

TSUBAME 共同利用 平成 24 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 タンパク質間相互作用阻害ペプチドの設計

英文: Computational design of small peptide modulators of protein-protein interactions

利用課題責任者 泰地 真弘人

First name Surname Makoto TAIJI

所属 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
Affiliation Computational Biology Research Core, QBiC, RIKEN
URL <http://www.qbic.riken.jp>

邦文抄録(300 字程度)

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(100 words 程度)

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。本課題ではペプチドの特徴を捉え、従来の方法に多角的に発展させることで、標的タンパク質に強く結合するペプチドを設計することを目指す。

概要

本課題では分子ドッキングを基礎とした *in silico* スクリーニングを実行し、標的タンパク質に強く結合するペプチド分子を設計する。まず分子ドッキングにより、短鎖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基に、MM-PBSA 法を用い結合親和性を算出する。

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ける探索空間

が膨大になることを意味するため、ペプチドの分子ドッキングには莫大な計算能力が求められる。本課題では、その問題を解決するため GPU を用いる分子ドッキングソフトウェアを開発している。分子ドッキングでは多くの結合様式の中から、最も良いドッキングスコアを持つものを求める技術である。これらのドッキングスコアの算出は互いに独立であるため、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。

また本課題ではこの分子ドッキングソフトウェアを用いて、CRK タンパク質に対するインシリコスクリーニングを実行する。通常分子ドッキングを基礎としたインシリコスクリーニングは単一のタンパク質構造を用いて行うが、本課題では複数の構造を用いて一次スクリーニングを実行した。この方法を用いることによって、タンパク質の動的な性質を取り入れた分子設計を行うことができる。また遺伝的アルゴリズムを用いてアミノ酸配列を最適化していくことで、合理的な高親和性ペプチドの設計を目指す。

インシリコスクリーニングにおいては、ペプチドとタンパク質の複合体構造のみならず、ペプチド単体の水中安定構造の探索も行った。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)。そこでタンパク質と非結合状態におけるペプチドの構造を予測し、この効果を親和性評価に反映させる。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。

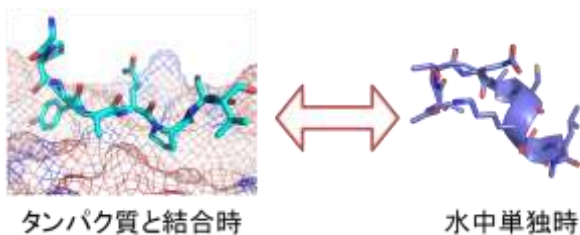


図 1 ペプチドの結合による構造変化のイメージ

結果および考察

CRK タンパク質の PDB 構造(ID:1ju5)を基に分子動力学シミュレーションを実行し、動的構造アンサンブルを得た。この動的構造アンサンブルから 100 個前後の構造を抽出し、分子ドッキングを

基礎とした一次スクリーニングに用いる。ここでは CRK に結合することがわかっているペプチド群を含む小テストセットを用いて、既知結合配列の検出率を ROC 曲線の AUC(曲線化面積)によって数値化した。CRK の各構造を独立に用いて ROC AUC を算出した(図 2)。

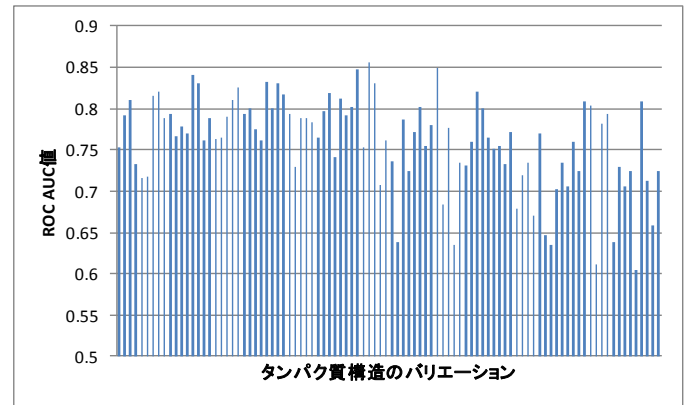


図 2 タンパク質構造による ROC AUC 値のばらつき

続いてタンパク質構造の中から ROC AUC 値が高い 4 つの構造を選び、遺伝的アルゴリズムによるアミノ酸配列の最適化を行う。各構造をそれぞれ独立に用いて、算出される親和性が高くなるように遺伝的アルゴリズムによりアミノ酸配列を進化させた。最適化が収束するまで、各構造あたり 1 万配列ほどのペプチドの親和性予測を行った。各構造から得られたペプチドの最安定配列はタンパク質構造ごとの傾向が大きく異なる。

続いて各構造から得られた高親和性ペプチド群を異なるタンパク質構造と組みあわせて、再度親和性の評価を行った。多くのタンパク質構造においても高い親和性を持つペプチドを、一次スクリーニングにおける高親和性ペプチドとした。

まとめ、今後の課題

GPU を用いることで、分子ドッキングを基礎としたスクリーニングの対象分子をペプチドまで拡大することができる。分子ドッキングに用いるタンパク質の構造ごとに、高親和性と算出されるペプチドのアミノ酸配列は大きく異なることが分かった。本課題では各タンパク質構造で予想された最安定ペ

プチド群と、異なるタンパク質構造を組み合わせ、親和性の再評価を行うことで、タンパク質構造に依存しないペプチド設計を目指した。

今後は得られた複合体構造を基に分子動力学シミュレーションを実行し、さらに高精度な二次スクリーニングを実行する予定である。2 次スクリーニングにより決定されたペプチド群は、実際に生化学実験を行い、結合性を試験する。実験結果は本課題の手法にフィードバックさせ、さらなる高精度化を図る。