

# 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(1), 井阪悠太(2)

理研における所属研究室名:

(1) 医科学イノベーション推進プログラム分子設計インテリジェンスユニット

(2) 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム 融合研究推進グループ 健康羅針盤チーム

## 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計算し、実験データと比較することでその予測性能を調べた。

加えて、アミノ酸改変に伴う親和性変化計算は、薬剤などの低分子化合物のタンパク質への親和性変化予測にも利用できる。このことは、薬剤の標的タンパク質がその薬剤に対して耐性を獲得する機構を調べるために役に立つ。そこで、本課題では、抗体用に利用したFEPの枠組みが、低分子-変異タンパク質の系でも有効かどうかを調べた。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

### 2-1. 抗原と抗体変異体の親和性変化計算

変異導入に伴う結合ギブズエネルギー変化を計算するために図1に示した dual topology 法を利用した。図2Aに示した系を用いて計算プロトコルを検討したのち、新たに選択した抗原-抗体間の抗体分子の1アミノ酸または2アミノ酸の変異導入に伴う結合ギブズエネルギー変化を計算し、実験データと比較した。

### 2-2. 小分子と結合タンパク質変異体の親和性変化計算

2-1で利用した親和性変化計算手法は、タンパク質分子に生じた変異に伴う低分子化合物の親和性変化計算にも利用できる。計算プロトコルを低分子用に再検討した(Ono et al., Sci. Rep. 2020)のち、データベースから選択した低分子化合物-変異タンパク質の系(図2B)の結合ギブズエネルギー変化を計算し、実験データと比較した。

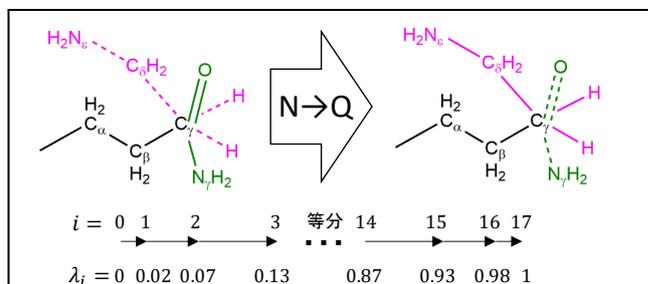


図2. Dual topology とカップリングパラメータ  $\lambda$

Asn を Gln に変異させる場合を例として、pmx (Gapsys et al., J. Comput. Chem. 2015)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。

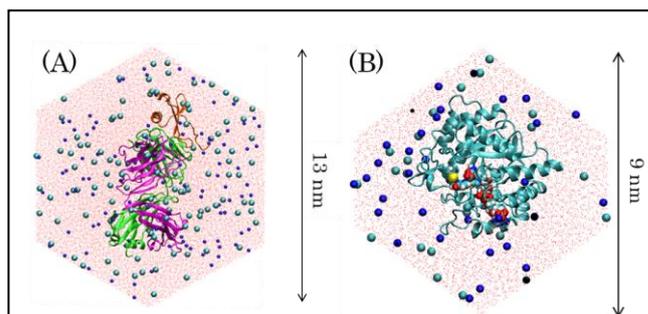


図2. 計算に利用した初期構造の例

(A) FEP に利用するパラメータを構築するために利用した MPC-1 (抗原) - 11KB (抗体) 複合体の系の例(125571 原子、水分子(赤): 39257、 $\text{Na}^+$ (青): 106、 $\text{Cl}^-$ (シアン): 112、抗原(オレンジ)、重鎖(マゼンタ)、軽鎖(緑))。※本課題2-1、3-1で計算対象とした抗原-抗体の組合せとは異なる。

(B) FEP を適用した小分子 - タンパク質変異体の系 (Aldose reductase 変異体(V47I, T113Y, L300A, L301M, S302R/C303D)および薬剤(IDD388, 47D, IDD393, zopolrestat, fidarestat)) のうち、S302R/C303D 変異体-低分子化合物 47D 複合体の初期構造 (33877 原子、水: 9548、 $\text{Na}^+$ : 38、 $\text{Cl}^-$ : 31、 $\text{NADP}^+$ , 47D)。この系は、薬剤分子と変異タンパク質分子の親和性のデータベースである PlatinumDB から選択した。

