

TSUBAME 共同利用 平成 23 年度 学術利用 成果報告書

タンパク質間相互作用阻害ペプチドの設計

Computational design of small peptide modulators of protein-protein interactions

泰地 真弘人

Makoto Taiji

理化学研究所 生命システム研究センター 生命モデリングコア

Computational Biology Research Core, QBiC, RIKEN

<http://www.qbic.riken.jp/>

邦文抄録

近年、ペプチドは医薬品やタンパク質間相互作用の制御因子などとして非情に注目を集めている分子である。ペプチドの機能は関連するタンパク質との結合によって発現されるため、標的タンパク質に強く結合するペプチドを合理的に設計する手法が強く求められている。本プロジェクトでは計算機を用いてペプチド分子の設計を行う。計算機を用いる分子設計は主に低分子化合物向けに発展を遂げており、ペプチドにそのまま適用することは難しい。そこでペプチドの特徴をよく理解し、従来の方法に改良を加えることで、ペプチド分子にも適用可能な分子設計手法の開発を目指した。

英文抄録

Peptides play important roles in biological processes such as immune responses and signal transduction. These functions are associated with peptide-protein interactions. Therefore, it is important to develop a methodology to design high affinity peptide binders.

In silico Structure Based Molecular Design is an efficient approach for predicting protein-ligand binding affinities. So far numerous techniques have been developed for designing small molecule ligands. But these cannot be applied for peptide design due to its high flexibility. In this work, we developed GPU-accelerated molecular docking software to predict binding modes to target proteins rapidly and predicted peptide's conformations in unbound states to take account of reorganization effects. As a result, our screening method improved the performance of *in silico* peptide screening against CRK SH2 domain.

Keywords: GPGPU、分子ドッキング、分子設計、ペプチド、インシリコスクリーニング

背景と目的

ペプチドは生体内に広く存在する分子で、その機能はシグナル伝達、免疫応答、恒常性の維持など多岐にわたる。近年、ペプチド分子は、糖尿病の治療や癌ペプチドワクチン療法などの医薬品として用いられるだけでなく、疾病発症のメカニズムを解明するための実験試薬としても用いられるなど、非常に重要な分子として認識されている。これらペプチドの機能発現には、関連するタンパク質との結合が必須である。つまり、このペプチド-タンパク質間相互作用を制御することができれば様々な生体反応の制御が可能となる。

近年では標的タンパク質に強く結合する”低分子化合物”を設計する技術として計算機を利用する手法が広く用いられている。しかしペプチドは低分子化合物と

異なる特徴を持つため、従来の方法をそのまま適用することはできない。しかしペプチドの特徴を理解し、従来の方法に改良を加えることで、標的タンパク質に強く結合するペプチドを選別(スクリーニング)することができるようになった。

概要

本プロジェクトでは分子ドッキングを用いて、候補ペプチドと標的タンパク質の結合様式を予測する。続いて得られた複合体構造を用いてリスコアニングという手法を用いて結合親和性を算出し、*in silico* スクリーニングを実行する。

ペプチドの特徴の一つは分子内自由度が大きいことである。これは分子ドッキングにおいて探索空間が膨

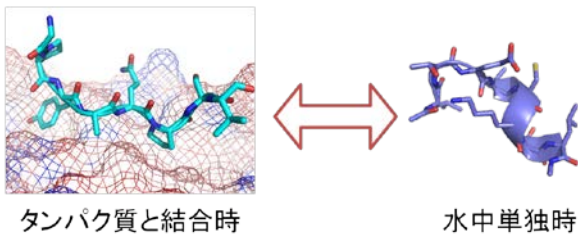


図 1 ペプチドの結合による構造変化のイメージ

大になることを意味し、莫大な計算能力が求められることになる。本研究室では GPU を用いる分子ドッキングソフトウェアを開発してきた。分子ドッキングでは同時に異なる結合様式を求めるが、これらの計算は依存関係がなく完全に独立しているため GPU を用いた高速化に最適である。本年度もさらなる開発を進め、計算時間の短縮・精度の向上に努めた。本プロジェクトではこの分子ドッキングソフトウェアを用いて分子ドッキングを行った。また実験で得られた複合体構造を基に分子ドッキングにおいて拘束条件を付与することで、より効率的な結合様式の予測を行った。

