

1. ドラグレセプター理論に基づいたアプローチと基本事項

ドラグレセプター理論自体の概念はかなり古くから存在した。薬物が活性を発現するためにはどのような形であろうとも薬物は必ず生体と何らかの形で反応をすることが必要であり、この反応はレセプターサイト上で起こるとするのがその根拠である。この考えは“鋳型と鋳物”あるいは“キー&ロック”と称される言葉で薬物と生体との反応が議論されてきた。

この概念がコンピュータ上の一つの解析手法として確固たる形になるには幾つかの関連技術の成長が必要であり、この手法が本格的に立ち上がったのは1980年代後半からである。これには本アプローチで必須となるグラフィック技術の立ち上がりが大きく貢献している。この手法を支える技術としてはこの他に、X線結晶解析技術の進歩（特に蛋白関連の結晶解析）、分子力学や分子軌道法といった理論の進歩（化合物の三次元座標データの創出および原子間反発力や電子的相互作用の計算）もある。これらの技術の積み重ねの上に本アプローチが存在する。

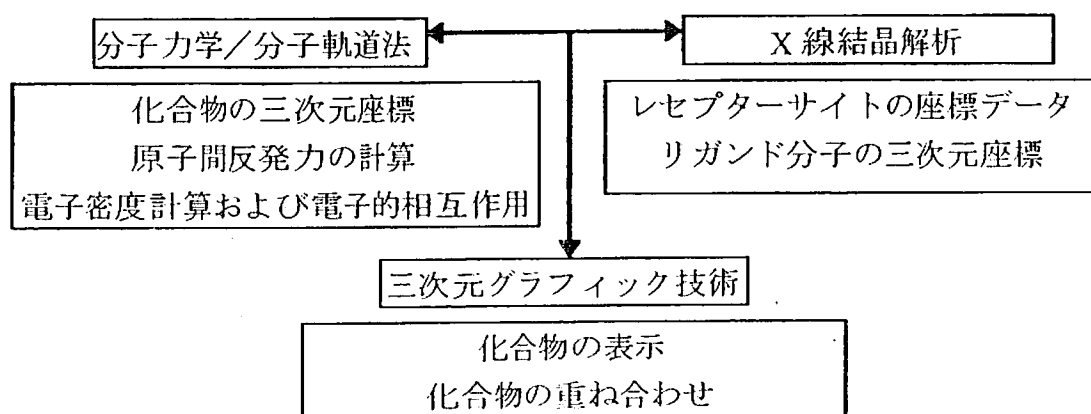


図 1. ドラグレセプター理論を支える三大技術

1.1 個々の技術の簡単な解説

① X線結晶解析

X線結晶解析技術そのものについては専門書が多数存在するのでそちらを参照されたい。ここではドラグレセプター理論を実施する時に必要となる座標データの収集という観点から述べる。

実際に本アプローチによる解析を行う時は、レセプターサイト、即ち酵素の座標データと、ドッキングを行う化合物の三次元座標データを用意する必要がある。この座標データは自分で求める事もあるが一般的にはデータベースから求める事が多い。低分子化合物は次項で述べる分子力学や分子軌道法で三次元座標データを求める事は可能であるが、酵素の三次元座標データは計算では求められない。現時点ではX線解析（最近ではNMRも含む）だけが酵素の三次元座標を求める唯一の手段である。酵素の三次元座標を求める事は大変な作業と時間を必要とすることであり、構造-活性相関の研究者が直接X線解析を行うことは殆どない。実際にはデータベースを利用して座標データを入手する。このX線結晶解析のデータベースとしては低分子化合物のデータベースと

して CCDC (Cambridge Crystallographic Data Centre

(<http://www.ccdc.cam.ac.uk/ccdchome.html>)) があり、酵素や蛋白のデータベースとしては Brookhaven Protein Data Bank*¹⁾ (<http://www.pdb.bnl.gov>)) がよく利用される。

PDB データエントリー (1997 年 4 月現在) :

Proteins 5332、Nucleic acids 410、Carbohydrates 12

* 1 : Bernstein, F.C., Koetzle, T.F., Williams, G.J., Meyer, E.E., Brice, M.D., Rodgers, J.R., Kennard, O., Shimanouchi, T. and Tasumi, M., The Protein Data Bank: A computer-based archival file for macromolecular structures, *J. Mol. Biol.*, 112 (1977) 535-542.

②分子力学、および分子軌道法

化合物の三次元座標を計算で求める手法としては X 線結晶解析を除けば、分子力学法と分子軌道法とがある。分子力学および分子軌道法に関しては X 線結晶解析と同様に多くの解説書があるのでそちらを参考されたい。ここでは、本章の解説に必要な限度に止めておく。

本アプローチで分子力学や分子軌道法を利用する目的は二つである。一つは化合物の最安定三次元構造を求める事。もう一つはドッキングを行う時のモニターとして、Van der Waals の反発力や、電子的相互作用を利用するがその時必要となる反発力の計算や、空間上のポイントチャージを計算する事である。

・最安定構造式の算出

最安定構造式は一般的にグローバルミニマと称され、分子力学や分子軌道法計算で求められる。構造の自由度が小さな化合物は最安定構造を求め易いが、自由度の高い化合物の最安定構造式を求める事は困難である。分子力学法や分子軌道法のいずれも、単純な歪みエネルギー計算では初期座標に隣接する安定構造式 (ローカルミニマ) で計算が収束してしまう。最安定構造を導くにはプログラムの特別な操作か、専用のオプションが必要である。自由度が高い場合この計算量は加速度的に増大する。本分野の研究ではこの最安定構造式を求める事が目的ではないので、計算である程度の三次元安定座標を求めた後は、ディスプレイ画面上で対話的に研究者が最安定構造を求めるという折衷案的アプローチが取られることが多い。

分子力学法と分子軌道法とを、利用する観点からその特徴を表 1 に簡単にまとめる。この表中、分子軌道法は半経験的分子軌道法と非経験的分子軌道法の二種類に分けて考えている。

表 . 分子力学法と分子軌道法の特徴

	分子力学法		分子軌道法 (半経験的)		分子軌道法 (非経験的)
①計算精度	中程度	<	高い	<	かなり高い
②計算時間	早い	>	中程度	>	かなりかかる
③計算制限 (化合物種)	パラメータ依存高い	>	パラメータ依存低い	>	種依存殆ど無し
(サイズ)	中～大サイズ分子	>	中サイズ分子	>	小分子
④計算内容	歪みエネルギー		種々の電子的情報	⇒	⇒ ⇒

表中の個々の内容を細かく考えると大分フラツキがある。例えば、分子力学の計算精度は一部の化合物群では分子軌道法よりも良い結果を出すし、分子軌道法でも計算出来る分子サイズは大きくなってきている。しかし、全体的な傾向としては間違いないはずである。

分子力学法は計算に用いる力場の種類により計算結果が変化するが、計算手法間の原理に大きな差異は無い。一方、分子軌道法は半経験的分子軌道法と非経験的分子軌道法 (ab initio 法) とで表の④を除いて大きな差異がある。化合物の三次元座標に関しては、精度を追求する場合は非経験的分子軌道法を適用し、さほど精度を要求せず、且つ化合物数が多く分子サイズも大きい時は半経験的分子軌道法を適用することが一般的である。現在、化合物の三次元座標を求める計算は分子力学法としては Allinger が開発した MM3 が、半経験的分子軌道法としては Stewart が開発した MOPAC が、非経験的分子軌道法としては Pople らが開発した Gaussian が最も良く利用されている。

既に述べたように分子力学法と分子軌道法とでは様々な点で特性が異なる。化合物の三次元座標計算も計算精度や手続き等の問題から実際の解析にあたっては使い分けがされている。手法間の計算精度としては分子軌道法が分子力学よりも高いが計算時間は分子力学の方が早い。従って、一般的には最初に分子力学計算で大まかな三次元構造を求めておき、続いて分子軌道法により正確な座標計算を行うという二段階手続きが取られている。

・ドッキング時のモニター用指標データの計算

現在のドラグレセプター理論によるアプローチの最終目的はドッキングプロセスにある。多くの場合このドッキングプロセスは、研究者がディスプレイ画面を見ながら行なわれる。このドッキング作業を効果的、かつ正確に行うために、このドッキングの良否をモニターする何らかの指標が必要となる。このモニターに利用される指標として原子間反撥力、水素結合情報、電子的相互作用およびリガンド化合物の肘味エネルギー等が利用される。分子力学法や分子軌道法による計算はこれらのデータを求めるために利用される。

