



SAR News No.32

「目次」

//// 藤田稔夫先生 薬学会功労賞ご受賞 ////

中川好秋 … 1

//// Perspective/Retrospective ////

抗ウイルス性酵素 RNase L とその活性化因子 2-5A

北出幸夫 … 2

//// Cutting Edge ////

RNase L における酵素活性化機構解明を目指した構造生物学的研究

田中信忠 … 10

エネルギー表示法を用いた蛋白質複合体ドッキングモデルの結合性評価

竹村和浩、北尾彰朗 … 19

//// SAR Presentation Award ////

2016 年度選考結果について … 26

受賞コメント … 27

授賞講演要旨 … 28

//// Activities ////

<報告>

第 44 回構造活性関連シンポジウム 開催報告 … 34

<会告>

構造活性フォーラム 2017

「PPI 阻害をターゲットとする中分子医薬開発戦略」 … 41

第 45 回構造活性関連シンポジウム … 43

//// 藤田稔夫先生が日本薬学会功労賞を受賞されました ////



授賞式での藤田先生：薬学会新会頭の奥直人先生（左）と。
2017年3月24日仙台 写真は薬学会広報部のご厚意による。

京都大学名誉教授・藤田稔夫先生は Hansch 先生（故）とともに、半世紀以上前に、生理活性の変化を薬物の種々の物理化学的性質（電子的性質、疎水的性質、立体的性質）によって定量的に解析するという定量的構造活性相関(QSAR)法を開発し、1962年 Nature 誌、1964年にアメリカ化学会誌に発表されました。特に 1964 年の 2 論文は数多く引用され、Institute of Scientific Information (Philadelphia)によって“Citation Classics”に選ばれています。

Hansch 研究室から帰国された藤田先生は、「構造活性相関懇話会」を 1975 年に設立され、学術シンポジウム、解析手法などの講習会の定期的開催、出版事業、会誌の発行などの活動を行なわれました。この懇話会が、1995 年に「構造活性相関研究会」へと発展し、さらに 2002 年に本部会（日本薬学会構造活性相関部会）となりました。

このたび、部会として日本薬学会功労賞に推薦いたしましたところ、昨年 11 月に授賞が決定し、去る 3 月 24 日に仙台で開催された日本薬学会第 137 年会で平成 29 年度功労賞を受賞されました。ご受賞をお祝い申し上げます。また先生の偉大なご業績に敬意を表するとともに長年にわたる本分野へ御貢献にも深く感謝申し上げます。

（部会長 中川好秋）

///// Perspective/Retrospective /////

抗ウイルス性酵素 RNase L とその活性化因子 2-5A

愛知工業大学 北出 幸夫

1. はじめに

新型インフルエンザ、後天性免疫不全症候群 (AIDS)、C 型肝炎など様々なウイルス感染症の流行が社会問題となっている。このような病原体からの防御機構として、獲得免疫系と自然免疫系がある。獲得免疫系は、脊椎動物にしか存在しない免疫系であり、主として T 細胞や B 細胞が抗原を非自己と認識する抗原特異的な免疫反応であり、この獲得免疫系を利用してワクチンが開発されている。一方、自然免疫系は、非特異的な免疫反応であり先天的な免疫機構である。近年、自然免疫系にウイルス等の病原体を認識する受容体として Toll 様受容体 (TLR; Toll-like receptor) と RIG-I 様ヘリカーゼ (RLH; RIG-I-like helicase) が同定され、免疫系を賦活することが判ってきた。

自然免疫において重要な役割を担っているのが I 型インターフェロン (IFN) である。細胞から分泌された I 型 IFN は、細胞表面に発現している IFN 受容体に結合し 2-5A 合成酵素 (OAS; 2', 5'-oligoadenylate synthetase) やプロテインキナーゼ (PKR; protein kinase R) の発現を誘導することで、細胞を抗ウイルス状態にする。OAS や PKR は、恒常的に低レベルで発現しており、I 型 IFN の誘導に伴い発現レベルが上昇する。さらに OAS や PKR は、抗ウイルス応答を引き起こすウイルス性二本鎖 RNA に特異的なパターン認識受容体 (PRR; pattern recognition receptor) であることが明らかとなっている。

2. 2-5A システムとは

OAS の発現誘導は、2-5A システムといわれる先天性免疫応答につながっている。OAS は、二本鎖 RNA により活性化され、活性化された OAS は、ATP から 2', 5'-ホスホジエステル結合を有する 2', 5'-オリゴアデニル酸 (2-5A) (2-5A trimer (1) : ppp5'A2'p5'A2'p5'A および 2-5A tetramer (2) : ppp5'A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) を合成する (Fig. 1)。

2-5A は、不活性型 RNase L (Ribonuclease latent) と結合し、構造変化を誘導することで RNase L が二量化し活性型となる。RNase L の二量化と活性化には、RNase L と 2-5A が 1 : 1 の割合で結合することが必須である。活性型 RNase L は、ウイルス一本鎖 RNA の UpU、UpA 配列を主に認識して切断することで、タンパク質の合成を阻害する。

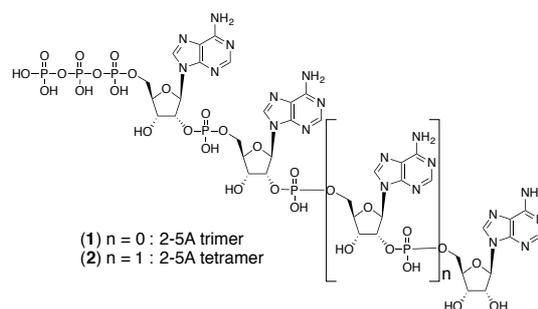


Fig. 1 2-5A (1,2) の構造

2.1 2-5A の構造と機能

Kerr らによって 1978 年にインターフェロン処置したマウス L 細胞抽出液から 2-5A が発見され、その構造が明らかにされた[1]。通常のオリゴヌクレオチドが 3', 5'-ホスホジエステル結合で連結しているのに対し、2-5A は 2', 5'-ホスホジエステル結合で連結した特異な構造を有する。マウス L 細胞抽出液を用いた無細胞系において、2-5A の 3 量体トリリン酸体 (1)、4 量体トリリン酸体 (2) は、ほぼ同等のタンパク質合成阻害活性を有するが、2 量体トリリン酸体 (ppp5'A2'p'5A) は約 10 倍

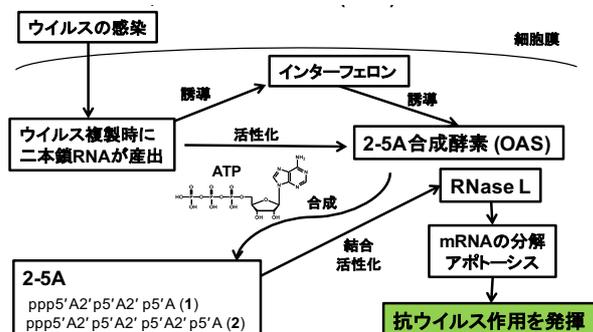


Fig 2. 2', 5'-オリゴアデニル酸(2-5A)システム

活性が低下すると報告されている[1, 2]。さらに 5'-末端リン酸残基の必要性を検討したところ、5'-トリリン酸体、5'-ジリン酸体は、同等の RNase L 活性化能を示すものの、5'-モノリン酸体では活性化能が 10000 倍低下した[3, 4]。1994 年 Dong らによって、ヒト遺伝子組換え型 RNase L が作製され、5'-末端がモノリン酸体である 2-5A 3 量体 (p5'A2'p5'A2'p5'A) が、対応する 5'-トリリン酸体 (ppp5'A2'p5'A2'p5'A) と同等の RNase L 活性化能を有することが明らかにされた[5]。しかし、2-5A コアとよばれる 5'-末端のリン酸残基欠損体 (A2'p5'A2'p5'A、A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) は、2-5A 5'-モノリン酸体 (p5'A2'p5'A2'p5'A (5)、pA2'p5'A2'p5'A2'p5'A) と比較して、それぞれ 100 倍、10 倍以上に RNase L 活性化能が低下する[5,6]ことから、RNase L 活性化には 5'-末端リン残基が必須であることが示されている。すべての 2',5'-ホスホジエステル結合を 3',5'-ホスホジエステル結合に置き換えた 3-5A 誘導體 (ppp5'A3'p5'A3'p5'A) では、RNase L との結合能を示さず、さらに 5'-末端から 1 つ目、2 つ目をそれぞれ 3',5'-ホスホジエステル結合に変換した 3-5A 誘導體 (ppp5'A3'p5'A2'p5'A, ppp5'A2'p5'A3'p5'A) では 100 倍以上 RNase L との結合能が低下すると報告されている。この結果は、RNase L が、2', 5'-ホスホジエステル結合を厳密に認識し結合していることを示唆している[7]。2-5A の塩基部の重要性は、イノシン(I)を導入した各種 2-5A 誘導體の合成研究から明らかとなっている。5'-末端側から最初の

アデノシンをイノシンで置き換えた誘導體 (ppp5'I2'p5'A2'p5'A) では、RNase L との結合活性が大きく変化する。しかし 2 番目、3 番目のアデノシンを置換した 2-5A 誘導體 (ppp5'A2'p5'I2'p5'A, ppp5'A2'p5'A2'p5'I) では、天然型 2-5A と同等の結合能力を有するこ

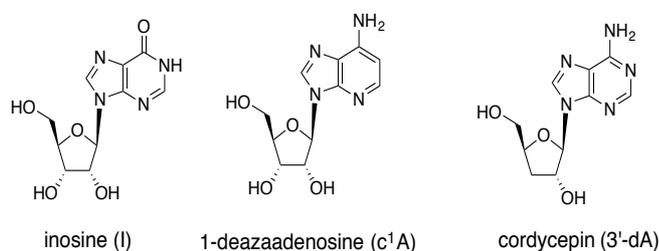


Fig. 3 修飾アデノシン誘導體の構造

とが判っている。これら 3 つの 2-5A 誘導體の中では、ppp5'A2'p5'A2'p5'I が天然型 2-5A と同

等の結合能を有するが、RNase L 活性化能は 10000 倍減弱する。1 番目のアデノシン、特に *N*-6 位アミノ基は RNase L との結合に、3 番目のアデノシンは RNase L の活性化に重要である [8,9] ことが示されている (Fig. 3,4)。さらに 1 番目のアデノシンを 1-デアザアデノシン(c1A)に変換した 2-5A 誘導體(p5'(c1A)2'p5'A2'p5'A)でも同様に RNase L 結合能力の低下 [10]が確認されている。

2-5A の糖部水酸基の重要性についても報告されている。3'-デオキシアデノシン (3'dA; cordycepin) を用いて、5'-末端側から 1 番目の糖部 3'-水酸基を除去した 2-5A 誘導體 (ppp5'(3'dA)2'p5'A2'p5'A) では、天然型 2-5A とほぼ同等の RNase L 結合能力を有するものの、RNase L の活性化能は 3 倍低下する。しかし、2 番目の糖部 3'-水酸基を除去した誘導體 (ppp5'A2'p5'(3'dA)2'p5'A) では、結合能力の低下と 500-1000 倍の重大な RNase L 活性化能の低下が観察されている [11]。

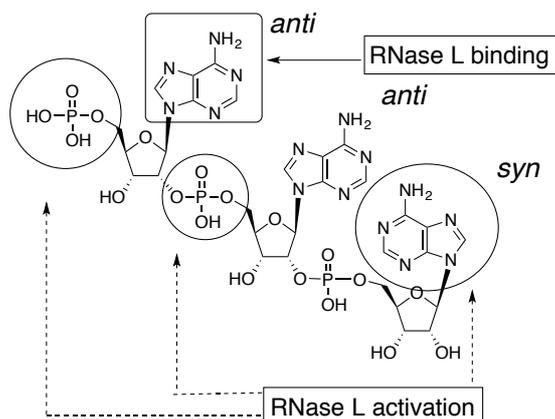


Fig. 4 2-5A (5) の構造活性相関

上記結果から、RNase L の結合には 5'-末端のアデニン塩基が不可欠であること、

活性化には 5'-末端モノリン酸基、3 つ以上のアデノシンヌクレオチド、2', 5'-ホスホジエステル結合、5'-末端から 2 番目のアデノシンの 3'-水酸基、5'-末端から 3 番目のアデニン塩基が重要であることが明らかとなっている (Fig. 4)。

一方、P. F. Torrence らにより 8-ブロモアデノシン(br⁸A) を導入した 2-5A 誘導體が各種合成され、その中で 8-ブロモアデノシン が 5'-末端から数えて 3 番目の位置に導入された pppApAp(br⁸A) に強い RNase L 活性化能が見出されている。ヌクレオチドを用いた研究で、アデノシン 8 位にバルキーな置換基を導入すると *syn*-配座が優先することはよく知られている。3 番目のアデノシンが *syn*-配座をとりやすくしたことが活性化の増強に関与しているものと考えられた。

そこで、我々は先ず 2-5A の 3 番目のアデノシンが *syn*-配座をとることで RNase L を活性化しているかどうか化学的手法を用いて確認することにした。すなわち、様々な置換基をアデノシン 8 位及び 2 位に導入して、ヒト遺伝子組換え RNaseL を用いてこれらの活性化能を評価した。

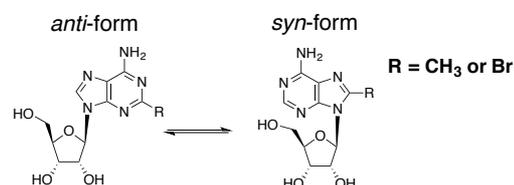


Fig 5 アデノシンの *anti*-配置と *syn*-配置

その結果、2-5A trimer モノリン酸体 (5: pApApA) の活性化能を基準に比較すると、2 位に臭素基を導入した pApA(br²A) (6)では 0.17 倍、メチル基を導入した pApA(me²A) (7)では 0.21 倍の活性化能の低下を確認した。2 位への置換基の導入はそのアデノシンの *anti*-配座を優勢にすると考えられるが、いずれの誘導體でも活性化能の減弱が認められた。一方、アデノシン 8 位

に臭素基、メチル基を導入した pApA(br⁸A) (4)では 33 倍、pApA(me⁸A) (3)では 3.5 倍の活性能の増強を示したことから、*syn*-配座の安定化が明らかに RNase L の活性化能を増強することを確認した。

しかし、Table 1 に示すようにメチル基よりバルキーなエチル基、メトキシ基、ブトキシ基を導入した 2-5A 誘導体 (pApA(et⁸A) (8)、pApA(meO⁸A) (9)、pApA(buO⁸A) (10)) では、RNase L との結合に障害をきたすためか、明らかな活性化能の減弱が認められた。すなわち、酵素との結合に適したサイズを有する臭素やメチル基を 8 位に置換したアデノシンを 3 番目に有する 2-5A 誘導体(3, 4)が RNase L を強く活性化することが判った[12-14]。また、これら 2-5A 誘導体はヌクレアーゼ耐性も示したことから、将来 2-5A の医薬品への展開を考えた場合に優れた化学修飾法になると考えられた。

2.2 ヒト RNase L の構造と機能

ヒト RNase L は、741 アミノ酸からなる約 84 kDa のタンパク質であり哺乳類細胞に広く発現している。RNase L は、*N*-末端アンキリンリピートドメイン(ANK)、プロテインキナーゼ様ドメイン、*C*-末端リボヌクレアーゼドメインの 3 つのドメインからなっている。*N*-末端アンキリンリピートドメインは、8 つの完全な、1 つの部分的なアンキリンリピート(R1~R9)からなっている。

R7 と R8 にはグリシン、リジン、スレオニン修飾がある (Fig. 6)。我々の研究グループでは、X 線結晶構造解析を念頭に大腸菌を用いて発現したヒト遺伝子組換え RNase L を作成した。その結晶化は困難を極めたが、2004 年に昭和大学の田中信忠博士らとの共同研究で、RNase L の *N*-末端アンキリンリピートドメインと 2-5A との複合体の X 線結晶構造解析 (Fig. 7) に成功し、ANK と 2-5A の結合様式を明らかにした [12-14]。2-5A は、ANK の 2 番目から 4 番目のアンキリンリピートドメインに結合し、4 番目と 5 番目のドメインの間に挿入されている α -ヘリックス (α I-helix) 構造が、2-5A の 5'-末端リン酸基と相互作用している。ANK の 60 番目のト

Table 1. 2-5A 誘導体によるヒト遺伝子組換え RNase L 活性化

2-5A	EC ₅₀ ^{a)} (nM)	Relative activity
pApApA (5)	6.6	1.0
pApAp (br ² A) (6)	40.0	0.17
pApAp (me ² A) (7)	31.0	0.21
pApAp (br ⁸ A) (4)	0.2	33.0
pApAp (me ⁸ A) (3)	1.9	3.5
pApAp (et ⁸ A) (8)	16.0	0.41
pApAp (meO ⁸ A) (9)	11.0	0.6
pApAp (buO ⁸ A) (10)	23.0	0.28

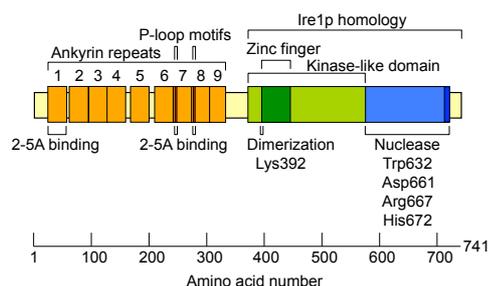


Fig. 6 RNase L の構造と機能

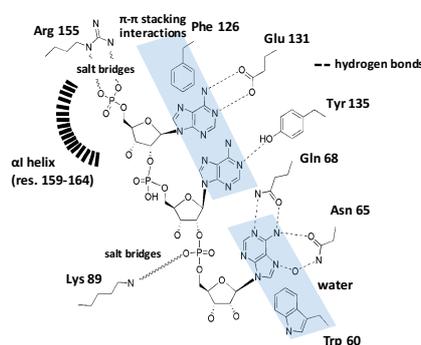


Fig. 7 ANK と 2-5A の結合様式

リプトファン (Trp60)、126 番目のフェニルアラニン (Phe126) は π - π スタッキング相互作用で、89 番目のリジン (Lys89) と 155 番目のアルギニン (Arg155) は静電相互作用で、65 番目のアスパラギン (Asn65)、68 番目のグルタミン (Gln68)、131 番目のグルタミン酸 (Glu131) と 135 番目のチロシン (Tyr135) は水素結合で、2-5A と相互作用している。特に Trp60 と Phe126、Lys89 と Arg155、Glu131 を変異させると、RNase L の活性化能力を失う。さらに、2-5A の 5'-末端から 3 番目のアデノシンが *syn*-配座をとっていること、7 番目から 9 番目のアンキリンリピートドメインが RNase L の構造安定性に重要な寄与をすることが示された[15-17]。

RNase L のリボヌクレアーゼドメインは C-末端側にある (Fig 6)。その上流にはプロテインキナーゼ様ドメインがあるが、このプロテインキナーゼ様ドメインの 392 番目のリジンをアルギニンに置換する (K392R) と、RNA の分解活性は減弱する。プロテインキナーゼ様ドメインと ATP・ADP との結合活性が低下すると、RNase L の二量体形成能が減少するためか、またはタンパク質構造や運動性に影響を与えるため、プロテインキナーゼ様ドメインの点変異が RNase ドメインの触媒活性の低下をもたらすと考えられる。また、632 番目のトリプトファン (Trp632)、661 番目のアスパラギン酸 (Asp661)、667 番目のアルギニン (Arg667) と 672 番目のヒスチジン (His672) は基質 RNA の分解に関与し、712 番目のチロシン (Tyr712) と 716 番目のフェニルアラニン (Phe716) は基質 RNA の結合と分解に重要であることが明らかとなっている。

