

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25247071

研究課題名(和文) 拡張アンサンブル法による蛋白質への小分子結合機構の研究

研究課題名(英文) Study on the mechanism of docking of small molecules to proteins by generalized-ensemble algorithms

研究代表者

岡本 祐幸 (OKAMOTO, Yuko)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：70185487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,600,000円

研究成果の概要(和文)：自前で開発したレプリカ交換傘サンブル法(REUS)と呼ばれる拡張アンサンブル法に基づく、薬剤候補分子の蛋白質へのドッキングシミュレーション法を2段階にわたり改良し、独自の結合自由エネルギー計算法の開発に成功した。また、REUSに基づく薬剤候補分子のドッキングシミュレーションにより、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤のアイソザイム選択性が実験結果と良く一致することを示すと共に、その選択性が、結合した薬剤候補分子の周りの疎水性アミノ酸の立体構造の安定性の違いに起因することを示した。

研究成果の概要(英文)：We have modified our own method for docking of a ligand to a protein based on one of the generalized-ensemble algorithms, i.e., replica-exchange umbrella sampling (REUS), in two steps, and succeeded in developing a new method for calculating the binding free energy of a ligand to a protein. By applying a docking simulation method based on rEUS, we succeeded in obtaining the isozyme selectivity of histon deacetylase inhibitor in agreement with experiments. We also showed that this selectivity comes from the difference in the three-dimensional structures of hydrophobic residues that surround the ligand.

研究分野：生物物理学、計算化学、計算物理学

キーワード：生体系 蛋白質 分子シミュレーション 拡張アンサンブル法 自由エネルギー計算 量子効果

1. 研究開始当初の背景

研究開始当初、申請者らは、レプリカ交換傘サンブル法 (REUS) と呼ばれる、独自に開発した拡張アンサンブル法を薬剤候補分子のターゲット蛋白質へのドッキングシミュレーションに適用し、薬剤候補分子の結合構造を予測する手法を提案したばかりであった。

2. 研究の目的

計算機シミュレーションによる創薬の基盤技術を確立することを目指す。特に、自前の計算機シミュレーション手法と新たに開発する手法 (拡張アンサンブル法と総称される) を駆使して、国産の新しい創薬手法の基礎技術の世界に向かって提案・発信することを目的とする。そのために、特に、以下の3つのことを目指す。

- (1) 蛋白質系のポテンシャルエネルギーの精度を上げる。
- (2) 蛋白質の立体構造予測法を開発する。
- (3) 蛋白質分子と薬剤候補分子のドッキングシミュレーション手法を開発して、薬剤候補分子の絞り込みを可能にする。

3. 研究の方法

生体系のような多自由度複雑系では、系にエネルギー極小状態が無数に存在し、それらが高いエネルギー障壁で隔てられているために、従来の分子シミュレーションでは、初期状態の近傍に留まってしまい、系の様々な熱力学量を精度良く求めるのは至難の業である。本課題の主手法である、拡張アンサンブル法 (generalized-ensemble algorithm) と総称されるシミュレーション法は、このような従来の方法の困難を克服するものであり、構造空間のランダムウォークを実現するシミュレーション手法である。よって、本手法を用いることにより、複雑な分子を対象に、幅広い温度領域において、精度の高い熱力学量の計算が可能である。

申請者らは、拡張アンサンブル法を生体系

の分子シミュレーションの分野に導入することを提唱した。申請者らは、30以上の拡張アンサンブル法を開発・提案してきたが、特に、1999年にレプリカ交換分子動力学法 (replica-exchange molecular dynamics method) という拡張アンサンブル法の開発に成功した。この手法は適用がとて簡便なために、発表とともに、国外で注目を集め、AMBERやCHARMMなどの生体系の分子シミュレーションで広く使われているプログラムパッケージに標準装備されている。

