

課題名(タイトル) : **Estimation of binding affinity for molecular design of antibody drugs**

利用者氏名 : ○千葉峻太郎

理研における所属研究室名 : 医薬プロセス最適化プラットフォーム推進グループ分子設計インテリジェンスユニット

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

抗体医薬品を開発する過程では、抗体の抗原に対する結合親和性、物性、安定性、免疫原性などの性質を向上させるために、様々なアミノ酸改変を行う。このときに、抗体の抗原に対する結合親和性が損なわれないようにする必要があり(または親和性を向上させる必要がある場合もある)。そこで、アミノ酸改変に伴う親和性変化をコンピュータを用いて、実験をする前に予測できれば便利である。結合親和性は、結合ギブズエネルギーを用いて定量化される。本研究では、結合ギブズエネルギーを分子動力学シミュレーションによって計算する手法である自由エネルギー摂動法(FEP)を利用することで、アミノ酸改変に伴う親和性変化を見積もった。また、得られた知見をもとに、共同研究先での変異導入実験及び親和性評価を実施した。

また、抗体のように大きな分子の FEP 計算は膨大な計算量を必要とする。そこで、計算量削減を目指して、あらかじめ決められた投資(ここでは計算コスト)の中で、報酬(ここでは自由エネルギーの収束度合い)を最大化するアルゴ

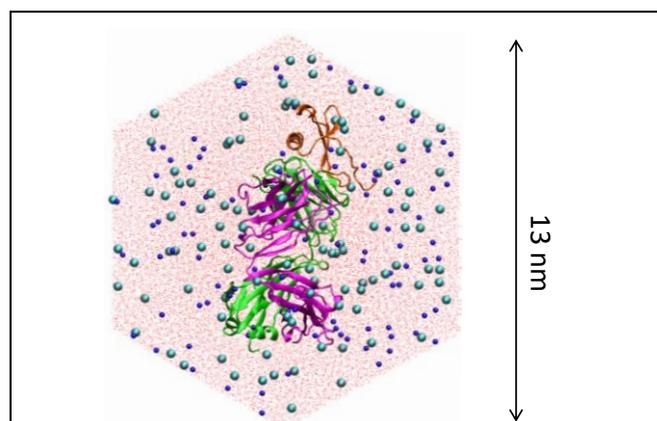


図 1. 抗原・抗体の複合体の初期構造

MPC-1 (抗原)・11KB (抗体)複合体の系。全 125571 原子、水 : 39257、Na⁺: 106、Cl⁻: 112 (150-mM NaCl 溶液=実験濃度)。抗原 : オレンジ、重鎖 : マジェンタ、軽鎖 : 緑、Na⁺: 青、Cl⁻: シアン、水分子: 赤。ここでは Dodecahedron をボックス形として採用しているのは、複合体構造が回転し、イメージセル内の自身との相互作用を防ぐことを目的としている。※本課題の 2-2, 3-2 で使用。2-1,3-1 した抗原・抗体の系とは異なる。

リズムである Best arm identification (BAI) 法の適用を検討した。

2. 具体的な利用内容、計算方法

2-1. 多数の変異体の親和性変化計算

対象とした系は、親和性測定のための実験系が確立できたもので、結晶構造が既報のものを選択した。まず、抗原と抗体の結合面周辺のアミノ酸に関して変異導入に伴う構造を側鎖予測手法によって構築した。この構造に対して、目視によって構造が妥当な変異体を多数選択し、FEP 計算の対象とした。

各変異体に対して、図 1 に示すような系を構築し、次に図 2 に示す Dual topology 法を用いて自由エネルギー摂動法の計算を実施した。

2-2. Best arm identification による計算コスト削減の試み

より少ない計算コスト(トラジェクトリ量)で、収束した $\Delta\Delta G$ を得ることを目的として Best arm identification 法の一つである Successive rejects (SR) を採用した。

まず、図 1 に示した系を構築し λ 数を 69 個に設定し、100 ns のシミュレーションを実施した。各 λ に対応するトラジェクトリを 5 ns に分割し、SR アルゴリズムに従って、5 ns ごとに計算を増やす場合に対する $\Delta\Delta G$ の収束を調べた。

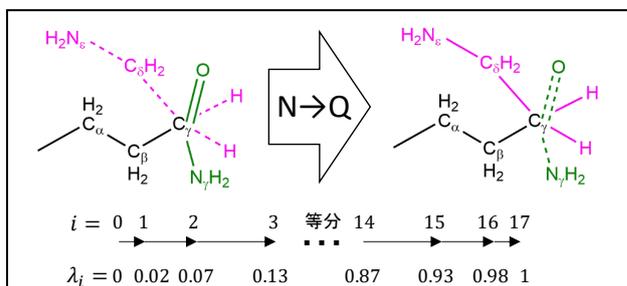


図 2. Dual topology とカップリングパラメータ λ

Asn を Gln に変異させる場合を例として、pmx によって自動生成されたパラメータを模式的に示している。変異前 ($\lambda_0 = 0$) は Asn のみ、変異後 ($\lambda_{17} = 1$) は Gln のみのパラメータを採用し、中間状態 ($\lambda_1 - \lambda_{16}$) では両者が混在するパラメータとなる。この例は 2-2, 3-2 で使用した変異である。

