

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12106

研究課題名(和文)液体の統計力学理論を応用したフラグメントベースドッキング法の開発

研究課題名(英文) Development of a fragment-based docking method based on statistical mechanics of molecular liquids

研究代表者

杉田 昌岳 (Sugita, Masatake)

東京工業大学・情報理工学院・研究員

研究者番号：30737523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は溶媒和の効果を3D-RISM理論に基づいて正確に取り入れた上でリガンド分子の結合部位や結合親和性を予測可能なドッキング法を開発する事を目的とした。そのために、蛋白質周囲におけるリガンド分子の複数のフラグメントの分布に基づく結合親和性の予測法を開発し、低分子リガンドの正確な結合ポーズを識別可能であることを確認した。また、蛋白質分子のゆらぎを考慮したアンサンブルドッキング法の開発も試み、リガンド分子との共結晶が存在しない場合でも、リガンドフラグメントの結合部位を予測可能であることを確認した。さらに、本手法が多原子イオンの透過経路の予測にも応用可能であることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した手法は溶質分子だけではなく溶媒分子も原子レベルの解像度で取り扱った上でドッキングを行う。それは、通常分子動力学シミュレーションを用いたハイコストな方法でしか計算することが出来なかった、溶質・溶媒間の水素結合の影響を加味した上で、リガンド分子の結合部位や結合親和性を予測することを可能とした。それはドッキング計算の予測精度を高めるためのこれまでに無いアプローチであった。溶媒分子を原子レベルの解像度で扱うことは通常のドッキングでは予測が不可能な“水やイオンを介したリガンドの結合”の予測も可能とする。この点も既存のドッキング手法では達成することが不可能な点であった。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop a docking method that can predict the binding pose and binding affinity of a ligand molecule with accurate incorporation of the solvation effect based on the 3D-RISM theory. In order to achieve the above objective, we developed a method to predict the binding affinity based on the distribution of multiple fragments of the ligand molecule around the protein, and confirmed that the exact binding poses of the small molecule ligand can be identified. We also attempted to develop an ensemble docking method that takes into account the fluctuations of the protein molecule, and confirmed that this method can predict the binding site of a ligand fragment even in the absence of a co-crystal structure with the ligand molecule. Furthermore, we confirmed that this method can be applied to the prediction of permeation pathways of polyatomic ions.

研究分野：生命分子計算

キーワード：インシリコ創薬 ドッキング 3D-RISM 溶媒和

1. 研究開始当初の背景

計算機を用いて薬剤候補分子を探索するためにはレセプター分子とリガンド分子との結合親和性を正確に予測する必要がある。主な創薬ターゲットである蛋白質は溶液中にてその機能を発揮するためリガンドとレセプター間の直接的な相互作用に加え、溶媒和の影響を正確に算出する必要がある。特に溶質分子と水分子との水素結合は溶質分子間の結合親和性に強い影響を与える。なぜなら水素結合 1 本分のエネルギーは分子間の結合定数を 2 桁変化させる程度の強さであり、レセプター分子とリガンド分子の親水基同士が相互作用する際にはそれぞれの分子と水分子との水素結合を切る必要があるからである。しかし、創薬の現場にて最もよく用いられる“ドッキング”と呼ばれる手法では溶媒和の効果は計算に含まれていないとしても連続誘電体モデルのような現象論的なモデルであり、溶質間の水素結合と溶質・溶媒間の水素結合の交換に伴うエネルギーの変化は正確に考慮することはできない。さらに、水分子やイオンによって橋渡しされるような溶質間の相互作用を考慮することも出来ない。ドッキングで用いられる評価関数が実験的に得られる結合定数との相関が低いという現実、溶媒和に伴う自由エネルギー変化を正確に予測することが出ていないためであると考えられた。