③グラフィックディスプレイ関連

ディスプレイ関連の技術は完全にハード的な要素に起因する部分と、化学に

関連する技術とに分類する事が可能である。

表 . グラフィックディスプレイに関する技術

	ハードに起因する技術	化学に起因する技術
ハード	三次元ディスプレイ ソリッドモデル	分子表示様式 スティック図、空間充填図 Connolly 分子表面図
表示技術	透視変換 ・デップスキューイング ・テクスチャマッピング/他	分子操作 化合物の重ね合わせ

ディスプレイ関連技術はその大部分は表示に関するものである。ドラグレセプター理論のアプローチに最も寄与が大きい技術上の進歩は三次元ディスプレイの登場である。この三次元ディスプレイの登場により、ドッキング業務をディスプレイ画面上でリアルタイムに、且つ正確に行うことが可能となった。また、ハードが備える物体の表示技術としては表にもあるように、透視変換、半透明表示、デップスキューイング、隠線/隠面処理、メタボール、テクスチャマッピング、他、個々の表示目的に応じて様々な技術が展開されている。一方、化学分野特有の表示様式としては様々な様式の分子図（スティック図、ボール&スティック図、空間充填図等）があり、分子表面の表示様式としては Connolly 分子表面図等が頻繁に利用される。これらの表示様式に前記の様々な表示技術が適用され、芸術的レベルの化合物表示が具現化される。画面上の化合物操作では、回転、並進等のハード上の機能から、化合物の重ね合わせといったソフトウェア上での操作もディスプレイ上で実際に利用される重要な技術である。本分野における表示技術は三次元ディスプレイの登場で研究を行うに十分なレベルに到達したと考えられる。今後、ドラグレセプター理論の実施という観点からはバーチャルリアリティによるドッキングの実施を除けば、表示関連での大きな進歩はないであろう。

・ 分子表面の表示手法について

分子の表示技術は本アプローチにとり非常に重要な技術である。特にドッキングに際してはリガンド分子と共にレセプターサイトの表面を表示する技術が重要となる。ここでは簡単に構造-活性相関で利用される分子表面の表示技術についてまとめる。

分子の表面を定義する、あるいは表現するアプローチとして、① Van der Waals 表面、②溶媒接触可能表面^{*1)} (Solvent accessible surface area)、および③ Connolly 表面^{*2)} の三種類が存在する。

* 1 : Lee, B. & Richards, F. M. (1971). The Interpretation of Protein Structures: Estimation of Static Accessibility. *J. Mol. Biol.* 55, 379-400.

* 2 : Connolly, M. (1983). Solvent-accessible Surfaces of Proteins and Nucleic Acids. *Science* 221, 709-713. (<http://www.biohedron.com>)

Van der Waals 表面は原子のサイズを規定した Van der Waals 半径を基本としてその原子表面を重なり部分を除いて忠実に再現したもので、分子図でいうならば空間充填図が該当する。この図は分子の表面形状を表示するのに最適であ

り、化学全般の分野で利用されている。

溶媒接触可能表面は先の Van der Waals 表面上に溶媒（通常は H_2O 分子）分子を球とし、その球を Van der Waals 表面上に接触させながら転がした時の溶媒分子球の中心の軌跡をそのまま分子表面としたものである。この概念は生体内における酵素や化合物が水分子と関与する状況を再現するもので、溶媒分子を有機溶媒にすると有機溶媒中の化合物の存在状況を再現する事が出来る。原子が互いに接近し、原子間のスペースに溶媒分子が入り得ない空間では溶媒分子との接触は不可能となる。本表示による分子形状は全体として凹凸の少ない形となる。

Connolly 表面は溶媒接触可能表面同様に Van der Waals 表面に分子球を回転させるが、この時取られる軌跡は転がす分子球の表面である。従って、Connolly 表面では分子表面そのものではなく、溶媒分子が接触しうる表面が表示される。

この Connolly 表面は Van der Waals 表面と異なり分子表面がスムーズ化され、かつ実際に分子が接近できる限界を示しているのでドラグレセプター理論におけるレセプターサイトの表示には良く利用されている。これら三種類の分子表面表示図法を図 に示す。

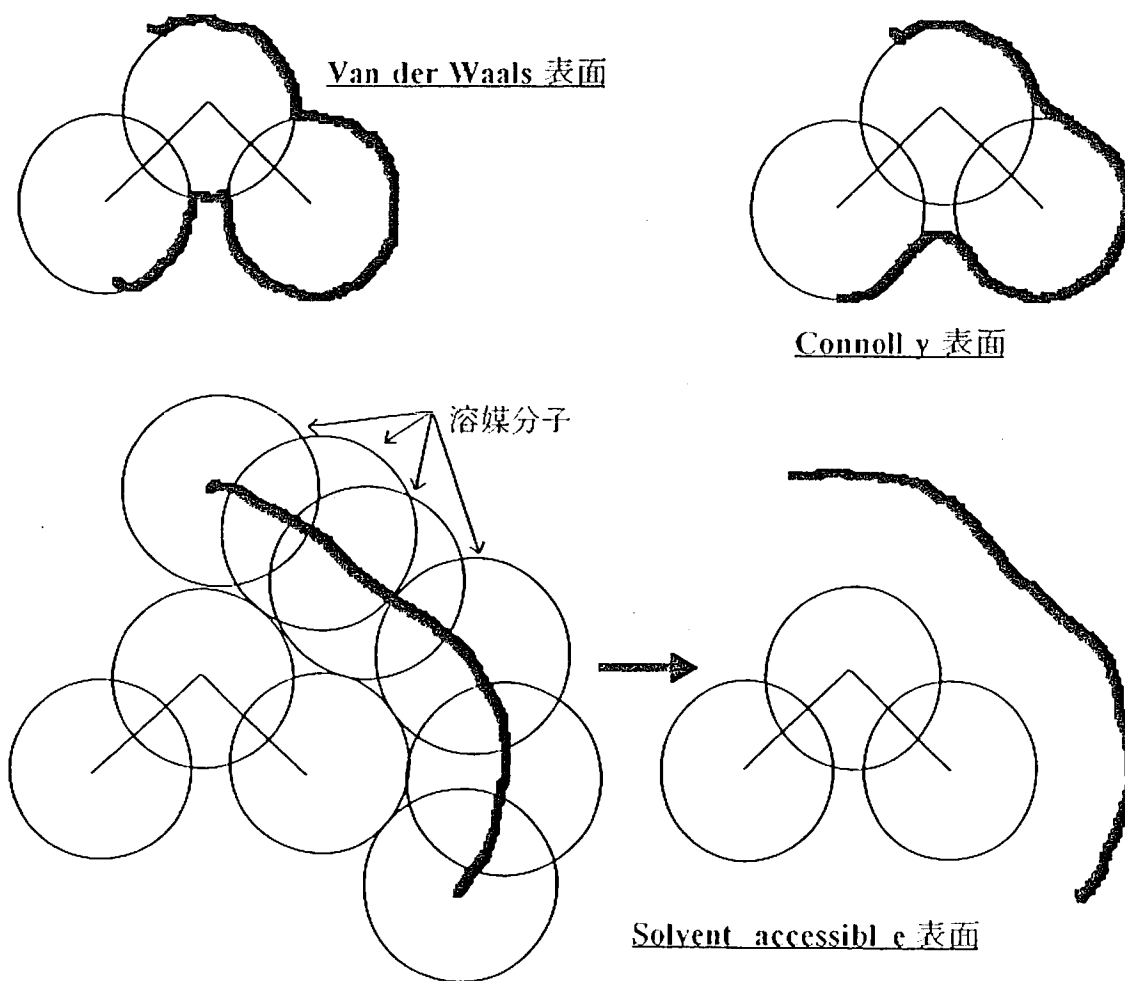


図 . 三種類の分子表面図

2. ドラッグレセプター理論に基づいた二大アプローチと二種類のドッキング

本アプローチの最終目的は、レセプターサイトにおけるリガンド化合物とのドッキング（フィッティングとも言うが、本著ではフィッティングの言葉は化合物の重ね合わせに用いる）を行う事である。従って、このドッキングをいかに完全に再現出来るかが本アプローチの成否を左右するポイントである。

