

PROTAC Modeling Tools: PROTAC 開発用アプリケーション

PROTAC Modeling Tools は、標的タンパク質分解誘導薬 PROTAC (Proteolysis Targeting Chimera) の開発を支援するための MOE のカスタム アプリケーションです。4 通りの手法により PROTAC を介した三元複合体 (標的タンパク質-PROTAC-E3 リガーゼ複合体) 構造の予測とモデリングを容易に行えます。また、タンパク質間の接触を表すスコアにより適切なモデルを選別できます。ここでは、三元複合体のモデリング手法の概要とその適用事例について紹介します。

■ PROTAC 概要

従来の低分子医薬品は、低分子の基質結合部位をもつ受容体や酵素などのタンパク質を標的とし、その作用を阻害することにより薬効を示します。一方で、PROTAC (Proteolysis Targeting Chimera) は、細胞のユビキチン・プロテアソーム系を利用して標的タンパク質の分解を誘導します。PROTAC の分子構造は標的タンパク質と結合するリガンド、タンパク質のユビキチン化を担う E3 リガーゼと結合するリガンドおよびそれらを結び付けるリンカーで構成されています (図 1)。

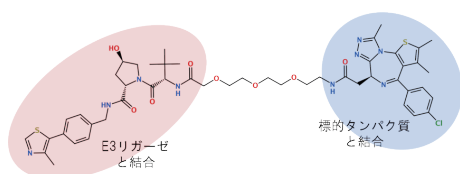


図 1. PROTAC の例

PROTAC が標的タンパク質および E3 リガーゼと三元複合体を形成することにより、標的タンパク質はユビキチン化され、プロテアソームにより分解・除去されます (図 2)。PROTAC は、従来の低分子医薬品では標的にできなかった転写因子や足場タンパク質などの「アンドラッグブル」なタンパク質も標的にできる可能性があることから、近年、創薬の新しいモダリティとして注目されています。

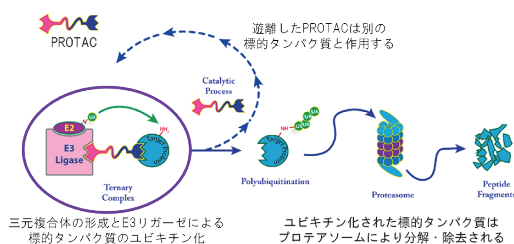


図 2. PROTAC による標的タンパク質分解のメカニズム (文献¹⁾より図を改変)

■ PROTAC Modeling Tools²⁾ 概要

PROTAC による標的タンパク質の分解誘導には三元複合体を形成する必要があるため、合理的な PROTAC の設計には、適切な三元複合体をモデリングすることが重要です。計算機によるこれまでの三元複合体のモデリング事例は、複合体の構成要素 (PROTAC、標的タンパク質、E3 リガーゼ) の組合せが特定の分子系だけに適用したものでした。PROTAC Modeling Tools は、構成要素の組

合せに拘らず適切な三元複合体をモデリングするための 4 通りの手法を提供します。各モデリング手法に応じた計算設定パネルがあり、ユーザーは、複合体 (標的タンパク質-リガンド、E3 リガーゼ-リガンド) と PROTAC の分子構造などを入力として、自動的に三元複合体の候補構造を予測できます (図 3)。

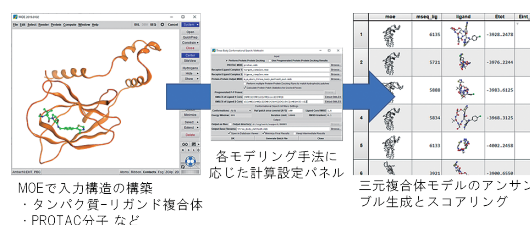


図 3. 三元複合体モデリングの流れ

■ 三元複合体の各モデリング手法

■ モデリング手法 1

三元複合体のすべての構成要素を含めてサンプリングする手法です (図 4A)。計算時間が短く、長さの異なる PROTAC のリンカー構造のスクリーニングに有用です。

■ モデリング手法 2

始めに PROTAC の配座解析を行い、得られた PROTAC の各配座に標的タンパク質と E3 リガーゼを付加する手法です (図 4B)。配座解析を独立して行うことにより、PROTAC のとり得る配座を網羅することができます。事前に PROTAC の配座解析を行ったデータを入力に使用することもできます。

■ モデリング手法 3

一方のタンパク質存在下で PROTAC の配座解析を行い、得られた各配座に残りのタンパク質を付加する手法です (図 4C)。タンパク質の存在下で配座解析を行うことにより、そのタンパク質と衝突するような配座は生成されないため、PROTAC の合理的な配座サンプリングを行うことができます。

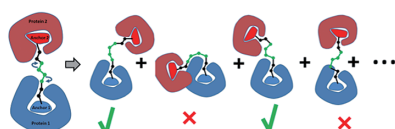
■ モデリング手法 4

PROTAC の配座解析とタンパク質-タンパク質ドッキングをそれぞれ独立して行い、その後、両者を組み合わせる手法です (図 4D)。手法 2 と同様に PROTAC のとり得る配座を網羅できるほか、タンパク質-タンパク質ドッキングにより、タンパク質どうしの衝突がない合理的な会合状態を得ることができます。