2-5A と N-末端アンキリンリピートドメインの複合体 X 線結晶構造解析の結果は、それまで報告されていた RNase L の活性化や結合に必要な 2-5A の部位に関する知見を裏付けるものであった。さらに RNase L への部位特異的変異導入体を用いたアミノ酸の機能解析は、新規な RNase L 活性化剤の創製に向けて重要な知見となる事が期待される。近年、全長 RNase L の X 線結晶構造解析に成功したとの報告[18]があったが、この点に関する詳細は田中信忠先生による Cutting Edge を参考にして頂きたい。このように 2-5A による RNase L との結合・活性化や RNA 配列特異的切断などかなりの点が X 線結晶構造解析を用いた構造生物学的手法から分かってきたが、今後さらなる詳細な解明と創薬への応用展開が待たれる。

3. 8-Methyladenosine 導入による高機能化 : *Syn*-配座は RNase L との結合を強化

先に述べたように、2-5A と RNase L の N-末端複合体 ANK との X 線結晶構造解析から、2-5A の 5'-末端から 3 番目のアデノシンは *syn*-配座をとっていることが明らかになった[11]。

我々が開発した 3 番目のアデノシンの 8 位にメチル基やブロモ基を導入した 2-5A

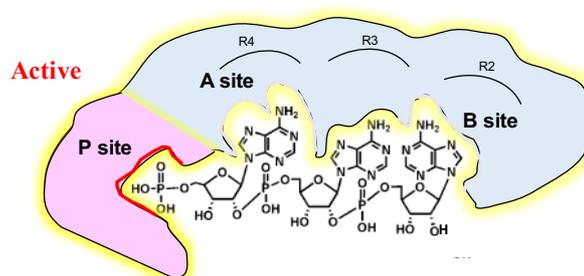


Fig. 8 2-5A の 3 番目のアデノシンは *syn*-配置で活性化

誘導体では、この3番目のアデノシンが優先的に *syn*-配座をとることで、天然型 2-5A より RNase L の B サイトとの結合活性が増加し、構造変化を強く引き起こすことで、RNase L に対する活性化能を増強したものと考えられる [12]。

天然型 2-5A モノリン酸体 (p5'A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) やその誘導体は、ホスホアミダイト固相合成法により DNA / RNA 自動合成機を用いて容易に合成できる。種々の 2-5A 誘導体の RNase L 活性化能を解析した結果、5'-末端リン酸基が欠損した誘導体である 2-5A コア 4 量体 (A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) (11) は、予想通り RNase L 活性化能を全く示さなかった。しかし、予想に反して 4 番目のアデノシン 8 位にメチル基を導入した 8-メチルアデノシン置換 2-5A コア誘導体 (A2'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A)) (12) は、天然型 2-5A (p5'A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) より強い RNase L 活性化能を示した。誘導体 12 が高い RNase L 活性化能を示すのは、天然型 2-5A とは異なる活性化様式が存在するためと考えられた。誘導体 12 では、8 位メチル化により 2'-末端のアデノシン残基の *syn*-配座が優勢になることで、この 2'-末端アデノシンが ANK との結合に最も強く寄与するものと考えた。すなわち、2'-末端アデノシンと ANK の B サイトとの間で強く相互作用が生じ、さらに 5'-末端側のホスホジエステル結合部位が ANK の P サイトに結合することで、RNase L 活性化につながる構造変化を引き起こしたものと推察した[19]。この考え方が正しいならば、2'-末端塩基部 8 位への化学修飾は、ANK に対する 2-5A 結合部位のシフトを誘起することが示唆された。加えて、5'-末端部位への化学修飾によりヌクレアーゼ耐性の向上も見込まれたことから、天然型 2-5A より安定な 2-5A 誘導体創製の可能性があるものと考えられた。特に 5'-末端の極性が高いリン酸基が欠損しても RNase L 活性化能を有したことは、脂溶性の増大による膜透過性が向上した 2-5A 誘導体の創製につながる知見である。

2-5A コア体 (A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) (11) が RNase L 活性化能を全く示さず、8 位メチル体 (A2'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A)) (12) が、天然型 2-5A より高い RNase L 活性化能を示したことから、p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A) 部位の 5'-末端に様々な化合物を導入することが可能と考えられた。そこで、ピリミジン塩基を有するウリジンの導入を検討したところ、U2'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A) は強い RNase L 活性化能を示した。一方、その 3',5'-結合異性体である U3'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A) は全く活性化能を示さなかった。この結果は、RNase L との結

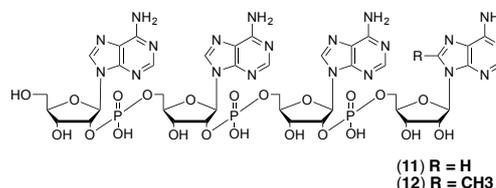


Fig. 9 4 番目に 8-methyladenosine を導入 2-5A (12) は強い活性化作用を示す。

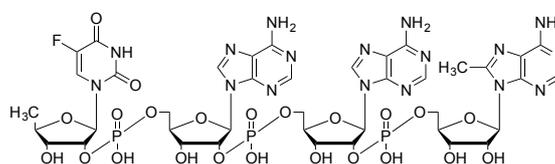


Fig. 10 Doxifluridine-conjugated 2-5A analog (13)

えられた。そこで、ピリミジン塩基を有するウリジンの導入を検討したところ、U2'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A) は強い RNase L 活性化能を示した。一方、その 3',5'-結合異性体である U3'p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A) は全く活性化能を示さなかった。この結果は、RNase L との結

合に p5'A2'p5'A2'p5' (me⁸A) 部分に関与するだけでなく、結合や活性化に直接関与しないと考えられた 5'-末端ウリジン残基との結合様式も重要であることが示唆された。そこで、p5'A2'p5'A2'p5'(me⁸A)部位の 5'-末端に抗がん活性を有する doxifluridine を導入した 2',5'-リン酸結合を有するハイブリッド体 (13)を合成した。このハイブリッド体 (13)には、doxifluridine の抗がん活性と 2-5A システムによる生体防御システムの増強による相乗効果が期待される。実際、ハイブリッド体 (13)は、p5'A2'p5'A2'p5'A2'p5'A (EC₅₀= 12.9 nM) よりも約 30 倍 (EC₅₀= 0.45 nM) もの優れた RNase L 活性化能を示すとともに、HeLa 細胞の増殖抑制も示した[20]。HeLa 細胞増殖抑制活性は、Doxifluridine 単独よりは若干弱いものの、全く HeLa 細胞増殖抑制活性を有しない 2-5A (p5'A2'p5'A2'p5'A2'p5'A) と比べてはるかに強い抗がん活性を示した。

5. おわりに

現在 siRNA や miRNA が RNA 医薬として注目を浴びているが、2-5A は生理活性を有する短鎖 RNA の先駆けと考えられる。現在、核酸医薬を実現するために DDS 技術の目覚ましい進展があることから、我々の得た知見が近い将来 2-5A 分子を用いた医薬品の開発に繋がることを期待して本稿を終わりたい。

謝辞

岐阜大学工学部において共同研究者としてご協力頂きました中西雅之博士(現・松山大学薬学部准教授)並びに喜多村徳昭博士(岐阜大学工学部助教)に心からの謝意を表します。また、北出研究室に所属された諸氏に心から感謝致します。X線結晶構造解析を粘り強く担当して下さいました田中信忠博士(昭和大学薬学部准教授)に深謝致します。本稿の作成にご協力頂きました愛知工業大学の森(中島)礼美特任研究員並びに小縣綾特任研究員にお礼申し上げます。

参考文献

- [1] Kerr, I. M.; Brown, R. E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 256-260 (1978).
- [2] Cayley, P. J., Davies, J. A., McCullagh, K. G., Kerr, I. M. *Eur. J. Biochem.*, **143**, 165-174 (1984).
- [3] Torrence, P. F. Imai, J. Johnston, M. I. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 5993-5997 (1981).
- [4] Martin, E. M., Birdsall, N. J. M., Brown, R. E., Kerr, I. M. *Eur. J. Biochem.*, **95**, 295-307 (1979).
- [5] Dong, B., Xu, L., Zhou, A., Hassel, B. A., Lee, X., Torrence, P. F., Silverman, R. H. *J. Biol. Chem.*, **269**, 14153-14158 (1994).
- [6] Dong, B., Silverman, R. H. *J. Biol. Chem.*, **270**, 4133-4137 (1995).
- [7] Lesiak, K., Imai, J., Floyd-Smith, G., Torrence, P. F. *J. Biol. Chem.*, **258**, 13082-13088 (1983).
- [8] Imai, J., Lesiak, K., Torrence, P. F. *J. Biol. Chem.*, **260**, 1390-1393 (1985).
- [9] Lesiak, K., Torrence, P. F. *J. Biol. Chem.*, **262**, 1961-1965 (1987).
- [10] Player, M. R., Kalinichenko, E. N., Podkopaeva, T. L., Mikhailopulo, I. A., Seela, F., Torrence, P. F. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **245**, 430-434 (1998).
- [11] Torrence, P. F., Brozda, D., Alster, D., Charubala, R., Pfeleiderer, W. *J. Biol. Chem.*, **263**, 1131-1139 (1988).
- [12] Kitade, Y., Nakata, Y., Hirota, K., Maki, Y., Pabuccuoglu, A., Torrence, P. F. *Nucleic Acids Res.*, **19**, 4103-4108 (1991).
- [13] Kitade, Y., Wakana, M., Terai, S., Tsuboi, T., Nakanishi, M., Yatome, C., Dong, B., Silverman, R. H., Torrence, P. F. *Nucleosides Nucleotides.*, **17**, 2323-2333 (1998).

- [14] Kitade, Y., Wakana, M., Tsuboi, T., Yatome, C., Bayly, S. F., Player, M. R., Torrence P. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 329-331 (2000).
- [15] Tanaka, N., Nakanishi, M., Kusakabe, Y., Goto, Y., Kitade, Y., Nakamura, K. T. *EMBO J.*, **23**, 3929-3938 (2004).
- [16] Nakanishi, M., Goto, Y., Kitade, Y. *Proteins*, **60**, 131-138 (2005).
- [17] Yoshimura, A., Nakanishi, M., Yatome, C., and Kitade, Y. *J. Biochem.*, **132**, 643-648 (2002).
- [18] Han, Y., Donovan, J., Rath, S., Whitney, G., Chitrakar, A., Korennykh, A., *Science*, 343, 1244-1248 (2014).
- [19] Nagaoka, K., Kitamura, Y., Ueno, Y., Kitade, Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 1186-1188 (2010).
- [20] Kitamura, Y., Kito, S., Nakashima, R., Tanaka, K., Nagaoka, K., Kitade, Y., *Bioorg. Med. Chem.*, **24**, 3870-3874 (2016).

//// Cutting Edge ////

RNase L における酵素活性化機構解明を目指した 構造生物学的研究

昭和大学薬学部 田中 信忠

1. はじめに (起)

インターフェロン (IFN, interferon) は、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用など様々な生理活性を示すサイトカインとして広く知られており [1]、その発見 [2]、遺伝子配列決定 [3, 4]、立体構造解析 [5] という極めて重要なステップが日本人研究者によって成し遂げられていることも特筆に値する。IFN が細胞膜上の受容体に結合することで、JAK/STAT 経路と呼ばれるシグナル伝達経路を介し ISGs (interferon-stimulated genes) のような様々な遺伝子の転写が活性化される (図 1)。IFN の作用は主として ISG によってコードされるタンパク質に司られており、一例を挙げると、PKR (double-stranded RNA-activated protein kinase)、2-5OAS (2',5'-linked oligoadenylate synthetase) および Mx proteins 等に関する研究が数多く報告されている [1]。

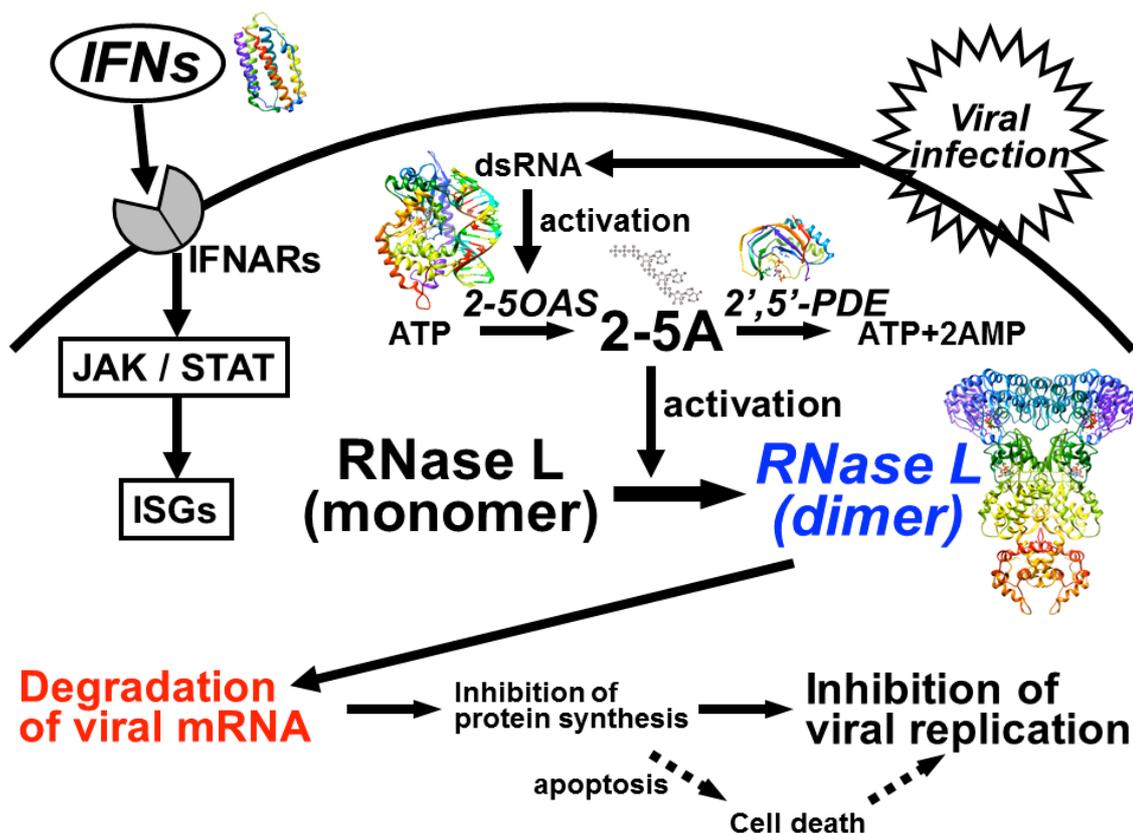


図 1. インターフェロンにより誘導される 2-5A システム。

図中の略号 : IFN, interferon (PDB ID: 1AU1); ISGs, interferon-stimulated genes; OAS, oligoadenylate synthetase (PDB ID: 4IG8); PDE, phosphodiesterase (PDB ID: 4YE2); RNase L, ribonuclease L (PDB ID: 4OAU); 2-5A, 2',5'-linked oligoadenylate

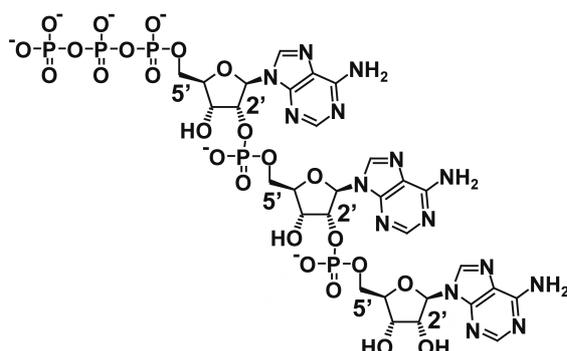


図 2. 2-5A (2',5'-linked oligoadenylate) の構造。

IFN による抗ウイルス作用の一つとして、「2-5A システム」と呼ばれるウイルス由来 RNA の切断経路が知られている (図 1) [6, 7]。2-5A システムでは、以下の流れでウイルス由来 RNA を切断し、抗ウイルス作用を発揮する。(i) ウイルス由来二本鎖 RNA (dsRNA) が ISG 産物の一つである 2-5OAS を活性化する。(ii) 活性化された 2-5OAS が ATP から 2-5A (2',5'-linked oligoadenylate、図 2) を合成する。(iii) 2-5OAS に合成された 2-5A が不活性型モノマーとして存在する RNase L (ribonuclease L、L は latent の L) の 2 量体化と活性化を誘導する。(iv) 2-5A の結合により活性化された RNase L がウイルス由来 RNA を切断し、ウイルスの複製を阻害する。

2-5A システムの負の制御因子として、2-5A の 2',5'-結合を切断する 2',5'-PDE (2',5'-phosphodiesterase) の存在も報告されている [8]。さらに、近年、2-5A システムによる RNA 分解を回避するため、ある種のウイルスにも 2',5'-PDE が存在することが報告されている [9, 10]。

IFN 誘導型抗ウイルス機構である 2-5A システムに関する研究は非常に多岐に渡っているが、本稿では、2-5A という極めて特殊 (DNA や RNA など通常の核酸で見られる 3',5'-ホスホジエステル結合ではなく、2',5'-ホスホジエステル結合を有する) な核酸による RNase L の活性化というユニークな分子機構解明を目指した構造生物学的研究における、筆者らによる取り組みと近年の展開に関し紹介したい。

2. ヒト RNase L の N 末端アンキリンリピートドメインの結晶構造解析 (承)

ヒト由来 RNase L は、全長 741 アミノ酸残基からなる可溶性タンパク質であり、N 末側から順に 9 回繰り返しアンキリンリピートドメイン (ANK)、プロテインキナーゼ類似ドメイン、C 末側にリボヌクレアーゼドメインというドメイン構成となっている (図 3)。生化学的実験から、2-5A が ANK に結合することで 2 量体化と活性化が生じることが示唆されていた [11]。しかし、RNase L の立体構造情報無しでは説明できない以下の謎が残されていた。

- (i) なぜ、単量体 RNase L は不活性型なのか。
- (ii) 2-5A は RNase L のどの部位に結合するのか。
- (iii) なぜ、2-5A の結合により RNase L が 2 量体化するのか。
- (iv) なぜ、2 量体化することで、RNase L は活性型となるのか。

そこで筆者は、岐阜大学工学部の北出幸夫先生、中西雅之先生らとの共同研究により、ヒト RNase L の X 線結晶構造解析を開始した。1998 年 10 月のことである。