2.1 レセプターサイト構造情報の有無に基づく二種類のアプローチ

ドラッグレセプター理論に対するアプローチは、ドッキングを行うレセプターサイトの座標データの有無により大きく二種類に分類される。レセプターサイトの座標データがある時（即ち、酵素の三次元座標）はこの座標データを用いてディスプレイ上にこの構造を直接表示出来る。このディスプレイに表示されたレセプターサイト上でリガンド化合物とのドッキングを行ない、薬理活性との相関関係を探る。現在でもレセプターサイトの完全な座標データが存在する例は少ないが、X線結晶解析技術自体が向上すると同時にNMRを用いた構造解析技術が急速に進歩しており、今後データベースに登録される酵素の数が急増するものと期待される。研究開発レベルではDHFR(Dihydrofolate reductase)酵素を用いた発表が以前として多いが、最近ではエイズが注目されている関係からHIVproteaseを用いた研究事例が多くなっている。しかし、自分が目的とする薬理活性に関する酵素の座標データをデータベースから求められる確率はいぜんとして小さく、この点で研究の範囲は制限される。

一方、レセプターサイトの座標データがない時は何らかの形でレセプターサイトを構築し、この仮想レセプターサイトを用いてドッキングを行う。この仮想レセプターの決定は、同じレセプターサイトで反応する複数のリガンド化合物同志を重ね合わせ、その重ね合わされた三次元形状情報を鋳型として仮想上のレセプターサイトを構築する事が行われる。求められた仮想レセプターサイトを用いてリガンド化合物とのドッキングを行い、構造-活性相関に関する情報を得る。この仮想レセプターサイトを求めるプロセスが“レセプターマッピング”と称される。先にも述べたように薬理活性の大部分はその薬理活性発現に関与する酵素の三次元構造式の不明な場合が多く、この意味でドラッグレセプター理論によるアプローチは事実上このレセプターマッピングを意味すると言える。

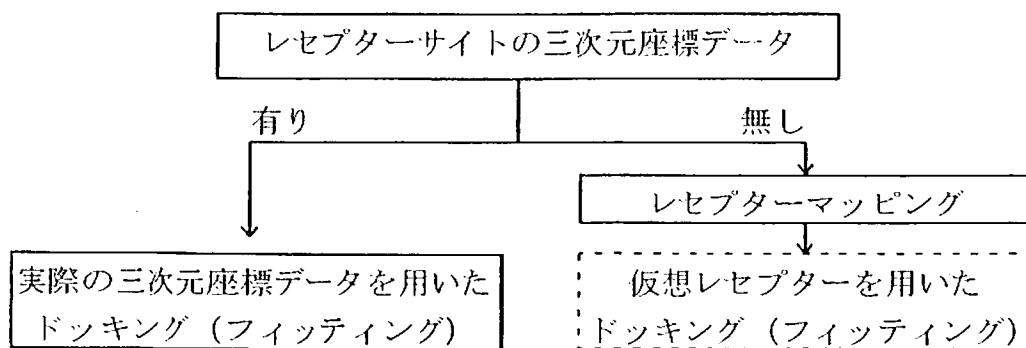


図 . ドッキングに対する二大アプローチ

2.2 リガンド化合物の自由度の有無に基づく二種類のドッキング

ドッキングを行うプロセスはリガンド化合物の構造式が固定（通常は最安定構造式を用いる）されて自由度の無い状態でドッキングを行うアプローチと、リガンド化合物に自由度を与えて変形可能な状態でのドッキングの二種類がある。自由度の無いアプローチがリジッドドッキングであり、自由度を持たせたアプローチがフレキシブルドッキングである。

生体内の状態を再現するという観点から考えた場合は、フレキシブルドッキングを行うことが理想である。しかし、コンピュータのハード的な限界やソフトウェア上でのアルゴリズムが未整備であった事から、当初はリジッドドッキングが行われた。この場合、化合物の変形は研究者が画面を見ながら対話的に行うという折衷案が採用された。

リガンド化合物の変形を許したフレキシブルドッキングが行われるようになる為には、分子力学や分子動力学の進歩とドッキングに適した最適化手法が充実する事が必要であった。最新のフレキシブルドッキングでは、リガンド化合物のみならず、酵素のレセプターサイトの変形も許したドッキングが試みられている。

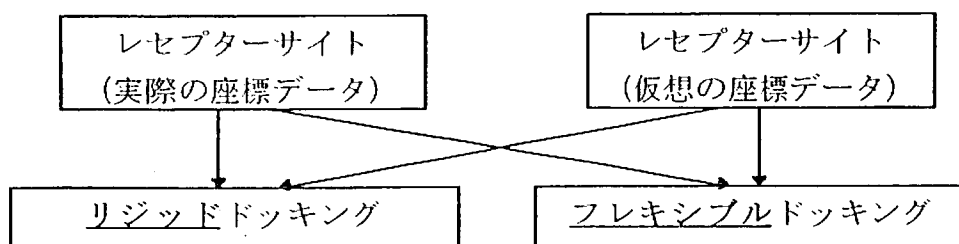


図 二種類のドッキング

3. ドッキング（フィッティング）

ドラグレセプター理論を基本としたアプローチの最終目的はリガンド化合物を用いたレセプターサイトでのドッキング作業の実施にある。最新のドッキングでは前節でも述べたようにフレキシブルドッキングが出来るようになってきている。しかしドッキングを行う過程では自動で行うにせよ、研究者が行うにせよドッキングの良否を判断しながら最適ドッキングに導くことが必要となる。特に、研究者が行う時はディスプレイ画面を見ながら対話的に行うので、ドッキングの良否を判断する指標となるモニターは本アプローチにとり必須である。従って、このモニター機能はドラグレセプター理論に基づく構造-活性相関アプローチの成否を支配する極めて重要なプロセスとなる。

3.1 ドッキングの為のモニターと評価機能

ドッキングを行うためにはドッキング過程で必要となるモニターと、最終的に完了したドッキング自体の良否を判定する評価機能が必要である。モニター機能はドッキング過程で必要とされる為、精度よりも高速性が要求される。一方で、ドッキング自体の評価は高速性よりも精度の方がより重視される。

モニターも評価も、内容的には殆ど同じ計算項目を扱っている。これらの計

算項目として、一つは原子間非結合相互作用の計算、一つはリガンド化合物の歪みエネルギーの計算がある。これらの計算式や計算項目の組み合わせは、システムの思想や解析目的等の差異により変化する。

3.1.1 ドッキングモニターの項目

このモニターの対象は大きく二種類に分類される。一つは酵素とリガンド化合物間における相互作用のモニター機能であり、内容的には原子間反撥力、水素結合情報、電子的相互作用等の情報が利用される。このモニターによりリガンド化合物と酵素との相対的な位置関係が設定される。もう一つのモニターはリガンド化合物自身に関するもので、これには分子の歪みエネルギーを利用する事が多い。このモニターによりリガンド化合物自体の形の不整合性のチェックが可能となる。これら、分子間相互作用とリガンド分子そのものに関する両方のモニターを観測しつつドッキングを行うのが一般的である。

3.1.2 ドッキングモニターの手法

ドッキングモニターはグラフィック画面上でリガンド化合物をレセプターサイト上でドッキングする時に必要となる。従ってこのモニターは、時事刻々と変化するリガンド化合物とレセプターサイトとの相互位置関係を瞬時に確認出来るリアルタイム性（即ち高速性）が要求される。このために、たとえドッキングに最良のパラメータであってもこの追従性が悪ければ（計算負荷が大きい）モニターとしての役割は果たせない。前項で述べた様々なモニター項目はいずれも計算負荷が大きく、コンピュータの能力が大幅に改善されたとしてもこれらの計算をリガンド分子の動きに連動させてリアルタイムで計算することは困難である。このために、パラメータの追従性を向上させる工夫が個々のシステム単位で展開されている。

モニターへの最も単純なアプローチは計算の簡素化である。この簡素化には簡易計算式の採用と計算項目数の減少の二通りのアプローチがあるが、これらの簡素化はリアルタイム性は獲得出来ても一面で解析精度の犠牲を伴うものであり、現在では殆ど行われてはいない。ここでは、計算精度を保ちつつドッキング時のリアルタイム性を満足する三次元格子を用いたアプローチについて簡単に説明する。

①三次元格子点データの活用

種々の分子間相互作用を高速で計算する手続きとして一般的に取られるアプローチとしては三次元格子点の利用がある。これは、予め酵素のレセプターサイト（ポケット）上／中に三次元格子点を設定しておき、この格子点に設定されたパラメータ値を利用して種々の項目を高速計算するものである^{*1, *2)}。日本では板井らが GREEN システムを開発し³⁾、積極的に展開している。

* 1 : N.Pattabiraman, M.Levitt, T.E.Ferrin, R. Langridge, J. Comp. Chem., 6, 432 (1985).

