

情報エントロピーによるタンパク質のリガンド結合部位予測

佐々木 孝章 関嶋 政和

東京工業大学大学院情報理工学研究科 計算工学専攻*

1 はじめに

近年、日本では薬の特許切れが相次ぐ一方で、新薬の創出能力の低下が問題視されている。医薬品の開発において、ターゲットとなるタンパク質に結合するリガンドは、天然資源からの単離やハイスループット・スクリーニング (HTS : high-throughput screening) [1], フラグメントベース創薬 (FBDD : fragment based drug design)[2] などがある。FBDD では、活性は低いが単位原子当たりの有効性が高い化合物に対して、無駄の少ないコンパクトな最終化合物の作成を可能にする。従来のタンパク質立体構造情報に基づく薬剤設計では、リガンド結合部位の立体構造解析と静電場の解析 (鍵穴構造の解析) から、この部位での相補的構造を有する分子 (鍵) をデータベースから検索し、結合を行う [3]。しかし、この手法では設計されるリガンドは立体構造上の相補性に依存することになり、活性が低い母化合物を拡張することで単位原子当たりの有効性が高まるかは保証されない。本研究では、水分子が自由度を得るとエントロピー的に有利に機能することを利用し、タンパク質周囲の水分子のダイナミクスを、情報エントロピーにより解析することでリガンドの結合部位予測を行う。

2 手法

2.1 MD シミュレーションによる水分子のダイナミクスの獲得

分子動力学法 (MD : molecular dynamics) を用いることで、対象となるタンパク質の周囲の水のダイナミクスを獲得する。まず、対象となるタンパク質エネルギー最小化を 1000 ステップおこなう。次に、水分子を対象となるタンパク質の周囲に直方体状に配置す

る。水分子を緩和させる為に、分子動力学法を用いて 30ps かけて 0K から 300K まで圧力を一定にして温度を上げた後、20ps の等温の MD シミュレーションを実行した。この過程を経た対象となるタンパク質について 2 種類の MD シミュレーションを行う。一つは初期から常に対象となるタンパク質の構造を固定したまま水分子のみが動くことが可能な 20ns の MD シミュレーションをおこなう方法である。もう一つは対象となるタンパク質に対し、MD シミュレーションを 10ns 間実行し、1ns 毎にスナップショットを取ることで熱揺らぎを考慮し、それらのスナップショットを固定して水分子のみが動くことが可能な MD シミュレーションをそれぞれ 10ns 実行する方法である。

2.2 水分子の情報エントロピー

MD シミュレーションから得られたトラジェクトリ (軌跡) から PDB ファイルを出力し、解析を行なう。対象となるタンパク質から 10ps 毎の原子の各座標を PDB ファイルとして出力する。次に、対象となるタンパク質と水からなる系を一辺 1.5Å の立方体に細分化する。MD シミュレーションの結果毎に PDB ファイルから水がどの立方体内に存在するかカウントする。各立方体 i において水分子をカウント数を n_i 、全ステップ数を N として、情報エントロピー H を計算する。情報エントロピーの式は以下で表される。

$$H = - \sum_i \frac{n_i}{N} \log \left(\frac{n_i}{N} \right) \quad (1)$$

また、各水分子の 1 ステップ前の状態を考慮する事によって、条件付きエントロピーを求める事もできる。立方体 i から j へ水分子の遷移を考えると条件付きエントロピー H' は、 $P(j|i)$ を 1 ステップ前に i にいた分子が j に遷移した数とすると、

$$H' = - \sum_i P(i) \sum_j P(j|i) \log P(j|i) \quad (2)$$

*Protein ligand binding site prediction by information entropy, Takaaki Sasaki Masakazu Sekijima, Dept. of Computer Science, Tokyo Institute of Technology

$$\text{但し } P(i) = \frac{n_i}{N} \quad (3)$$

となる。

3 実験

3.1 実験の条件

本研究では、対象となるタンパク質として FKBP (FK506 Binding Protein[4])、分子動力学シミュレーションに AMBER を用いて、クーロン静電相互作用境界条件として PME 法を用いて、カットオフ距離は 10Å に設定した。シミュレーションには、東京工業大学 学術国際情報センター TSUBAME2.0 を用いた。

3.2 固定した構造からの解析

系全体やタンパク質の表面、結合部位のエントロピーを計算する。系全体のエントロピーは、タンパク質と面していない部分も多いので、大きくなると考えられる。タンパク質の表面では、物理的な接触や水素結合などの力によって、動きに制限がかかる。そのため、系全体のエントロピーと比較すると小さくなると考えられる。

3.3 熱揺らぎを考慮した解析

次にスナップショットからの解析について述べる。解析方法は、固定した構造の場合と同様の内容を各スナップショットについておこなう。各スナップショットでは、熱による揺らぎが生じているため、形や表面の性質に違いが出ていると考えられる。そのため、あるスナップショットについてエントロピーの低い部分が、別のスナップショットでは高くなっている事も考えられる。このような領域は、本来固定されていない状態を観測する代わりに、固定をしてしまったために偶然できてしまった領域と予想される。そのような領域を排除する事によって、より正確な結合部位予測が可能となる。

4 まとめ

タンパク質のリガンド結合部位の予測をするために、FKBP を用いた MD シミュレーションを行ない、タンパク質内の水分子のダイナミクスについて解析を行った。

タンパク質とリガンドが結合する時に、活性部位に水和している水が外に排出されることによってエネルギー的な安定をはかる [4]。この排出は結合自由エネルギーにエントロピー的にもエンタルピー的にも寄与する。なぜなら結合前では、水和水は配向と位置の制約からエントロピー的に不利であり、疎水性クロージャに水和した水は、水素結合の補完ができないためエンタルピー的に不利となるからである。

参考文献

- [1] Oprea, T. I., Davis, A. M., Teague, S. J. and Leeson, P. D.: Is There a Difference between Leads and Drugs? A Historical Perspective, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, Vol. 41, No. 5, pp. 1308–1315 (2001).
- [2] Shuker, S. B., Hajduk, P. J., Meadows, R. P. and Fesik, S. W.: Discovering High-Affinity Ligands for Proteins: SAR by NMR, *Science* 29 November 1996, Vol. 274 No. 5292 pp. 1531–1534 (1996).
- [3] Kuntz, I. D.: Structure-Based Strategies for Drug Design and Discovery *Science* 21 August 1992, Vol. 257 No. 5073 pp. 1078–1082 (1992).
- [4] Van Duyne, G. D., Standaert, R. F., Karplus, P. A., Schreiber, S. L., Clardy, J.: Atomic Structure of FKBP-FK506, an Immunophilin-Immunosuppressant Complex *Science* 10 May 1991, Vol. 252 No. 5007 pp. 839–842 (1991).
- [5] Abel, R., Young, T., Farid, R., Berne, B. J. and Fresner, R. A.: Role of the Active-Site Solvent in the Thermodynamics of Factor Xa Ligand Binding *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 130, No. 9, pp. 2817–2831 (2008).