

PROTAC Modeling Tools のアップデート

PROTAC Modeling Tools^{1,2)} は、標的タンパク質分解誘導薬の1つである 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。複数の手法により PROTAC を介した三元複合体 (標的タンパク質-PROTAC-E3 リガーゼ) 構造の予測とモデリングを容易に行えます。最近、三元複合体構造をモデリングするための新たな手法が追加されました。本稿では、PROTAC Modeling Tools に追加された手法の概要とその適用事例について紹介します。

■ PROTAC Modeling Tools の概要

PROTAC は、新しい創薬モダリティとして最近注目されている標的タンパク質分解誘導薬の1つです。標的タンパク質の結合リガンドと E3 リガーゼの結合リガンドをリンカーでつないだ化学構造をもち (図 1)、細胞内のユビキチン-プロテアソーム系を利用して標的タンパク質の選択的な分解を誘導します。

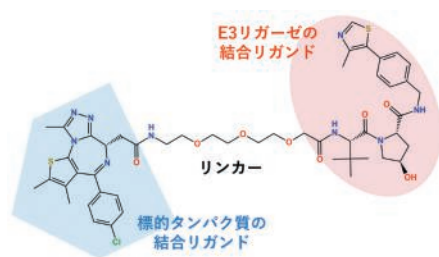


図 1. PROTAC の例

PROTAC Modeling Tools は、PROTAC を介した三元複合体構造の予測とモデリングが可能な MOE のカスタムアプリケーションです。タンパク質-リガンド複合体 (標的タンパク質-リガンド、E3 リガーゼ-リガンド) や PROTAC 構造などを入力として、簡単に三元複合体の候補構造をモデリングすることができます。これまでは 4 つのモデリング手法 (手法 1~4) が提供されていました。これらの詳細は、MOLSYS ニュースレター 2020 年 1 月号 6、7 ページの記事をご参照ください。その後、モデリング手法として新たに 3 つの手法 (手法 4B、手法 5、Partial PROTAC Screening Tools) が追加されました。

■ PROTAC Modeling Tools の追加手法

■ 手法 4B

手法 4B は、手法 4 の改良版です。手法 4 および手法 4B は、PROTAC の配座解析とタンパク質-タンパク質ドッキングを組み合わせて三元複合体モデルを構築する手法です。以下の点が改良されました。

▶ PROTAC の配座解析方法の改良

手法 4 では、PROTAC に拘束をかけずに配座解析を行います。そのため、タンパク質のポケットに適合しない配座も得られてしまいます。手法 4B では、入力のタンパク質-リガンド複合体からリガンド構造を検出し、配座解析時に PROTAC の各結合リガンドの配座が結合配座となるように設定されます。これにより、得られる三元複合体モデルでは、どのモデルでも PROTAC-タンパク質間の相互作用が保存されます。

▶ 最大共通部分構造 (MCS) の自動認識機能の追加

手法 4 は、複数の PROTAC を入力に使用することがで

き、リンカー構造のみが異なる PROTAC であれば、1 回の計算でモデリングの結果を得ることができます。しかし、結合リガンドの構造が少しでも異なる場合 (例えば サリドマイド誘導体 (図 2) を使用した PROTAC) には PROTAC ごとに個別に計算を行う必要がありました。手法 4B では、リガンドの MCS の自動認識機能が追加され、認識された MCS は、配座解析におけるリガンドの検出および PROTAC 配座とドッキングポーズの組合せにおける指標に使用されます。そのため、結合リガンド構造の一部やリンカー連結点の異なる複数の PROTAC の検討を 1 回の計算で行うことができます。



図 2. サリドマイド誘導体の化学構造。最大共通部分構造は黄色、PROTAC のリンカーが連結する位置を R で示している。

▶ 三元複合体モデルのクラスタリング機能の追加

手法 4B では、得られた三元複合体モデルについてダブルクラスタリングという方法でクラスタリングを行う機能が追加されました。ダブルクラスタリングとは、三元複合体モデルについてタンパク質単独および PROTAC 単独でクラスタリングを行い、得られた 2 つのクラスターを組み合わせる新たなクラスター (ダブルクラスター) とする方法です。

■ 手法 5

手法 5 は、手法 4 や手法 4B で行うタンパク質-タンパク質ドッキングで得られたドッキングポーズを PROTAC のリンカー構造で直接連結させて三元複合体モデルを構築する手法です。ドッキングポーズをリンカー構造で連結する流れを図 3 に示します。まず、溶媒分子を配置する機能を使用して結合リガンド周辺に水分子を配置します (図 3-①)。次に、水分子の酸素原子をつなぎ、タンパク質と衝突しない 2 つの結合リガンド間の最短経路を求めます (図 3-②)。そして、求めた最短経路に沿ってリンカー構造を構築して三元複合体モデルとします (図 3-③)。