他方報告者は先行研究として分子液体の統計力学理論である 3D-RISM 理論に基づいてリガンド分子フラグメントの結合部位の予測を試みてきた。3D-RISM 理論は分子液体の統計力学理論であり、原子レベルの解像度で溶媒分子の分布および溶媒和に関する熱力学量を算出することのできる理論である。(A. Kovalenko and F. Hirata, J. Chem. Phys., 110, 10095, (1999)) 3D-RISM 理論は全原子分子動力学法(全原子 MD)と遜色のない計算精度で溶媒分子の分布や溶媒和に関する熱力学量を予測することができるが、その計算量は全原子 MD と比較すると圧倒的に低い。3D-RISM 理論は溶媒の分布を予測する理論であるが、リガンド分子を溶媒として扱うことでタンパク質周囲のリガンド分子の分布を解析的に予測することが可能である。応募者の先行研究では 3D-RISM 理論に基づいて予測したリガンド分子の分布のピークを解析することで、図 1 に示される分子の結合部位や結合様式を予測することが可能なことを示した。(M. Sugita et al., J. Chem. Theory Comput., 16, 2864 (2020))

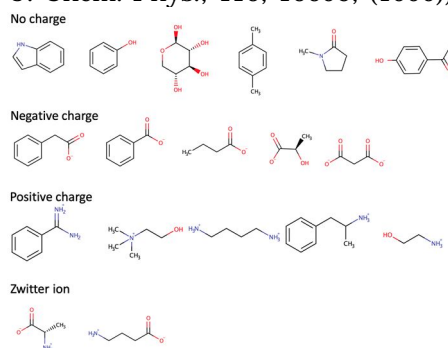


図 1：先行研究で取り扱ったリガンド分子

2. 研究の目的

そこで、本研究では分子液体の統計力学理論である 3D-RISM 理論に基づいた溶質・溶媒間の水素結合の影響を正確に取り扱うことが可能なドッキングプログラムの開発を目的に研究を行った。本研究では 3D-RISM 理論に基づいたドッキング法をより汎用的な手法として発展させ、創薬の現場で使用可能なドッキング法として完成させることを目指した。

3. 研究の方法

報告者は先行研究にて、図 1 に示されるような小さなリガンド分子の結合部位を正確に予測可能であることを示した。しかし、3D-RISM 理論の特性上、これ以上大きなリガンドの取り扱いには適していない。また、蛋白質のリガンド結合部位はリガンドが結合していない状態では開閉を繰り返すため、リガンド結合部位や結合ポーズが分からないようなより実践的な系で予測を行うためには蛋白質の揺らぎを考慮した上でリガンド分子の結合部位を探索する必要がある。そこで、1)蛋白質周囲におけるリガンド分子の複数のフラグメントの分布に基づく結合親和性の予測法および、2)蛋白質分子のゆらぎを考慮したアンサンブルドッキング法の開発を試みた。

1)蛋白質周囲におけるリガンド分子の複数のフラグメントの分布に基づく結合親和性の予測法に関しては、フラグメントベース・ドラッグデザインの考え方に基いて計算を行なった。すなわち、リガンド分子を複数のフラグメントに分け、フラグメントごとの結合部位及び結合親和性の予測を 3D-RISM 理論に基づいて行った。そしてそれらのフラグメントの親和性を合算することでリガンド分子全体の結合部位および結合親和性を予測した。ただし、リガンドフラグメントからリガンド分子を再構築するアルゴリズムの構築は非常に難易度が高いため、本研究ではリガンドの結合ポーズをドッキングソフトウェア AutoDock vina を用いて作成し、正しい結合ポーズを 3D-RISM 理論に基づいたフラグメントの分布から得られたスコアを用いて識別できるか否かを確認した。具体的な手順を以下の A)-C)に示す。A)ドッキングソフトウェア AutoDock vina を用いて結合部位周囲に複数の結合様式の候補を多数発生させた。B)リガンドをフラグメントに分割し、3D-RISM 理論に基づいて全てのフラグメントの分布を予測した。C)結晶構造および A)のプロセスで予測された結合ポーズにおける各リガンドフラグメントに対応する部位の

