

平成 27 年度 TSUBAME 産業利用トライアルユース 成果報告書

利用課題名 Topoisomerase IV 複合体構造の FMO 計算によるリガンド相互作用エネルギー解析
英文: Ligand interaction energy analysis of Topoisomerase IV complex using FMO calculation.

増田 吉昭
Yoshiaki Masuda

ペプチドリーム株式会社
PeptiDream Inc.
<http://www.peptidream.com/>

Topoisomerase IV (TopoIV)はキノロン薬の標的タンパク質の一つとして知られている。新規 TopoIV 阻害剤探索において、TopoIV – DNA – 阻害剤複合体の FMO 計算による相互作用エネルギー解析は重要な情報となる。この複合体は 2 万原子を越えるため、多数の FMO 計算を実施するには計算コストがかかる。そのため、リガンド近傍の残基を truncate し原子数を削減した系で FMO 計算するのがより効率的である。そこで、truncate した系の FMO 計算を行う事により、本標的での適切なリガンドからの切り出し距離を決定した。

Topoisomerase IV (TopoIV) is known as one of the target proteins of quinolone antibacterial agents. To develop novel TopoIV inhibitors, the interaction energy analyses of TopoIV – DNA – inhibitor complexes using FMO calculations provide us supportive information. The FMO calculation of these complexes, which consist of over 20 thousands atoms, need huge computational resources. Therefore FMO calculations using the systems truncated around the ligand are more effective and practical. To decide the appropriate cut-off distance from the ligand of the target, FMO calculations of the truncated system were implemented.

Keywords: FMO, topoisomerase IV, GAMESS, PIEDA

背景と目的

Topoisomerase IV (TopoIV)はキノロン薬の標的タンパク質の一つとして知られており、抗菌薬探索における重要な標的の一つである。TopoIV はキノロン薬などの複合体構造が PDB に登録されている事から Structure-Based Drug Design (SBDD)の手法が利用可能である。これら複合体中のリガンド – 受容体 (TopoIV – DNA)間の定量的なアミノ酸残基(DNA)との相互作用の解析が可能である FMO 計算による相互作用エネルギー解析は、SBDD による新規 TopoIV 阻害剤探索において重要な情報となる。

一方、TopoIV 複合体は全原子数が約 24,000 と比較的大きい系である事から、複数の計算には計算コストがかかるため、複数構造の相互作用エネルギー解析を行うにはリガンド周辺のアミノ酸残基 (DNA)を truncate して縮小した系で行うのが効率的である。

本研究では、TopoIV 複合体の全原子系とともにリガンド近傍のアミノ酸残基(DNA)を truncate することで原

子数を縮小した系でのフラグメント分子軌道法(FMO)計算を実施した。PIEDA 解析 (Pair Interaction Energy Decomposition Analysis)による相互作用エネルギー解析を比較する事により、計算精度に支障無い truncate 時のリガンドからの受容体構造の切り出し距離を把握する事を目的とした。

概要

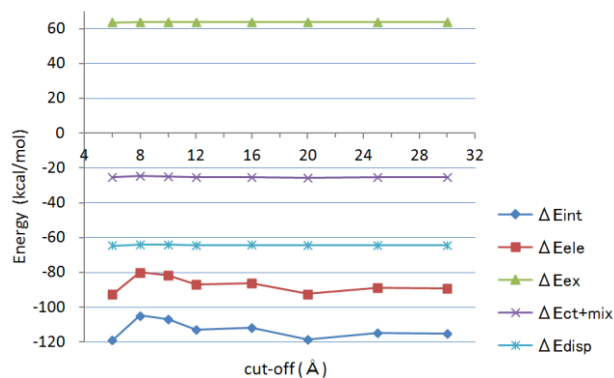
本研究では、計算時間と計算精度 TopoIV – DNA – リガンド複合体を(PDB ID: 3LTN)のリガンド近傍の全原子系および truncate して作成した原子数を縮小した系に対して FMO-MP2/6-31G 計算を行った。PIEDA 解析によるリガンド-受容体相互作用エネルギーの比較を行った結果、truncate する時のリガンドからの切り出し距離は 12 Å 以上で計算精度に支障無い結果を与えることが分かった。

結果および考察

TopoIV 複合体構造は TopoIV –DNA – PD0305970 複合体結晶構造 (PDB ID: 3LTN) を用いた。MOE2014.0901 (CCG 社) の Structure Preparation, Protonate3D で複合体に水素を付加し、水素と追加された重原子のみ AMBER10EHT 力場、Generalized Born 溶媒モデルで minimize した。次に文献条件¹⁾ に準じて、全体に tether をかけ weight を 100,10,1 の順に順次 minimize 後、過剰な静電相互作用の影響を抑えるためリガンドの塩基性アミンのプロトンを除き中性分子とした構造を FMO 計算用の複合体構造とした。MOE/FMOUtil.svl を用いて、全原子ならびにリガンドから切り出し距離 6, 8, 10, 12, 20, 25, 30 Å で truncate した構造の FMO 入力ファイルを作成した。アミノ酸残基はスクリプトの自動分割で、DNA は主鎖と塩基を別フラグメントに分ける条件²⁾ でフラグメント化した。TSUBAME2.5 にインストールされている GAMESS (バージョン: 01 May 2013) を用い、TSUBAME で計算実績のある条件 (16 ノード × 16 スレッド)³⁾ を用いて MP2/6-31G の計算レベルで FMO 計算を行った。その結果、30 Å までの切り出した構造は原子数、フラグメント数にほぼ比例した計算時間で終了した。全原子は、いくつか条件を変えて実行したが、エラー発生により計算結果は得られなかった。

