

## 統合計算化学システム

## MOEによる環状ペプチドの配座解析と相互作用解析

環状ペプチドは低分子や抗体のそれぞれの短所を克服可能な中分子医薬品として注目されています。環状ペプチドは配座の自由度が制限されるため、標的タンパク質との親和性や選択性の向上、物性の改善が期待されています。MOEは、低分子・ペプチド・タンパク質・抗体・核酸等の医薬品のモデリングに対応した統合計算化学プラットフォームです。MOEを用いることで、広範なスケールの分子を同一環境で取り扱うことができ、環状ペプチドの配座解析、物性予測、相互作用解析などさまざまなアプローチでの設計が可能です。ここでは環状ペプチドにフォーカスしたMOEを用いた解析事例を紹介します。

## ■環状ペプチドの概要

ペプチドは、低分子医薬とバイオ医薬(タンパク質・抗体・核酸)との間のギャップを埋めつつ、かつ両方の長所を兼ね備える可能性のある中分子医薬品として注目されています。特に主鎖や側鎖を共有結合させた環状ペプチドは、その立体配座を大きく制限できるため、標的タンパク質との特異性の向上、血中安定性や膜透過性の向上等のメリットがあります。

*in silico* で予測された環状ペプチドの立体配座は、水や生体膜中での物理化学的な性質の予測や標的タンパク質との相互作用の理解、新規ペプチドの設計に利用できます。

## ■環状ペプチドのモデリング

ペプチドは、アミノ酸残基の種類、残基数、環状化条件により多様な構造を取りえます。適切なペプチドモデリングは、計算時間の短縮や精度の向上にも寄与します。

MOEは、MOE Peptide Language (MPL) と呼ばれる独自の言語を搭載したMPL-Builder<sup>1)</sup>により多様なペプチドを簡単に構築できます(図1)。MPL-Builderは、登録されたアミノ酸を名前、クラス、IUPAC名、カタログ番号等で検索でき、新規特殊アミノ酸の登録もできます。図2はMPL-Builderによる構築例です。環状、鎖状、枝状、複数分子鎖にわたるペプチド、網羅的なペプチドのモデリングを、MPLを記述することで簡単に行えます。これらのペプチド構造を入力として多くの解析を実行できます。

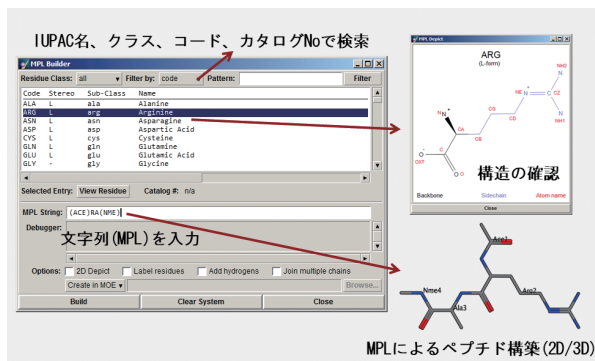


図1. MPL-Builderパネル

種類	MPLの記述例
鎖状ペプチド	CYIGAGP
環状ペプチド①	cyclic-((DAL)(MLE)(MLE)(MVA)(BMT)(AA3)(SAR)(MLE)V(MLE)A)
ジスルフィド結合②	(C,SG&1)YIQN(C,SG&1)PLG
枝状やチェーン分割③	{AAAA(G,CA&1)A}{AAA(G,CA&1)AAA}
網羅的トリペプチド	[X][X][X] Xは20種の天然アミノ酸を意味