4. 研究成果

(1) 蛋白質系のポテンシャルエネルギーの制度を上げるために、量子化学シミュレーションに拡張アンサンブル法を導入することに成功した (雑誌論文)。

(2) レプリカ交換法に基づく、膜蛋白質の立体構造予測法の開発に成功した (雑誌論文)。我々が過去に独自に開発してきた膜蛋白質の立体構造予測法の一つの集大成と言えるものである。我々の手法は、大胆な近似に基づいている。これまでの手法では、膜貫通ヘリックスだけを考慮し、ループ領域は計算からは削除する。そして、膜貫通ヘリックスの主鎖を剛体として扱い、それらの平行移動と回転をモンテカルロ法の構造変換操作とする。更に、膜貫通ヘリックスの側鎖は自由に構造を変換できるようなモンテカルロ操作も取り入れる。更に、膜の効果は、膜貫通ヘリックスを膜領域に留まるように働く拘束力として導入する。本研究では、モンテカルロ操作の一つとして、新たに、膜貫通ヘリックスの歪みを引き起こす操作を導入した。そして、理想的なたわみのない7本のヘリックスを初期構造として、バクテリオロドプシンの立体構造予測に成功するとともに、7本の膜貫通ヘリックスの構造歪みも正確に予測することに成功した。本研究で完成した手法によって、いよいよ、立体構造未知の膜蛋白質の立体構造に挑戦することが可能

になった。

(3) 本研究を開始する前に開発した、レプリカ交換傘サンプル法 (REUS) に基づく、薬剤候補分子の結合構造を予測する手法をキナーゼ系に適用し、その有効性を示した (雑誌論文)。また、レプリカ交換傘サンプル法の反応座標は蛋白質のドッキングサイトと薬剤候補分子の間の距離で定義されるが、反応座標のランダムウォークによって、精度の高い計算が可能となる。しかし、薬剤候補分子が一度蛋白質に結合してしまうと、そこから出てこれなくなってしまうという困難があったが、それも、REUS とレプリカ交換溶質焼き戻し法 (REST) と呼ばれる拡張アンサンブル法を組み合わせた 2 次元レプリカ交換法によって、反応座標のランダムウォークが実現されるようになった (雑誌論文、

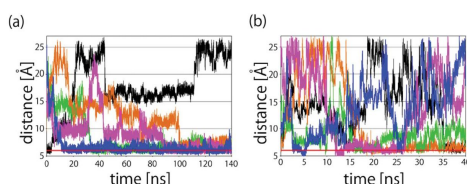


図 1. 以前に開発した REUS だけによるドッキングシミュレーションにおけるリガンドと蛋白質の結合サイト間の距離 (反応座標) の時間発展(a)、今回開発した 2 次元レプリカ交換法による同反応座標の時間発展(b)。

図 1 参照)。

更に、この 2 次元レプリカ交換法と double decoupling 法を組み合わせた、薬剤候補分子の蛋白質への結合自由エネルギーの計算法を新たに提案した (雑誌論文)。2 次元レプリカ交換法によって、薬剤候補分子が蛋白質とどの位置でどのような空間的配置を持っているかが精度良く予測できるようになっ

た。今回、計算例として用いた oncoprotein MDM2 とリガンドの結合状態の予測結果は実験結果との良い一致が見られた。次の段階では、得られた薬剤候補分子が蛋白質に結合した状態を初期構造 double decoupling 法を用いて、結合自由エネルギー計算を行う。この計算例の系では、結合自由エネルギーの計算結果が -11.39 kcal/mol であるのに対し、実験結果は -12.30 kcal/mol であるので、良い一致が得られた。今回提案した手法が創薬設計に大いに役立つものと期待される。

最後に、REUS に基づく薬剤候補分子結合シミュレーションによって、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤のアイソザイム選択性が実験結果と良く一致することを示した (雑誌論文)。得られた結果から自由エネルギー地形を描くことにより、阻害剤 T247 が HDAC3 を阻害する能力はあるが、HDAC2 の阻害能はほとんど無いという実験結果を再現することが出来た (図 2 参照)。すなわち、HDAC3-T247 の系の自由エネルギー最小状態は、反応座標が約 5 の、T247 が結合した状態であるのに対し、HDAC2-T247 の系の自由エネルギー最小状態は、反応座標が約 23 の、T247 が蛋白質から離れた状態であることを示し、実験結果と一致した。また、T247 との結合構造を比較することにより、活性部位近傍の疎水性構造が HDAC3 では閉じているのに対し、HDAC2 では開いていることが分かった。このことにより、HDAC2 では T247 との結合状態が不安定になってしまうことが明らかになった。本研究の結果は、特定の HDAC のみを阻害するような高い選択性を持つ阻害剤の開発に大きく資するものである。