FMO 計算が完了した構造について、PIEDA 解析(結果を図 1 に示した。FMO 計算に用いた複合体構造のリガンドからの切り出し距離とリガンド – フラグメント間相互作用エネルギーの総和 (ΔE_{int}) および ΔE_{ele} (electrostatic), ΔE_{ex} (exchange), $\Delta E_{\text{ct+mix}}$ (charge transfer + mix), ΔE_{disp} (dispersion) に分割した 4 つのエネルギー成分をプロットして、計算に用いた複合体構造のリガンドからの切り出し距離と比較した。切り出し距離が 10 Å 以下の時の ΔE_{int} が -118.7 ~ -104.8 kcal/mol と振れるのに対し、12 Å 以上では計算結果の得られた最大の系である 30 Å の ΔE_{int} -115.1 kcal/mol と比較して 4% 以内 (-111.7 ~ -118.7 kcal/mol) に納まる事がわかった。以上の結果より、TopoIV 複合体構造の FMO 計算には、計算時間と精度の兼ね合いからリガンドからの切り出し距離 12 Å で truncate した構造を用いるのが適切である事が分かつ

た。 ΔE_{int} の振れの原因を確認するため各エネルギー項を比較した結果、 ΔE_{ex} , $\Delta E_{\text{ct+mix}}$, ΔE_{disp} はどの構造でもほぼ一定の値であったのに対し、 ΔE_{ele} の振れは大きく、 ΔE_{int} の振れと連動していた。この事から、FMO 計算の振れの主な原因は、 ΔE_{ele} の振れが切り出した構造であることが分かった。



cut-off (Å)	ΔE_{int} (kcal/mol)	ΔE_{ele} (kcal/mol)	ΔE_{ex} (kcal/mol)	$\Delta E_{\text{ct+mix}}$ (kcal/mol)	ΔE_{disp} (kcal/mol)	原子数	フラグメント数	計算時間 (hr)
6	-118.74	-92.48	63.54	-25.20	-64.59	533	32	0.2
8	-104.79	-79.88	63.76	-24.55	-64.12	748	45	0.3
10	-106.80	-81.51	63.73	-24.83	-64.19	1094	68	0.4
12	-112.76	-86.86	63.68	-25.23	-64.35	1744	110	0.7
16	-111.67	-86.02	63.72	-25.15	-64.23	3117	193	1.2
20	-118.69	-92.33	63.75	-25.56	-64.55	4958	313	2.3
25	-114.80	-88.88	63.89	-25.39	-64.42	7986	498	4.1
30	-115.05	-89.10	63.83	-25.39	-64.39	11505	715	6.6
全原子						23990	1493	エラー発生で完了せず

図 1. FMO 計算に用いた truncate 時のリガンドからの切り出し距離とリガンド – フラグメント間相互作用エネルギーの総和のプロット。

まとめ、今後の課題

今回の検討の結果、本標的の FMO 計算では、リガンドから 12 Å の切り出し距離で truncate した構造を用いるのが適切であることが分かった。truncate した構造における相互作用エネルギーの振れは、主に ΔE_{ele} に因るものであった。今後は、PDB に登録されている他の TopoIV 複合体構造に対する FMO 計算を行い、各複合体中のリガンド – フラグメント間の相互作用エネルギーの違いを確認する事により、新規阻害剤探索に利用していく予定である。

参考文献

- Ozawa, T.; Tsuji, E.; Ozawa, M.; Handa, C.; Mukaiyama, H.; Nishimura, T.; Kobayashi, S.; Okazaki, K. The importance of CH/ π hydrogen bonds in rational drug design: An ab initio

fragment molecular orbital study. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 10311 – 10318.

2) Explicit solvation modulates intra- and inter-molecular interactions within DNA: Electronic aspects revealed by the ab initio fragment molecular orbital (FMO) method Fukuzawa, K.; Kurisaki, I.; Watanabe, C.; Okiyama, Y.; Mochizuki, Y.; Tanaka, S.; Komeiji, Y. *Comput. Theor. Chem.* **2015**, *1054*, 29-37.

3) 高木達也. 分子動力学計算や分子軌道計算を活用した蛋白質間ドッキングシステムの開発. HPCI User Report 課題番号 hp140147.