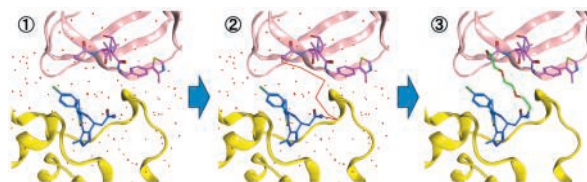


図 3. 手法 5 におけるリンカー構造構築の流れ

Partial PROTAC Screening Tools

Partial PROTAC Screening Tools は、partial PROTAC という、E3 リガーゼの結合リガンドとリンカー構造で構成される PROTAC のビルディングブロックの配座データベースを使用して三元複合体モデルを構築する手法です (図 4)。

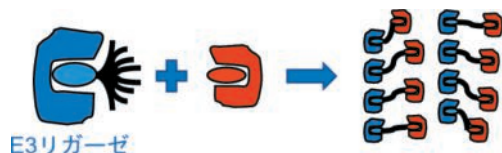


図 4. Partial PROTAC Screening Tools の概要図

モデリングに必要な入力構造は、標的タンパク質-リガンド複合体構造のみです。E3 リガーゼのリガンド構造やリンカー構造が異なる 49 種の partial PROTAC の配座データベースが提供されているので、入力構造を準備すればすぐに検討を開始できます。また、提供されている partial PROTAC はいずれも購入可能なので、計算でヒットしたものはすぐにウェットの検討に着手することができます。ユーザー独自の partial PROTAC の配座データベースを作成するためのプログラムも提供されています。

モデリング手法の精度

手法 4B と手法 5 について、PDB に登録されている三元複合体の X 線結晶構造を使用してモデリングを行いました。いずれの手法も、PROsettaC³⁾ という他のモデリングプログラムと比較して精度よくモデリングができました (図 5)。

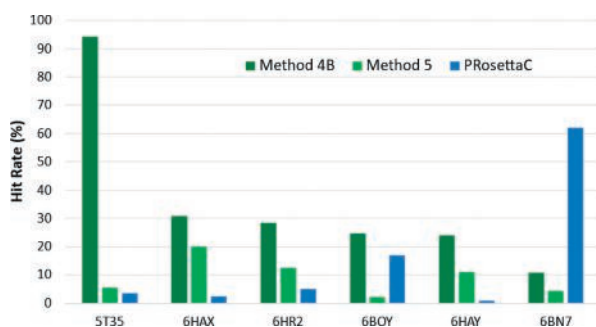


図 5. 手法 4B、5、PROsettaC のモデリング精度の比較。ヒット率は (結晶構造に近いモデル数/全モデル数) として算出。

手法 5 は、手法 4B と比較すると精度は劣りますが、時間のかかる PROTAC の配座解析を行わずに三元複合体のモデリングができるので、プレスクリーニングとして利用できます。手法 5 にも MCS の自動認識機能が含まれているため、構造の異なる複数の PROTAC の検討を 1 回の計算で実行することができます。また、手法 4B と手法 5 は使用する入力構造は共通なので、手法 5 でヒットした PROTAC に対して手法 4B でさらに詳細なモデリン

グを行うこともできます。

適用事例

Zorba らが開発した BTK タンパク質を標的とする PROTAC は、リンカー長の長い方が高活性である傾向にあります (図 6、表 1)⁴⁾。

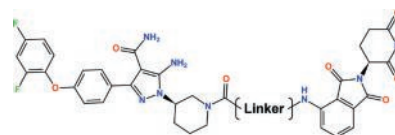


図 6. Zorba らが開発した PROTAC の化学構造

表 1. PROTAC のリンカー構造と活性値

PROTAC	Linker	D _{max} (%)	PROTAC	Linker	D _{max} (%)	PROTAC	Linker	D _{max} (%)
1		0	5		64	9		85
2		0	6		85	10		87
3		33	7		84	11		85
4		34	8		87			

手法 4B を使用して三元複合体のモデリングを行い、PROTAC ごとに最も大きなダブルクラスターに含まれるモデルの数を比較しました。その結果、低活性の PROTAC 1~4 よりも高活性の PROTAC 8~11 の方が多くのモデルが得られており (図 7)、モデルの数と活性の強弱が比例する傾向にあることがわかりました。

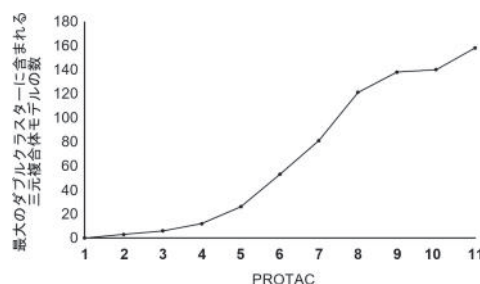


図 7. 手法 4B によるモデリングの結果

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。日本語版の操作手順書も用意しています。ご希望の方は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。

- Drummond, M. L.; Williams, C. I. *J. Chem. Inf. Model.* **2019**, *59*, 1634–1644.
- Drummond, M. L.; et al. *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, *60*, 5234–5254.
- Zaidman, D.; et al. *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, *60*, 4894–4903.
- Zorba, A.; et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2018**, *115*, E7285–E7292.