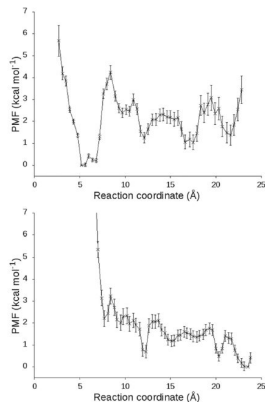


図 2. レプリカ交換傘サンプルシミュレーションによって得られた、薬剤候補の HDAC3(上)と HDAC2(下)への結合に関する自由エネルギー地形(平均力ポテンシャル)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Shuichiro Tsukamoto, Yoshitake Sakae, Yukihiro Itoh, Takayoshi Suzuki, and Yuko Okamoto, “Computational analysis for selectivity of histone deacetylase inhibitor by replica-exchange umbrella sampling molecular dynamics simulations”, *Journal of Chemical Physics* 148, 125102 (6 pages) (2018), 査読有, DOI: 10.1063/1.5019209

S. Ito, S. Irle, and Y. Okamoto, “Implementation of replica-exchange umbrella sampling in the DFTB+ semiempirical quantum chemistry package”, *Computer Physics Communications* 204, 1-10 (2016), 査読有, DOI: 10.1016/j.cpc.2016.02.010

Ryo Urano and Yuko Okamoto, “Observation of helix associations for insertion of a retinal molecule and distortions of helix structures in bacteriorhodopsin”, *Journal of Chemical*

Physics 143, 235101 (10 pages) (2015), 査読有, DOI: 10.1063/1.4935964

Y. Okamoto, H. Kokubo, and T. Tanaka, “Prediction of ligand binding affinity by the combination of replica-exchange method and double-decoupling method”, *Journal of Chemical Theory and Computation* 10, 3563-3569 (2014), 査読有, DOI: 10.1021/ct500539u

H. Kokubo, T. Tanaka, and Y. Okamoto, “Two-dimensional replica-exchange method for predicting protein-ligand binding structures”, *Journal of Computational Chemistry* 34, 2601-2614 (2013), 査読有, DOI:10.1002/jcc.23427

H. Kokubo, T. Tanaka, and Y. Okamoto, “Prediction of protein-ligand binding structures by replica-exchange umbrella sampling simulations: application to kinase systems”, *Journal of Chemical Theory and Computation* 9, 4660-4671 (2013), 査読有, DOI:10.1021/ct4004383

[学会発表](計21件)

Yuko Okamoto (invited talk)

Classical and quantum molecular simulations in generalized ensemble International Workshop on Molecular Simulations, Nanjing, China, November 17-20, 2017.

Yuko Okamoto (keynote talk)

Generalized-ensemble algorithms for materials and biomolecular simulations Molecular Simulation Studies in Material and Biological Sciences (MSSMBS2017) St. Petersburg, Russia, September 7-10, 2017.

Yuko Okamoto (invited talk)

Energy landscape of biomolecular systems studied by generalized-ensemble

simulations. Energy Landscapes 2017
Goa, India, August 13-17, 2017.

Yuko Okamoto (invited talk)

Efficient sampling methods for classical
and quantum simulations, TSRC Workshop on
the Chemistry and Dynamics in Complex
Environments (CHEM-DiCE), Telluride,
Colorado, U.S.A., June 26-30, 2017.

