

タンパク質-リガンド間の結合性解析 の自動パイプライン化

尾渡 裕成[†] 関嶋 政和^{††} 秋山 泰[†]

[†] 東京工業大学 大学院情報理工学研究科 計算工学専攻 ^{††} 東京工業大学 学術国際情報センター

1 序論

非経験的フラグメント分子軌道 (FMO) 法 [1][2][3] は、創薬の過程において蛋白質と薬剤の相互作用エネルギー (IFIE) を計算するために利用されるが、データの前処理に手作業が必要となるため大規模な網羅解析が困難である。本研究では FMO 法の並列大規模解析を可能とするため、自動パイプラインの開発を試みた。また本研究では FMO 計算を行うソフトとして AdvanceSoft 社の Advance/BioStation[4] を使用した。

2 FMO 法による解析

自動パイプラインの構築にあたり現状の問題点の把握と FMO 法の有効性の確認のため、インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼ酵素 (NA) とその阻害薬 4 種 (図 1) の複合体の解析 (表 1) を行った。FMO 法による NA 阻害薬の解析は N1NA を対象とした先行研究が存在するが [5]、本研究は複合体構造が多く公開されている N8NA を解析対象とした。DANA はシアル酸の類似体で、DANA に次ぐ新薬の開発の際 site I に正の電荷をもつアミノ基の導入が考えられた。これが成功し、さらに NA との距離を近づけ引力を得るためにグアニジノ基に変えたものが Relenza で、1989 年にビオタ社により販売開始された。また Tamiful は吸収率向上のため外側にある窒素原子と酸素原子を減らす工夫がなされ 1996 年にギリアド・サイエンシズ社により経口投与ができる NA 阻害薬として販売された。Rapiacta はバイオクリスト社によって開発された注射型の新薬である。これらの複合体を QM 半径 4.5 の QM/MM 法 (QM 領域は HF 法) で計算し、主要残基の IFIE を各薬剤間で比較した (図 2)。

また活性部位は図 1 の DANA のように 5 つのサイトに分割されることが知られており [6]、Site I では NA は正の電荷を持つ残基が多く、どの薬剤も負の電荷を持つカルボキシル基を持つことからすべての薬剤と NA

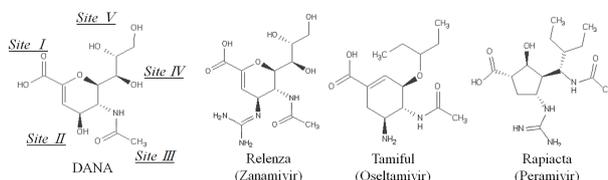


図 1: 4 種類の NA 阻害薬の構造

表 1: 相互作用エネルギーと計算時間比較

Drug name	DANA	Relenza (Zanamivir)	Tamiful (Oseltamivir)	Rapiacta (Peramivir)
PDB ID	2HTR	2HTQ	2HT7	2HTU
IFIE (kcal/mol)	-109.81	-176.37	-203.58	-183.79

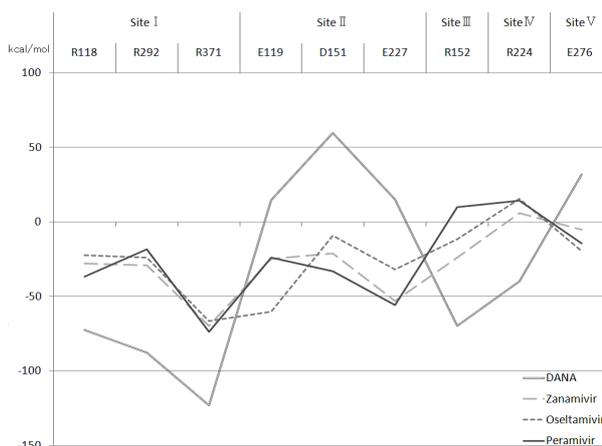


図 2: 主要残基との相互作用エネルギー比較

の間で引力が働いている。Site II は NA は負の電荷を持つ残基が多く存在している。DANA は Site II に負の電荷を持つヒドロキシル基があるので斥力が働いているが、グアニジノ基を持つザナミビルと Rapiacta は大きな引力を得ている。またアミノ基を持つ Tamiful のみ E119 との間に水素結合があることが知られているが、これは図 2 の E119 の IFIE の結果と一致する。Site IV, V は強い相互作用を示す残基はないが、上記の吸収率向上の理由と同様に Tamiful と Rapiacta は酸素原子と窒素原子を使用しない同じ形になっているためこの二つの薬は IFIE でも近い値を示している。このように FMO 法は水素結合の有無や実験値を反映できており有効性が確認された。

Automatic Pipeline For Binding Analysis Between Protein And Ligand

[†] Yusei OWATARI(owatari@bi.cs.titech.ac.jp)

^{††} Masakazu SEKIJIMA(sekijima@gsic.titech.ac.jp)

[†] Yutaka AKIYAMA(akiyama@cs.titech.ac.jp)

Graduate School of Information Science and Engineering,
Tokyo Institute of Technology (†)

Global Scientific Information and Computing Center, Tokyo
Institute of Technology (††)

Ookayama 2-12-1-W8-76, Meguro-ku, Tokyo, 152-8550
Japan.