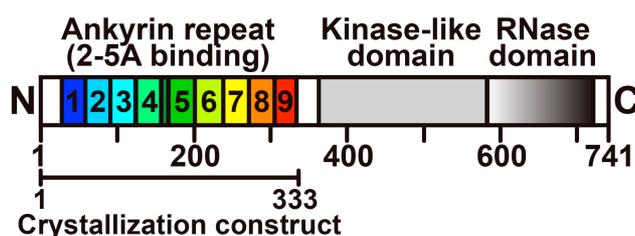


図 3. ヒト RNase L の一次構造上のドメイン配置。

2.1 ヒト RNase L の X 線結晶構造解析

プロジェクト開始当初、ヒト全長 RNase L に関し、2-5A 存在下および非存在下における結晶化を試みた。結晶化用サンプルとして、生化学者である中西先生から大腸菌で発現させたヒト RNase L、核酸化学者である北出先生から 2-5A の 5'-一リン酸体 (図 2 は、5'-三リン酸体) を供給していただいた。1 年程度試行錯誤したが全く結晶が得られなかったため、ヒト全長 RNase L の結晶化と並行してヒト RNase L の N 末端アンキリンリピートドメイン (ANK) の結晶化にも着手した。キナーゼ類似ドメインや RNase ドメインよりも ANK を優先した理由は、生体内において安定かつ高い RNase L 活性化能を有する 2-5A 類似体は新しいタイプの抗ウイルス薬と成り得るため各種 2-5A 誘導体の合成が盛んに行われているという研究背景があり [12]、ANK と 2-5A との複合体の立体構造情報だけでも創薬という観点では十分なインパクトがあると考えたからである。ANK に関しては、1999 年 10 月には 2-5A 存在化で針状結晶が得られたが、良好な回折データを得ることはできなかった。その後、発現させる領域の長さ、精製用タグの種類と位置 (N 末あるいは C 末) などに関する試行錯誤を繰り返し、ANK (残基番号 1~333) と 2-5A との複合体の良質な結晶を得ることに成功し [13]、プロジェクト開始から約 5 年の歳月が経過した 2003 年 11 月中旬ようやくその立体構造を 1.8 Å 分解能で決定した (図 4)。すぐに論文を書き上げいくつかの著名誌に投稿したが、いずれも「全長の 2 量体構造だったら大歓迎なのだが・・・」という理由で掲載を拒否された後、2004 年夏に *EMBO J.* へ報告することができた [14]。

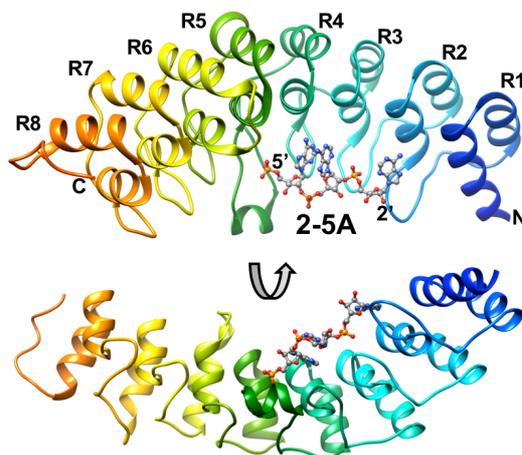


図 4. ANK/2-5A 複合体の立体構造 (PDB ID: 1WDY)。リピート 9 (図 3 参照) は、ディスオーダーしていた。

2.2 ヒト ANK の立体構造と 2-5A 認識機構

我々が結晶構造解析に成功したヒト ANK のコンストラクト (1~333) は、9 回繰り返しアンキリンリピート構造を含むものであったが、立体構造解析の結果リピート 9 の電子密度を確認することができず、ANK の C 末部分はディスオーダーしていた。図 4 に示すように我々が構造を決定した ANK は 8 回繰り返しアンキリンリピート構造から成り、リピート 4 とリピート 5 の間に挿入ヘリックスが存在していた。2-5A はリピート 2 から 4 の範囲に結合していた。ANK による 2-5A 認識機構に関し、立体構造解析を行うまでは、ANK の 2-5A 結合部位には他の核酸結合タンパク質で見られるようなリン酸基を認識するための正電荷クラスターが存在するのではないかと我々は想像していた。しかし、ANK の分子表面に顕著な正電荷クラスターは存在せず、ANK はスタッキング相互作用と水素結合の組み合わせにより、2-5A の塩基側を巧みに認識していた (図 5)。特に、リピート 4 による 5'-末端 AMP (2-5A は、2',5'-結合による 5'-AMP の 3 量体とみなせる) の認識とリピート 2 による 2'-末端 AMP の認識が強固であった。また、これまでに蓄積されている各種 2-5A 誘導体の構造機能相関データ [12] も、2-5A の 5'-末端と 2'-末端 AMP が必須骨格でありその部位への官能基導入は活性を低下させるが、中央 AMP 部位への官能基導入はそれほど悪影響を及ぼさないという結果を示しており、立体構造解析の結果と一致した。2-5A 認識機構および 2-5A の構造活性相関の詳細に関しては、原著 [14, 15] をご参照いただきたい。

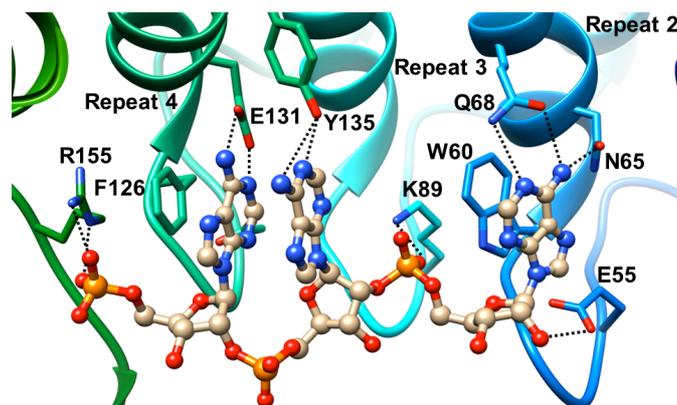


図 5. ANK による 2-5A 認識機構 (PDB ID: 1WDY)。

3. 近年の進展 (転)

ヒト ANK と 2-5A との複合体の立体構造を 2004 年に報告して以降、我々はヒト全長 RNase L の結晶を得ることができずにいた。もちろん何もしていなかったわけではなく、中西先生、北出先生らと共にヒト以外の種由来全長 RNase L の結晶化あるいは溶液状態での性状解析に取り組んでいた。当然のことながら、RNase L に関する研究の先駆者である Cleveland Clinic, Lerner Research Institute の Robert Silverman 博士のグループも我々と同様に全長 RNase L の立体構造解析を目指していたようである。

新たな展開として、UPR (unfolded protein response) に必須のキナーゼである Ire1 (キナーゼドメインに加えその C 末側に RNase ドメインを有し、RNase L の C 末側と類似の kinase/RNase というドメイン構成を持つタンパク質) の立体構造解析で顕著な成果 [16] を挙げた Alexei Korennykh 博士が Princeton 大学でラボを構え、全長 RNase L の立体構造解析に参入してきた。

3.1 RNase L は ANK を介して 2 量体化する

2012 年 10 月、上述の Korennykh 博士のグループが非常に興味深い論文を発表した [17]。Ire1 (kinase/RNase) に関する研究で培ったノウハウを駆使し、まず初めに全長 RNase L および ANK に関する徹底した機能解析実験を行い、2-5A の結合により ANK 単独でも 2 量体化することを見出した。しかしこの結果は、筆者らが報告した ANK/2-5A 複合体はモノマーとして存在するという結晶構造 [14] (図 4) とは一致しない。ANK/2-5A 複合体結晶の空間群は $P2_12_12_1$ で非対称単位中の分子数は 1 であったことから、結晶中の分子パッキングを考慮しても、筆者らの ANK/2-5A 複合体による 2 量体形成はあり得ない。そこで、彼らは 2-5A 存在下および非存在下において ANK の結晶化、X 線構造解析を行った。その結果、2-5A が ANK のリピート 2~4 に結合するという点は我々の結果と一致していたが、彼らの ANK は 2-5A の結合により 2 量体化することが証明された (図 6)。我々の構造と彼らの構造の大きな違いは、ANK のリピート 9 の構造である。我々の構造でディスオーダーしていたリピート 9 が、彼らの構造では 2 量体化に関与することが示された (図 6)。図 6 右に示すように、2 量体のペアを形成するもう一方の分子のリピート 9' (赤) に属する Arg310' と Tyr312' が 2-5A との結合に関与し、2 量体の安定化に寄与していた。部位特異的置換実験からも、これら残基の 2 量体化における重要性が示唆された。なお、我々の構造と彼らの構造における 2-5A の結合様式は実験誤差レベルで同等 (RMSD = 0.32 Å) であり、Arg310' との相互作用に起因して 2-5A の 2'-末端リボースのパッキングが異なるだけであった。この論文 [17] から、Korennykh 博士のグループにおいて全長 RNase L の大量発現系および機能解析実験系が十分確立されていること、なおかつ Ire1 (kinase/RNase) に関するノウハウを有する彼らは非常に強力な競争相手であることも思い知らされた。我々同様に彼らも全長 RNase L の立体構造解析に取り組んでいることは明らかであり、「このままでは、全長 RNase L の立体構造解析レースで彼らに負けるのではないか?」という恐れを抱かざるを得ず、次節に記すようにその心配は 1 年半も経たないうちに現実のものとなってしまった。

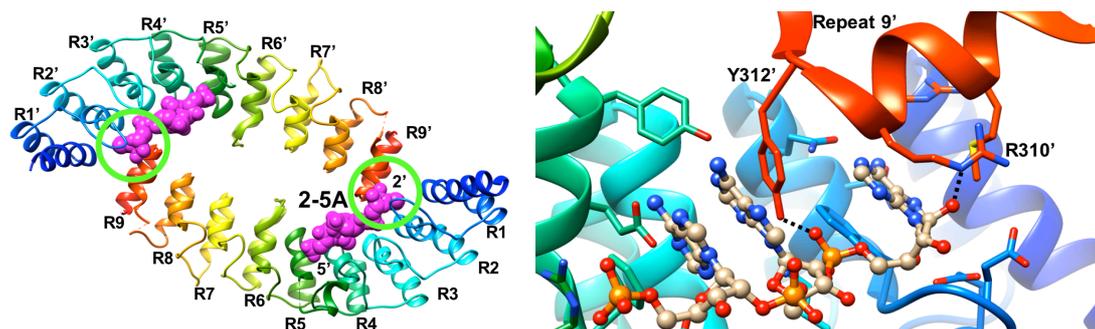


図 6. 完全な 2 量体を形成した ANK/2-5A 複合体の立体構造 (PDB ID: 4G8L)。一方の分子 (R1~R9) に結合した 2-5A (マゼンタ) の 2'-末端ともう一方の分子のリピート 9 (赤、R9') が相互作用することにより 2 量体を安定化していた。

3.2 全長 RNase L の立体構造解析

ANK/2-5A の完全な 2 量体形成の報告 [17]から 1 年半も経たない 2014 年初頭、ついに全長 RNase L の立体構造が二件報告された [18, 19]。一件は、RNase L に関する研究の先駆者である Silverman 博士のグループによるブタ由来全長 RNase L の立体構造解析であり [18]、もう一件は、Ire1 (kinase/RNase) 研究に関するノウハウを有する Korennykh 博士のグループによるヒト由来全長 RNase L の立体構造解析である [19]。両者の構造はほぼ同等であり、以下、Korennykh 博士のグループによるヒト由来全長 RNase L の構造に関し紹介する。

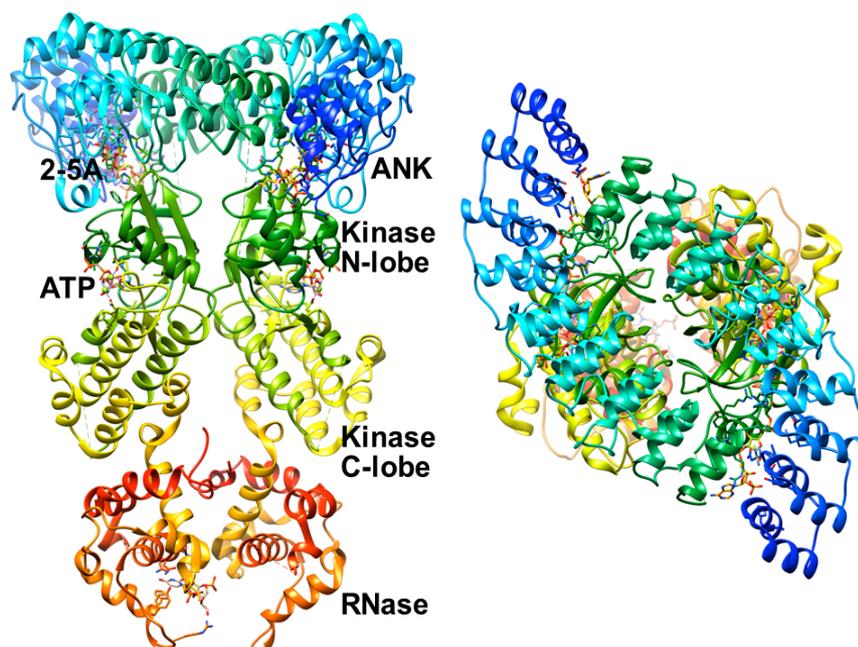


図 7. 全長 RNase L の立体構造 (PDB ID: 4OAV)。正面図 (左) と上面図 (右)。正面図において、図上から N 末端アンキリンリピートドメイン (ANK、青~青緑色)、キナーゼ類似ドメインの N-lobe (緑) および C-lobe (黄緑~黄色)、C 末端 RNase ドメイン (RNase、オレンジ~赤)。ANK には 2-5A 類似体、キナーゼ類似ドメインには ATP 類似体、RNase ドメインには RNA 断片 (p5'U3'p) が結合している。

全長 RNase L は、ANK/2-5A 複合体 [17]の構造から予想された通り、ANK 同士が head-to-tail で 2-5A を介して 2 量体を形成し、次いでキナーゼドメインが back-to-back (ATP 結合部位の反対側) で接触し、C 末の RNase ドメインが face-to-face (触媒部位側) で接触していた (図 7)。2 量体におけるキナーゼドメインと RNase ドメインの位置関係は、Ire1 の場合 [16]と同等であった。2 章で紹介した RNase L に関し解明すべき 4 つの謎の中で、(ii) は我々の研究 [14]、(iii) は Korennykh 博士らの研究 [17]により解明されていたが、残された謎である (i) と (iv) に関する答えが、全長 RNase L の結晶構造解析の結果から以下の如く遂に明らかになった。

RNase L は、基質となる一本鎖 RNA のウリジン塩基を特異的に認識し、その 3'-側隣接ヌクレオチドの 3'-末端を切断することが知られている (...-U-p-N-p-/-N-...) [20]。RNA 断片との複合体の結晶構造並びに各種生化学実験から、2 量体化した RNase L の一方のサブユニットの RNase ドメインの活性部位において His672 や Phe647 が基質 RNA のウリジン塩基を特異的に認識し、もう一方のサブユニットの活性部位で His672 が触媒残基として働き次のヌクレオチドの 3'-末端で基質 RNA を切断することが明らかとなった (図 8)。このことは、RNase L がウリジン塩基特異的 RNase 活性を発揮するためには、2 量体化が必須であることを明快に示している。従って、(i) なぜ、単量体 RNase L は不活性型なのか、(iv) なぜ、2 量体化することで、RNase L は活性型となるのか、という 2 つの謎が 2-5A 存在下における全長 RNase L の立体構造解析により遂に解決されたのである [19]。

RNase L 活性化におけるキナーゼ類似ドメインの役割としては、キナーゼ類似ドメインに ATP が結合することでキナーゼ類似ドメインと RNase ドメインの位置関係が固定され、2 つの RNase ドメインが協同的に RNase 活性を発揮できると考えられている [18]。全長 RNase L に関する構造活性相関の詳細に関しては、膨大な実験データが示されている素晴らしい原著論文 [18, 19]をご参照いただきたい。

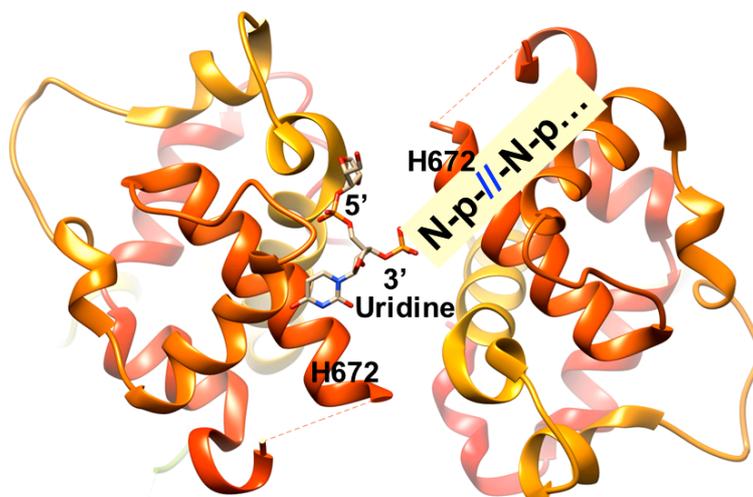


図 8. 全長 RNase L の RNase ドメイン (PDB ID: 4OAV) によるウリジン塩基特異的基質認識機構。一方のサブユニットの活性部位で基質 RNA のウリジン塩基を認識し、もう一方のサブユニットの活性部位で次のヌクレオチドの 3'-末端を切断する (-/- は切断部位を表す)。RNase ドメインには結晶化に用いた RNA の断片 (p5'U3'p) が結合している。

4. おわりに (結)

本稿では、特殊なオリゴヌクレオチドである 2-5A の結合による RNase L の活性化というユニークな分子機構解明を目指した構造生物学的研究の展開を紹介した (図 9)。RNase L の活性化機構の全貌を筆者らのグループだけで解明するには至らなかったものの、2-5A の結合様式の解

明により RNase L に関する構造的生物学的研究の突破口を開いたのは我々であることは紛れもない事実であり、大魚を捕らえられなかった非常に悔しい思いと裏腹にある程度の達成感はある。

何故、我々の結晶中において、ANK/2-5A 複合体は 2 量体を形成せずに単量体として存在していたのであろうか？実は、我々の結晶化条件では ANK/2-5A 複合体の結晶成長に 2 週間程要したため、リピート 8 とリピート 9 の境界領域に存在する Cys293 と Cys301 との間に予期せぬ S-S 結合が生じてしまっていた。それ故、リピート 9 が正しい構造をとることができず、ディスオーダーして 2 量体形成に関与できなかつたのである。Korenykh 博士らはその問題に気づき、1~3 日という比較的短時間で結晶成長する条件下において 2 量体化した ANK/2-5A 複合体の構造決定に成功している [17]。

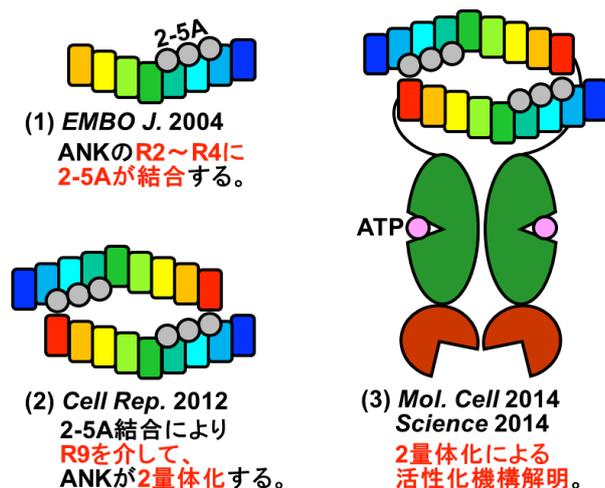


図 9. 2-5A による RNase L の活性化機構解明研究の変遷。(1) 筆者らによる成果 [14]。(2) Korenykh 博士のグループによる成果 [17]。(3) Silverman 博士のグループによる成果 [18]並びに Korenykh 博士のグループによる成果 [19]。