* 2 : P.J.Goodford, J. Med. Chem., 28, 849 (1985).

* 3 : Itai et al.,

この格子点アプローチは予めレセプターサイト上／中に設定された三次元

格子上的各格子点にプローブ原子（通常は炭素原子）や官能基等を設定し、このプローブ原子や官能基とレセプターサイトにおける各原子との前記種々相互作用をあらかじめ計算しておくものである。ドッキングを行う前に計算負荷の高い種々のモニター項目を十分な時間をかけて計算しておき、個々の三次元格子点にこれらの値をアサインしておく。実際にドッキングを行う時にはリガンド分子が占有する格子点を取り出し、モニター情報としてはこれらの占有された格子点にアサインされた種々パラメータ値の総和を求めるだけである。従って、ドッキング作業中に負荷の高い計算をする事なく、単に格子点データの総和を取るだけでモニターとする様々な計算値が求められ、精度を維持しつつリアルタイムでの種々指標の表示が可能となる。なお、本アプローチでは解析精度は格子点数に比例するが、有る程度数以上になると飽和点に達する。

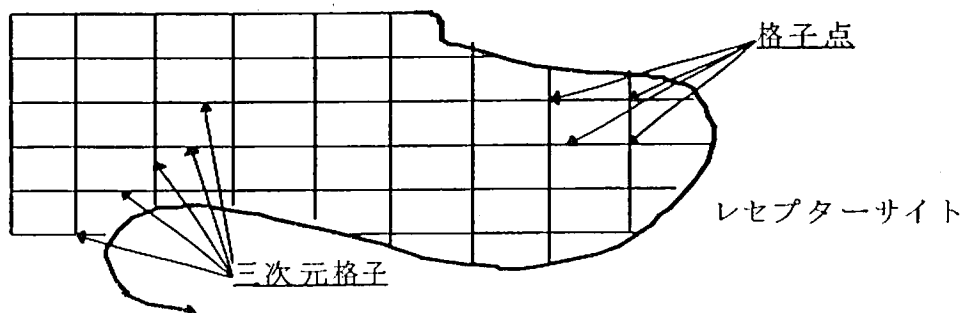


図 . 格子点データ利用による種々パラメータ値のリアルタイム計算

以上のように三次元格子を用いたアプローチではドッキング時にリガンド分子との相互作用を計算するのではなく、三次元格子点にアサインされたデータの総和を取る事が特徴である。従って、格子点とリガンド分子の原子の重なり程度の差異により計算結果はある程度の誤差を生じるが、ドッキングの状況をリアルタイムでモニター出来る点で実用上極めて有意義なアプローチとなる。

このモニターで利用される計算項目は受容体モデル等で常に議論される項目と殆ど変化は無い。分子間の相互作用として原子間 Van der Waals 反発力、電子的吸引/反撥力、水素結合の形成、イオン結合、芳香族の平面配向性、疎水相互作用、特定原子間の距離、等多数存在するが、ドッキングで利用されるモニターとしては最初の三種類が頻繁に利用される。以下に、このモニターで利用される三種類のパラメータ（指標）の計算手法について簡単にまとめる。

②ドッキングモニターに利用される種々パラメータの計算

・ Van der Waals 相互作用

本パラメータは Lennard-Jones タイプの 6/12 型ポテンシャル関数(図)を用いて計算する事が多い。この計算式は式 のように原子間距離の 12 乗および 6 乗に反比例した関数として計算される。

$$E_{VDW} = \varepsilon \left[\left(\frac{r_0}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_0}{r} \right)^6 \right]$$

()

式中 r は非結合相互作用を計算する原子同志の原子間距離、ε はこのポテン

シャルの最低値であり、 r_0 は最低値を取る時点での原子間距離である。この値を格子点上に置かれたプローブ原子と酵素のレセプターサイトにおける全原子との非結合相互作用を求める。この計算を全プローブ原子について行い、データとして各プローブ原子（格子点）にアサインする。このポテンシャルは原子間距離が近づくとも斥力が働き、しかも急激に増大するが、ある程度距離が離れると逆に吸引力が働く。図に Lennard-Jones タイプのポテンシャルを示す。

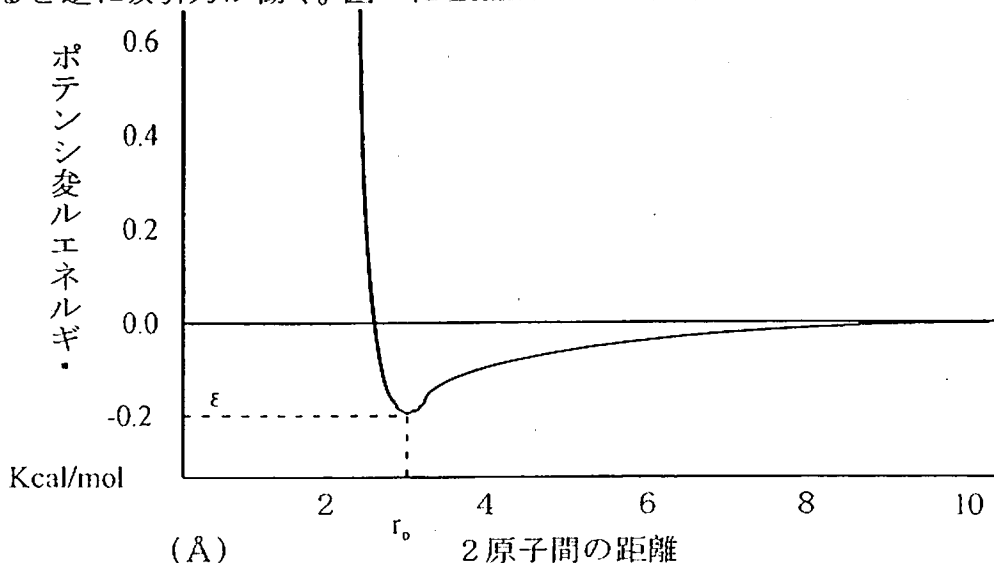


図 . Lennard-Jones タイプの原子間ポテンシャル

・ 静電相互作用

本ポテンシャルは次式により計算する。

$$V_{ELEC} = K \frac{q_i q_j}{Dr_{ij}}$$

()

上式中、Kはエネルギー単位に関する変換定数、Dは誘電率、 r_{ij} はi番目の受容体原子とj番目の原子との距離である。 q_i および q_j はそれぞれiおよびj番目の原子の電荷である。三次元格子上的静電ポテンシャルを求める時は格子上の電荷を1.00として計算する。

・ 水素結合力

水素結合の評価はドッキング解析において非常に重要な要因となる。分子や官能基の配向性に関して重要な情報を集める事が可能となる。計算的には静電エネルギーの計算で代表される部分が多く、最近ではこのポテンシャルを積極的に求めるという動きは少なくなった。しかし、静電ポテンシャルが領域単位の相互作用であるのに対し、水素結合は原子単位で方向性をつかめるため研究者から見た時の水素結合の重要性は高い。

3.2 フレキシブルドッキングとリジッドドッキング

ドッキングはドラグレセプター理論によるアプローチでの最終目標となる重要な作業である。前項で述べた三次元格子点の利用や種々指標の採用はこの

ドッキングを可能な限り正確に行うための環境作りである。

このドッキングを行うプロセスはリガンド化合物の構造式の変形を許さない

で行う時（リジッドドッキング）と変形を許して行う（フレキシブルドッキング）

の二種類のアプローチに大きく分類される。コンピュータ関連技術の環境の未整備から当初はリガンド化合物を剛体と見なすリジッドドッキングが行われていた。しかし、化合物の特性や生体の現状を考えるとリガンド化合物の変形を許したフレキシブルドッキングが理想である。さらに理想を言うならばリガンド化合物のみならず、レセプターサイトの形状もフレキシブルであることが望ましい。このようなアプローチを実現するには、主としてコンピュータの能力向上と、分子動力学や配座解析関連技術の向上等のハードやソフトウェア上での環境整備が必要であった。