3 提案手法

3.1 自動パイプライン化

現状の手作業を含む解析では数十～数百件といった大規模解析は現実的ではないため、本研究はこのデータの前処理の自動化を含めた自動パイプラインの構築を提案する。解析手順は図3の左のようになっており、実際の解析を通し抽出した問題点を基に以下の実装を含む自動パイプラインの構築を行った。また水素付加ソフトに汎用性を高めるためフリーライセンスでコマンドラインで実行可能な reduce を使用している。

自動パイプラインの機能

- PDB データ中に含まれるカルシウムイオン, IFIE を計算する対象のリガンド以外の低分子を削除
- タンパク質の N 末端の水素付加と構造全体の水素誤付加の修正
- リガンド部のアミノ基とカルボキシル基自動検出及び電離化

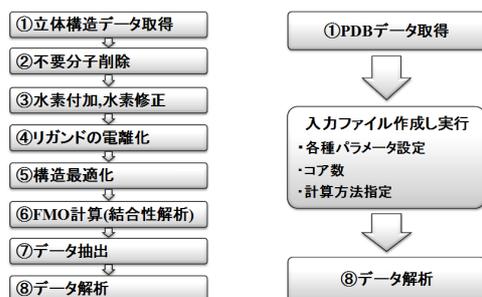


図 3: FMO 法における解析手順 (左: 従来手法, 右: 自動パイプライン)

3.2 評価実験

手動の解析を正解と考え、手動の解析結果と近いほど高精度であるとして、作成した自動パイプラインの精度評価を行った。そこで以下の三つの手法について精度を計ること最適な構造最適化手法を探索した。各計算には 2QWK(N9NA と Tamiflu の複合体) を使用した。また水素付加ソフトは reduce で統一し、手動の水素修正には Discovery Studio を使用した。

手法 1 全体構造最適化 → FMO 計算 (一般的な流れ)

手法 2 水素最適化 → 全体構造最適化 → FMO 計算

手法 3 水素最適化 → アポ蛋白だけで基底関数 STO-3G で FMO 計算 (タンパク質構造安定化) → リガンドを戻し全体構造最適化 → FMO 計算

3.3 実験結果と考察

各手法の IFIE の差, 構造の差の指標である RMSD, 各残基の IFIE の平均二乗偏差 (RMS) を表 2 に示す。RMSD が小さいほど IFIE の差が小さくなり, RMS が

表 2: 手動解析と自動パイプライン解析の差による手法比較結果

	手法 1	手法 2	手法 3
IFIE の差 (kcal/mol)	23.94	2.20	14.75
RMS(kcal/mol)	2.58	0.55	1.25
RMSD	0.68	0.35	0.58

小さいほど高精度と考えられる。手法 2 は手動解析と自動パイプラインの IFIE の差が一番小さく, RMS も小さいので一番高精度な手法と考えられる。手法 1 と手法 2 の差は reduce の全原子に一定の結合長で水素付加を行うという特徴が原因と考えられ, 手法 2 のように最初に水素最適化を行うことが必要だと分かった。手法 3 はより構造の安定化させるステップを増やしたが, 結果としてリガンドの配座が変化し, 手法 2 より劣る結果となったと考えられる。よって手法 2 を自動パイプラインに組み込む最適な構造最適化法とした。

4 結論

本研究では大規模解析を目指し FMO 法による解析の有用性の評価との自動パイプラインの開発を行った。まずインフルエンザウイルスの NA と 4 種の NA 阻害薬の結合性解析により FMO 法の有用性を確認, 自動パイプライン化への問題点を抽出を行った。そして得られた問題点を基に自動パイプラインを構築し, 従来の手作業の解析と三つの手法について精度を計り比較することで自動パイプラインに組み込む最適な構造最適化方法を決定した。今後の課題として, より多くの複合体データの自動パイプライン処理を達成するため, 様々な例外事例に多く対応させることを検討する。

参考文献

- [1] K. Kitaura, E. Ikeo, T. Asada, T. Nakano, M. Uebayasi, *Fragment molecular orbital method: an approximate computational method for large molecules*, Chem. Phys. Lett, 313, (1999), pp. 701.
- [2] T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato, Y. Akiyama, M. Uebayasi, K. Kitaura, *Fragment molecular orbital method: application to polypeptides*, Chem. Phys. Lett, 318, (2000), pp. 614.
- [3] K. Kitaura, S. I. Sugiki, T. Nakano, Y. Komeiji, M. Uebayasi, *Fragment molecular orbital method: analytical energy gradients*, Chem. Phys. Lett, 336, (2001), pp. 163.
- [4] "AdvanceSoft"
<http://www.advancesoft.jp/product/advance-biostation/>
- [5] S. Hitaoka, M. Harada, T. Yoshida, H. Chuman, *Correlation analyses on binding affinity of sialic acid analogues with influenza virus neuraminidase-1 using ab initio MO calculations on their complex structures*, J. Chem. Inf. Model, 50, (2010), pp. 1796.
- [6] R. Chachra, R. Rizzo, *Origins of Resistance Conferred by the R292K Neuraminidase Mutation via Molecular Dynamics and Free Energy Calculations*, Journal of Chemical Theory and Computation, 4, (2008), pp. 1526.