いくつかのウイルスは 2-5A システムによる RNA 分解回避用に 2',5'-PDE を持っていることが近年報告されているが [9, 10]、それらは活性部位に His-X-Ser/Thr モチーフを 2 つ有する 2H-phosphodiesterase family に属し、筆者らが創価大学工学部の栗原正先生らと共に 2005 年に報告したヒト脳由来 2',3'-cyclicnucleotide phosphodiesterase (CNPase) [21]の活性ドメインの構造と全く同等なフォールディングをとっていることは非常に興味深い。我々は RNase L に関する研究と CNPase に関する研究を並行して進めていたが、CNPase と類似の酵素が 2-5A システムに関与しているとは全く予想もしていなかった。今後、これらの関係に関し再考察したい。

タンパク質の結晶構造解析の分野では、リボソームなどの巨大超分子複合体の立体構造解析に続き、ひと昔前までは極めて困難と考えられていたヒト GPCR に代表される膜タンパク質の立体構造解析が続々と成し遂げられている。従って、この分野は最早特別な獲物は既に捕りつくされ激しい競争だけが残っている「レッドオーシャン」であるという印象を受ける方が多いかもしれない。しかし、本稿で紹介したようなマルチドメインタンパク質の多くは何らかの工夫なくしては全長での結晶化が困難であるため、全体構造は未解明なものが数多く残されている。目の付け所次第では、タンパク質の結晶構造解析の分野にも「ブルーオーシャン」がまだまだ残されていると筆者は信じている。

謝辞

本稿で紹介したヒト RNase L の N 末アンキリンリピートドメインの結晶構造解析は、岐阜大学工学部の北出幸夫先生（現・愛知工業大学工学部教授）、中西雅之先生（現・松山大学薬学部准教授）、後藤芳邦先生（現・帝京平成大学薬学部講師）らとの共同研究により、昭和大学薬学

部の中村和郎先生（現・昭和大学薬学部名誉教授）の研究室において、日下部吉男先生（現・帝京大学薬学部講師）との協力により行われたものです。北出先生と中村先生は、開始当初数年間全く成果が得られなかったプロジェクトを打ち切ることなく、中西先生と筆者らによるヒト ANK/2-5A 複合体の結晶構造解析を見守り、若手研究者を育てて下さいました。お二人の先生方の忍耐強いサポートとご指導に深く感謝いたします。

恩師である三井幸雄先生（IFN- β の立体構造解析により、1994 年ミルシュタイン賞受賞）は IFN 誘導酵素 RNase L に大変興味を持たれ、御存命時にお会いする度、RNase L の結晶構造解析に難航していた筆者を叱咤激励して下さいました。暖かいご指導に心から感謝いたします。

本稿で紹介した筆者らの研究は、科研費奨励研究 A、タンパク 3000 プロジェクト、科研費特定領域、上原記念生命科学財団研究助成金、武田科学振興財団研究奨励金、笹川科学研究助成、科研費萌芽研究などの援助を受けました。

参考文献

- [1] Stark, G. R., Kerr, I. M., Williams, B. R. G., Silverman, R. H., Schreiber, R. D. How cells respond to interferons. *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 227-264 (1998).
- [2] Nagano, Y., Kojima, Y. Immunizing property of vaccinia virus inactivated by ultraviolet ray. *C.R.Seans. Soc. Biol. Fil.*, **48**, 1700-1702 (1954).
- [3] Taniguchi, T., Ohno, S., Fujii-Kuriyama, Y., Muramatsu, M. The nucleotide sequence of human fibroblast interferon cDNA. *Gene*, **10**, 11-15 (1980).
- [4] Mantei, N., Schwarzstein, M., Streuli, M., Panem, S., Nagata, S., Weissmann, C. The nucleotide sequence of a cloned human leukocyte interferon cDNA. *Gene*, **10**, 1-10 (1980).
- [5] Senda, T., Shimazu, T., Matsuda, S., Kawano, G., Shimizu, H., Nakamura, K.T., Mitsui, T. Three-dimensional crystal structure of recombinant murine interferon-beta. *Y. EMBO J.*, **11**, 3193-3201 (1992).
- [6] Silverman, R. H. A scientific journey through the 2-5A/RNase L system. *Cytokine Growth Factor Rev.*, **18**, 381-388 (2007).
- [7] Chakrabarti, A., Jha, B. K., Silverman, R. H. New insights into the role of RNase L in innate immunity. *J. Interferon Cytokine Res.*, **31**, 49-57 (2011).
- [8] Kubota, K., Nakahara, K., Ohtsuka, T., Yoshida, S., Kawaguchi, J., Fujita, Y., Ozeki, Y., Hara, A., Yoshimura, C., Furukawa, H., Haruyama, H., Ichikawa, K., Yamashita, M., Matsuoka, T., Iijima, Y. Identification of 2'-phosphodiesterase, which plays a role in the 2-5A system regulated by interferon. *J. Biol. Chem.*, **279**, 37832-37841 (2004).
- [9] Zhang, R., Jha, B. K., Ogden, K. M., Dong, B., Zhao, L., Elliott, R., Patton, J. T., Silverman, R. H., Weiss, S. R. Homologous 2',5'-phosphodiesterases from disparate RNA viruses antagonize antiviral innate immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **110**, 13114-13119 (2013).
- [10] Silverman, R. H., Weiss, S. R. Viral phosphodiesterases that antagonize double-stranded RNA signaling to RNase L by degrading 2-5A. *J. Interferon Cytokine Res.*, **34**, 455-463 (2014).
- [11] Dong, B., Silverman, R. H. A bipartite model of 2-5A-dependent RNase L. *J. Biol. Chem.*, **272**, 22236-22242 (1997).
- [12] Player, M. R., Torrence, P. F. The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation. *Pharmacol. Ther.*, **78**, 55-113 (1998).
- [13] Tanaka, N., Nakanishi, M., Kusakabe, Y., Goto, Y., Kitade, Y., Nakamura, K. T. Crystallization of the N-terminal ankyrin repeat domain of the 2-5A-dependent endoribonuclease, RNase L. *Protein Peptide Lett.*, **12**, 387-389 (2005).
- [14] Tanaka, N., Nakanishi, M., Kusakabe, Y., Goto, Y., Kitade, Y., Nakamura, K. T. Structural basis for recognition of 2',5'-linked oligoadenylates by human ribonuclease L. *EMBO J.*, **23**, 3929-3938 (2004).
- [15] Nakanishi, M., Tanaka, N., Mizutani, Y., Mochizuki, M., Ueno, Y., Nakamura, K. T., Kitade, Y. Functional characterization of 2',5'-linked oligoadenylate binding determinant of human RNase L. *J. Biol. Chem.*, **280**, 41694-41699 (2005).
- [16] Korennykh, A. V., Egea, P. F., Korostelev, A. A., Finer-Moore, J., Zhang, C., Shokat, K. M., Stroud, R. M., Walter, P. The unfolded protein response signals through high-order assembly of Ire1. *Nature*, **457**, 687-693 (2009).

- [17] Han, Y., Whitney, G., Donovan, J., Korennykh, A. Innate immune messenger 2-5A tethers human RNase L into active high-order complexes. *Cell Rep.*, **2**, 902-913 (2012).
- [18] Huang, H., Zeqiraj, E., Dong, B., Jha, B. K., Duffy, N. M., Orlicky, S., Thevakumaran, N., Talukdar, M., Pillon, M. C., Ceccarelli, D. F., Wan, L. C., Juang, Y. C., Mao, D. Y., Gaughan, C., Brinton, M. A., Perelygin, A. A., Kourinov, I., Guarné, A., Silverman, R. H., Sicheri, F. Dimeric structure of pseudokinase RNase L bound to 2-5A reveals a basis for interferon-induced antiviral activity. *Mol. Cell*, **53**, 221-234 (2014).
- [19] Han, Y., Donovan, J., Rath, S., Whitney, G., Chitrakar, A., Korennykh, A. Structure of human RNase L reveals the basis for regulated RNA decay in the IFN response. *Science*, **343**, 1244-1248 (2014).
- [20] Wreschner, D. H., McCauley, J. W., Skehel, J. J., Kerr, I.M. Interferon action--sequence specificity of the ppp(A2'p)nA-dependent ribonuclease. *Nature*, **289**, 414-417 (1981).
- [21] Sakamoto, Y., Tanaka, N., Ichimiya, T., Kurihara, T., Nakamura, K. T. Crystal structure of the catalytic fragment of human brain 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase. *J. Mol. Biol.*, **346**, 789-800 (2005).

//// Cutting Edge ////

エネルギー表示法を用いた 蛋白質複合体ドッキングモデルの結合性評価

東京大学 分子細胞生物学研究所 竹村 和浩、北尾 彰朗

1. はじめに

蛋白質は他の蛋白質やリガンドとの相互作用を介し、その分子機能を発現する。そのため、蛋白質複合体の構造および分子間相互作用に関する知見は、蛋白質の機能を理解する上での重要な鍵となる。複合体を形成する相互作用が過渡的である場合など、複合体構造を実験的に決定することが困難である場合は多いため、複合体構造予測の精度向上は計算機分野に求められる重要な課題の一つである。そのため、複合体構造予測手法の開発は盛んに行われており、複合体構造予測のためのソフトウェアやサーバーが数多く存在している。

対象が蛋白質-蛋白質複合体である場合の複合体構造予測では、一般に剛体ドッキング等を用いた候補構造の生成と、生成した複合体モデルの評価もしくは最適化を行い最終的な候補構造へ絞り込む二つの段階に分けられる。複合体形成時に蛋白質に大きな構造変化を伴わない場合では、正解に近い候補構造の生成方法はある程度確立しているが、候補構造の生成に成功している場合でも絞り込む段階でしばしば間違った構造を選択することがある。一方、複合体形成時に大きな構造変化を伴う場合は、正解に近い構造を含む候補構造を生成することが困難であるのが現状である。このように、現状では候補構造の生成および絞り込みそれぞれに改善が必要であり、蛋白質-蛋白質複合体構造予測のコンテストである Critical Assessment of PRediction of Interactions (CAPRI) [1]においても、モノマーの構造から複合体構造予測を行う”predictor”だけでなく、与えられた複合体モデルの中から最適な構造を選択する”scorer”が存在している。

蛋白質の骨格をある程度固定しリガンドをフレキシブルに取り扱うのが一般的である蛋白質-リガンド複合体の構造予測は、上述の蛋白質-蛋白質複合体の複合体構造予測とは状況は少し異なり、リガンドにある程度の柔軟性がある場合でも候補構造の生成を行うことは可能であるが、それでも最終的な予測構造が正確でない場合がしばしば起こる。その原因として、溶媒を露わに取り扱わないでドッキングを行うことや高速計算を可能にする経験的なスコアリング関数を用いていることが考えられる。このように複合体候補構造の正確な評価は蛋白質複合体の構造予測において重要な課題であると言える。

最近では、幾つかの蛋白質-蛋白質複合体の構造予測ソフトウェアやサーバーにおいて、基準振動解析を基にして蛋白質の柔軟性を取り込む予測法が実装されている。また、複合体構造予測と複合体界面の水分子の位置を予測する二つのカテゴリーが存在していた CAPRI において、新たに蛋白質-ペプチドを対象とした複合体予測が新たなカテゴリーとして加わったことで、ペプチドの柔軟性を考慮した複合体構造予測が必要となり、蛋白質-蛋白質複合体の構造予測でも分子の柔軟性への対応が強く求められている。更に、CAPRI において複合体構造予測を自動で行うドッキングサーバーが、ある程度の構造変化を伴う複合体の予測に成功するケースがあるなど少しずつ状況は変わりつつあるが、どのような手法で生成した候補構造であっても、最終的な候補構造の正確な評価は予測の鍵である。

本稿では、エネルギー表示法により溶媒和自由エネルギーを高精度に評価し、複合体モデル間の結合自由エネルギー差を求め、複合体候補構造からの絞り込み改善を試みた例について紹介する。また、自由エネルギーを用いた評価は利用していないが、アンキリンリピートドメインに関して、ドッキングによる複合体構造予測と高濃度リガンド条件下において分子動力学 (MD) シミュレーションを行った例について紹介する。

2. 手法

2.1 熱力学サイクル

もし生成した複合体候補構造の中に正解に十分近い構造が含まれており、二つの蛋白質がモノマー状態から候補構造を形成するときの結合自由エネルギーが正しく計算できれば、正解に最も近い構造の結合自由エネルギーが最も低くなり、最適な構造を選別することが可能になると期待される。しかしながら、多数の複合体モデルの結合自由エネルギーを高精度かつ高速に溶液中で計算することは困難である。

まず、分子 A と分子 B が結合し、複合体 C を形成する過程において、図 1 のような熱力学サイクルを考える。図中で分子が四角に囲われているのは溶液中にあることを表し、下向きの矢印は溶媒和、右向きの矢印は分子の結合に対応する。このような熱力学サイクルでは、複合体モデルの溶液中の結合自由エネルギー $\Delta G_b(s)$ は以下で与えられる。

$$\Delta G_b(s) = \Delta G_b(v) + \Delta\mu_C - \Delta\mu_A - \Delta\mu_B \quad (1)$$

$\Delta G_b(v)$ 、 $\Delta\mu$ はそれぞれ真空中における結合自由エネルギー、溶媒和自由エネルギーである。 $\Delta G_b(v)$ は溶質のコンフォメーションエネルギー E とエントロピー S を用いて以下のように表せる。

$$\Delta G_b(s) = E_C - TS_C + \Delta\mu_C - (E_A - TS_A + E_B - TS_B + \Delta\mu_A + \Delta\mu_B) \quad (2)$$

ここでの重要な点は、式(2)右辺の括弧内の項はモノマーに由来するエネルギーであり、同じモノマーから構成される複合体モデル間の評価を行う場合は複合体モデル間で共通であるため、結合自由エネルギー差を評価するのに計算が不要な点である。従って、それぞれの複合体モデルの溶媒和自由エネルギーを高精度で高速に計算することが、結合自由エネルギー差を計算する上で重要となる。

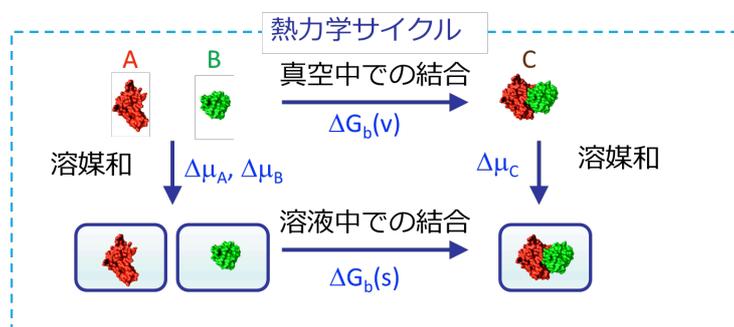


図 1. 複合体形成の熱力学サイクル

2.2 エネルギー表示法

今回紹介する評価手法では、溶媒和自由エネルギーの評価にエネルギー表示法[2-4]を用いる。エネルギー表示法では、自由エネルギー摂動法や熱力学積分法のように数多くの中間状態を必要とせず、始状態と終状態の二状態における溶質、溶媒の相互作用エネルギーの分布関数を用いた汎関数で溶媒和自由エネルギーを近似している。小さな分子に関しては、従来法と同程度の精度を有し、既に蛋白質や脂質[5,6]などの系に応用されている。エネルギー表示法は、Energy Representation MODule (ERMOD) [7]として公開されており、NAMD、AMBER、GROMACS等の汎用 MD ソフトウェアが生成するトラジェクトリを解析し、溶媒和自由エネルギーを計算することが可能である。

この方法で得られる結果は、エネルギー表示法を用いた溶媒和自由エネルギーを複合体モデル評価に用いた応用例だとも言える。溶媒は水なので、始状態と終状態はそれぞれ、水モデルのみからなる純溶媒系と水溶液中に複合体が溶けている溶液系である。具体的な計算手順は以下の通りである。まず始状態のエネルギー分布関数を求めるためには、水モデルのみの MD 計算を行

っておき、溶質を水モデルのトラジェクトリに挿入して計算する。具体的には、水モデルのトラジェクトリを1,000スナップショット用意し、各スナップショットに対して、異なる位置に溶質を1,000回挿入した。従って、挿入による相互作用の計算は百万回であり、通常のMD計算で言えば2 ns程度の計算に相当する。終状態のエネルギー分布関数は、溶液系におけるMD計算を行い、溶質と溶媒の相互作用を解析する。必要な計算のうち、水モデルのMD計算は複合体モデル間に共通で一度だけ行い、溶質の挿入と溶液中のMD計算は独立に計算可能である。複合体の構造を固定したまま計算を行う場合は、終状態に対応する溶液系でのMD計算は1 nsで溶媒和自由エネルギーの値が十分に収束している[5]。すなわち、 N 個の複合体モデルの評価を行いたい場合でも、始状態に対応する挿入による計算も含めわずか数 N ns程度の計算量しか必要としない。

2.3 分子動力学シミュレーション、ドッキング

下記の蛋白質-リガンド複合体モデルは、AutoDock[8]、GOLD[9]、Molegro Virtual Dock (MVD) [10]を用いて、蛋白質-蛋白質複合体モデルは、ZDOCK[11,12]もしくはRosettaDock[13]を用いて構造の生成を行った。MD計算は全てNAMD[14]を用いて行い、溶媒和自由エネルギーの計算は前述したERMODを用いて行った。

3. 結果と考察

3.1 リゾチーム-triNAG 複合体への適用例

ここでは、蛋白質-リガンド複合体への適用例としてリゾチームとtriNAG (tri-N-acetylglucosamine) が形成する複合体へ適用した例[15]を紹介する。リゾチームには6つのNAG結合するサイト(ABCDEF)が知られているが[16]、結晶構造ではtriNAGはABCに結合している。これに対して、AutoDockで予測した複合体モデルではtriNAGはCDE結合サイトに、GOLD及びMVDを用いて生成した複合体モデルでは、BCDに結合していた(図2)。