フレキシブルドッキングを行う為には先にも述べたように分子動力学や配座解析関連技術が非常に重要な役割を果たす。分子動力学や配座解析の詳細な解説に関しては既に良書が出版されているので興味がある方はそちらを参照されたい。ここではドッキングを行う時に重要となる基本技術（探索／最適化アルゴリズム）について解説する。

3.2.1 平衡状態の化合物構造探索手法について

分子動力学や配座解析においても化合物構造の評価は歪みエネルギーを指標として用いている。従って、この種の問題では最安定構造（グローバルミニマ）と安定構造（ローカルミニマ）との関係を解決する事が必要である。この問題の解決手法として現在幾つかのアプローチが取られている。これらの最適化手法が独立、あるいは組み合わせて利用されることでフレキシブルドッキングが展開されている。

現在試みられている最安定構造の探索手法について以下に簡単にまとめるが、総ての可能性をつくす“しらみつぶし法”は原理的に単純であるが、コンピュータの計算能力の限界から単純な系以外には採用されていないのでここでは省略する。

①モンテカルロ (Monte Carlo) 法

モンテカルロ法は乱数を利用したサンプリングを基本としたアプローチである。総ての可能性を尽くすのではなく、乱数発生により一定数のサンプル群を標本空間中より均等に取り出す事が目的である。最小のサンプルを用いて事実上総てのサンプルを計算したのと同じ効果が得られればこのアプローチは成功したことになる。従って、本アプローチではサンプル群を母集団から均等に取り出せるか否かが解析の成否につながる。どのような項目に対して乱数を発生させるのか、取り出すサンプル数をどのレベルにするのか、以上の二点が本アプローチの本質である。

当然のことながら、乱数を用いたとしても取り出すサンプル数を増やし続けられれば最終的にはしらみつぶし法と変わり無いし、場合によってはしらみつぶし

法よりも効率が悪くなることがある。

②焼きなまし法 (Simulated annealing)

分子動力学で良く利用される手法である。手法自体は、溶融状態にある物体が徐々に冷却するにつれて純度を増して結晶化するプロセスを参考に考案された最適手法の一つである^{*1)}。

分子動力学分野での焼きなまし法の適用目的は、計算の初期段階では揺れが大きい(高温)状態に保つことでローカルミニマから飛び出しやすいようにし、早い段階でローカルミニマにトラップされることを防ぐという事。さらに、ある程度グローバルミニマに近づいた段階で揺れを小さく(低温状態)して最安定点を確定するという事である。

この焼きなまし法の特徴は、探索過程で新規のデータに置き換える時に温度でコントロールされる確率を導入する事である。この確率は、

$e^{-\frac{\delta D}{T}}$ の式で現される。 δD が座標データの置き換え時にエネルギー評価が悪くなった時の値であり、 T 値が温度を現す。先にも述べたように初期段階では T 値が大きく取られ、収束段階では T 値は小さく設定される。この操作により、温度 T が大きな初期段階では例えエネルギー状態が悪化しても新規の座標に変化させて新たな安定点を探索する事になる。また、温度が低くなるとエネルギー状態が悪化しても新規座標を取る確率は小さくなり、一度落ち込んだ安定点(グローバルミニマ)からは抜け出せなくなる。

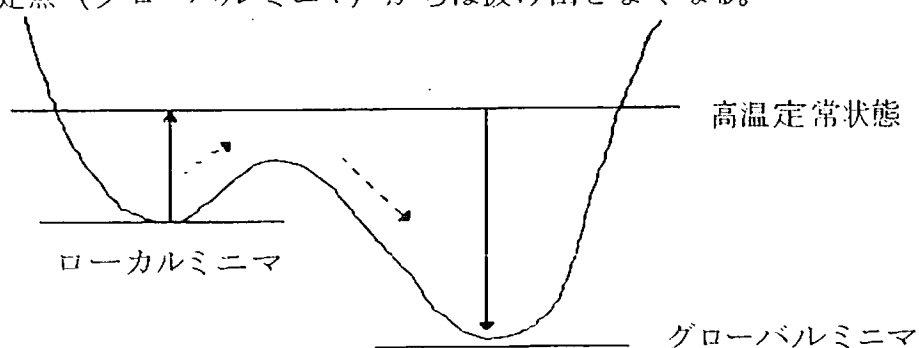


図 焼きなまし法によるグローバルミニマの探索

この焼きなまし法は Olsen らが開発している AutoDock^{*2)} にて採用されている。この Auto Dock の詳細はインターネットの <http://www.scripps.edu/pub/olson-web/doc/autodock/> にて参照する事が出来る。

* 1 : Kirkpatrick, S., Gelatt Jr., C.D. and Vecchi M.P. : Optimization by Simulated Annealing, Science, volume 220, pp. 671-680, 1983.

* 2 : Goodsell, D.S. and Olsen, A.J. (1990). Automated docking of substrates to proteins by simulated annealing. Proteins' Struct. Funct. Genet. 8, 195-202.

③遺伝的アルゴリズム (Genetic algorithms)

最近展開されてきた最適手法であり、従来の山登り法 (Hill-climbing) ^{*1)}

のような一点探索手法と異なり、投網方式による広域な絞り込み探索を特徴とする。従って、母集団全体に網を張るモンテカルロ法と似ているが、モンテカルロ法は単なるサンプリング（取り出し）手法であるのに対し、遺伝的アルゴリズムは投網を“絞り込む”操作も含めて繰り返し行う点が大きな相違点である。また、山登り法は自分の進路以外を見ることがないのでローカルミニマに陥り易いが、投網方式を取る遺伝的アルゴリズムはより広い範囲を視野に入れながら探索するので、他の手法と比較してグローバルミニマを発見しやすい特徴を持つ。更に、非関数型の最適化手法であるために複雑な問題にも適用が可能である。この遺伝的アルゴリズム自体の解説は専門書を参考にされたい。基本的な概念は名前の通り、遺伝のメカニズムがわかっていると比較的容易に理解出来る。

* 1 : 一般的な手法としては最急降下法 (Steepest Descent method) やシンプレックス法 (Simplex method) がある。前記の焼きなまし法はローカルミニマの問題を軽減した山登り型アプローチである。

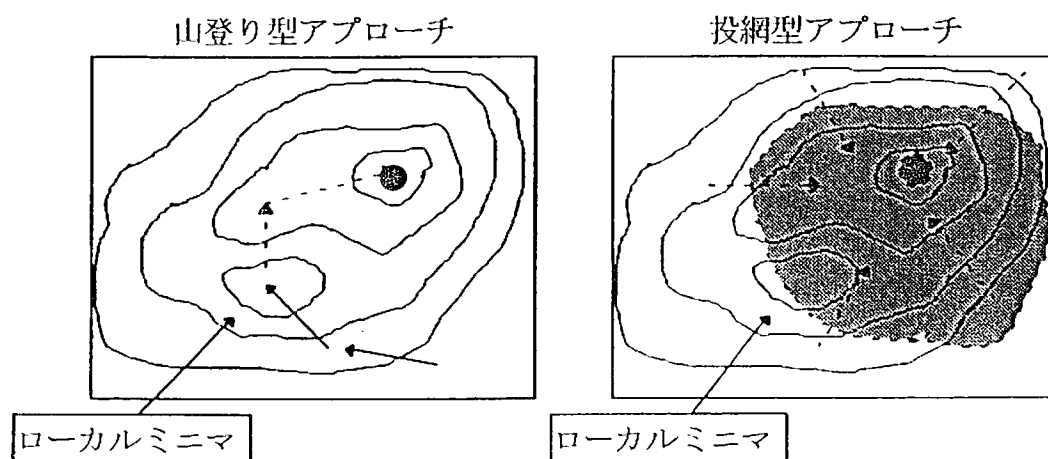


図 . 最適値探索に対する二つのアプローチ

この遺伝的アルゴリズムを採用したフレキシブルドッキング^{*2, 3, 4)}が既に展開されている。ここでは Jones らが行ったアプローチについて簡単に内容を説明する。

* 2 : Oshiro, C.M., Kuntz, I.D., and Dixon, J.S. (1995). Flexible docking using a genetic algorithm. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 9, 113-130.

* 3 : Jones, G., Willet, P., and Glen, R.C. (1995). Molecular recognition of receptor sites using a genetic algorithm with a description of desolvation. *J.Mol.Biol.* 245,43-53.

