

TSUBAME 共同利用 平成 24 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 GPCR 膜蛋白質の作動薬認識におけるダイナミクスの解析
英文: Analysis of dynamic aspects in agonist recognition of a GPCR protein

利用課題責任者: 中村春木
Haruki Nakamura

所属 大阪大学蛋白質研究所
Institute for Protein Research, Osaka University
URL: <http://www.protein.osaka-u.ac.jp/rcsfp/pi/>

邦文抄録(300 字程度)

GPUを利用する高速分子シミュレーションソフト(myPresto/psygene-G)をTSUBAMEに移植し、CPU版MDソフトウェアよりも30倍の高速性能を達成した。これを創薬において重要なターゲットである G-protein coupled receptor (GPCR) の遮断薬や作動薬の結合時における構造変化の解析に適用した。GPCRは、遮断薬が結合した場合は、構造が2つの不活性構造の間で揺らぎを示し、作動薬結合時には、構造が活性化型構造に固定される。MD計算によって、この動的構造が解析できることが示唆された。

英文抄録(100 words 程度)

We installed a GPU-accelerated molecular dynamics (MD) simulation software (myPresto/psygene-G) on TSUBAME system, and the GPU-version MD software was 30-times faster than that of the CPU-version. This MD software was applied to a G-protein coupled receptor (GPCR) with its agonists and inverse agonists. The GPCR shows a stable, fixed active structure with its agonist, and it shows two unstable inactive structures with its inverse agonists. Our MD simulations suggested that the dynamic characters of the GPCR were well reproduced.

Keywords: GPCR, 遮断薬、作動薬、psygene-G, myPresto、分子動力学シミュレーション

背景と目的

新薬の開発には多大なコストが掛かり失敗も多い為、コンピュータによる薬物候補探索の省力化は利益が大きい。G タンパク質共役受容体 (GPCR) は重要な創薬標的であるが、その立体構造が解明されたのはまだ十数種類にすぎない。そのため、GPCR を標的として in silico スクリーニングを行うにはホモロジーモデリングにより標的タンパク質の立体構造を作成する必要がある。また、induced-fit やタンパク質の動的挙動を考慮するには分子動力学(MD)計算を利用した構造サンプリングが有効である。

GPCRは生体膜に埋め込まれた系であり、系の構成原子数は最低でも5万原子となる。また、薬剤結合時の構造変化は遅い過程であり、最低でも数十 nsec の分子シミュレーション計算を行わねばならない。

これまで分子シミュレーションの高速化はCPUの

クロックアップと並列化プログラミングで実現してきたが、既に原理的な限界に近づいてきている。そこで浮動小数点演算に優れたGPUが着目されている。しかし、GPUのアプリケーションは新しいノウハウと新しいアーキテクチャに合わせたプログラム開発を要求する。GPU への移植における既存アプリケーションのコードの並列化対応は多大なコストがかかるが、我々は、GPUの利用による超並列計算機向け空間分割 MD プログラム myPresto/psygene-G を既に関発している(図1)。このMDでは、我々が最近開発した Zero-dipole summation (ZD) 法という、遠距離的な静電相互作用を12 Å程度の比較的短い距離でカットオフする一方、遠距離からの効果をカットオフ球上に置いたイメージ電荷で繰り込み、高い精度で計算する手法を利用した。

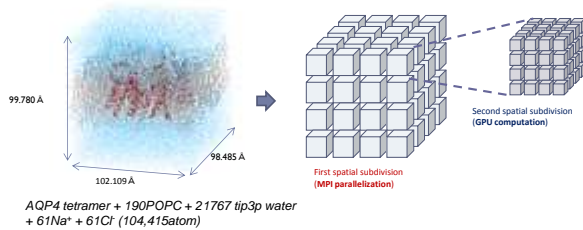


図1: psygene-G における空間分割の概要

本プロジェクトでは、この GPU 向けの MD プログラム myPresto/psygene-G を TSUBAME に移植し、その計算速度、精度を計測しながら、薬物の結合した GPCR のモデル構造を分子シミュレーションにより構築し、その構造的特徴を解析した。GPCR を標的とする医薬品には、GPCR を活性化に変形させ下流のシグナル伝達をうながす作動薬 (agonist)、逆に GPCR を不活性化に変形させてシグナル伝達を止める遮断薬 (inverse agonist)、その他、遮断薬と作動薬の中間の性質を持つ部分作動薬 (partial agonist) がある。実験的には、GPCR は、活性化されると、その発現量が低下するため、構造解析に必要なタンパク質量を確保するためには、遮断薬などを投与して不活性化型の構造を解析する。そのため、遮断薬が結合した GPCR の構造解析のみが進んでおり、作動薬、部分作動薬の結合による GPCR の構造変化や作用機構は良く分かっていない。そこで、特に、作動薬結合時と遮断薬結合時の GPCR (本研究では、 β 2 アドレナリン受容体) の構造変化について解析した。