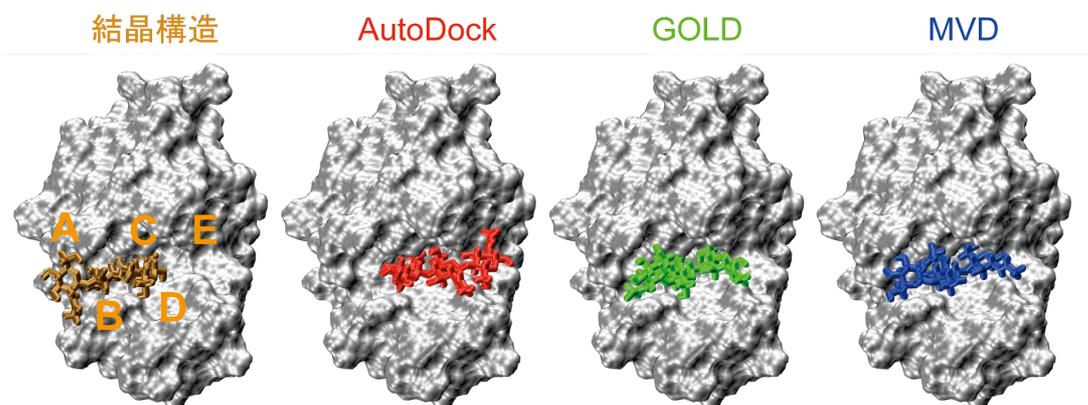


図2 リゾチーム-triNAGのモデルと結晶構造

複合体候補構造を基準とした拘束条件下で、真空中と溶液中でMD計算を行い、結合エネルギー差の評価を行った。溶質のエントロピーは並進、回転、内部運動に分離して考え、内部運動に関しては、主成分解析より得られる振動数を基に計算した。表1に示した通り自由エネルギー計算を用いた場合は、結晶構造 < AutoDock < MVD < GOLDとなり結晶構造を最安定な構造として評価することに成功している。複合体モデルの生成に用いたドッキングソフトウェアは、遺伝的アルゴリズム等の乱数に依存するアルゴリズムが含まれているため、偶然結晶構造に近い構造をサンプルしなかった可能性がある。そこで、それぞれの複合体モデルと結晶構造を、あらためてそれぞれのソフトウェアで再評価した。表1においてGOLDのみ値が大きいほうが高い評価を表している。いずれのソフトウェアを用いた場合も結晶構造の評価は高くなく、この複合体に関しては本手法のみが結晶構造を高く評価した。

表 1: ドッキングプログラムと本手法による構造の評価

Model	Our Method (kcal/mol)	AutoDock (Binding Energy, kcal/mol)	Gold (Fitness Score)	MVD (Total Energy)
結晶構造	-4774.0	-7.1	33.4	-101.1
AutoDock	-4765.3	-11.9	30.6	-127.9
GOLD	-4744.1	-5.1	54.2	-114.4
MVD	-4745.3	-13.1	48.9	-182.0

ここでは、計算時間や溶媒和自由エネルギー計算時の収束性等を考慮して、拘束条件下における計算を行った。適切な拘束条件の選択または別の取り扱い、エントロピーの計算手法の改善など課題は残されているが、紹介した自由エネルギー計算による評価は蛋白質-リガンド複合体の評価に有効であると考えている。

3.2 蛋白質-蛋白質複合体への適用例

通常の MD 計算を行い、エネルギー表示法を用いて複合体の評価を行う本評価手法は、経験的なスコアリング関数を用いていないため、同じ枠組みで蛋白質-蛋白質複合体への適用することが可能である。ここでは、2つの複合体に適用した例について紹介する[17]。対象とする蛋白質複合体は、複合体構造予測手法の開発によく用いられる protein-protein docking benchmark [18] より選択した。大きな構造変化を起こさない蛋白質の例として bovine trypsin-CMTI-1 squash inhibitor (以下複合体の PDBID で 1PPE と呼ぶ) および RNase SA-barstar (1AY7) を対象とした。どちらの複合体に関しても、はじめに ZDOCK による剛体ドッキングを行った。ZDOCK による剛体ドッキングでは、どちらの複合体に関しても結晶構造に近い候補構造を生成することに成功した。しかしながら、1PPE に関しては結晶構造に近い複合体モデルが高いランクになっているのに対して、1AY7 に関しては結晶構造に近い複合体モデルのランクは低い。このように ZDOCK では絞込みが上手くいく例 (1PPE) と上手くいかない例 (1AY7) を対象としてその後の評価を行った。評価手法のテストとして、作成した候補構造の中から複合体界面の RMSD がある程度の幅を持つような 10 構造を取り出し、評価法の汎用性確認のため更に RosettaDock より作成した複合体モデル 2 構造と結晶構造を加え結合自由エネルギー差の計算を行った。得られた 13 構造の結合自由エネルギー差を図 3 に示した。

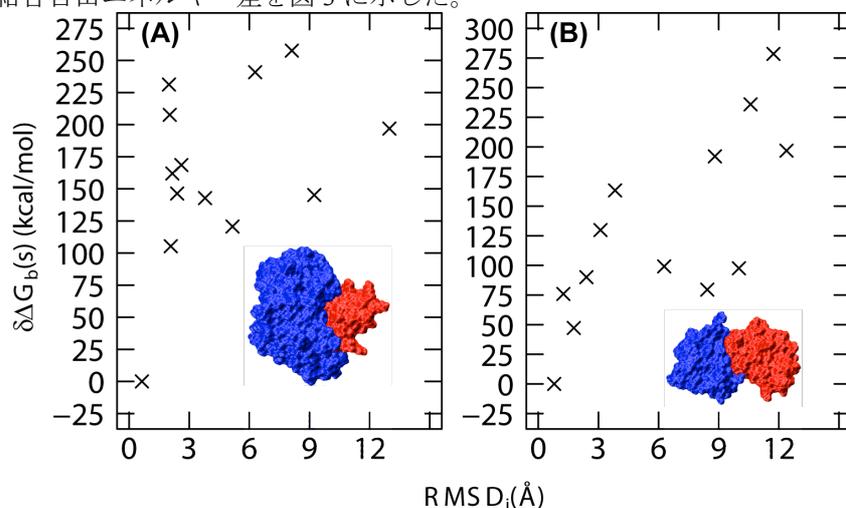


図 3: 評価した結合自由エネルギー差 (A) 1PPE (B) 1AY7

横軸は界面残基（結晶構造において相手の蛋白質より 10 Å 以内に重原子のある残基）の C_{α} -RMSD で、正解構造（結晶構造）からのずれを表しており、結合自由エネルギー差は複合体モデル間で最も低い値を示したモデルを基準にプロットしている。1PPE (図 3A)、1AY7 (図 3B) どちらの複合体においても結晶構造からのずれが小さい複合体モデルほど低いエネルギーを持つ傾向があり、本評価手法は蛋白質-蛋白質複合体モデルの絞込みに有効である。しかしながら、RMSD は低いエネルギーが高い複合体モデル、また RMSD は大きいエネルギーが低い複合体モデルが幾つか観測された。興味深いことに、1AY7 の複合体モデルで、RMSD が高いが低いエネルギーを持つ複合体モデルは、結晶構造中に観測された塩橋を有したまま異なる配向を取っていた。また、RMSD は小さいがエネルギーが高い複合体モデルは、結晶構造に観測される塩橋や水素結合を形成していないことが高いエネルギーの一因だと考えられた。これらの問題は、複合体モデルの生成から評価への段階におけるモデルの最適化等の工夫により改善されるのではないかと考えられる。

本手法は数 ns の MD 計算で複合体モデルの評価が行えるため、高精度の溶媒和自由エネルギー計算を用いる評価手法としては高速である。しかしながら、複合体構造予測ソフトウェアを用いて生成する候補構造はしばしば数千~数万に及び、全ての候補構造に関して数 ns の MD 計算を行うのは現実的でない。そこでクラスタリング等を用いてあらかじめ数百程度まで構造を絞り込む必要がある。クラスタリングに用いる方法としては、近年我々の研究室で開発したクラスタリング/リランキング手法である CyClus が挙げられる。CyClus は、複合体界面を円柱内に存在する原子で近似し、その情報を基にクラスタリングを行う。その後、クラスター内で構造情報を基に更に細かいクラスタリングを実行する階層的なクラスタリングを行い、ZDOCK の結果を改善することを示している[19]。また、クラスタリングにより類似の構造は上位に固まらないため、候補構造を数百程度まで絞り込みたい時には都合が良い。クラスタリング手法との組み合わせ及び上述した複合体界面の相互作用の精密化により高精度の複合体構造予測が可能であると期待し、現在開発を進めている。

3.3 アンキリンリピートドメイン-PIP2 複合体の構造予測

自由エネルギー計算により複合体モデルの評価を行った例とは異なるが、最近取り組んでいる高濃度リガンド条件下における蛋白質-リガンド複合体の構造予測に関連して、Transient Receptor Potential (TRP) チャネルの一つであり、その変異がシャルコー・マリー・トゥース病と関連することで知られている TRPV4 のアンキリンリピートドメイン (ARD) とイノシトールトリリン酸 (IP3) との複合体に関して行った研究[20]を紹介する。

TRPV4 は、ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸 (PIP2) により活性が制御されるが、近年、ARD と PIP2 の頭部に相当する IP3 の共結晶構造が得られた。しかしながら、結晶で観測された IP3 の結合位置と、変異させることにより PIP2 を含む脂質への結合性が弱くなる残基の位置が異なっていた。そこで AutoDock を用いて、ARD と IP3 の複合体構造予測を行ったところ、図 4(A)に示したように最もスコアの良い構造は結晶構造の結合位置とほぼ一致していた。しかしながら 2 番目~5 番目にスコアの良いクラスターは変異させると PIP2 への結合が弱くなる残基周辺に位置していた。ARD と IP3 の結晶構造および 2 番目にスコアの良かった複合体予測構造を基に、ARD の脂質膜結合モデルを作成して MD シミュレーションを行った結果、どちらの場合でも ARD は PIP2 との相互作用を通じて脂質膜に安定して結

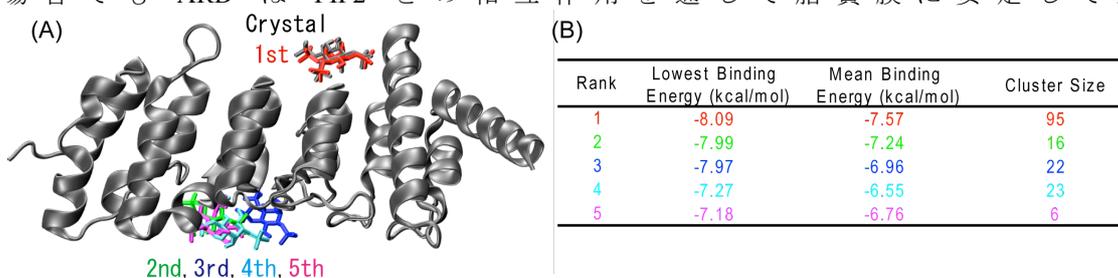


図 4 (A) 結晶構造と AutoDock の予測による ARD の IP3 の複合体構造 (B) AutoDock のスコア

合していた。更に論文では示していないが、初期構造では脂質膜に結合していない ARD と脂質膜の MD シミュレーションを複数回行った結果、様々な配向で ARD が脂質膜への結合することを観測した。また観測した結合時の ARD の配向は上記の二つのモデルを基にした配向両方を含んでいた。以上の結果から ARD は複数の配向で PIP2 を含む脂質膜と結合可能であることや ARD には複数の IP3 結合サイトが存在することが考えられた。

そこで、ARD に複数の IP3 結合サイトがある可能性を考慮し、図 5(A)に示したように ARD 周辺にランダムに IP3 を 10 分子配置し、MD シミュレーションを行った。50 ns の MD シミュレーションを行った結果、図 5(B)に示したように結晶構造周辺に IP3 が結合するとともに、アミノ酸変異により PIP2 への結合が弱まる残基周辺にも IP3 が結合する興味深い様子が観測された。

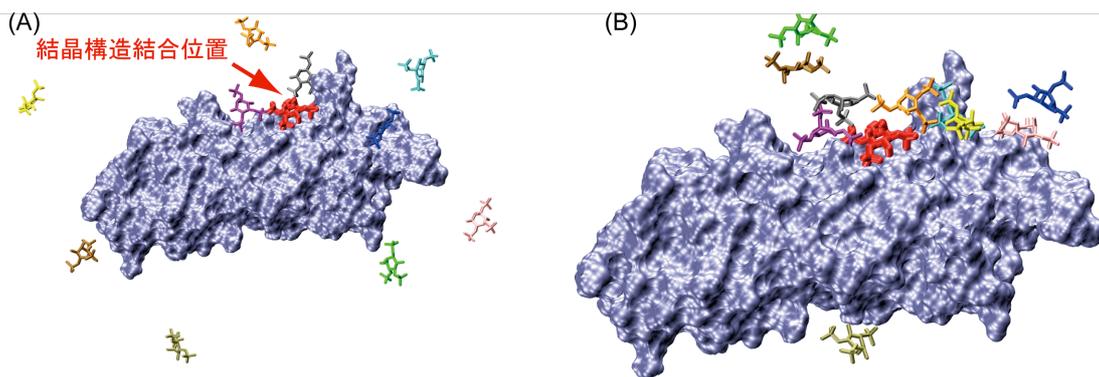


図 5 IP3 高濃度条件下の ARD-IP3 の MD シミュレーション (A) 初期構造 (B) 50 ns

ここで紹介したような、比較的高濃度でリガンドを蛋白質周辺に配置した MD 計算は、結合構造の探索に有効でないかと考えられる。図 5(B)で一部、リガンド間の凝集がみられているがこの点は、リガンド間に適切な反発力を導入することで改善可能である。反発力を導入し、適切な高濃度条件下で MD 計算を行う複合体構造予測手法を、高濃度リガンド条件下における結合構造探索手法 (Concentrated Ligand docking, CoLdock) として、現在開発を進めている。

4. おわりに

本稿では、エネルギー表示法により評価した溶媒和自由エネルギーを用いて、蛋白質複合体モデルを高精度で評価する手法を紹介した。本評価手法は、当然ながら分子力場の精度には依存するが、特定の対象に特化した経験的なスコアリング関数を用いていない方法であるため、蛋白質-蛋白質複合体および蛋白質-リガンド複合体を評価することができる。本評価手法とクラスタリングおよび複合体界面における相互作用の精密化により高精度の複合体構造予測が可能であると期待している。また、現在開発中である高濃度リガンド条件下における MD 計算を用いて、複合体構造予測を行う一例として、アンキリンリピートドメインの複合体構造予測に関する研究を紹介した。本手法は、全原子モデルを用いて正確に、また高濃度条件を用いて高速に複合体構造を予測する手法として期待できる。

参考文献

- [1] Lensink, M.F., Velankar, S., Wodak, S.J. Modeling protein-protein and protein-peptide complexes: CAPRI 6th edition, *Proteins*, 85, 359-377. (2017) doi: 10.1002/prot.25215.
- [2] Matubayasi, N., Nakahara, M. Theory of solutions in the energetic representation. I. formulation, *J. Chem. Phys.*, **113**, 6070-6081 (2000).
- [3] Matubayasi, N., Nakahara, M. Theory of solutions in the energy representation. II. functional for the chemical potential, *J. Chem. Phys.*, **117**, 3605-3616 (2002); *J. Chem. Phys.* **118**, 2446 (2003) (erratum).
- [4] Matubayasi, N., Nakahara, M. Theory of solutions in the energy representation. III. treatment of the molecular flexibility, *J. Chem. Phys.*, **119**, 9686-9702 (2003).

- [5] Karino, Y., Matubayasi, N. Free-energy analysis of hydration effect on protein with explicit solvent: equilibrium fluctuation of cytochrome c, *J. Chem. Phys.*, **134**, 041105 (2011).
- [6] Matubayasi, N., Shinoda, W., Nakahara, M. Free-Energy Analysis of the Molecular Binding into Lipid Membrane with the Method of Energy Representation, *J. Chem. Phys.*, **128**, 195107 (2008).
- [7] Sakuraba, S., Matubayasi, N. Ermod: Fast and versatile computation software for solvation free energy with approximate theory of solutions, *J. Comput. Chem.*, **35**, 1592-1608 (2014).
- [8] Morris, G.M., Goodsell, R.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, *J. Comput. Chem.*, **19**, 1639-1662 (1998).
- [9] Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., Leach, A.R., Taylor, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking, *J. Mol. Biol.*, **267** 727–748 (1997).
- [10] Thomsen, R., Christensen, M.H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking, *J. Med. Chem.*, **49**, 3315-3321 (2006).
- [11] Chen, R., Weng, Z. Docking Unbound Proteins Using Shape Complementarity, Desolvation, and Electrostatics, *Proteins*, **47**, 281-294 (2002).
- [12] Pierce, B.G., Hourai, Y., Weng, Z. Accelerating protein docking in ZDOCK using an advanced 3D convolution library, *PLoS One*, **6**, e24657 (2011).
- [13] Leaver-Fay, A., Tyka, M., Lewis, S.M., Lange, O.F., Thompson, J., Jacak, R., Kaufman, K., Renfrew, P.D., Smith, C.A., Sheffler, W., Davis, I.W., Cooper, S., Treuille, A., Mandell, D.J., Richter, F., Ban, Y.E., Fleishman, S.J., Corn, J.E., Kim, D.E., Lyskov, S., Berrondo, M., Mentzer, S., Popović, Z., Havranek, J.J., Karanicolas, J., Das, R., Meiler, J., Kortemme, T., Gray, J.J., Kuhlman, B., Baker, D., Bradley, P. ROSETTA3: an object-oriented software suite for the simulation and design of macromolecules, *Methods Enzymol.*, **487**, 545-574 (2011).
- [14] Phillips, J.C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R.D., Kale, L., Schulten, K. Scalable molecular dynamics with NAMD, *J. Comput. Chem.*, **26**, 1781-1802 (2005).
- [15] Takemura, K., Burri, R. R., Ishikawa, T., Ishikura, T., Sakuraba, S., Matubayasi, N., Kuwata, K., Kitao, A. Free-energy analysis of lysozyme–triNAG binding modes with all-atom molecular dynamics simulation combined with the solution theory in the energy representation, *Chem. Phys. Lett.*, **559**, 94–98 (2013).
- [16] Maenaka, K., Matsushima, M., Song, H., Sunada, F., Watanabe, K., Kumagai, I. Dissection of protein-carbohydrate interactions in mutant hen egg-white lysozyme complexes and their hydrolytic activity, *J. Mol. Biol.*, **247**, 281-293 (1995).
- [17] Takemura, K., Guo, H., Sakuraba, S., Matubayasi, N., Kitao, A. Evaluation of protein-protein docking model structures using all-atom molecular dynamics simulations combined with the solution theory in the energy representation, *J. Chem. Phys.*, **137**, 215105 (2012).
- [18] Vreven, T., Moal, H., Vangone, A., Pierce, B.G., Kastiris, P.L., Torchala, M., Chaleil, R., Brian Jiménez-García, B., Bates, P.A., Fernandez-Recio, J., Bonvin, A. M.J.J., Weng, Z. Updates to the Integrated Protein–Protein Interaction Benchmarks: Docking Benchmark Version 5 and Affinity Benchmark Version 2, *J. Mol. Biol.*, **427**, 3031-3041 (2015).
- [19] Omori, S., Kitao, A. CyClus: A fast, comprehensive cylindrical interface approximation clustering/re-ranking method for rigid-body protein-protein docking decoys, *Proteins*, **81**, 1005-1016 (2013).
- [20] Takahashi, N., Hamada-Nakahara, S., Itoh, Y., Takemura, K., Shimada, A., Ueda, Y., Kitamata, M., Matsuoka, R., Hanawa-Suetsugu, K., Senju, Y., Mori, M.X., Kiyonaka, S., Kohda, D., Kitao, A., Mori, Y., Suetsugu, S. TRPV4 channel activity is modulated by direct interaction of the ankyrin domain to PI(4,5)P2, *Nature Comm.*, **5**, 4994 (2014).