* 4 : G.Jones, P.Willett, and R.C.Glen, in "Genetic Algorithms in Molecular Modeling", J.Devillers (Ed.),pp.211-242,Academic Press, London (1996).

* 5 : C.M.Oshiro, I.D.Kuntz, and J.Scott Dixon; Flexible ligand docking using a genetic algorithm, *J. Comp-Aided Mol. Design*, 9, 113-130 (1995).

3.2.2 遺伝的アルゴリズムによるフレキシブルドッキングの手続き

Jones らのアプローチは遺伝的アルゴリズムを用いてリガンド化合物とレセプターサイトの両方の変形を許したフレキシブルドッキングを行う事が可能であり、この点で現時点で最も進んだアプローチと言える。リガンド化合物と

レセプターサイトとのドッキングを行う為のドライビングフォースとしては水素結合を利用している。実験を行う準備としての細かな手続きは以下のように行われた。

- ・リガンド化合物を含む酵素モデルが PDB データベースから取り出された。
- ・水分子とイオンが除かれた。
- ・水素原子が適切な方向性をもって付加された。
- ・水素付加による構造修正を分子力学計算で実行。
- ・リガンド分子が酵素から取り出されて分子力学計算により最適化された。
- ・フルードフィルアルゴリズムによりレセプターサイトの溶媒接触原子を特定する。
- ・これらの溶媒接触原子の中から、リガンド原子と相互作用が可能な水素原子の供与および吸引原子が決定された。
- ・ローンペアが 1 Å の距離において水素原子吸引原子に付けられた。
- ・レセプターサイト上の水素原子供与および吸引原子に結合する単結合が回転可能な原子としてマークされる。
- ・リガンド化合物上の総ての原子について、水素原子供与および吸引原子を決定し、ローンペアが付加される。
- ・総ての非環状非末端単結合が回転可能としてマークされる。
- ・ドッキングに先立ち、ランダムな置き換えがリガンド分子に適用され、ランダムな回転が回転可能な全結合に対して実行される。

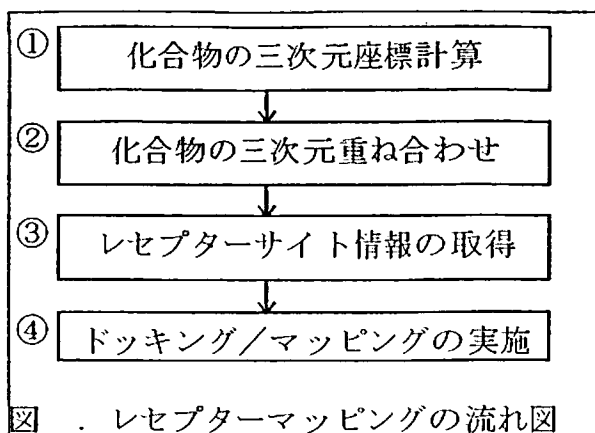
以上の手続きは、実際にドッキングを行う時に取られる標準的なものである。読者はこの一連の流れを理解することでドラグレセプター理論に基づいたドッキングシミュレーションの基本と、解析における手続き、および考慮すべき点等を学び取ってほしい。

4. レセプターマッピング

レセプターマッピングはレセプターサイトの座標データが得られない時に行われるアプローチである。X線結晶解析技術を始めとした座標解析技術は急速に進歩しているが、以前として実際にレセプターサイトのデータが得られるケースは少ない。従って、ドラグレセプター理論に基づいた構造-活性相関を行う時に利用されるアプローチはこのレセプターサイト情報が得られない場合でも適用可能な手法が主体となる。

レセプターマッピングはレセプターの情報をレセプターに取り込まれるリガンド化合物との鋳型と鋳物の関係を利用し、鋳物に該当するリガンド化合物の三次元形状情報から鋳型であるレセプターの形状を転写するアプローチの総称である。このリガンド化合物からのレセプター情報の取り出しに様々なアプローチが提唱されている。図 1 にレセプターマッピングを行う時の一般的な流れ図を示す。以下この順番に説明する。

①化合物の三次元座標計算



解析に用いる化合物の三次元構造を求める事が必要である。一般的にこの三次元座標計算は分子力学や分子軌道法が適用される。解析の目的によっても異なるが、精度を重視する時は最も精度の高い計算が出来る非経験的分子軌道法 (ab initio 法) が適用される。しかし、計算時間の問題等で ab initio 法が実際に適用され

る事例は少なく、化合物群を代表する典型的な基本構造を有する化合物だけに限定するか、化合物の必要な部分構造だけに限定して適用する等の工夫をしながら利用される事が多い。半経験的分子軌道法は比較的計算時間が早いので大部分はこの半経験的分子軌道法が適用される。この場合も計算時間の問題から、解析に用いる化合物の初期座標は分子力学等の手法により予め求めておく事が多い。分子力学法の適用は化合物のおおざっぱな安定座標を求めることに利用される事が多く、この結果を直接ドッキング作業で利用する事はあまりない。分子力学計算で求めた三次元座標を初期座標として分子軌道法による座標計算を行うのが標準的な手続きである。学会等で発表する時は一部なりとも非経験的分子軌道法の利用を勧める。

②化合物の三次元重ね合わせ

重ね合わせの三次元座標が決まれば、これらリガンド化合物群の重ね合わせを行う。複数のリガンド化合物群を三次元的に重ね合わせる事で、鋳型となるレセプターサイトの形状を推測するためである。この時、複数の化合物を重ね合わせるのは、一個の化合物ではレセプターサイトの全形状を100%反映しているとは限らないためである。

コンピュータ上での三次元重ね合わせ技術自体も様々なアプローチがあり、初期に行われていた化合物構造が固定されたリジッドな重ね合わせから、化合物の変形を可能としたフレキシブルな重ね合わせも実現されている。リジッドな重ね合わせでは、重ね合わせポイントとして最低三原子を各分子から取り出し、どの原子とどの原子を重ね合わせるかを指定する。指定された原子で決定される三角形が同じ平面上で指定された各ポイント同志の距離の総和が最小になるポイントを最小二乗法等の最適化計算を実施して決定する。解析目的からは、リガンド化合物の変形を許したフレキシブルな重ね合わせが理想的である。ここにもフレキシブルドッキングの項で説明したのと同様な技術^{*1)}が適用されている。これらの技術的な詳細については別紙に譲る。

* 1 : Jones G., Willett, P., and Glen, R.C. (1995). A genetic algorithm for flexible molecular overlay and pharmacophore elucidation. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 9, 532-549.

コンピュータのレセプターマッピングが成功するか否かは総てこのリガンド化合物群の重ね合わせにかかっている。この問題は、重ね合わせる化合物の

選択問題と重ね合わせ方に煮詰められる。化合物の選択問題は厳密に考えると難しい問題であるが、一般的には単に同じレセプターで反応するとされる化合物群を選択するだけである。ここでは分子重ね合わせについて簡単に述べる。

分子重ね合わせは、重ね合わせ過程における化合物構造が固定（リジッド）されているか、変形可能（フレキシブル）かという差異を除けば大きく二種類のアプローチに分類される。固定された構造式を重ね合わせる場合を前提としている。

- ・重ね合わせる化合物間の対応する原子を最低三原子指定し、最小二乗法やシンプレックス法等の最適化計算により重ね合わせを実施するアプローチ。
- ・グラフィック上で実際に化合物を操作しつつ、対話的に重ね合わせをする。

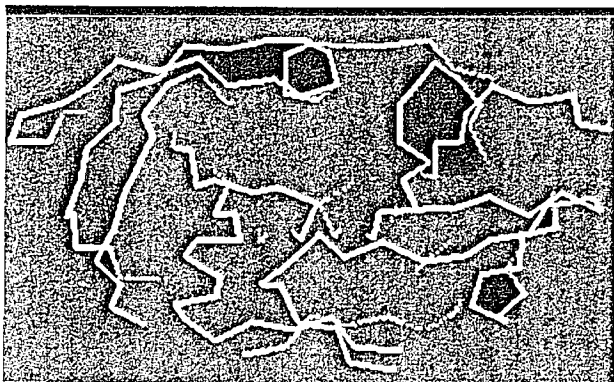
最初のアプローチは化合物間で原子対応が不備な時や対応がとれない時に利用は出来ない。原子の指定による重ね合わせを行うため、細かな調節はできない等の問題はあるが、重なり指標を簡単に計算出来るために重なるの良否を簡単に評価する事が出来る。