概要

GPCR の構造は、下の図のような模式図で表される、7本のヘリックス構造からできている。GPCR は膜に埋まっており (図では膜、溶媒は省略されている)、上が細胞外、下が細胞内であり、薬物は、GPCR の上から約 1/3 程度のところに結合する。薬物結合時の、薬物結合ポケット周辺の構造変化はわずかであると考えられているが、GPCR の下部では、その動きは大きくなり、図中 ICL3 と示された部分に、細胞内に信号を伝えるタンパク質が結合する・しないによって、細胞内に信号が伝達される。

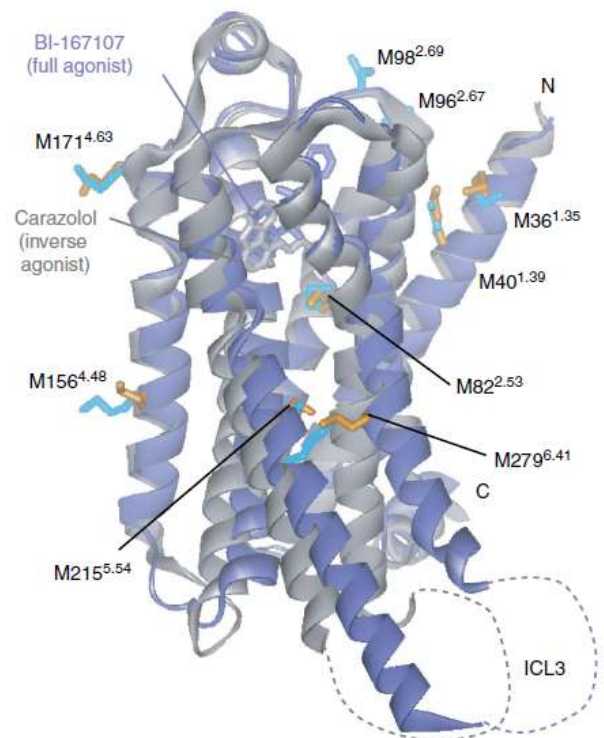


図2: GPCR 構造模式図 (Y. Kofuku, et al. Efficacy of the beta2-adrenergic receptor is determined by conformational equilibrium in the transmembrane region. Nature Communications. 2012,3,1045 より抜粋)

NMR を用いた実験では、GPCR のヘリックスは揺らいでいることが観測されている。作動薬、遮断薬、部分作動薬の結合によって、上の図中で M82 と記載されたメチオン 82 番の動きが、変化することが実験で明らかにされている。しかし、この NMR 実験で観察されたのはメチオン 82 番の動きのみであり、タンパク質全体の構造は観察することはできない。

遮断薬が結合した場合は、GPCR の構造は 2 つの不活性化構造の間を行き来する平衡状態となり、部分作動薬が結合した場合は、不活性化構造と活性化構造の間を行き来する平衡状態となり、作動薬が結合した場合には、活性化型構造に固定されると考えられている。

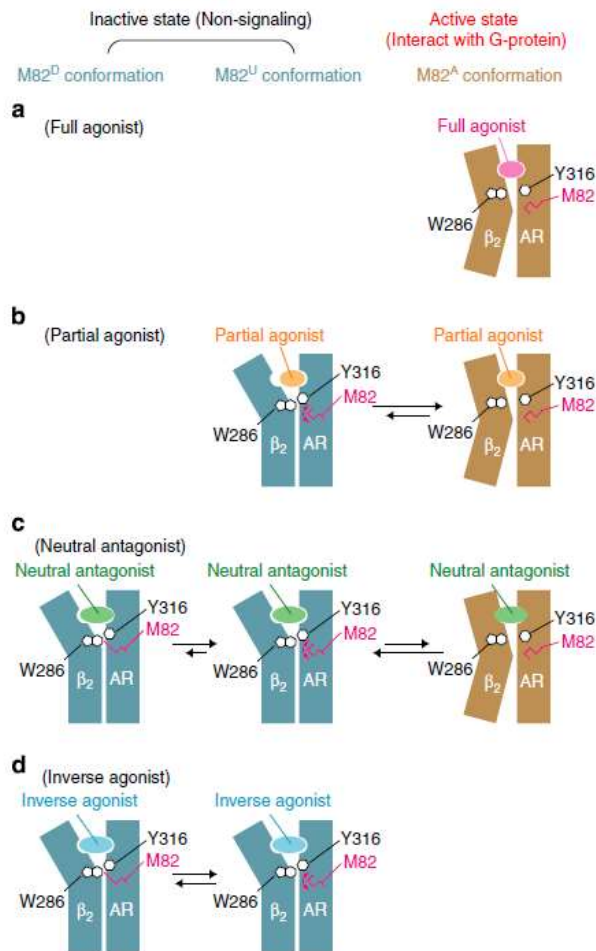


図3: GPCRの薬剤結合時の構造変化 (Y. Kofuku, et al. Efficacy of the beta2-adrenergic receptor is determined by conformational equilibrium in the transmembrane region. Nature Communications. 2012,3,1045より抜粋)