またペプチドはタンパク質との結合の前後で大きく構造が変化することが予想できる(図 1)。そこでタンパク質非結合状態のペプチドの構造を予測することでこの効果を親和性評価に反映させ、*in silico*スクリーニングへの影響を調べた。非結合状態の構造の予測にも前述した GPU を用いる分子ドッキングソフトウェアを用いた。

結果および考察

標的タンパク質として CRK (CT10 Regulator of Kinase) の SH2 ドメインを対象とした例を紹介する。CRK SH2 ドメインはアダプタータンパク質と呼ばれ、リン酸化アミノ酸を含むタンパク質領域と結合することが知られている。ここでは実験により結合/非結合することが既知であるリン酸化ペプチドを用いて *in silico* スクリーニングを実行し、諸条件における識別能の比較を行った。具体的には ROC 曲線の曲線下面積(AUC)をもって各条件におけるスクリーニング

性能を数値化し、比較した。

図 2 に得られた ROC 曲線の一例を示す。ここではリスコアニングの手法には MM-PBSA 法の一点計算を用いた。図中の緑線は上述したタンパク質との結合によるペプチドの構造変化の効果を考慮した場合、赤線はその効果を考慮しない場合、青線はランダムに抽出した場合の ROC 曲線を表す。図 2 よりペプチドの構造変化の効果を考慮することで高い識別能が得られたことがわかる。ほぼすべての条件でこのような傾向が得られたが、リスコアニングにおける親和性評価で用いた方法 (MM-GBSA, MM-PBSA など。またそれらの方法における細かな手技の違い) により、ROC AUC 値や各ペプチドの親和性の順位は大きく異なることがわかった。今後はこれらの違いがどの影響によるものなのかを精査し、理解を深める必要がある。

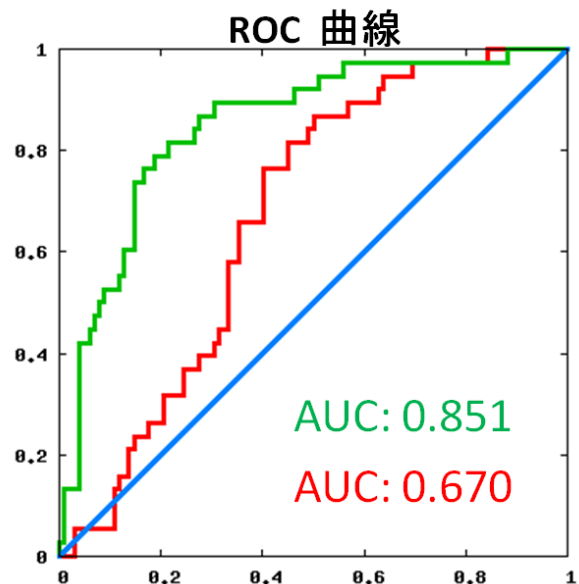


図 2 ROC 曲線。緑はタンパク質との結合によるペプチドの構造変化による効果を反映させた場合を示し、赤は反映させない場合を示す。青はランダムにサンプリングした場合を示す。図中の AUC は曲線下面積を示す。親和性評価には MM/PBSA 法の一点計算を用いた。

まとめ、今後の課題

以上より、ペプチドのタンパク質との結合による構造変化を考慮することで、*in silico* スクリーニングにより既知の結合/非結合ペプチドの選別が高い精度で実行できることがわかった。またこれらに用いられる分子ドッキングやペプチドの水中単独時での配座探索には、ペプチドの自由度の大きさにより莫大な計算能力が要求されるが GPU を用いて加速することで現実的な時間でシミュレーションを実行することができることもわかった。

今後は

- (1) さらなる計算時間の短縮・高精度化
 - (2) 他のタンパク質における有効性の評価
 - (3) 新規ペプチドの創成
 - (4) 低分子化合物のスクリーニングへの還元
- を目指す。ここでは特に(3)について述べる。

ペプチドは標準アミノ酸 20 種類から構成され、考えられ得るアミノ酸配列はペプチド長を N とすると 20^N の N 乗になる。たかが $N=4$ においても、組み合わせの数は 16 万通りとなるため、全てのアミノ酸配列の親和性の評価を行うことは現実的ではない。そこで今後は遺伝的アルゴリズムを活用することを計画している。遺伝的アルゴリズムでは少数のペプチドセットに遺伝的操作を繰り返すことで、高親和性ペプチドを成熟させることができるため、少ない計算量で標的タンパク質に強く結合するペプチドが設計できると期待している。