

フラグメント分子軌道法を用いたファーマコフォア モデリングとバーチャルスクリーニングへの応用

著者	吉野 龍ノ介
学位授与年月日	2017-03-23
URL	http://doi.org/10.15083/00075808

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉野 龍ノ介

本論文は、1999 年に提唱されたフラグメント分子軌道法 (Fragment Molecular orbital: FMO) を用いたファーマコフォアモデリングの提案についての論文である。FMO 法は、生体高分子などの巨大な系に対して分子軌道法によるエネルギー計算を実行する手法であり、タンパク質とタンパク質のアミノ酸残基と結合している低分子の間の相互作用エネルギーを求めることができる。

本論文の目的は、活性化化合物の構造情報のみを使用した従来のファーマコフォアモデリングの問題点を解決するため、FMO 法による相互作用解析に基づいたファーマコフォアモデリングを行うことである。また、従来のモデリング、及び分子力学法 (Molecular mechanics: MM) による相互作用解析との比較を行い、FMO の有用性についての検討も行っている。申請者は寄生性の原虫である *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) のジヒドロオロト酸脱水素酵素 (dihydroorotate dehydrogenase: DHODH) と阻害剤の複合体構造 43 種に対して FMO 法による相互作用解析に基づいたファーマコフォアモデリングの検討を行っている。さらに、*T. cruzi* のスペルミジン合成酵素 (spermidine synthase: SpdSyn) と既知阻害剤に対しても同様にファーマコフォアモデリングを行い、ファーマコフォアに適合した化合物の阻害能を *in vitro* 試験によって評価を行う応用に関する報告も含めて本論文を完成させている。

第 1 章では序論として、ドッキングシミュレーションやファーマコフォアモデリングなどのインシリコスクリーニングの概要や、標的タンパク質である TcDHODH と TcSpdSyn についての知見をまとめている。

第 2 章では分子力学と量子化学についての計算原理を記している。

第 3 章ではファーマコフォアモデリングを行うための計算手法について記している。

第 4 章と第 5 章は、結果について述べている。まず第 4 章では、TcDHODH と既知阻害剤の複合体構造 43 種に対して FMO 法による相互作用解析を実行し、それらの結果をもとにファーマコフォアモデリングを行っている。相互作用解析を行った結果、すべての化合物で Lys43 との塩橋、Asn67 と Asn194 との水素結合、DHODH の補因子であるフラビンモノヌクレオチド (flavin mononucleotide: FMN) との π スタッキングが共通して確認され、43 種の阻害剤のうち、5 化合物に Lys214 との相互作用が確認された。これらの相互作用を形成する部位は TcDHODH に結合し、反応を阻害するために重要な箇所であるといえるため、これらの相互作用を形成する部位をファーマコフォアとして定義している。さらに 4 章では、活性化化合物の構造情報のみを使用する従来のファーマコフォアモデリン

グとの比較を行っている。活性化合物の構造の重ね合わせモデルから定義されたファーマコフォアと、FMO法の相互作用解析に基づいて定義されたファーマコフォアの比較を行ったところ、従来の方法ではLys214と相互作用を形成していた官能基がファーマコフォアとして定義されないため、Lys214のファーマコフォアは活性化合物の構造情報だけではなく、標的タンパク質の構造情報を併用したことによって定義されたファーマコフォアであるといえる。また、生体高分子などのエネルギー計算に一般的に用いられるMM法とFMO法の相互作用エネルギーの比較を行ったところ、MM法では水素結合や π スタッキングなどの相互作用エネルギーは高く、塩橋などの静電的な相互作用エネルギーは低く見積もることが判明した。このことは、分子内の分極や、 π 電子などの量子化学的な要素を考慮しなければならない相互作用エネルギーは、FMO法による量子化学計算が有効であることを示している。

第5章では、FMO法を用いたファーマコフォアモデリングを応用したTcSpdSynの新たな阻害剤の取得を行っている。TcSpdSynと既知阻害剤のX線結晶構造に対してFMO法による相互作用解析を行ったところ、既知阻害剤はTcSpdSynのAsp171、Gln201、Tyr237と相互作用を形成していたため、それらのアミノ酸残基と相互作用していた既知阻害剤の官能基をファーマコフォアとして定義し、ファーマコフォアモデリングを行っている。モデリングしたファーマコフォアに、約480万個の候補化合物のアライメントを行ったところ、13,882化合物が適合し、また、利用可能な37化合物の*in vitro*アッセイ試験を行ったところ、3化合物が阻害活性を示し、IC₅₀の値が決定されている。

第6章では、総括として本研究全体をまとめている。

以上、本研究はFMO法を用いたファーマコフォアモデリングについて、タンパク質と低分子間の相互作用レベルでの詳細な考察に基づいて数多くの成果を産み出した。また本研究はファーマコフォアのモデリングに限らず、新規阻害剤の取得にも成功しているため、学術的な意義・重要性は非常に高いものであると認める。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。