

TSUBAME 共同利用 平成 24 年度 産業利用 成果報告書

利用課題名 拡張アンサンブルシミュレーションによるタンパク質とリガンドの結合構造予測法の開発
英文: Development of Prediction Method of Protein-ligand Binding Modes
by Generalized-Ensemble Simulations

利用課題責任者 田中 稔祐
Toshimasa Tanaka

所属 武田薬品工業株式会社 医薬研究本部 化学研究所
Medicinal Chemistry Research Laboratories, Pharmaceutical Research Division,
Takeda Pharmaceutical Company Limited
<http://www.takeda.co.jp>

邦文抄録 我々は二次元レプリカ交換シミュレーションによるタンパク質とリガンドの結合構造予測法を開発した。開発した手法を2つのタンパク質-リガンド複合体系の構造予測に適用したところ、従来のレプリカ交換アンブレラサンプリング法に比べてリガンドがより頻繁に結合ポケットから出入りするようになり、大幅にサンプリング効率を改善することに成功した。予測構造はPDBの実験構造と良く一致していた。今後は適用事例を増やし、膜タンパク質系への適用可能性や結合自由エネルギー計算との連携を検討していきたい。

英文抄録 We have developed a two-dimensional replica-exchange method for the prediction of protein-ligand binding structures. By applying our new method to two protein-ligand systems, we observed that the ligand tended to follow the umbrella potential more easily and the frequency of the ligand binding event was increased very much, which implied the significant improvement of the sampling efficiency. The predicted structures were in excellent agreement with experimental data from PDB.

Keywords: replica-exchange umbrella sampling, replica exchange with solute tempering, molecular dynamics, protein-ligand binding, computer-aided drug design.

背景と目的

近年、多くのタンパク質とリガンド複合体の立体構造がPDB (Protein Data Bank)に登録されており、その数は現在までに18,000以上に及んでいる。

タンパク質とリガンドの結合構造が分かると分子レベルで相互作用を解析することができ、創薬初期過程でのドラッグデザインがより合理的に出来るため有用性が高い。しかし、タンパク質によっては結晶化が困難なものも多数あり、特に天然変性タンパク質や膜タンパク質では依然として結晶構造解析は容易ではない。また、比較的容易に結晶構造解析が可能な場合であっても、すべての化合物に対して、実験的に構造を決めるのは現実的ではない。

そこで計算から結合構造を予測するソフトとしてドッキングソフトが使われている。ドッキングソフトはタンパク質の立体構造情報を用いてリガンドの結合構造を予測するソフトであり、短い計算時間で多数の化合物の結合構造を予測できる。しかしながら、水1分子の効果

やエントロピー効果が重要な場合、あるいは、induced-fit と呼ばれるリガンドに応じたタンパク質の構造変化が伴う場合にはその予測精度が著しく下がってしまうという課題がある。また、通常一つのリガンドに対して複数の予測構造が出されるが、どれが正しい結合構造であるかを推測することは一般に容易ではない。そこで我々は、分子シミュレーションを用いてタンパク質とリガンドの結合構造を高精度に予測する手法を独自に開発してきた。

これまでに我々が開発したレプリカ交換アンブレラサンプリング法[1]に基づくタンパク質-リガンド構造予測法[2]は、水1分子レベルの溶媒効果やエントロピー効果を厳密に考慮して自由エネルギー最安定構造から結合構造を予測できる強力な手法であるが、タンパク質-リガンド間の相互作用が強い領域ではリガンドが動きにくくなり、すなわち、アンブレラポテンシャルに追従しにくいため著しくサンプリング効率が落ちる傾向にあった。そのため、いったん安定構造を見つけるとそこに

留まるためレプリカ交換法の利点が失われてしまう問題があった。

本プロジェクトでは、タンパク質とリガンドの結合構造予測シミュレーションにおいて、リガンドとその周辺との相互作用を減弱させる仮想次元を取り入れて、新たに二次元レプリカ交換法を開発した[3]。その結果、従来法と比べてリガンドがより迅速に結合ポケットから出入りするようになり、大幅にサンプリング効率を向上させることに成功した。さらに、タンパク質とリガンドが離れたところからシミュレーションを始めて、実験構造と極めて近い構造を正しく予測できた。