そこで、GPGPUを活用した、計算の高効率化と高速性が発揮できるプログラムをTSUBAMEに移植し、生体膜に埋め込まれたGPCRの系(膜や溶媒分子を含んで5万~10万原子からなる)へ適用し、20~50 nsecに及ぶMD計算を従来の約30倍の速度で行うことに成功した。原子間の相互作用計算には、GPGPUと、空間を分割し、分割された部分空間ごとに計算機を割り当て、計算を効率的に分散処理するように行った。この計算により、作動薬、遮断薬の結合時にメチオン82番の動きがNMR実験に合致するか、その場合、タンパク質全体の構造はどうなるかを調べた。

結果および考察

GPCRに薬物をドッキングし、図4(a)のように生体膜

に埋め込み、溶媒を付加して、圧力を1気圧、室温でのMD計算を行った。系は、図4(b)のように緩和され、メチオン82番について、解析を行った。

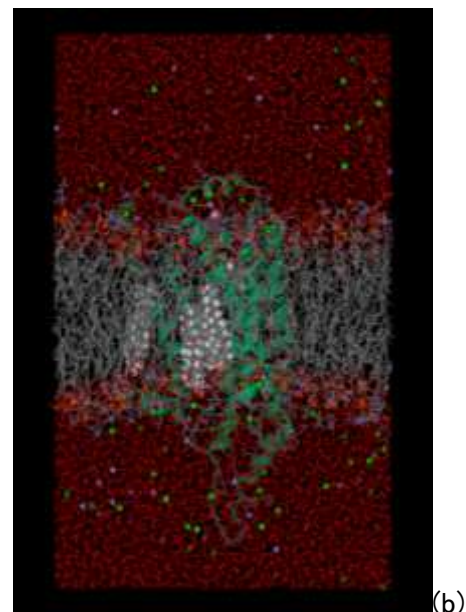
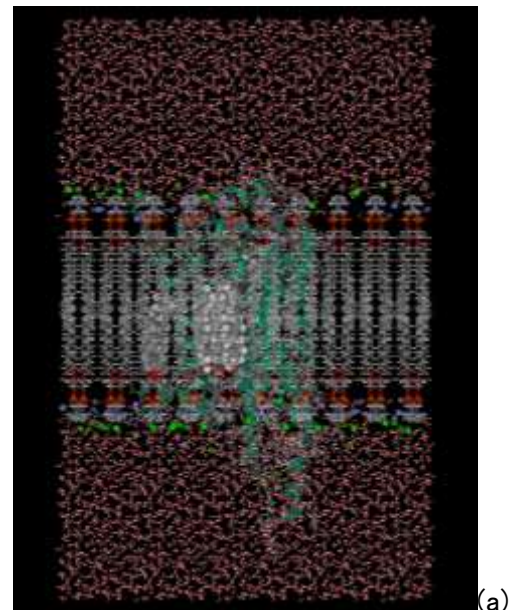


図4: GPCRのMD計算

MD計算では、多数の薬剤の解析を行ったが、ここに、図2, 3のNMR実験で用いられた遮断薬 Carazolol と作動薬 Formoterol の結合した場合のMDシミュレーションの結果を示す。分子シミュレーションでは、タンパク質のアミノ酸残基は、3次元的に運動するため、アミノ酸残基の3D座標の主成分分析を行い、2次元プロットに示した。灰色は、その他の残基の運動状態を示している。

