chain Entropy 項の欠落や上述の vdw 項の欠落が考えられる。

このように、PB(GB も含めて)モデルには、多くの本質的問題が残っていることは事実であるが、なんらかの形で溶媒効果を取り込まない計算では意味が薄れる。本報告では、PB モデルに基づいて、かなり効率の良い Simulation が可能であることを示した。

#### References

- (1) M. Stahl and M. Rarey, J. Med. Chem., Vol 44, 1035–1042 (2001).
- (2) H.-J. Boehm et al., J. Med. Chem., Vol 43, 2664–2674 (2000).
- (3) R. Wang, Y. Lu, and S. Wang, J. Med. Chem., Vol 46, 2287–2303 (2003).

(b2) 有効誘電率は 1~5 程度の一定値か、ローカルに変動か (Nakamura, van Gunsteren)  
 (c) 実験で得られた結合エネルギーの値は、0 ~-15 kcal/mol 程度だが、Honig の方法で計算すると、その範囲に収まるとは限らず、強弱の定性的傾向を示すレベルに留まっており、そ