

TSUBAME 共同利用 平成 27 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の展開
英文: Applications of Prediction Method of Protein-ligand Binding Modes by Generalized-ensemble

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(300 字程度) 二次元レプリカ交換法のプロトコルを自動化し、リガンドの初期配置として複数のドッキングモデルを採用できるようにした。また、結合自由エネルギー計算による結合モデルの判別ができることを示すことができた。今後はドッキングだけで正しい結合モード判別が困難な場合には結合自由エネルギー計算を実施することが標準になっていくと考えられる。さらに、GPU を使用した長時間ダイナミクスを実施して、主成分解析や相関解析を行なう計算フローを確立した。今後は、機能性ダイナミクスに特化したサンプリング効率の高いシミュレーション手法を導入して、リガンドの結合状態と非結合状態、および、様々な機能状態(agonist, antagonist など)を自由エネルギー地形により解析することを検討したい。

英文抄録(100 words 程度) We have automated the protocols of two-dimensional replica-exchange and implemented the input from docking models. We also showed that the correct binding mode can be distinguished by binding free energy calculations. When it is difficult to judge which binding mode is correct from multiple possibilities, binding free energy calculations may be getting the standard procedure to determine the most possible one. We have also developed the calculation flow to perform the long-time molecular simulations and various analyses. The future themes may include the implementation of improved sampling method for functional dynamics and the analysis of free energy landscape involving various functional states.

Keywords: replica-exchange umbrella sampling, molecular dynamics, protein-ligand binding, computer-aided drug design, free energy calculation.

背景と目的

タンパク質に結合する分子(リガンド)の結合構造や結合の強さを予測することは、様々な生体反応を理解し制御するために極めて重要であり、ドラッグデザインにとっても有用性が高い。

我々はこれまでにレプリカ交換法に基づく高精度なリガンド結合モードの予測法を開発してきた[1-4]。本課題では、特に二次元レプリカ交換法でリガンドの初期配置として複数のドッキングモデルを採用することで、計算の収束性を上げ、より早く正しい構造を探索させることや、結合自由エネルギー計算による結合モデルの判別が可能であるかどうかを調査することを目的として研究を実施した。GPU を使用した長時間ダイナミクスを実施して、主成分解析や相関解析を行なう計算フローの構築にも取り組んだ。

概要

本利用課題では相互作用の物理化学的背景の理解に基づいた論理的な医薬品の分子設計を可能とするために、昨年度までに開発した二次元レプリカ交換法のプロトコルを自動化し、リガンドの初期配置として複数のドッキングモデルを採用できるようにした。従来は水中にリガンドを配置して計算を始めていたため収束が遅かったが、あらかじめ結合ポケット周辺に配置されることでより早く正しい構造を探索できるようになった。束縛条件についても従来は手動で系ごとに設定していたが、自動で設定できるようにした。

また、結合自由エネルギー計算による結合モデルの判別ができることを複数の事例で検証した。一例として図 1 に PDE10A (PDB ID: 4AJD) の系の結果を示す。複数の結合モードが考えられ正しいモードの判別が困

難であったが、結合自由エネルギー計算を実施することで実験と近い結合モードを最安定と判別できた。今後はドッキングだけで正しい結合モード判別が困難な場合には結合自由エネルギー計算を実施することが標準になっていくと考えられる。

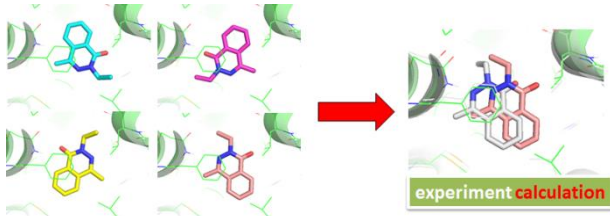


図 1 PDE10A に結合するリガンド結合モードの結合自由エネルギー計算による判別

さらに、GPU を使用した長時間ダイナミクスを実施して、主成分解析や相関解析を実施する計算フローを構築した。

結果および考察

リガンドの結合モードをシミュレーションから予測するには非結合状態と結合状態を繋ぐ全ての状態をサンプリングする必要があり、一般に計算コストが非常に高い。二次元レプリカ交換法によりサンプリング効率を大幅に上げることができるが、初期構造として水中にリガンドをおいて計算を始める場合、ポケット周辺にいろいろな角度から近づき、適切にポケット内で結合モードを形成させる必要があった。そこで、最初から複数のドッキングモデルを使って計算を始めるようにした。さらに詳細な検証が必要であるが、いくつかの例で収束性が早くなる傾向が見られてきている。また全体の計算フローを自動化し、これまで手動で設定していた束縛ポテンシャルも系に応じて自動で設定されるようになり、ほぼ全自動での大規模適用を実施できる段階に近づけた。