二番目のアプローチでは重ね合わせを対話的に行うので細かな調整が可能である。特に化合物構造が大きく異なる化合物同志の重ね合わせには信頼性の高いアプローチとなる。当初はこの重ね合わせの良否を判定する指標の計算が困難であったため、研究者の視覚による評価だけであったが、最近では化合物の重なり部分の体積を高速に計算できるようになり、リアルタイムでこの値をモニターしつつ重ね合わせを行うことも可能となった。

5. ドラグレセプター理論による構造-活性相関実施例

- ・ DOCK システムによるフレキシブルドッキング実施例

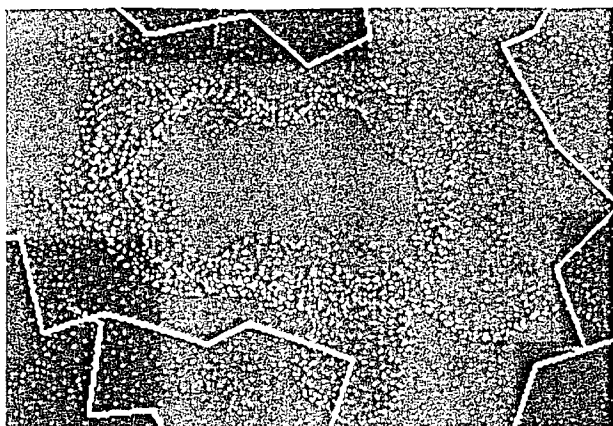
(URL : <http://www.cmpharm.ucsf.edu/kuntz/dock.html>)



① レセプターサイトの結晶構造を用意する。

HIV Protease

図



位と周辺に創出

② レセプターサイトの分子表面を創出

この分子表面は Connolly' s surface *1) を用いる。分子表面の創出は活性部位とその近辺のみで十分である。

図 . Connolly' s surface を活性部

* 1 : Connolly, M. L., Science, 221 (1983) 872.

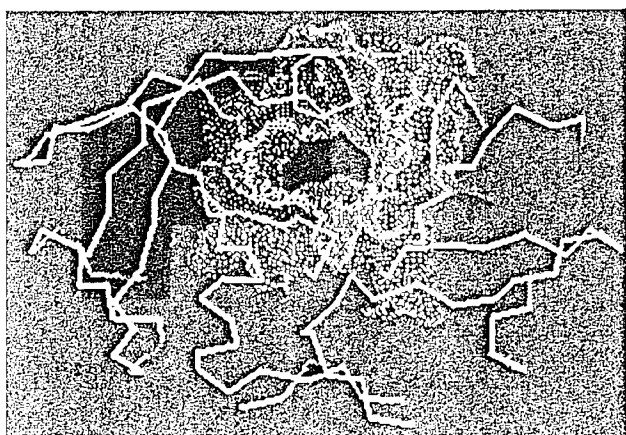
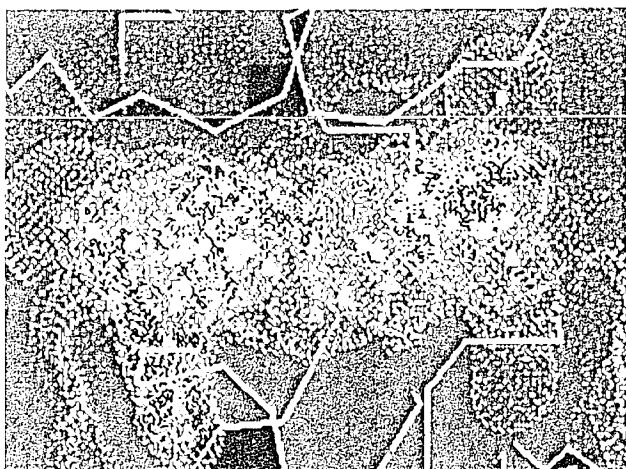


図 . 全体図

③ 活性部位を満たす球を創出する。

レセプターサイトの空洞 (ポケット) の形状が球を定義するのに用いられる。この球の中心はリガンド原子の占める場所の基本となる。

図 . 空洞部分に球を満たした状態



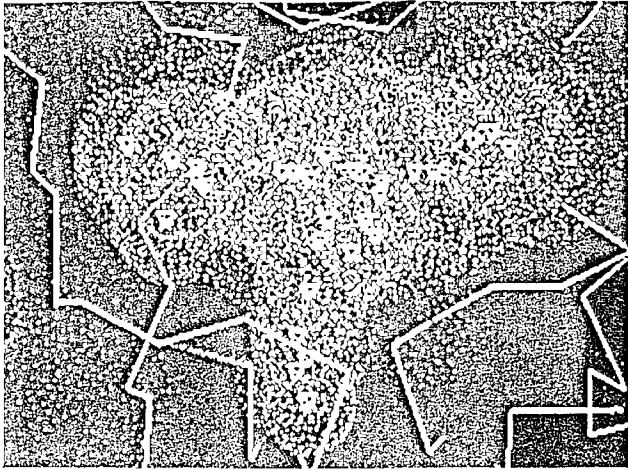
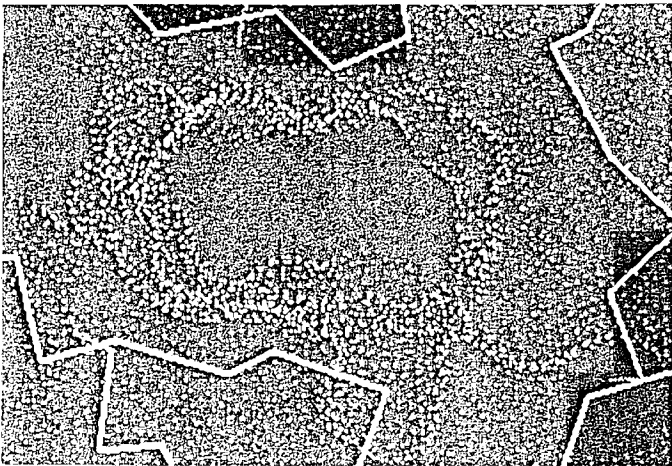


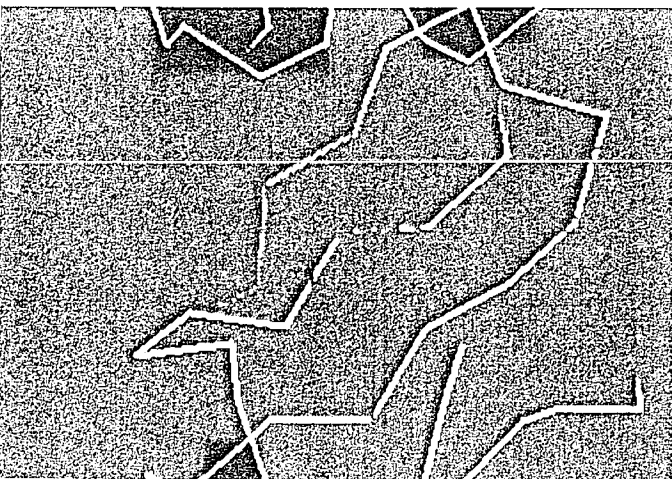
図 . 別の方向から眺めた図



④ マッチング

球の中心がリガンド分子の方向性の決定のためにリガンド原子とマッチされる。数千～数万の配向が個々のリガンド分子に対して創出される。

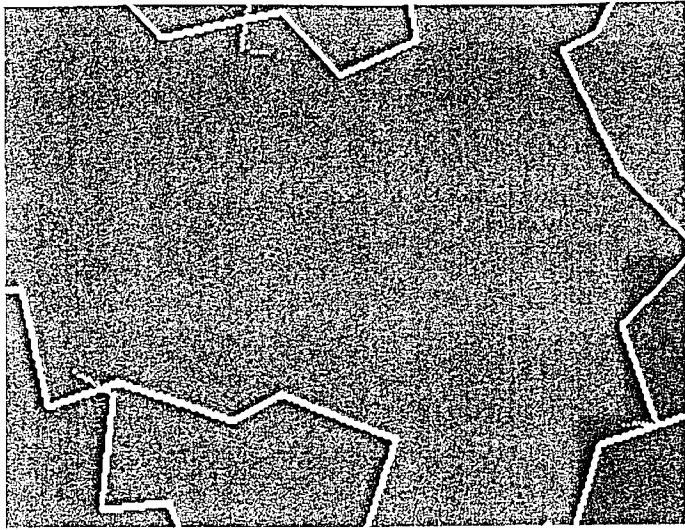
図 . 配向された分子図



⑤ 点数付け

個々の配向を持つリガンド分子がそのドッキング度合いに応じて採点される。現時点では採点手続きとして以下の三ステップある。

図 .