### 3. 結果とまとめ

#### 3-1. 抗原と抗体変異体の親和性変化計算

共同研究先にて実施した変異導入および親和性変化の評価実験の結果と計算による結合ギブズエネルギー変化は相関がみられた(決定係数:  $R^2=0.60$ )。ところで、選択した変異体のうち4割が変異導入に伴って電荷が変化するものであった。一般に、FEP 計算の前後で電荷が変化する系では電荷が変わることに関する有限サイズ効果が最終的な親和性計算値に影響を及ぼすといわれている。これを回避するために、計算時に Warp-Drive 法 (Ekimoto et al., J. Chem. Theory Comput. 2018) を適用したところ、計算と実験の相関が改善した ( $R^2=0.84$ )。さらに、Warp-Drive 法を適用した場合としない場合で、計算値を、変異導入に伴って親和性が向上するか低下するかの分類問題として評価したところ、分類が成功した (Matthews correlation coefficient (MCC) = 0.8)。以上のことから、本手法で1アミノ酸または2アミノ酸への変異導入に伴う抗体の抗原に対する親和性変化を評価できることが示唆された。

#### 3-2. 低分子化合物とタンパク質変異体の親和性変化計算

図3に示した通り、計算値は親和性変化の大小関係を良好に再現できることから、本課題で使用した計算プロトコルは、2アミノ酸変異も含むタンパク質の薬剤に対する耐性獲得メカニズムを調べるために有効であることが示唆された。

### 4. 今後の計画・展望

アミノ酸変異導入に伴う抗体の抗原に対する親和性変化を計算によって良好に再現することができた。この結果は、いまのところ抗原・抗体間の一つの組合せで実証できただけであるため、今後は他の組合せに対しても適用することで、手法の汎用性を調査する。また、どのような場合に予測が成功/失敗するかを、特に親和性変化計算の初期構造のモデリング手法に注目して調査し、モデリング手法の改善も含めて、予測性能を高めていく予定である。

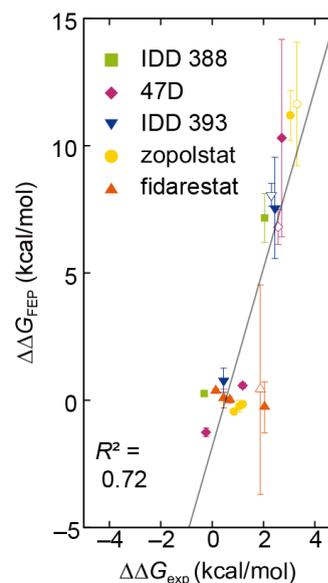


図3. 小分子-タンパク質系の変異導入に伴う結合ギブズエネルギー変化の計算値と実験値の比較 (Ono et al., Sci. Rep. 2020 から一部改変して引用)。オープンシンボルは2アミノ酸変異体を表す。実験データは Steuber et al., J. Mol. Biol. 2008 から取得した。

2019年度 利用研究成果リスト

**【雑誌に受理された論文】**

1. F. Ono, S. Chiba, Y. Isaka, S. Matsumoto, B. Ma, R. Katayama, M. Araki, Y. Okuno, Improvement in predicting drug sensitivity changes associated with protein mutations using a molecular dynamics based alchemical mutation method, *Sci. Rep.* 10, 2161 (2020)  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58877-9>

**【口頭発表】**

1. 千葉峻太郎、大田雅照、田部亜季、中木戸誠、津本浩平、奥野恭史「抗原・抗体複合体立体構造に基づく2アミノ酸同時変異戦略による新規抗体創製」、第47回構造活性相関シンポジウム、2019年12月（熊本市）

**【ポスター発表】**

1. 千葉峻太郎、大田雅照、田部亜季、中木戸誠、津本浩平、奥野恭史「2アミノ酸同時変異戦略を用いたSBDDによる超高親和性抗体の創製」、第57回日本生物物理学会年会、2019年9月（宮崎市）