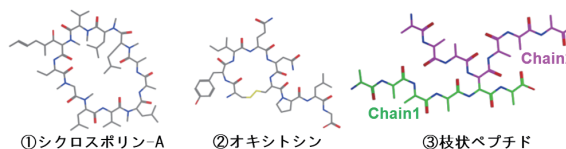


図2. MPLの記述例とMPL-Builderによるペプチド構築

## ■環状ペプチドの配座解析

ペプチドの立体配座は、物理化学的性質や構造安定性、標的タンパク質との相互作用にも影響し、環状化させることでそのコントロールが可能になります。MOEのLowModeMDは、低振動モードに重み付けし、結合二面角をMDにより振動させ環状ペプチドの安定配座を効率的に探索するアプリケーションです。図3は、エンドセリン受容体拮抗薬であるBQ123に対してLowModeMDを用いて仮想溶媒中での配座予測を行った結果です。NMRで観測された原子間距離やターン構造、疎水性接触を再現できました。

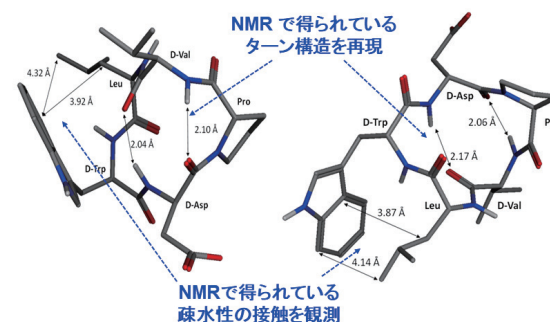


図3. LowModeMDによる配座解析の結果。左は最安定配座、右は11番目に低いエネルギーを持つ配座。数字はNMRで得られた結果に対応する原子間距離。

## ■環状ペプチドの安定性予測

ペプチドやタンパク質はさまざまな化学的修飾を受け可能性があります。化学的修飾は、側鎖の機能変化や高次構造変化を伴い、標的との相互作用や安定性に影響を

及ぼします。糖鎖の修飾は、ペプチドの凝集性の低下や溶解性の向上に繋がります。MOEを用いて、アミノ酸配列モチーフと原子の溶媒露出度より表1のような修飾部位が検出できます。NMRで構造決定されたIGF-1アンタゴニストの20配座について修飾部位を検出すると、立体配座により修飾の影響が異なることがわかりました(図4)。

表1. 予測できる化学的修飾部位リスト

Met, Cys, Trpの酸化	Aspの異性化	Asnの脱アミド化
Gluのピロロール化	N結合糖鎖修飾	細胞接着モチーフ
ペプチド結合切断モチーフ (35種のタンパク質分解モチーフ)		

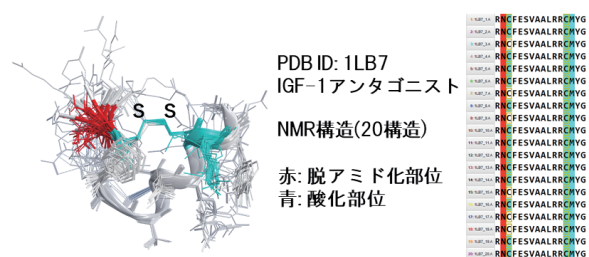


図4. MOEを用いた化学的修飾部位の検出。化学的修飾部位の検出にはBio-MOE<sup>2)</sup>を使用。

## ■ 環状ペプチドの膜透過性予測

ペプチドは細胞膜透過性の問題がしばしば起こります。ここではQSPRモデルによる膜透過性予測を検討しました。6から7残基の11種の環状ペプチド配列<sup>3)</sup>を用いました。LowModeMDを用いてクロロホルム中(誘電率4.8)での配座を多数発生し、各配座について計334種類の2Dおよび3D記述子を計算しました。人工膜透過性試験(log*P*<sub>e</sub>)の結果を目的変数として、MOE-AutoQuaSAR-GAにより記述子を組み合わせながら予測モデルの自動構築を行いました。図5は構築したモデルから得られた予測値と実験値との相関図です。二面角エネルギー(*E*<sub>tor</sub>)と溶媒和相互作用エネルギー(*E*<sub>sol</sub>)の2つの記述子から予測性の高いモデル(*r*<sup>2</sup>は0.85, 交差検定済み*r*<sup>2</sup>は0.76)が得られました。このモデル以外にも同精度のモデルが多数得られており、記述子の出現頻度より原子間相互作用エネルギー記述子や、ADME予測に最適なVolSurf記述子がこの分子系においては重要であることがわかりました。