概要

我々は、以前のレプリカ交換アンブレラ法に基づく方法[2]を改良し、新たに二次元レプリカ交換法を開発した[3]。開発した手法を2つのタンパク質-リガンド複合体系(MDM2 および HSP90 N-terminal ATPase domain)に適用したところ、従来法に比べて大幅にサンプリング効率が改善されることがわかり、より早く正しい結合構造を見つけることが可能となった。

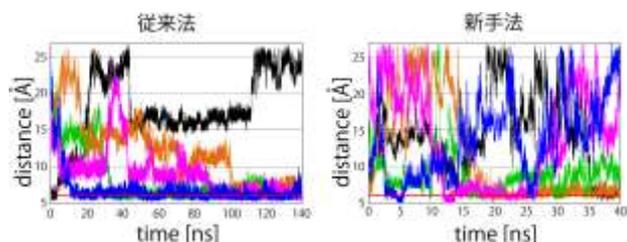


図 1

左:従来法、右:新手法

新たに開発した手法(図 1 右図)では、同じ時間でより頻りにタンパク質とリガンドの結合イベントが起きていることを示す。一方、従来法(図 1 左図)では、一旦安定構造を見つけてしまうと長時間その構造にトラップされる傾向にあった。

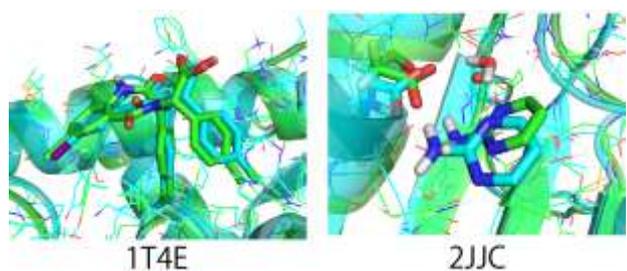


図 2

結晶構造(水色)と予測構造(緑色)との比較

図 2 はいずれも新手法により予測された構造と実験

構造と良く一致していることを示す。

結果および考察

我々の開発した二次元レプリカ交換法は、2つの次元から成り、一次元目は、反応座標としてタンパク質とリガンドの距離を採用したレプリカ交換アンブレラサンプリング法(Replica Exchange Umbrella Sampling: REUS)であり、二次元目は、リガンドとタンパク質・水分子間の相互作用を弱めるレプリカ交換法(Replica Exchange with Solute Tempering: REST)である。この REST 法の導入によってリガンドが動きやすくなり REUS 法がより効果的に実行できると期待される。

我々は2つのタンパク質-リガンド複合体系に対して新たに開発した手法を適用した(PDB ID: 1T4E, 2JJC)。比較のために従来法の REUS 法によるシミュレーションも実行した。

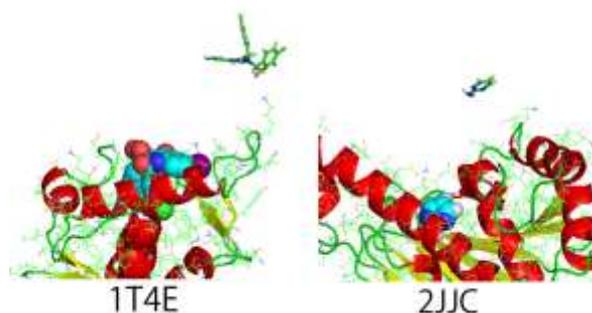


図 3

計算の初期構造は、図 3 のようにリガンド分子がタンパク質の結合ポケットから完全に離れた溶媒中に存在している構造を用いた。図 3 で stick 表示されたリガンドがシミュレーションの初期位置であり、実際に溶媒中に存在していることが分かる。Space-fill で表示されている分子は実際には存在しないが、正しいリガンドの結合位置を示すために表示している。

図 4 はシミュレーションの様子を示すスナップショットである。見やすくするために水分子は表示を省略した。(a)ではポケット付近にリガンドが存在するが安定した結合モードを取れていないため、(b)のようにポケットから離れていくが、(c)で再びポケット付近に近づき、最終的に(d)のように最安定構造を見つけている。(d)では実験構造(水色)の結合モードと重ね合わせて表示しており、シミュレーションで見つけられた安定構造が、実験構造と良く一致していることが分かる。また、これらのスナップショットのタンパク質表面は揺らいでおり、リガ