- 形状得点：この採点には Lennard-Jones ポテンシャルを用いたラフな最適化が行われる。
- 電子的な得点：電子的なポテンシャルの計算には DELPHI プログラム*¹⁾を利用。
- 力場得点：この採点には AMBER 力場*²⁾を用いる。

図 .

* 2 : Weiner, S. J., Kollman, P. A., Nguyen, D. T. and Case, D. A., J. Comput. Chem., 7, 230 (1986).

⑥ 決定

個々の分子で最高の得点をあげた配向が保存され、この得点が他の分子の得点と比較される。比較した結果は得点に従って順に並べ替えられる。

6. ドラグレセプター理論によるアプローチの基本/留意事項

ドラグレセプター理論に基づいた構造-活性相関をコンピュータ上で実施するには、この手法の基本に起因する幾つかの留意点に考慮する事が必要である。これらの留意点は、本アプローチが生体内のレセプターサイトにおけるリガンド化合物のドッキングやドッキング等のシミュレーションを前提とするために生起する。

①水溶液中での現象と理想環境における現象との差異

生体内で起こるドッキングやドッキングをコンピュータ上でシミュレーションする時に留意すべき事項として水分子の存在がある。生体内現象をシミュレーションする場合、理想的な解析ではコンピュータに水分子に関する情報を組み込んで実行する事が必要である。しかし、様々な理由から現在のコンピュータ関連技術でこの条件を満足することは困難である。

例えば、X線結晶解析データは結晶から得られるものであり、レセプターもリガンド化合物も生体内における形状を取っていない。また、分子軌道や分子力学計算で得られた化合物の三次元構造式は真空中の理想状態における化合物の計算である。この点で、現在行っているコンピュータ上でのドッキングシミュレーションは実際の生体内における環境とは全く異なる条件下で行われている。ちょうどスクリーニングにおける *in vivo* と *in vitro* との関係に近いと言える。本アプローチによる解析では、常にこの実験条件の差異を意識する必

要がある。

②リガンド化合物の活性配座と安定配座の問題

この情報は①の内容とも関係する。活性配座はリガンド化合物が生体内のレセプターサイト上で実際に反応する時に取る配座である。一方、安定配座は分子軌道や分子力学計算で得られるもので、一般的には最安定構造 (Global minima) を意味する。また、X線データもこの安定配座を取る。

活性配座と最安定配座とではその形が違う。活性配座がどのような形を取るのかは不明であり、従って安定配座とどの程度異なるかは議論出来ない。しかし、ケースによってはかなりの構造的な差異があることも念頭に置いて解析する事が必要である。現在のドッキングシミュレーションでは分子軌道や分子力学計算で得られる最安定構造を用い、暫定的に解析を行っているのが現状であり、本アプローチの更なる進歩の為には、この活性配座に関する何らかのチャレンジが必要である。

③アゴニストとアンタゴニストの問題

レセプターサイト中にアンタゴニストがトラップされた酵素のX線結晶解析データは比較的多数存在する。しかし、アゴニストがトラップされたデータは殆ど無い。アゴニスト、アンタゴニストともにレセプターサイトにトラップされる状況は同じであるが、生体内における作用は全く逆である。アンタゴニストを取り込んだ酵素では、アゴニストを取り込んだ時に発現する情報が消失している可能性がある。アンタゴニストのデータを利用した解析ではこの点での考慮が必要である。

④リガンド化合物のドッキングと活性との問題

本アプローチの実施目的はレセプターサイトに関する情報をまとめ、ドッキング等の操作によりレセプターサイトにフィットする化合物 (新規リード化合物) を探すことである。しかしこの場合、③の事実からもわかるようにドッキング=薬理活性にはならない。リガンド化合物はレセプターサイトに正しくドッキングし、その後第二ステージとして反応を起こして初めて薬理活性が発現される。現在のアプローチではリガンド化合物の設計がドッキング度合いを元に検討されるが、これだけでは薬理活性を示すための必要条件を満たしたにすぎない。薬物が実際に活性を示すための十分条件となる反応を起こす (薬理活性を発現する) に必要な要件を満たすことが必要である。この目的に従うものとして反応発現の条件 (電子配向性等) を組み込んだ形でドッキングを行う。しかし、この電子配向性は必ずしも反応発現を保証するものではない。従って、このドッキング中心のアプローチを取る時には常にこの問題を考慮する事が必要である。

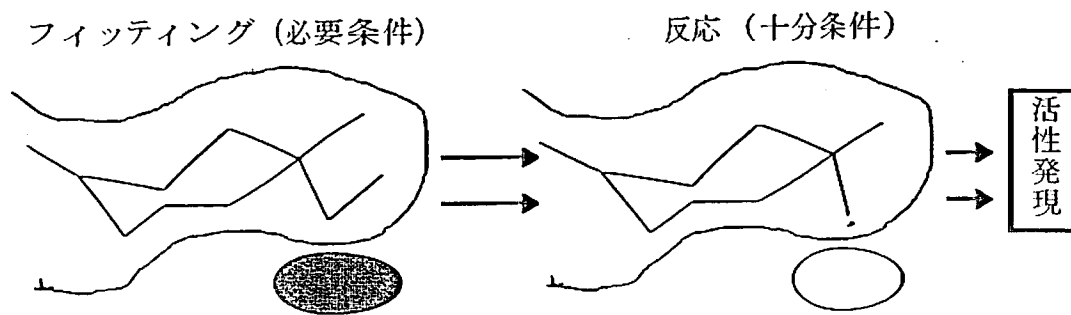


図 . リガンド化合物がレセプターサイトで活性を示すための二段階

⑤データの入手性とデータ処理量の問題

レセプターサイト情報を用いたドッキングを行う為にはレセプターサイトの座標データが必要となる。この座標データはX線解析やNMR解析等で求められるが、この作業は極めて困難であり、全座標データが得られている酵素の数は極めて少ないのが現状である。現在、PDBに登録されている酵素の数も少なく、また実際にドッキングシミュレーションに使用可能な酵素は更に限定される。

酵素のデータ量は極めて大きく、現在のコンピュータを持ってしても酵素の全データを用いてリアルタイムシミュレーションを行うことは困難である。従って、実際のドッキング実験に際しては酵素の全座標データを用いて解析することは少なく、便宜的に活性部位のみを部分的に切り出して行われている。このため、

薬理活性に酵素の活性部位以外が関与する(例:アロステリック効果(Allosteric effect)等)場合は解析の信頼性は低下するために注意が必要である。

7. まとめ

本アプローチの基本となる鍵と鍵穴(Key & Lock)メカニズムはかなり古くから展開されてきた概念であったが、実際に視認出来ない事から観念的な仮説として展開されてきた。しかしコンピュータ、特にグラフィック技術の進歩によりこの鍵と鍵穴メカニズムが現実のものとなり、現在では多種多様なアプローチが世界的レベルで展開されている。

本アプローチが綺麗なグラフィックを武器に、構造-活性相関専門の研究者から一般の研究者にもその存在を明らかにした点で果たした役割は大きい。かなり多くの研究者がやりたい、あるいは自分でもやれるかもと感じたものと思う。このような事がきっかけで多くの研究者が構造-活性相関を行うようになれば素晴らしい事である。

残念ながら最近の傾向としては解析手法自体の展開は一服し、普及期にあると同時にこの方面の研究者の関心はDe Novoデザインに向いていると感じられる。前項でも述べたように、手法として解決すべき問題は種々存在している。これらの一角が崩れれば再び雪崩のように新たな手法が展開されるものと感じている。そのきっかけがどの分野、あるいはどの技術の展開によりもたらさ

れるかを予想することは出来ない。現在は、単に鍵穴に入る鍵を作成するだけのフェーズと言える。実際にその鍵を廻して、カチリと音がしてドアが開く。夢と言われるかも知れないが、研究者は本来夢想家である。この夢に向かって頑張ってもらいたい。