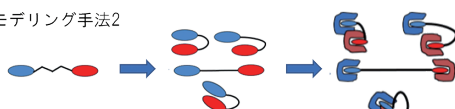
さらに、Biased オプションを有効にした場合、各タン

パク質のリガンド結合部位周辺にある疎水性領域が互いに近接するようにバイアスをかけたタンパク質-タンパク質ドッキングを複数回行います。これにより、より安定な会合状態の多様なモデルを得ることができます。

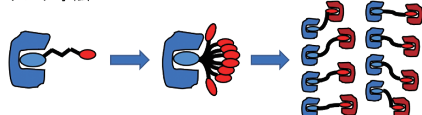
A) モデリング手法1



B) モデリング手法2



C) モデリング手法3



D) モデリング手法4

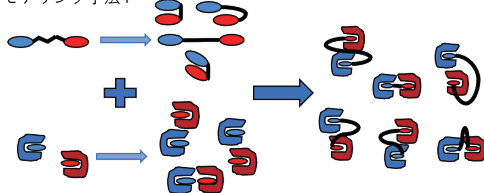


図4. 三元複合体の各モデリング手法の模式図

■三元複合体モデルのスコアリング

生成されるモデルに対して、タンパク質間の体積の重なりや、タンパク質間相互作用に関連する表面パッチ（疎水性 / 正電荷 / 負電荷）に基づくタンパク質どうしの接触を表すスコアがモデリングと同時に計算されます。これらのスコアは、妥当な三元複合体を抽出するための指標に使用できます。

■適用事例

いくつかの事例について、モデリング手法4を使用して三元複合体のモデリングを行いました。生成された三元複合体モデルからスコアが良いモデルを抽出して、得られたモデルの数と PROTAC による標的タンパク質の分解誘導の有無を比較してみました。

■野生型タンパク質と変異体との比較

MZ1 は、プロモドメインタンパク質 BRD4 を選択的に分解誘導する PROTAC です（図5）。一方で、BRD4 の変異体（K378Q/E383V/A384K）は MZ1 により分解誘導されにくいことが報告されています³⁾。MZ1 と野生型 BRD4 および BRD4 の変異体を使用して三元複合体モデリングを行いました。その結果、変異体を使用したときに得られたモデルの数は、野生型 BRD4 を使用したときと比較して少ないことがわかりました（表1）。

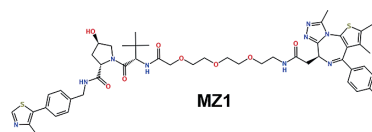


図5. MZ1 の分子構造

表1. モデリングにより得られたモデルの数

	Biasedオプション	
	なし	あり
野生型	51	172
変異体	34	85

■複数の標的タンパク質間での比較

TL12-186 は、さまざまなキナーゼの分解を誘導する PROTAC ですが、一部のキナーゼは分解誘導されることが報告されています⁴⁾。PROTAC により分解が誘導される 20 種のキナーゼと誘導されない 5 種のキナーゼについて三元複合体モデリングを行いました。その結果、分解誘導されるキナーゼでは、そうでないものと比較して多くのモデルが得られました（図6）。

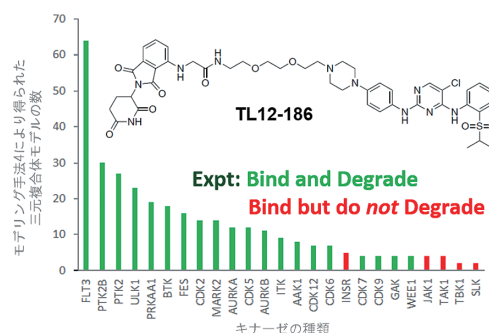


図6. TL12-186 の分子構造と各種キナーゼを使用したモデリングにより得られたモデルの数（緑：PROTAC が結合し、分解誘導されるキナーゼ。赤：PROTAC が結合するが分解誘導されないキナーゼ。）

これらの結果、得られたモデルの数の大小が PROTAC による標的タンパク質の分解誘導の有無と合致する傾向にあることがわかりました。

■アプリケーションの入手方法

MOE の保守ユーザーの方には、無償で PROTAC Modeling Tools を提供いたします。弊社のサポート窓口までご連絡ください。PROTAC Modeling Tools は、契約中の MOE のトークン内で使用することができ、追加トークンは必要ありません。

- 1) Churcher, I. J. *Med. Chem.* **2018**, *61*, 444–452.
- 2) Drummond, M. L.; Williams, C. I. *J. Chem. Inf. Model.* **2019**, *59*, 1634–1644.
- 3) Gadd, M. S. *et al. Nat. Chem. Biol.* **2017**, *13*, 514–521.
- 4) Huang, H. T. *et al. Cell Chem. Biol.* **2018**, *25*, 88–99.