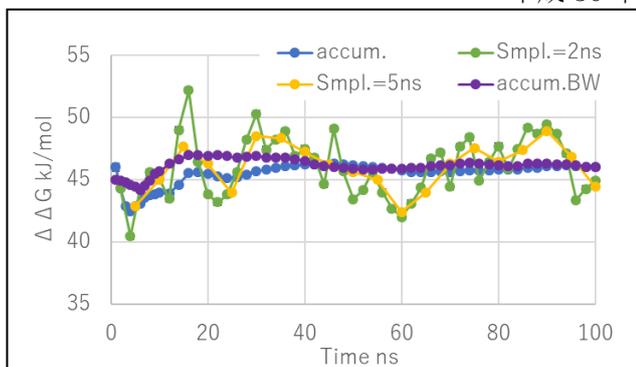


図 3. $n_{\lambda}=69$ の場合の $\Delta\Delta G$ の収束

BAI の検討に使用したトラジェクトリでは、変異導入前 ($\lambda=0$) と変異導入後 ($\lambda=1$) の間に 67 個の中間状態を設定した。accum. の曲線では時刻に従ってトラジェクトリを増やした場合の $\Delta\Delta G$ の値、Smpl.=2ns または 5ns はこれらの時間間隔のトラジェクトリを使用した場合の $\Delta\Delta G$ の値、accum.BW は時刻を廻りトラジェクトリを増やした場合の $\Delta\Delta G$ の値を表す。

3. 結果

3-1. 多数の変異体の親和性変化計算の結果

親和性変化計算を試みた変異体に関して、親和性変化の測定実験を共同研究先において実施した。FEP 計算値と実験値 ($\Delta\Delta G$) の相関係数 (R) は 0.38 であった。一方、 $\Delta\Delta G$ の予測問題を変異導入に伴って親和性が上がるか下がるかの二値分類問題ととらえた場合は、正解率は 0.9、適合度は 0.7 と高い予測性能を示した。さらに、FEP 計算に用いた構造を検証することで、今回用いた抗原抗体複合体構造とは異なるものを利用することで、親和性変化計算が改善する可能性が示唆されている。

3-2. Best arm identification の適用結果

BAR の一つである SR の適用によって、 $\Delta\Delta G$ が収束するための計算に必要な λ のシミュレーションが早期に打ち切られることによる計算総量の削減を期待したが、実際には図 4 に示すように、SR の適用によって、かえって収束性に問題が生じた。

$\Delta\Delta G$ 計算では、ある λ のシミュレーションを増やすことによる $\Delta\Delta G$ への影響と、他の λ のシミュレーションを増やすことによる $\Delta\Delta G$ への影響が、互いに影響しあう。このことは、SR の前提条件を破っているが、この度合いが、期待する結果を得られないくらい大きかった可能性がある。

4. まとめ

本研究では、自由エネルギー摂動法を、ある抗体の多数のアミノ酸変異体に適用し、変異導入に伴う親和性変化を見積もった。さらに、親和性変化を実験によって測定する

Successive rejects アルゴリズム

$$A_1 = \{1, \dots, K\},$$

$$\overline{\log(K)} = \frac{1}{2} + \sum_{i=2, \dots, K} \frac{1}{i},$$

$$n_0 = 0, n_k = \left\lceil \frac{1}{\overline{\log(K)}} \frac{n - K}{K + 1 - k} \right\rceil$$

for $k = 1, \dots, K-1$

for in A_k

$n_k - n_{k-1} \times 5$ ns のシミュレーションを追加

追加した結果の $\Delta\Delta G$ の収束の計算

$A_{k+1} = \{A_k \text{ から } \Delta\Delta G \text{ の収束がよかったものを}$

一つ除外}

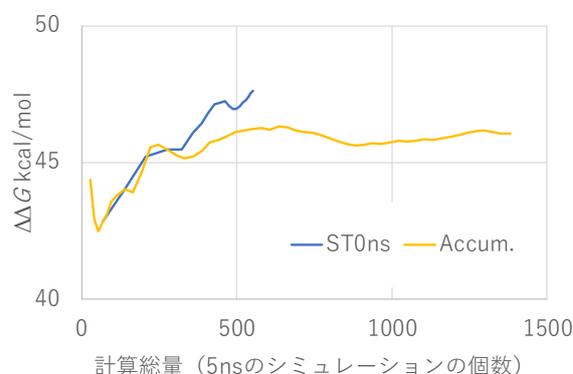


図 4. Successive rejects の適用による $\Delta\Delta G$ の収束

Accum. は通常通り各 λ のシミュレーションを同じ量だけ増やしていった場合、ST0ns は Successive rejects を適用した場合の、累積の $\Delta\Delta G$ を示す。

ことで、計算結果の妥当性を検証した。結果として、二値分類問題としては、本研究の自由エネルギー摂動法のプロトコルは有用であることが示された。しかしながら、計算値と実験値の相関は必ずしも高くなかった。これを改善するためには、初期構造として用いる構造の検証などが必要である。