ドの形に合わせてポケットの形が変化していることが分かる。

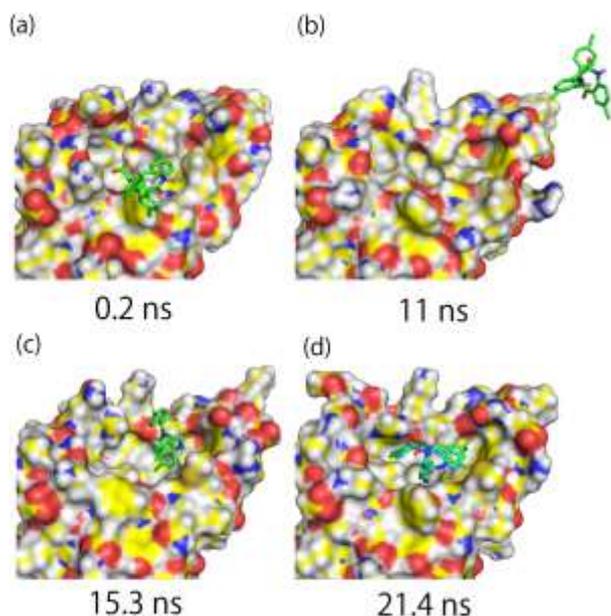


図 4

図 1 にシミュレーションの time series を示す。X 軸はシミュレーション時間[ns]、Y 軸はタンパク質とリガンド距離であり、各色はそれぞれ代表的な 5 つのレプリカの time series である。左図の従来法に比べて右図の新手法のほうが同じ時間当たりで良くポケットに出入りしており、サンプリングが大幅に改善されていることが分かる。実際に計算コスト当りの出入りの回数を調べたところ、従来法に比べて新手法は 5~10 倍ほどサンプリングが加速されていることが分かった。

図 5 はシミュレーションから求められた平均力ポテンシャル(PMF)であり、一例として 1T4E の系の場合の結果を示している。X 軸はタンパク質とリガンドの距離、Y 軸は PMF の値を示し、PMF の値が小さいところが安定な結合距離であることを意味している。縦の破線は実験の結合距離であり、シミュレーションで最安定と予測された距離と良く一致していることが分かる。

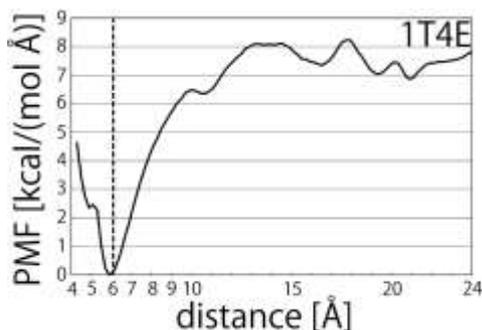


図 5

図 2 はシミュレーションによる予測構造(緑色)と実験構造(水色)を示しており、両者が良く一致していることが分かる。また、右図の 2JJC の系では、結晶水の位置も正しく予測できていることが分かる。

まとめ、今後の課題

我々は二次元レプリカ交換シミュレーションによるタンパク質とリガンドの結合構造予測法を開発した。開発した手法を 2 つのタンパク質-リガンド複合体系の構造予測に適用したところ、従来のレプリカ交換アンブレラサンプリング法に比べて、リガンドが結合ポケットからより頻繁に出入りするようになり、大幅にサンプリング効率を改善することに成功した。シミュレーションから得られた予測構造は PDB の実験構造と良く一致しており、手法の有効性を確認できた。

これらの溶媒を原子レベルであらわに含んだ高精度・長時間のシミュレーションは TSUBAME を使うことによりはじめて可能となったものであり、今後も TSUBAME の産業利用枠制度を是非有効活用したい

来年度は、開発した新手法を膜タンパク質等のターゲット系に対して適用することや、自由エネルギー計算との連携、自由度が多いリガンド分子への適用について検討したい。

参考文献

1. Sugita Y., Kitao A., Okamoto Y. Multidimensional replica-exchange method for free-energy calculations. *Journal of Chemical Physics* 2000;113:6042-6051.
2. Kokubo H., Tanaka T., Okamoto Y. Ab initio prediction of protein-ligand binding structures by replica-exchange umbrella sampling simulations, *Journal of Computational Chemistry*. 2011;32:2810-2821.
3. Kokubo H., Tanaka T., Okamoto Y., in preparation.