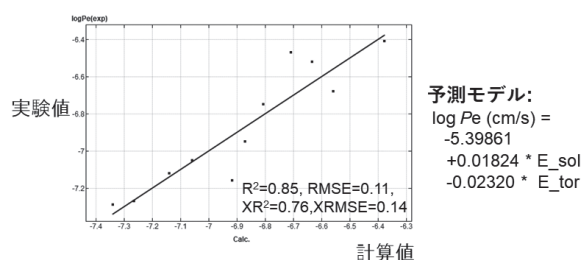


図5. 膜透過性の実験値と予測値の相関図

## ■ 環状ペプチドの相互作用解析

MOEのProtein Design機能は、受容体との相互作用解析や新規ペプチド設計に適用できます。

ここでは、PDB ID: 4Q1Qで登録されているhuPA-H99Yとその阻害剤である環状ペプチド(名称: Mupain-1, 配列: CPAYSRYLDC)を用いました<sup>4)</sup>。受容体には親水性のS1ポケットが存在し、Mupain-1のアルギニンがS1ポケット中の原子と主に水素結合で相互作用しています。Protein Designを用いてこのアルギニンをアラニンに変異させ、受容体と阻害剤間の相互作用エネルギーを評価しました(図6左)。Mupain-1の変異前と変異後の相互作用エネルギー差をΔ*Affinity*で評価します。R2Aに変異させたMupain-1のΔ*Affinity*は+18.0 kcal/molで、相互作用は低下しました。実験でもR2Aへの変異により*K*<sub>i</sub>値は、15.3 μMから1000 μMになり活性は低下しています。

同様にProtein Designを用いて、同じアルギニンを特殊アミノ酸である4-GPAに変異させました(図6右)。4-GPAはアルギニンと同様の水素結合を形成しそのΔ*Affinity*は-9.0 kcal/molで、相互作用は増加しました。実験による*K*<sub>i</sub>値も、15.3 μMから1.86 μMとなり活性は増加しました。どちらの変異体構築の結果も実験と同様の結果を得ることができました。

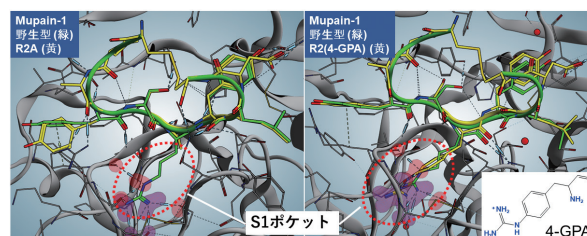


図6. huPA-H99YとMupain-1の複合体と変異体の相互作用解析。緑が野生型、黄が変異体の各構造。

## ■ MOE フォーラム 2019 開催告知

7月24日(水)にMOEフォーラム2019を開催いたします。開発元からのMOEの最新機能とユーザーからのMOEの活用事例の紹介の他に、本記事の環状ペプチドにおける解析事例も紹介します。詳細はウェブページ<sup>5)</sup>をご参照ください。皆様のご参加をお待ちしております。

- 1) MPL-Builderをご希望の方は弊社までご連絡ください。
- 2) [https://www.molsis.co.jp/wp-content/themes/molsis/pdf/moe\\_biomoe.pdf](https://www.molsis.co.jp/wp-content/themes/molsis/pdf/moe_biomoe.pdf)
- 3) Rezai, T.; *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14073-14080.
- 4) Zhao, B.; *et al. PLOS ONE* **2014**, *9* (12): e115872
- 5) [https://www.molsis.co.jp/seminar/moe\\_forum2019/](https://www.molsis.co.jp/seminar/moe_forum2019/)