結合自由エネルギー計算の一例として図 2、図 3 に最近 MUP1 及び HSP90 に対して実施した相対結合自由エネルギー計算の実験値との比較を示す。

MUP1

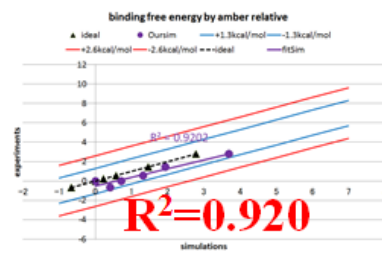


図 2 MUP1 での結合自由エネルギーの実験値(縦軸)と計算値(横軸)の比較

HSP90

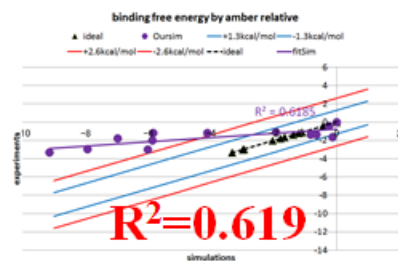


図 3 HSP90 での結合自由エネルギーの実験値(縦軸)と計算値(横軸)の比較

HSP90 の例では絶対値での過大評価が見られるが、これらの例では実験値と良い相関があり、十分な予測精度があると考えられる。

さらに、GPU を使用した長時間ダイナミクスを実施して、主成分解析や相関解析を行なう計算フローの構築に取り組んだ。図 4 は HIV-1 protease (PDB ID: 1OHR)での相関解析の例を示す。

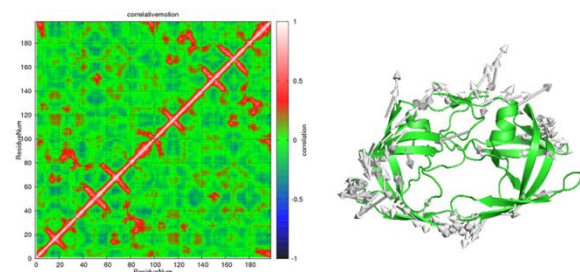


図 4 1OHR での相関解析と主成分解析

左図はアミノ酸残基のどこが強い相関を持つかを示し、右図は運動モードの主成分を示す。このような解析を自動で実施することができるため、結果から揺らぎが大きい箇所を推定することや、結合するリガンドにより異

なる振る舞いが知られている場合に適用してその理由を推定することなどへの活用が期待される。

まとめ、今後の課題

計画していたリガンドの初期配置の最適化や、束縛条件の自動設定、結合自由エネルギー計算による結合モード判別、GPU によるダイナミクス初期解析を実施することができた。実施計画に沿って、二次元レプリカ交換法を効果的に適用するため、リガンドの初期配置としてドッキングモデルを取り入れるように変更することが出来た。タンパク質とリガンド複合体の機能性ダイナミクス解析の一步として、運動の相関解析、2D-RMSD 解析、主成分解析を簡便に実施できるようにした。さらに、結合自由エネルギー計算との連携を考え、Double Decoupling 法により結合自由エネルギーを計算することで、複数の結合モデルから正しい結合モードを判別できることを示した。今後の課題として、機能性ダイナミクスに特化したサンプリング効率の高いシミュレーション手法を導入して、リガンドの結合状態や非結合状態、様々な機能状態 (agonist, antagonist など) を自由エネルギー地形により解析する方向が考えられる。

参考文献

1. H. Kokubo, T. Tanaka, Y. Okamoto, Ab initio prediction of protein-ligand binding structures by replica-exchange umbrella sampling simulations, *J. Comput. Chem.* **32**, 2810–2821 (2011).
2. H. Kokubo, T. Tanaka, Y. Okamoto, Two-dimensional replica-exchange method for predicting protein–ligand binding structures, *J. Comput. Chem.* **34**, 2601–2614 (2013).
3. H. Kokubo, T. Tanaka, Y. Okamoto, Prediction of Protein–Ligand Binding Structures by Replica-Exchange Umbrella Sampling Simulations: Application to Kinase Systems, *J. Chem. Theory Comput.* **9**, 4660–4671 (2013).
4. Y. Okamoto, H. Kokubo, T. Tanaka, Prediction of Ligand Binding Affinity by the Combination of Replica-Exchange Method and Double-Decoupling Method, *J. Chem. Theory Comput.* **10**, 3563–3569 (2014)