//// SAR Presentation Award ////

< SAR Presentation Award について >

「SAR Presentation Award」は、構造活性相関シンポジウムにおける若手研究者の発表を奨励し、構造活性相関研究の発展を促進するため、2010 年度に創設された。当初は応募制として審査対象講演の募集を行った。2012 年度からは、正式名称を「構造活性相関シンポジウム優秀発表賞」（英語表記 SAR Presentation Award）と定めた。

< 2016 年度 SAR Presentation Award について >

2016 年度は、構造活性相関シンポジウムにおける 45 歳以下の発表者による全ての一般講演（口頭発表・ポスター発表）を選考対象とすることとした。

2016 年度 SAR Presentation Award 受賞者：

口頭発表： 前田 巖 （東京大学大学院 工学系研究科）
 ポスター発表： 吉田 智喜 （北里大学 薬学部）

受賞者の選考について：

各審査員から提出頂いた審査票（無記名）を集計し、最高点を獲得した発表者に対し、平成 28 年 11 月 17 日に京都大学薬学部で開催された平成 28 年度第 1 回幹事会において協議して、口頭発表・ポスター発表よりそれぞれ 1 名ずつを受賞候補者として選出した。口頭発表の審査は 3 段階評価の点数方式、ポスター発表の審査は、最大 2 演題まで選出するという方式で行った。受賞候補者に受賞の諾否を確認した後、正式に受賞者と決定した。授賞式は、第 44 回構造活性相関シンポジウムの閉会式において行った。後日、受賞者には、賞状と副賞（図書券）を贈呈した。なお、審査にあたっての審査項目は下記の通りである。

審査項目：

- a) 講演要旨: 講演要旨は発表内容を反映して適切に作成されているか。
- b) 講演資料: スライドは専門領域の異なる参加者にも分かりやすく、見易く、かつ発表時間に見合って適切に作成されているか。
- c) 研究のねらい: 研究の背景と目的、先行研究との関係、研究の新規性あるいは有用性が明確になっているか。
- d) 論理構成の合理性: 研究方法が適切であるか、適切な文献資料、データに基づいて議論が進められているか。考察・結論は妥当か。
- e) 質疑応答: 質問等に対し、的確な応答・議論がなされたか。活発な討論がなされたか。

2016 年度審査員：2016 年度常任幹事および幹事（第 44 回構造活性相関シンポジウム参加者）

< 受賞者コメント >

KO-04

氏名 前田 巖 (まえだ いわお)

所属 東京大学大学院 工学系研究科

演題 **Visualization of chemical space and protein space considering compound-protein interaction.**

この度は、第44回構造活性相関シンポジウム優秀発表賞を頂きましたこと、心より光栄に存じます。ご評価いただいた先生方、並びに日本薬学会構造活性相関部会の先生方に、この場を借りて厚く御礼申し上げます。また、本研究を進めるにあたりご指導を賜り、研究、研究外含め様々な場面で支えて頂きました船津公人教授、金子弘昌助教、そして東京大学大学院工学系研究科化学システム工学専攻船津研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。本研究の主題である定量的構造活性相関は、薬学、化学および統計学の融合分野であり、それぞれの立場を理解し、積極的に分野間のコミュニケーションを取ることが求められます。先の口頭発表においては、異なる見地に立つ方々より多くの重要なお意見を頂きました。これらを可能な限り吸収し、今後の研究に組み込んでゆく所存です。発表の場でもご指摘頂いた通り、本研究で取り組む活性空間の包括的なモデリング、及び特定の活性を持つ化学構造の探索は非常に挑戦的な課題です。今回このような荣誉ある形で評価され、有り難く思うと同時に、研究をより発展させ、実用的なものとする志を強くいたしました。今後ご指導のほど、よろしくお願いいたします。

KP-07

氏名 吉田 智喜 (よしだ ともき)

所属 北里大学 薬学部

演題 **Interaction analyses of CDK2 with its inhibitors by FMO calculation and PLS regression.**

この度は、第44回構造活性相関シンポジウムの優秀発表賞に選んで頂きましたこと、大変光栄に存じます。審査をご担当されました先生方、そして日本薬学会構造活性相関部会の先生方に厚く御礼申し上げます。本研究は、フラグメント分子軌道 (FMO) 法によって計算されるフラグメント単位のエネルギーを記述子とした新規構造活性相関解析手法の開発研究を目指したものです。FMO法とPLS回帰を組合せた解析手法は、構造とエネルギーによる物理化学的解釈、リガンドの生物学的活性の定量的予測、活性向上に活用すべきアミノ酸残基と相互作用の同定が可能であるため、創薬への応用が期待できます。本発表では、従来用いていたリガンド-アミノ酸残基間のフラグメントペア相互作用エネルギーではなく、構造変化と脱溶媒和の効果を考慮したフラグメント結合エネルギーを記述子として利用することで、得られたPLS回帰モデルの阻害活性の予測性能が向上し、同定された活性向上に活用すべきアミノ酸残基も、より妥当なものとなることを示しました。本研究を進めるにあたってご指導を賜りました広野修一教授ならびに北里大学薬学部創薬物理化学教室の皆様にご心より感謝申し上げます。今回の受賞を励みとして、今後も創薬に役立つ研究に発展できるよう精進を重ねて参りたいと存じます。この度は本当にありがとうございました。

KO-04 Visualization of chemical space and protein space considering compound-protein interaction

○Iwao MAEDA, Hiromasa KANEKO, Kimito FUNATSU
(School of Engineering, The University of Tokyo)

1. Introduction

G protein-coupled receptors (GPCRs) are the largest family of membrane proteins and mediate many cellular responses¹. As GPCRs are related to many diseases, they are often focused as targets for drug design. All GPCRs have seven-transmembrane domains, in which ligand binding sites exist².

The relationships between proteins including GPCRs and their ligands are called compound-protein interaction (CPI)³. CPI is an important concept for drug design. However, systematic understanding of CPI based on experiments is nearly impossible because the number of compounds is too large⁴ to examine CPI exhaustively, and there are many orphan GPCRs from which no knowledge cannot be obtained. Therefore, prediction of CPI using statistical model is performed^{3,5,6}. In statistical prediction, a prediction model is constructed with known activity data. Then a compound-protein pair with unknown activity is input and predicted activity value is output.

However, there are some difficulties when the prediction of CPI is used in drug design. First, since a prediction model is difficult to solve inversely, it is hard to obtain structures from desirable output value. Second, in drug design, activity against multiple proteins must be considered for preventing side effects. Modeling CPI alone does not help drug design.

In this study, we make drug design more efficient by visualization of both chemical space and protein space. The activity profile in chemical space is obtained by visualization of chemical space or descriptor space of chemical structures. Then, efficient search of chemical structures will be achieved by deciding the target point or the area in chemical space based on activity value.

Furthermore, the activity profile of any proteins against compounds can be obtained by visualization of protein space or descriptor space of proteins. Activity of orphan proteins also can be predicted if their descriptors can be calculated. Then, visualization of protein space enables drug design to consider side effects.

Visualization of chemical space and protein space will improve drug design. However, there is no method for the simultaneous visualization. In this study, we develop new method for the visualization of both chemical space and protein space considering CPI, and propose efficient drug design.

2. Method

For visualization of chemical space and protein space, we propose multi-input counterpropagation neural network (MICPNN), an extension method of self-organizing map (SOM) and counterpropagation neural network (CPNN). We also develop the method of conducting drug design using MICPNN.

2.1 Self-organizing map

Self-organizing map (SOM)⁷, a kind of neural network, is an unsupervised dimension-reduction method for mapping high-dimensional data to low-dimensional map. On SOM, samples which are similar in descriptor space are projected to area close to each other.

2.2 Counterpropagation neural network

Counterpropagation neural network (CPNN)⁸ is a supervised dimension-reduction method developed from SOM. In CPNN, two maps whose size are the same, called input map and output map, are trained simultaneously. Input map is the same as SOM, and output map expresses the profile of objective variables on input map. When CPNN is used for activity modeling (descriptors of compounds are explanatory variables and activity values of compounds are objective variables), a map of chemical space and a map of activity profile are obtained at the same time.

2.3 Multi-input counterpropagation neural network

The aim of this research is visualization of the feature of activity against both chemical space and protein space. We extend CPNN to multi-inputs and single-output system. The proposed method is named multi-input counterpropagation neural network (MICPNN). The concept of MICPNN is shown in Fig. 1. MICPNN has two input maps, chemical map and protein map. Chemical map and protein map are SOMs projected from descriptor space of compounds and that of proteins respectively. Activity data exists between compounds and proteins. After chemical map and protein map are trained, activity map, corresponding to output map in CPNN, is trained. Activity map has four dimensions. Two dimensions correspond to chemical map and the other two dimensions correspond to protein map. In Fig. 1, axes in activity map correspond to axes in chemical map and protein map whose colors are the same as those of activity map. Chemical map and chemical map-side of activity map correspond input map and output map in CPNN, respectively. Protein map and protein map-side of activity map correspond in the same way.

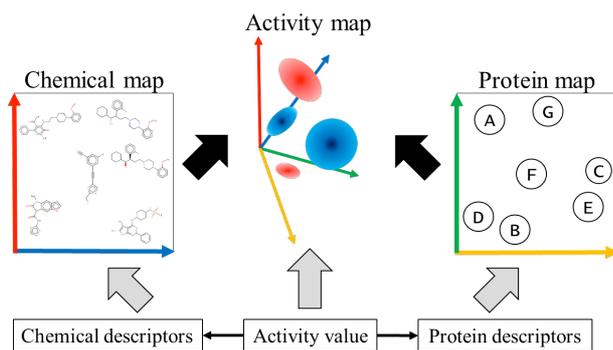


Fig. 1 Concept of MICPNN

The algorithm of training activity map is shown as follows:

- I. Project a compound-protein pair to a coordinate on chemical map and a coordinate on protein map.
- II. Combine two coordinates into the coordinate of activity map.
- III. Update activity map around the coordinate by the corresponding activity value.

One step means I, II and III for all samples. The step is repeated many times to express the characteristics of the dataset.

By using constructed MICPNN model, activity profile of chemical space against any protein can be obtained as a two-dimensional map. When descriptors of a protein are input to MICPNN model, the coordinate of the protein on protein map is decided. Then, protein map-side of activity map is assigned, and remaining chemical map-side of activity map is obtained as two-dimensional activity profile of chemical space against input protein. Activity profile can be output for any protein including orphan protein whose descriptors are available. In the same way, activity profile of protein space against any chemical structure can be obtained, and we can examine whether a focusing chemical structure has desirable activity or not.

2.4 Convergence judging

When we use SOM, CPNN and MICPNN, the number of learning steps is important parameter to extract the features of data appropriately. Too many learning steps often cause overfitting. In this study, we prepare dataset for updating maps (training pairs), and dataset for validating maps (validation pairs). Learning of maps (chemical map, protein map, and activity map) is stopped when evaluation index of maps becomes extreme value after 200 steps. Accuracy rate and root mean squared error (RMSE) between original data and inversely projected data are used as evaluation indexes of chemical map and protein map, respectively. Accuracy rate is percentage of matching descriptors between original data and inversely projected data. RMSE (root mean squared

error) is normalized error between original data and inversely projected data., R^2 is used as evaluation index of activity map. R^2 is coefficient of determination between actual activity and estimated activity.

2.2 Drug design

The way to search chemical structures with desirable activities using MICPNN is shown as follows:

- A) Construct MICPNN model using known compound-protein pairs.
- B) Input descriptor values of a target protein to MICPNN model, and obtain activity profile of chemical map.
- C) Determine the selected coordinates of chemical map from the condition of activity.
- D) Execute B) and C) for each target protein, and determine the objective coordinates as a product set of the each selected coordinate when we consider two or more target proteins.
- E) Obtain chemical descriptors from objective coordinates of chemical map.
- F) Search chemical structures from chemical descriptors, by the screening of chemical database or chemical structure generation.

3. Results & Discussion

To verify the effectiveness of the proposed method we conducted a case study of activity modeling and chemical structure search.

3.1 Dataset

We performed MICPNN analysis for GPCR class A family. CPI dataset was retrieved from GPCRSARfari in ChEMBL database⁹, and 48926 compound-protein pairs with their affinity values (K_i , the inhibition constant) including 124 proteins and 29211 compounds are obtained. 20000 pairs were randomly chosen, and they were split into 10000 training pairs and 10000 validation pairs.

As chemical descriptors, Extended Connectivity Fingerprint (ECFP)¹⁰ calculated by Dragon⁷ were used. Fingerprints with missing values were excluded. Fingerprints were deleted if 80 percent of their values are the same in training compounds. One of two fingerprints whose correlation coefficient was greater than 0.8 was excluded. Then, 152 fingerprints remained.

The protein descriptors were calculated with ProtDcal¹². We used sequences only in binding pockets of proteins retrieved from GPCRdb^{13,14}. The reduction of descriptors was performed in the same way as chemical descriptors, and 49 descriptors remained.

pKi ($-\log K_i$) was used as output value.

3.2 Parameter settings

Size of chemical map and that of protein map were 100×100 and 15×15 respectively. Learning rate was

0.5. Neighborhood function was triangle. Initial weight of chemical map and protein map were determined based on the loading vector of principal components analysis (PCA).

3.3 Activity modeling

The result of activity modeling is shown in Table 1 and Table 2. RMSE in Table 2 is normalized error between actual activity and estimated activity.

As shown in Table 1, mapping accuracy were high for both training pairs and validation pairs. MICPNN could reduce dimensions of chemical space and protein space, preserving most of information. However, in Table 2 RMSE of validation pairs was higher than training pairs. Prediction accuracy of validation pairs decreased compared to training data. Since the size of dataset was small, MICPNN model could not learn the characteristics of activity appropriately and overfitted training pairs.

Table 1 Mapping accuracy of MICPNN model

	Chemical map	Protein map
	Accuracy rate	RMSE
Training pairs	0.9782	0.1056
Validation pairs	0.9349	0.1080

Table 2 Prediction accuracy of MICPNN model

	R ²	RMSE
Training pairs	0.8016	0.5681
Validation pairs	0.4123	0.9835

3.4 Chemical structure search

We set histamine receptor H1 (HRH1)¹⁵ as a target protein for chemical structure search. HRH1 belongs to GPCR class A family and exists in an organism such as smooth muscle, vascular endothelial cells, and central nervous system. Histamine contracts smooth muscles via HRH1, and a large amount of release of histamine causes symptoms such as abnormality of airway function and atopic dermatitis¹⁶. HRH1 antagonists are used for drugs such as anti-allergy drugs, bronchodilators, and anti - nausea drugs. Furthermore, most of first-generation HRH1 antagonists have affinity to muscarinic acetylcholine receptors, and cause anticholinergic effects¹⁷ such as dizziness and dry mouth¹⁸. We searched compounds which have high activity value against HRH1 and low activity value against muscarinic acetylcholine receptors. Muscarinic acetylcholine receptor m1 (CHRM1) was selected as a representative.

Activity profiles on chemical map against HRH1 and CHRM1 are shown as heatmaps in Fig. 2 and Fig. 3. Colors on heatmaps mean pKi value. We set the threshold of pKi as greater than 8.0 against HRH1 and smaller than 5.0 against CHRM1. Then 15 coordinates in chemical map which met both two conditions were obtained. Target values of ECFP were obtained from the coordinates. Then, compounds whose fingerprints

matched the targets were calculated from 131450 compounds in GPCRSARfari which were not used in MICPNN modeling. Examples of top 10 compounds are shown in Fig. 4.

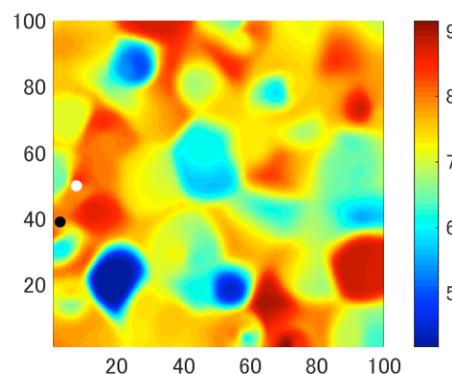


Fig. 2 Activity profile against HRH1. The black point (3, 39) and the white point (8, 50) indicate the coordinates of chlorpheniramine and ketotifen fumarate, respectively.

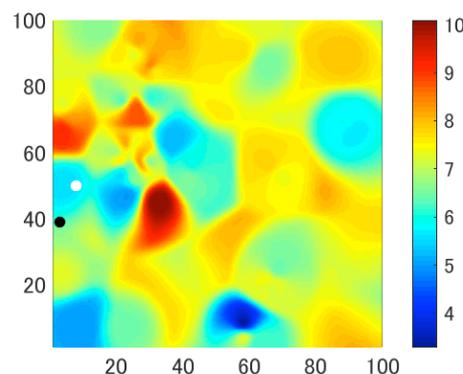


Fig. 3 Activity profile against CHRM1. The black point (3, 39) and the white point (8, 50) indicate the coordinates of chlorpheniramine and ketotifen fumarate, respectively.

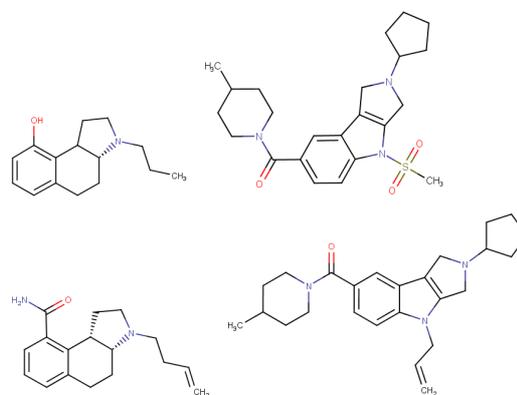


Fig. 4 Structures of selected compounds

For validating this chemical structure search, two known HRH1 antagonists were input to MICPNN model. One antagonist was chlorpheniramine (see Fig. 5), one of the first-generation HRH1 antagonists and known to have affinity to muscarinic acetylcholine receptors¹⁹. When chlorpheniramine was input to MICPNN model, the destination coordinate of chemical map was the point (3, 39) on chemical maps in Fig. 2 and Fig. 3. The predicted pKi are 7.87 against HRH1 and 6.26 against CHRM1. This means that chlorpheniramine exists in relatively high activity area both against HRH1 and CHRM1. The observed pKi is present only against HRH1 in GPCRSARfari, and the value is 8.15, which is similar to predicted pKi.

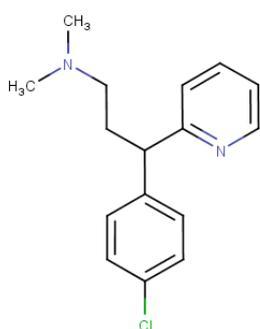


Fig. 5 Structure of chlorpheniramine

The other antagonist was ketotifen fumarate (see Fig. 6), one of the second-generation HRH1 antagonists. The destination coordinate of ketotifen fumarate was (8, 50) on chemical maps in Fig. 2 and Fig. 3. The predicted pKi are 8.09 against HRH1 and 5.62 against CHRM1. Unlike chlorpheniramine, ketotifen fumarate exists in high activity area against HRH1 and in relatively low activity area against CHRM1. The observed pKi is present only against HRH1 in GPCRSARfari, and the value is 9.46, which is also higher than 8.0 as predicted pKi.

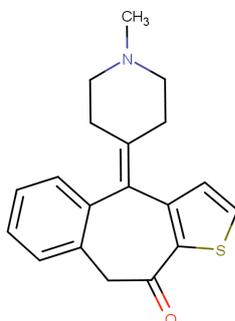


Fig. 6 Structure of ketotifen fumarate

It was confirmed that compounds were mapped to locations that reflect the features of each activity. MICPNN model could visualize chemical space considering of CPI.