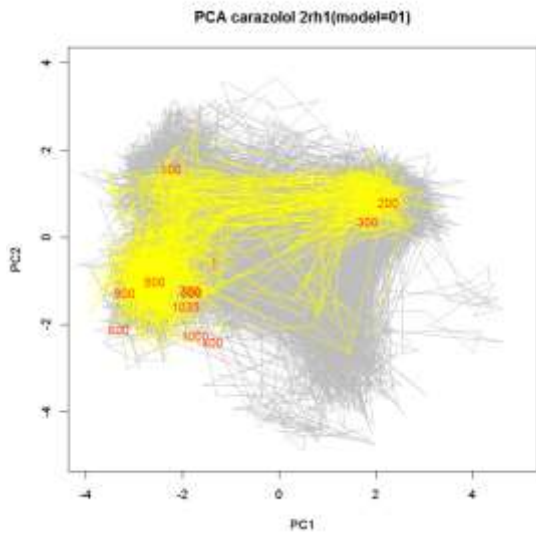


図5: 遮断薬 Carazolol 結合型GPCRのメチオニン82番の運動

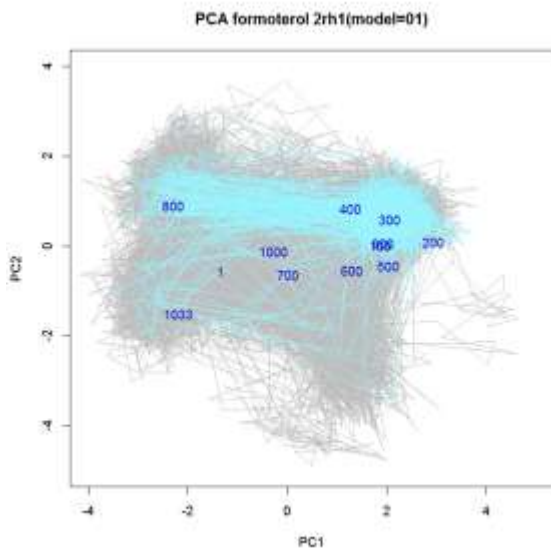


図6: 作動薬 Formoterol 結合型GPCRのメチオニン82番の運動

図5を見ると、メチオニン82番を示す黄色の点が、2つの構造に相当する分布と1つの弱い分布を示している。一方、図6では、メチオニン82番を示す空色の点は、左端の分布に偏っていることが分かる。

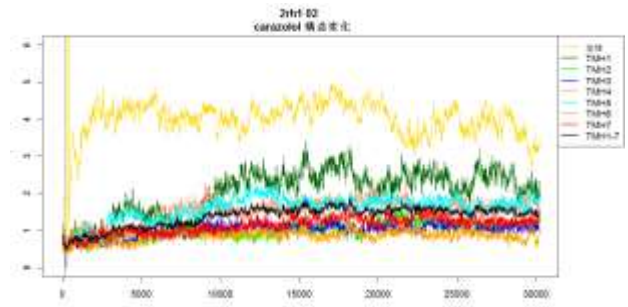


図7: 遮断薬 Carazolol 結合型GPCRのヘリックスの動き

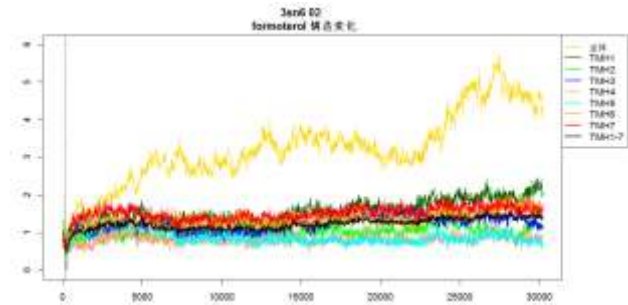


図8: 作動薬 Formoterol 結合型GPCRのヘリックスの動き

このときのタンパク質全体の動きを7本ある各ヘリックスのRMSDの時間変化で表したのが、図7、8である。若干、遮断薬結合型の方(図7)が、構造のゆらぎが作動薬結合型(図8)より大きくなっているようにも見える。

なお、分子シミュレーションプログラム: myPresto/psygene-G の TSUBAME への移植では、大きさや種類の異なるいくつかのテスト系で相互作用力やエネルギー保存などの精度検証と、速度計測を行った。精度は、MD計算を行うのに十分な精度であり、上記の結果は、計算誤差に起因するものではない、と結論できる。また、計算速度では、通常のCPUコア使用時に比べ30倍程度の加速が見られたので、TSUBAME の性能は引き出されていると思われる。

まとめ、今後の課題

分子シミュレーションプログラム myPresto/psygene-G の非結合項の二体相互作用計算を専用計算機(マルチコアアクセラレータ)であ

る TSUBAME の GPU に移植し、高速性能を発揮することができた。GPU に実装された相互作用計算は、CPU 実装版による結果と高い精度で一致し、力計算・エネルギー計算の両面において十分な精度を保っていた。また、全エネルギーの安定性に関して、長時間計算でエネルギーのドリフトが発生しない精度を保っていた。GPU 版の ZD 法を導入した myPresto/psygene-G は十分な計算速度を実現し、更にスケーラブルな拡大を可能とする事が確認された。

GPCR に、遮断薬、作動薬などを結合し、生体膜中での系を構成し、MD シミュレーションを行い、遮断薬、作動薬において、GPCR のアミノ酸残基や構造の運動の違いが現れることが示唆された。