Yuko Okamoto (invited talk)

Biomolecular simulations in generalized
ensemble, Frontier Bioorganization Forum
2017: Dynamical Ordering and Integrated
Functions of Biomolecular Systems
Taipei, Taiwan, April 24 - 26, 2017.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble algorithms:
enhanced conformational sampling methods
The 16th KIAS Protein Folding Winter
School, High 1, Korea, January 16-20, 2017

Yuko Okamoto (invited talk)

Enhanced sampling methods for classical
and quantum molecular simulations

The 9th Korea-Japan Seminars on
Biomolecular Sciences: Experiments and
Simulations

Gyeongju, Korea, November 14-16, 2016

Yuko Okamoto (plenary talk)

Generalized-ensemble algorithms for
classical and quantum molecular
simulations

The 4th International Conference on
Molecular Simulation (ICMS2016)

Shanghai, China, October 23 - 26, 2016

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble algorithms and free
energy calculations

Symposium "Free Energy Landscape of
Protein Folding and Dynamics by

Simulations Based on Enhanced
Conformational Sampling Algorithms"

Nagoya, Japan, August 6, 2016

Yuko Okamoto (invited talk)

Energy landscape explored by
generalized-ensemble algorithms,
Energy Landscapes: Theory and
Applications (ELAND 2016), Porquerolles,
France, June 27 - July 3, 2016

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble simulations of
complex systems

2016 NCTS March Workshop on Critical
Phenomena and Complex Systems

Hsinchu, Taiwan, March 28 - 29, 2016.

Yuko Okamoto (invited talk)

Protein dynamics studied by
generalized-ensemble simulations

The 251st American Chemical Society
National Meeting, Symposium under the

Computers in Chemistry (COMP) Division
"30 Years of Protein Dynamics in Silico"

San Diego, California, U.S.A., March 13-17,
2016.

Yuko Okamoto (invited talk)

Enhanced sampling methods for exascale
computational chemistry, The 2015

International Chemical Congress of
Pacific Basin Societies (PACIFICHEM2015),

Honolulu, Hawaii, U.S.A., December 15 - 20,
2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble algorithms for
enhanced configurational sampling,

Algorithms in Structural Bioinformatics:
Sampling in Biomacromolecular Systems

(AlgoSB Winter School - 2015), Cargèse,
Corsica, France, November 29 - December 4,

2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble simulations of
classical and quantum molecular systems

The 6th Japan-Czech-Slovak International Symposium for Theoretical Chemistry Smolenice, Slovakia, October 11 - 15, 2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble simulations
Hands-on Workshop on Computational Biophysics at Okazaki
Okazaki, Japan, September 9-11, 2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble simulations of complex systems
2015 NCTS International Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems
Hsinchu, Taiwan, August 15 - 17, 2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble algorithms for calculations of ligand binding affinity
BIRS Workshop: Free-Energy Calculations. A Mathematical Perspective
Oaxaca, Mexico, July 19-24, 2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Generalized-ensemble algorithms for enhanced sampling and free energy calculations
Summer Snowmass Biophysics Workshop
Free Energy Calculations: Three Decades of Adventure in Chemistry and Biophysics
Snowmass, Colorado, U.S.A., July 5-9, 2015.

Yuko Okamoto (invited talk)

Efficient sampling methods for identifying transition states
TSRC Workshop on the Chemistry and Dynamics in Complex Environments (CHEM-DiCE), Telluride, Colorado, U.S.A., June 23-26, 2015.

② Yuko Okamoto (plenary talk)

Efficient sampling methods for complex systems, The 19th International Annual

Symposium on Computational Science and Engineering (ANSCSE19), Ubon Ratchathani, Thailand, June 17-19, 2015.

〔図書〕(計2件)

M. Terazima, M. Kataoka, R. Ueoka, and Y. Okamoto (編著), "Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions", Springer, Tokyo, 2016, 270 pages

Y. Okamoto, H. Kokubo, and T. Tanaka, "Ligand docking simulations by generalized-ensemble algorithms", in Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Vol. 92, T. Karabencheva-Christova (ed.), (Academic Press, Burlington, 2013) pp. 63-91.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

該当なし。

取得状況(計0件)

該当なし。

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tb.phys.nagoya-u.ac.jp/~okamoto/index.shtml>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 祐幸 (OKAMOTO, Yuko)

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 70185487

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者