4. Conclusion

To visualize both chemical space and protein space, we proposed MICPNN which is the modification of CPNN to multi-inputs and single-output system. Precise dimension reduction and activity modeling were achieved through our case study. Efficient chemical structure search can be realized since MICPNN model derives chemical descriptors easily from desired activity conditions. Structure generation method²⁰ can be also utilized to obtain desirable chemical structures although chemical structures were searched from compound database in this case study. Effective drug design will be achieved by using MICPNN.

5. Reference

- Rosenbaum, D.M., Rasmussen, S.G.F. & Kobilka, B.K. *Nature* **459**, 356–363 (2009).
- Venkatakrishnan, A.J. et al. *Nature* **494**, 185–194 (2013).
- Brown, J.B., Niiijima, S. & Okuno, Y. *Mol. Inform.* **32**, 906–921 (2013).
- Bohacek, R.S., Mcmartin, C. & Guida, W.C. *Med. Res. Rev.* **16**, 3–50 (1996).
- Tabei, Y. & Yamanishi, Y. *BMC Syst. Biol.* **7**, 1–13 (2013).
- Liu, H., Sun, J., Guan, J., Zheng, J. & Zhou, S. *Bioinformatics* **31**, 221–229 (2015).
- Kohonen, T. *Proc. IEEE* **78**, 1464–1480 (1990).
- Hecht-nielsen, R. *Appl. Opt.* **26**, 4979–4984 (1987).
- Gaulton, A. et al. *Nucleic Acids Res.* **42**, 1083–1090 (2014).
- Rogers, D. & Hahn, M. *J. Chem. Inf. Model.* **50**, 742–754 (2010).
- Srl, K. <http://chm.kode-solutions.net> (2016).
- Ruiz-Blanco, Y.B., Paz, W., Green, J. & Marrero-Ponce, Y. *BMC Bioinform.* **16**, 1–16 (2015).
- Fredriksson, R., Lagerström, M.C., Lundin, L.-G. & Schiöth, H.B. *Mol. Pharmacol.* **63**, 1256–1272 (2003).
- Isberg, V. et al. *Nucleic Acids Res.* **44**, 356–364 (2015).
- Thurmond, R.L., Gelfand, E.W. & Dunford, P.J. *Nat Rev Drug Discov* **7**, 41–53 (2008).
- Stojković, N., Cekić, S., Ristov, M. & Ristić, M. *ACTA Fac. MEDICAE NAISSENSIS* **32**, 7–22 (2015).
- Church, M.K. et al. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* **65**, 459–466 (2010).
- Rudolph, J.L., Salow, M.J., Angelini, M.C. & McGlinchey, R.E. *Arch. Intern. Med.* **168**, 508–513 (2008).
- Orzechowski, R.F., Currie, D.S. & Valancius, C.A. *Eur. J. Pharmacol.* **506**, 257–264 (2005).
- Mishima, K., Kaneko, H. & Funatsu, K. *Mol. Inform.* **33**, 779–789 (2014).

KP-07 Interaction analyses of CDK2 with its inhibitors by FMO calculation and PLS regression

○Tomoki YOSHIDA, Shuichi HIRONO (School of Pharmacy, Kitasato University)

1. Introduction

The fragment molecular orbital (FMO) method¹ is a fragment-based approach to calculate the electronic structure of huge molecular systems quantum mechanically. The biggest advantage of the FMO method in drug discovery is its ability to calculate interaction energies between a ligand and each amino acid residue of a protein-ligand complex. Since in our 3D-QSAR approach, the interaction energies are directly used as explanatory variables to construct PLS regression model, the final model can not only predict bioactivity of ligands quantitatively but also the important residues which should be focused to develop or search potent ligands from the PLS regression coefficients. Recently, the way to calculate fragment binding energies by including deformation and desolvation contribution to the interaction energies in the framework of FMO method². In this study, we applied our 3D-QSAR approach to CDK2 inhibitors to extract information about important residues. Depending on what values are used as explanatory variables, two PLS models are created and compared, one using the interaction energies between a ligand (*L*) and *I*-th amino acid fragment, $\Delta E_{IL}^{\text{inter}}$, and the other using the binding energies of *I*-th amino acid fragment and a ligand (*L*) $\{\Delta E_I^{\text{bind}}, \Delta E_L^{\text{bind}}\}$.

2. Method

2.1 FMO calculation

The FMO calculations of 16 ligand/CDK2 complex structures (Fig. 1) were performed at the level of FMO2-RHF/D/PCM<1>/STO-3G and the interaction energies $\Delta E_{IL}^{\text{inter}}$ were obtained. The total energy of isolated CDK2 protein and isolated 16 ligands (Fig. 2) were also calculated at the corresponding level of theory and then the binding energies $\{\Delta E_I^{\text{bind}}, \Delta E_L^{\text{bind}}\}$ were obtained in accordance with the paper by Fedorov and Kitaura². Here, the ΔE_I^{bind} is a sum of $\Delta E_{IL}^{\text{inter}}$ and the energy change of *I*-th amino acid fragment upon ligand binding. The ΔE_L^{bind} is the energy difference of ligand upon binding. The sum of $\sum_I \Delta E_I^{\text{bind}}$ and ΔE_L^{bind} is the binding energy between the ligand to the

protein. All geometries were prepared by energy minimization using MM-GBSA theory (VSGB solvation model with OPLS3 force field) implemented in Prime (Schrödinger, LLC). The initial 16 ligand/CDK2 complex structures were downloaded from the PDB database.

2.2 PLS regression³

For the 16 inhibitors (Fig. 2), inhibition constant *K_i* are known. Two PLS models for predicting experimental p*K_i* (= -log₁₀*K_i*) were created: **[modelA]** uses $\Delta E_{IL}^{\text{inter}}$ as explanatory variables and **[modelB]** uses $\{\Delta E_I^{\text{bind}}, \Delta E_L^{\text{bind}}\}$ as explanatory variables. Of the 16 inhibitors, 3 inhibitor {5, 10, 16} were chosen as the test set and the others were chosen as the training set to construct the PLS models. For the both models, the number of PLS components were determined to be 3, by maximizing the predictive power (R_{test}^2 value) of the model against the test set.

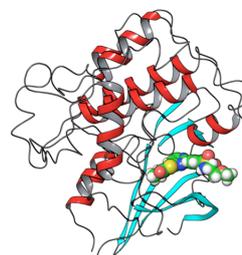


Fig. 1 One example of ligand/CDK2 complex structure: inhibitor 1/CDK2 (PDBID: 2XMY)

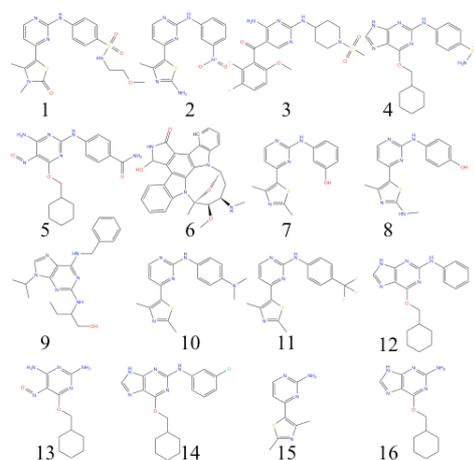


Fig. 2 Structures of inhibitors

3. Results & Discussion

The result of PLS regression is shown in Fig. 3.

Both models give good prediction of experimental pKi. The R_{test}^2 values for the modelA and the modelB are 0.90 and 0.94, respectively. There is no big difference in the predictive power between the two approaches.

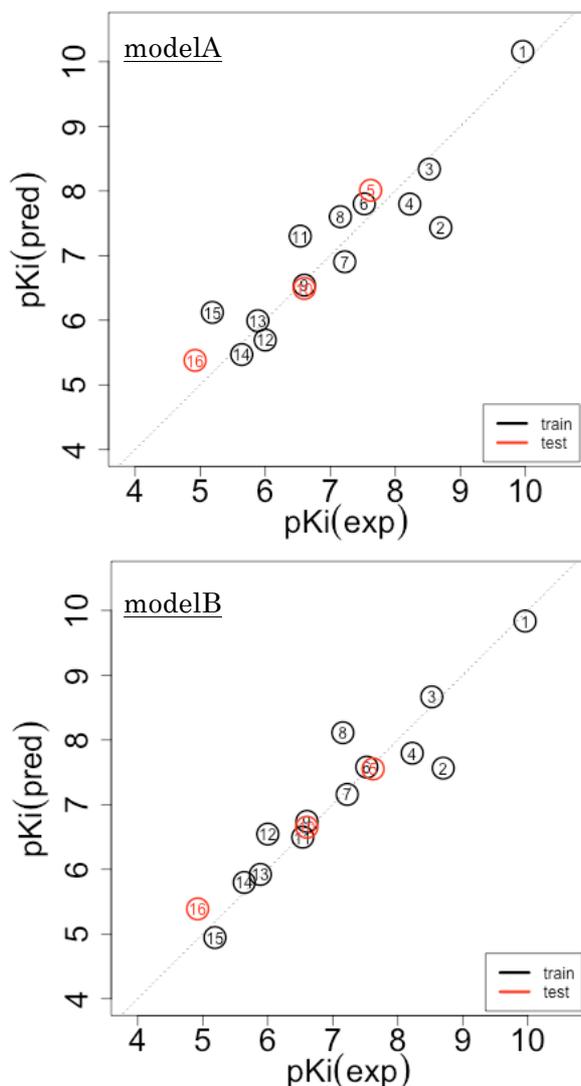


Fig. 3 Result of PLS regression

Fig 4. shows the PLS regression coefficients from the two models. In the modelA, important residues that contribute to pKi seem to be Glu81 and Lys89. In the modelB, however, the important residue is predicted to be His84 and contribution from ligand itself found to be not ignorable. In our complex structures, all inhibitors have a hydrogen bond between a ligand and the main chain carbonyl group of Leu83, which is treated as His84 fragment in the FMO calculation like Fig. 5. This interaction is highly conserved for most CDK2 inhibitors and regarded to be necessary interaction as CDK2 inhibitors. Thus, the result that His84 fragment is the most important fragment is more reasonable.

The binding energies of modelB include deformation and desolvation contributions. By taking into account those contributions, importance of longer

side chain or charged residues such as Lys, Arg, Asp, Glu appear to be lowered (Fig. 4). As a result, contributions of neutral residues such as His84 are highlighted.

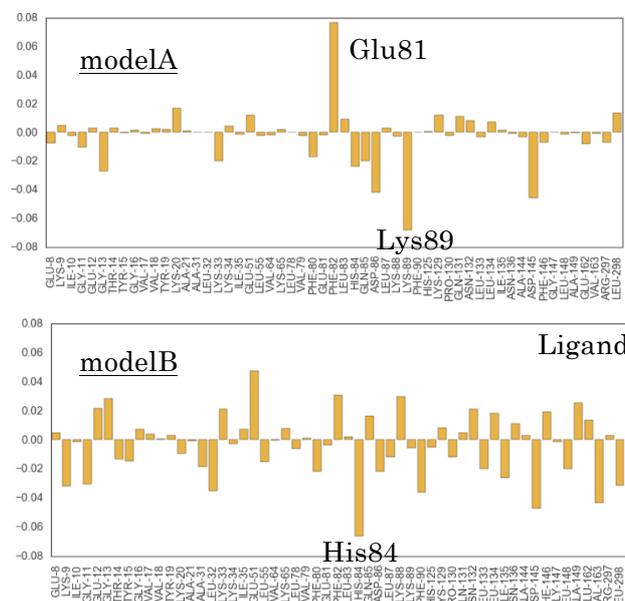


Fig. 4 PLS regression coefficients

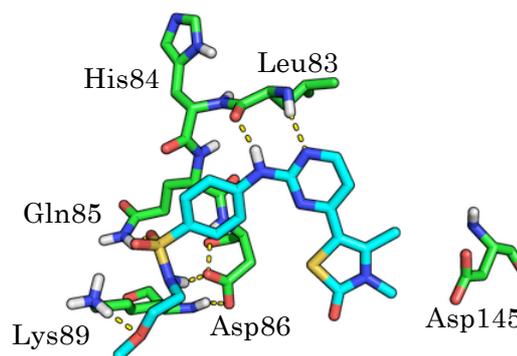


Fig. 5 Interaction of inhibitor 1

4. Conclusion

Both models yielded good performance in predicting experimental bioactivity, however, there were differences in the important residues extracted. The model using the binding energies provided more acceptable result: the interaction with His84 fragment contributes well to the potency of CDK2 inhibitors.

5. Reference

1. Kitaura et al., *Chem. Phys. Lett.* **312**, 319-324 (1999).
2. Fedorov and Kitaura, *J. Phys. Chem. A* **120**, 2218-2231 (2016).
3. Wold et al., *Chemom. Intell. Lab. Sys.* **58**, 109-130 (2001).

///// Activities /////

第 44 回構造活性相関シンポジウム開催報告

日時：平成 28 年 11 月 16 日（水）- 17 日（木）

会場：京都大学芝蘭会館（〒606-8315 京都市左京区吉田近衛町 京都大学医学部構内）

主催：日本薬学会構造活性相関部会・農薬デザイン研究会

後援：日本化学会，日本農芸化学会，日本分析化学会

11 月 16 日（水）- 17 日（木），紅葉真っ盛りの京都（京都大学芝蘭会館）において，第 44 回構造活性相関シンポジウムを開催したところ，招待者と実行委員などを含めて約 250 名の参加をいただきました。ポスターとネームカードには紅葉の金閣寺，要旨の色も紅葉に近いものにしました。構造活性相関シンポジウムでは，医薬・農薬を対象にしていますが，どちらかというと医薬に関する発表が中心で，参加者の大半も医薬関連企業からであります。今回は，構造活性相関シンポジウムにおいて農薬の分子設計に関する話題を増やすこと，農薬開発研究においても，医薬研究で盛んに用いられている最先端の技術を取り入れてもらうことを目的として，第 31 回農薬デザイン研究会との合同開催にいたしました。農薬デザイン研究会も毎年開催されていて，ほぼ同じ頃に開催しております。昨年第 30 回を京都で開催いたしました。これまでは農薬デザイン研究会は，合成に関する発表が中心でありました。今回は第 31 回で，新たな一歩を踏み出すということで，薬学分野での分子設計に触れてもらい，農薬開発にも積極的に取り入れてもらうことを目的のひとつとしました。逆に，合成に関する研究発表がすくなくなってきた構造活性相関シンポジウムに農薬デザイン研究会側から合成研究の話題を提供してもらうことになりました。農薬デザイン研究会では，その都度スローガンを掲げているが，今回は『天然物化学と構造活性相関・・・分子設計の今』ということになりました。

第44回構造活性相関シンポジウム
第31回農薬デザイン研究会

日程：2016年 11月16日(水)-17日(木)
会場：京都大学 芝蘭会館

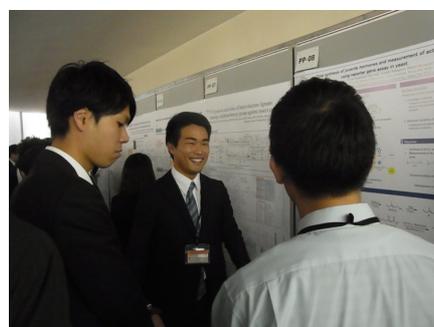
特別講演：Dr. Isabelle M. L. Billas (IGBMC, France)
「A Structural View of Allosteric Control of Transcription by Steroid Nuclear Receptors」

招待講演者
奥野恭史(京都大学)
福西伏文(産業総合研究所)
石川智久(個別化医療研究所)
谷野圭持(北海道大学)
森 直紀(東京大学)
池口満徳(横浜市立大学)
寺田 透(東京大学)

主催：日本薬学会構造活性相関部会 / 日本農薬学会農薬デザイン研究会
参加登録費 一般 8,000円 学生 2,000円 (10月14日×切)
懇親会費 一般 7,000円 学生 3,000円
問い合わせ先：京都大学農学研究科応用生命科学専攻 中川好秋
TEL: 075-753-6117; E-mail: naka@kais.kyoto-u.ac.jp



Billas 博士の基調講演



ポスター発表

特別講演を含めて，9 名の先生をご招待し，講演を賜りました。基調講演としては結晶構造解析の分野で世界をリードしているフランス・ストラスブルグの研究所 IGBMC の Isabelle Billas

博士に、核内受容体の結晶構造解析に関する話題提供をお願いしました。招待講演には、バイオインフォマティクス、コンピューター支援の薬物設計、薬物動態、天然物合成、分子動力学手法を用いた薬物-受容体相互作用解析など、様々な分野から国内の7名の著名な先生方に講演をお願いしました。さらに、構造活性相関シンポジウムを立ち上げられた京都大学名誉教授藤田稔夫先生が米寿を迎えられたことから、それを記念する英語でのセッションを設けました。第44回を京都で開催することができ、44という数字が米寿(88歳)のちょうど半分であったのは何かの巡り合わせかもしれません。そのセッションでは、オーストリアのウーン大学のThierry Langer教授に講演をお願いしました。QSARの誕生から最近のドラッグデザインの手法までお話し頂きました。そのあと、藤田先生の構造活性相関研究に対する貢献に感謝するため、簡単な祝賀イベントを行い、藤田先生からも英語による謝辞を頂戴しました。一般講演としては口頭発表6件、ポスター発表48件(農薬デザイン研究会側のポスター20件)の申し込みがありました。今回のシンポジウムの特徴としては、国内のシンポジウムであるにも関わらず、講演要旨を英語で作成していただきました。また、ポスターとスライドもできる限り英語で作成していただくようお願いしました。おそらく、本シンポジウムでははじめてのことであったと思いますが、ランチョンセミナーを両日に亘って開催しました。さらに、初日の夕方には、農薬デザイン研究会との合同懇親会を行いましたところ、約150名もの参加があり、賑やかな懇親会となりました。



懇親会(藤田先生音頭で乾杯)



講演会場の様子

次年度の構造活性相関シンポジウムは日本大学の飯島洋先生のお世話により平成29年11月29日-30日に茨城県県南生涯学習センター(土浦)にて開催される予定です。詳細についてはHPなどでお知らせします。皆様のご参加、ご講演、ご討論により活発なシンポジウムとなりますよう、よろしくお願い致します。

以下にシンポジウムの概要と講演演題と発表者(基調1題、特別1題、招待7題、一般口頭6題およびポスター28題)を掲載します。

基調講演

A structural view of allosteric control of transcription by steroid nuclear receptors

- Isabelle M.L. BILLAS, Bruno P. KLAHOLZ, Dino MORAS (IGBMC, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), UMR 7104, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) U964, Université de Strasbourg, Illkirch, 67404, France)

特別講演

Computer-aided molecular design: From QSAR to pharmacophore-based ligand profiling

- Thierry LANGER (Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Vienna, Althanstrasse 14, 1090 Vienna, Austria)

招待講演

Supercomputer and big data driven drug discovery

- Yasushi Okuno (Graduate school of Medicine, Kyoto University)

Computer-aided drug design software myPresto for rational structure-guided drug development

- Yoshifumi FUKUNISHI (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology & Technology Research Association for Next-Generation Natural Products Chemistry)

Development of a new QSAR analysis method to study drug-drug interactions of human ABC transporters: Application to drug discovery and cancer therapy

- Toshihisa ISHIKAWA^{1,2}, Hikaru SAITO¹, Hiroyuki HIRANO¹ (¹Tokyo Institute of Technology, ²NGO Personalized Medicine & Healthcare)

Total synthesis of hatch stimulating agents of cyst nematodes

- Keiji TANINO (Faculty of Science, Hokkaido University)

Synthesis of azadirachtin, an insect antifeedant

- Naoki MORI, Hidenori WATANABE (Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo)

Protein–ligand interactions studied by molecular simulations

- Tohru TERADA, Yoshitaka MORIWAKI, Tatsuki NEGAMI, Kentaro SHIMIZU (Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo)

Protein dynamics investigated by a combination of molecular dynamics simulations and small-angle x-ray scattering experiments

- Mitsunori IKEGUCHI (Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University)

口頭発表

Analysis of the ligand-receptor binding for various molting hormone agonists using molecular dynamics

○ Shinri Horoiwa, Masahiro Miyashita, Yoshiaki Nakagawa and Hisashi Miyagawa
(Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

Stereospecific inhibition of nitric oxide production in macrophage cells by flavanoneols: Synthesis and the structure-activity relationship 2

○ Wen-Jun JIANG, Tomoko TAKAMIYA, Susumu KITANAKA, Hiroshi IJIMA
(School of Pharmacy, Nihon University)

An automated de novo ligand design framework utilizing open source software

○ Ryuki KUDO, Tomoko ADACHI, Hiroyuki YAMASAKI, Yoshihiko NISHIBATA
(School of Pharmacy, Kitasato University)

Visualization of chemical space and protein space considering compound-protein interaction

○ Iwao MAEDA, Hiromasa KANEKO, Kimito FUNATSU (School of Engineering, The University of Tokyo)

Structure similarity search using the hierarchy of its NTGs

○ Tetsuo KATSURAGI, Yoshimasa TAKAHASHI
(Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology)

Constructing prediction models of adverse drug reactions using machine learning

○ Hiroaki MORIUCHI¹, Yu-Shi TIAN², Hiroto MORIWAKI¹, Satoshi AOKI³, Nobuki TAKAYAMA³, Norihito KAWASHITA^{1,4}, Takayuki HIBI², Tatsuya TAKAGI^{1,4}

(¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, ²Graduate School of Information Science and Technology, Osaka University, ³Graduate School of Science, Kobe University, ⁴Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

ポスター発表

A quest for novel chymase inhibitors by 3D pharmacophore-based virtual screening

○ Shin-ichiro OZAWA, Shoichi ISHIDA, Maho HABUKA, Shuichi HIRONO (School of Pharmacy, Kitasato University)

Energy-based analysis and prediction of peptide-HLA interactions

○ Daisuke KURODA, Hiroaki GOUDA (Department of Analytical and Physical Chemistry, Showa University School of Pharmacy)

Estimations of selectivities of opioid agonists using three 3D-QSAR models based on each alignment of molecules docked into μ , κ , and δ -opioid receptors

○Noriyuki YAMAOTSU, Shuichi HIRONO (School of Pharmacy, Kitasato University)

A computational study of water-assisted cyclization mechanism of glutamate residue

○Tomoki NAKAYOSHI¹, Shuichi FUKUYOSHI¹, Ohgi TAKAHASHI², Akifumi ODA^{3,4} (¹Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Faculty of Pharmaceutical Sciences, ²Tohoku Medical and Pharmaceutical University, ³Faculty of Pharmacy, Meijo University, ⁴Institute for Protein research, Osaka University)

Three dimensional structures of primitive proteins generated in the racemic amino acid pool

○Akifumi ODA^{1,2,3}, Shuichi FUKUYOSHI³, Eiji KURIMOTO¹ (¹Faculty of Pharmacy, Meijo University, ²Institute for Protein Research, Osaka University, ³Faculty of Pharmacy, Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University)

Evaluation of docking program for cytochrome P450: a case of Mycobacterium CYP121

○Miki H. MAEDA (Advanced Analysis Center, National Agriculture and Food Research Organization)

Interaction analyses of CDK2 with its inhibitors by FMO calculation and PLS regression

○Tomoki YOSHIDA, Shuichi HIRONO (School of Pharmacy, Kitasato University)

Analyses of protein – ligand interaction of BACE1 and its ligands using fragment molecular orbital method

○Yuji HASHIMOTO¹, Norihito KAWASHITA^{1,2}, Hiroto MORIWAKI¹, Yu-Shi TIAN³, Tatsuya TAKAGI^{1,2} (¹Graduate School of Pharmaceutical Science, ²Research Institute for Microbial Diseases, ³Graduate School of Information Science and Technology, Osaka University)

In silico analyses of interactions between hexosaminidase A and its high potent ligands

○Izumi NAKAGOME¹, Atsushi KATO², Noriyuki YAMAOTSU¹, Isao ADACHI², Shuichi HIRONO¹ (¹Kitasato University, School of Pharmacy, ²Department of Hospital Pharmacy, University of Toyama)

Development of the protein 3D fragment analysis system focused on ligand binding loop regions

○Akihiro HIRAMA, Hiroaki KATO (Toyohashi University of Technology)

Prediction of detailed enzyme functions and identification of specificity determining residues by random forest using information about active sites and enzyme-ligand complex structures

○Chioko NAGAO¹, Nozomi NAGANO², Kenji MIZUGUCHI¹ (¹National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology)

Prediction of 3D protein-ligand interactions in enzymatic reactions

○Yoichi MURAKAMI^{1,4}, Satoshi OMORI¹, Kengo KINOSHITA^{1,2,3}
(¹Graduate School of Information Sciences, Tohoku University, ²Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, ³Tohoku Medical Megabank Organization, ⁴Center for Drug Design Research, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition)

Development of the quick federated substructure search (QFSS) method for huge compound database based on the indexing of novel substructure fingerprints ...59

○Seiichi KOBAYASHI, Kinya TODA, Ryoichi KATAOKA, Junichi GOTO (Ryoka Systems Inc.)

Development of the common fragment set extraction system for compound-protein relationship studies

○Yoshiyuki SATO, Hiroaki KATO (Toyohashi University of Technology)

Prediction of protein complex structures and interfacial water positions by template-based modeling in CAPRI round 34

○Yasuomi KIYOTA, Yudai YAMAMOTO, Mayuko TAKEDA-SHITAKA (School of pharmacy, Kitasato University)

Synthesis of fluorinated isoxazolines and 5-alkoxyisoxazolines for a biological activity evaluation

○Kazuyuki SATO,¹ Graham SANDFORD,² Niko YANADA,¹ Atsushi TARUI,¹ Akira ANDO,¹ Masaaki OMOTE¹ (¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, ²Department of Chemistry, Durham University)

Analysis for assembling mechanism of coiledcoil domains in yeast cargo receptor Emp46p/47p and modification of pH-dependence for the complex formation

○Koichi KATO¹, Takahisa FURUHASHI¹, Eiji, KURIMOTO¹, Akifumi ODA^{1,2}
(¹Faculty of pharmacy, Meijo University, ²Institute for protein research, Osaka University)

What's the Difference between lysozyme and α -lactalbumin in structure and function? From the viewpoint of molecular evolution

○Toshiaki TAURA, Naoto FUKUOKA, ○Tomoya NOBUNAGA (Faculty of Information Science and Technology, University of Aichi Prefecture)

Evaluation of the structural features between estrogen receptor alpha and beta using molecular dynamics simulations

○Kenichiro FUJII¹, Shuichi FUKUYOSHI¹, Noriyuki YAMAOTSU², Shuichi HIRONO², Akifumi ODA^{3,4} (¹Division of Pharmaceutical Sciences, Graduated School of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, ²School of Pharmacy, Kitasato University, ³Faculty of Pharmacy, Meijo University, ⁴Institute for Protein Research, Osaka University⁴)

Presumption of amyloid- β aggregation mechanism based on the structure-activity relationships for aggregation inhibition and docking studies

○Riho TAGUCHI, Tomohito TAKAHASHI, Suguru KOSAKA, Kiyotaka TOKURAKU, Koji UWAI
(Muroran Institute of Technology)

Acute to chronic toxicity prediction models for Daphnia magna under the QSAAR Framework

○Ayako FURUHAMA, Takehiko I. HAYASHI, Norihisa TATARAZAKO (Centre for Health and Environmental Risk Research, National Institute for Environmental Studies)

WhichP450: Predicting which cytochrome P450 isoforms are involved in the metabolism of a xenobiotic

○Sumie TAJIMA², Marina TAKAHASHI², Jonathan TYZACK¹, Nicholas FOSTER¹, Peter HUNT¹, Matthew SEGALL¹ (¹Optibrium Ltd, ²Hulinks Inc.)

Fish toxicity prediction of chemicals using TFS-PLS method in conjunction with Active QSAR modeling

○Ryota KIKUCHI, Tetsuo KATSURAGI, Yoshimasa TAKAHASHI (Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology)

Fish toxicity prediction of chemicals using atomic fragment method: refinement of the fragments and improvement of the prediction model

○Dai FURUKAWA, Tetsuo KATSURAGI, Yoshimasa TAKAHASHI (Toyohashi University of Technology)

Relationship between structure and cellular uptake of pVEC peptides in plant cells

○Mayu HAYASHI, Yurie HASHINO, Masahiro MIYASHITA and Hisashi MIYAGAWA
(Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

Crystal structure analysis and investigation of the alternative materials of longgu (Fossilia Ossis Mastodi) in herbal medicine prescription

○Yu KUROZUMI, Junji YAMAKAWA, Kazuki OGURI, Kyoko TAKAHASHI, Masaya KAWASE
(Okayama Univ., Osaka Univ., Nagahama Bio-tec Univ.)

Computational study of isomerization reaction route of the aspartic acid

○Shuichi FUKUYOSHI¹, Tomoki NAKAYOSHI¹, Ohgi TAKAHASHI², Akifumi ODA^{3,4} (¹Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University. ²Tohoku Medical and Pharmaceutical University. ³Faculty of Pharmacy Meijo University. ⁴Institute for Protein Research, Osaka University)

Eigenvector of molecular matrix and atomic environment of molecule

○Kouhei MURAKAMI, Tetsuo KATSURAGI, Yoshimasa TAKAHASHI
(Toyohashi University of technology)

//// Activities ////

<会告>

構造活性フォーラム 2017

「PPI 阻害をターゲットとする中分子医薬開発戦略」

主催：日本薬学会構造活性相関部会

協賛：日本化学会、日本農芸化学会（申請中）

会期：2017年6月16日（金）

会場：日本薬学会長井記念館 B2 階長井記念ホール（〒150-0002 東京都渋谷区渋谷 2-12-15）

フォーラム 2017 ホームページ：<http://www.qsarj.org/forum2017/index.html>

開催趣旨：近年のオミックス研究の進展により、従来の単一創薬標的に対する創薬アプローチに加えて、生体内の機能発現に関与する多くの蛋白質間相互作用 (PPI) を創薬の標的と捉える流れが加速している。PPI の界面は多くの場合、平坦で疎水的な環境にあり、低分子の阻害剤を見つけるのが困難な場合が多い。そこで中分子サイズ (分子量 500 以上) の druggable な PPI 阻害剤の探索に関心が集まっている。本フォーラムでは、相互作用界面の解析に欠かせない構造生物学や物理化学解析によるペプチドやアプタマーなどを含めた中分子の医薬品開発の戦略を議論したい。

本フォーラムが、創薬研究に携わる研究者にとって自身の専門領域を超えたところでの種々の手法を取り込んだ学融研究が実りある成果に繋がることを期待するとともに、何がしかの研究のヒントになれば幸いである。

プログラム：

開催の挨拶 古谷 利夫（実行委員長、ペプチドリーム株式会社）

講演 1. 「核酸アプタマーの構造解析と創薬への利用」

中村 義一（東京大学名誉教授・株式会社リボミック代表取締役社長）

講演 2. 「“ゆらぐ α -ヘリックス” を標的とした創薬」

小田上 剛直（株式会社 PRISM BioLab 研究開発部長）

講演 3. 「物理化学解析を基盤とした蛋白質間相互作用阻害剤の開発」

津本 浩平（東京大学大学院工学系研究科教授）

講演 4. 「特殊ペプチドがもつ PPI 中分子創薬に向けたポテンシャル」

後藤 佑樹（東京大学大学院理学系研究科准教授）

講演 5. 「Undruggable から Druggableへ」

舩屋 圭一（ペプチドリーム株式会社取締役 COO）

パネルディスカッション「PPI を指向した中分子創薬の課題と展望」

講演者全員、司会：古谷 利夫（ペプチドリーム株式会社）

参加登録および申込締切日： 当日参加受付はありません。5月26日（金）までに、フォーラムホームページから事前参加登録をお願いいたします。参加登録後、5月31日（水）までに銀行口座振り込みをお願いいたします。

参加費：（薬学会会員・非会員ともに）一般 5,000 円、学生無料

懇親会： 17時20分から、日本薬学会長井記念館 B2 階長井記念ホール前ロビー

懇親会費：（薬学会会員・非会員とも）一般 4,000 円、学生 1,000 円

問合先： 構造活性フォーラム 2017 古谷利夫（実行委員長）

〒153-8904 東京都目黒区駒場 4-6-1 東京大学駒場リサーチキャンパス KOL 棟 M2 階
ペプチドリーム株式会社内 Tel: 03-6407-8481 Fax: 03-6407-8482

E-mail: forum2017@qsarj.org

//// Activities ////

<会告>

第 45 回構造活性相関シンポジウム

主催： 日本薬学会構造活性相関部会

会期： 2017 年 11 月 29 日（水） - 2017 年 11 月 30 日（木）

会場： 茨城県県南生涯学習センター JR 常磐線土浦駅徒歩 1 分
〒300-0036 茨城県土浦市大和町 9-1 ウララビル 5 階
<http://www.kennan.gakusyuu.ibk.ed.jp/>

日程：

11 月 29 日（水）特別講演，記念講演，招待講演，ポスター発表（2 分間の事前口頭発表あり），
懇親会

11 月 30 日（木）招待講演，口頭発表，プレゼンテーションアワード授与式

特別講演：

11 月 29 日（水） 保木 邦仁 先生（東京電気通信大学）
ゲーム評価関数の機械学習

薬学会功労賞受賞記念講演：

11 月 29 日（水） 藤田 稔夫 先生（京都大学名誉教授）
SAR-omics --- Polypharmacology から Protein-based design への経験的アプローチ

招待講演：

11 月 29 日（水）
杉田 有治 先生（理化学研究所）
大規模分子動力学による生命科学と創薬応用

11 月 30 日（木）
黒川 洵子 先生（静岡県立大学薬学部）
ヒト iPS 細胞技術と *in silico* 技術を用いた薬物誘発性不整脈の予測

白井 宏樹 先生（アステラス製薬株式会社）
in silico methods for antibody developability

中谷 昌央 先生（株式会社ケイ・アイ研究所）
水稲用除草剤ピリミルスルファンに関する研究

発表登録・参加申込など:

発表申込締切日： 8月18日 (金)

講演要旨締切日： 9月29日 (金)

参加申込締切日： 11月10日 (金)

参加登録費： [一般] 8,000円、[学生] 2,000円

懇親会参加費： [一般] 7,000円、[学生] 3,000円

シンポジウムと懇親会への参加申し込みは、シンポジウムホームページからの事前登録のみでお受けします。当日の申し込みはお受けできませんのでご注意ください。定員に達した時点で登録受付を締め切りますので、お早めにお手続きをお願いいたします。

(<http://www.qsarj.org/45sympo/index.html>)

ホームページの運用は6月以降を予定しております。

問い合わせ先:

〒274-8555 千葉県船橋市習志野台 7-7-1

日本大学薬学部生体機能化学研究室内

第45回構造活性相関シンポジウム実行委員会

実行委員長 飯島 洋

e-mail: sar2017@qsarj.org

URL: <http://www.qsarj.org/45sympo/index.html>

部会役員人事

2017 (平成 29) 年度	常任世話人	2017/4/1 現在
部会長	中川好秋	(京都大院農学研究科)
副部会長	岡島伸之	((株)CAC クロア)
副部会長	本間光貴	(理化学研究所)
会計幹事	前田美紀	(農業・食品産業技術総合研究機構)
庶務幹事	竹田-志鷹 真由子	(北里大学薬学部)
広報幹事	広野修一	(北里大学薬学部)
SAR News 編集長	飯島洋	(日本大学薬学部)
ホームページ委員長	高木達也	(大阪大院薬学研究科)

構造活性相関部会の沿革と趣旨

1970年代の前半、医薬品を含む生理活性物質の活性発現の分子機構、立体構造・電子構造の計算や活性データ処理に対するコンピュータの活用など、関連分野のめざましい発展にもなるとともに、構造活性相関と分子設計に対する新しい方法論が世界的に台頭してきた。このような情勢に呼応するとともに、研究者の交流と情報交換、研究発表と方法論の普及の場を提供することを目的に設立されたのが本部会の前身の構造活性相関懇話会である。1975年5月京都において第1回の「懇話会」(シンポジウム)が旗揚げされ、1980年からは年1回の「構造活性相関シンポジウム」が関係諸学会の共催の下で定期的に行われるようになった。

1993年より同シンポジウムは日本薬学会医薬化学部会の主催の下、関係学会の共催を得て行なわれることとなった。構造活性相関懇話会は1995年にその名称を同研究会に改め、シンポジウム開催の実務担当グループとしての役割を果たすこととなった。2002年4月からは、日本薬学会の傘下組織の構造活性相関部会として再出発し、関連諸学会と密接な連携を保ちつつ、生理活性物質の構造活性相関に関する学術・研究の振興と推進に向けて活動している。現在それぞれ年1回のシンポジウムとフォーラムを開催するとともに、部会誌のSAR Newsを年2回発行し、関係領域の最新の情勢に関する啓蒙と広報活動を行っている。

本部会の沿革と趣旨および最新の動向などの詳細に関してはホームページを参照頂きたい。

(http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/index.html)

編集後記

日本薬学会構造活性相関部会誌 SAR News 第 32 号をお届けいたします。Perspective/Retrospective では生理活性核酸オリゴマーの研究を愛知工業大学の北出幸夫先生にご寄稿いただきました。ウイルス感染治療や予防を目標に、核酸誘導体を使いこなして、生体内の酵素 (RNase L) の活性化を目論むユニークな着眼です。Cutting Edge では昭和大学薬学部の田中信忠先生に RNase L の構造研究をご紹介いただきました。アンキリンリポーター構造がウイルス感染時の核酸 (2,5-A) のセンサーとなることを証明できた一方、惜しくも全長の構造解析で先を越されたことなど、研究競争最前線を戦われたご経験も伝わって参りました。東京大学分子細胞生物学研究所の竹村和浩先生、北尾彰朗先生には、標的分子とリガンドの結合を評価するエネルギー表示法という手法について解説していただきました。本手法によりアンキリンリポーターの機能について実験的に解析が難しい現象を計算科学的に裏付けておられます。

ご多忙の中、快くご執筆下さいました先生方に深く感謝申し上げます。(編集委員会)

SAR News No.32 平成 29 年 4 月 1 日

発行:日本薬学会 構造活性相関部会長 中川 好秋

SAR News 編集委員会
(委員長) 飯島 洋、小田 晃司、河合健太郎、清田 泰臣、田上 宇乃、幸 暲

*本誌の全ての記事、図表等の無断複写・転載を禁じます。