幾何学中心における B)のプロセスで予測された分布の値の積に基づいて各結合ポーズの結合親和性を予測し、結晶構造に対応するポーズが何位にランクするかを確認した。

2)蛋白質分子のゆらぎを考慮したアンサンブルドッキング法の開発に関しては、拡張アンサンブル法に基づいた MD シミュレーション等を用いて得たレセプター分子の 100 個程度のスナップショットへ 3D-RISM 理論に基づいたリガンドフラグメントの分布の予測を行い、その統計解析を行うアルゴリズムの開発を試みた。結合部位の予測に関しては、100 個のスナップショットにおける 3D-RISM 理論から得られた分布の平均値や最大値に加え、結合部位の溶媒への露出度や、結合ポケットの体積等を考慮した。T4 Lysozyme、L-2-haloacid dehalogenase、トリプシン、MDM2、アルブミン、多原子イオン排出チャネルを計算対象とした。分子シミュレーションや RISM 理論計算は TSUBAME3.0 を用いて行った。

4. 研究成果

1)蛋白質周囲におけるリガンド分子の複数のフラグメントの分布に基づく結合親和性の予測法に関しては MDM2 およびその阻害剤(PDBID, 4JV7)をターゲットとして計算を行なった。本計算は TSUBAME3.0 を用いて行った。その結果、結晶構造と同様の結合ポーズは AutoDock vina では 3 位と予測されたものの、3D-RISM 理論に基づいて予測されたスコアでは 1 位と予測された。さらに 3D-RISM 理論に基づいたスコアでは図 2 に示されるように一部のフラグメントが相互作用部位から離れ溶媒に露出したような非現実的な結合コンフォメーションは、非常に低いスコアを示すことが示された。通常のドッキングでは、一部のフラグメントが相互作用部位から離れている非現実的な結合コンフォメーションでも、他の部位のスコアが高ければ高い順位にランクされることもあるため、この違いは 3D-RISM 理論に基づいたスコアリングの利点である。今回の計算ではリガンド全体のコンフォメーションはドッキングプログラムを用いて得られたものを使用したが、より現実的なシミュレーションでは、リガンドフラグメントの分布からリガンドの結合ポーズを再構築するアルゴリズムの開発が求められる。この点は今後の課題として残された。

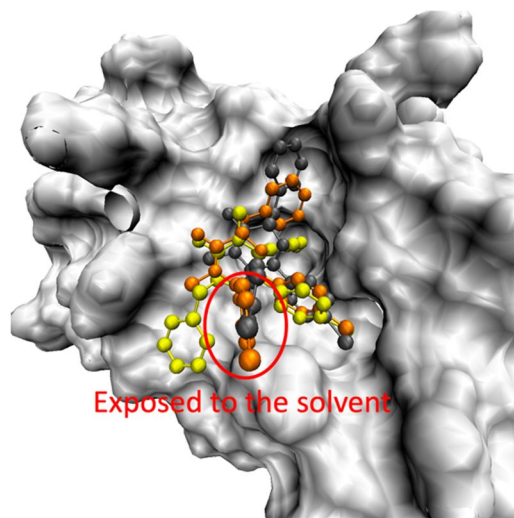


図 2 : リガンドの一部が溶媒に露出した非現実的な結合ポーズの例。黄色で示されたモデルは正しい結合ポーズ

2)蛋白質分子のゆらぎを考慮したアンサンブルドッキング法に関しては、どのターゲットにおいても結合部位に対するリガンド分子の高い分布が見られることが確認された。また、リガンド結合部位が結合に十分な空間を持っている時のみ高い分布が得られることが示された。そのため、揺らぎを考慮した予測では、多数のスナップショットの平均値ではなく最大値を用いた方が有効であることが示唆された。ただし、結合部位とは異なる領域でも高い分布の見られる箇所があったため、フィルターとなる条件の探索が必要とされた。結合部位の溶媒への露出度や、結合ポケットの体積などをフィルタリングの条件とし、実験的に判明している結合部位とそれ以外の擬似的な結合部位との比較を試みたが、それだけでは有意な違いは検出することは困難であった。正しい結合部位ではリガンド分子が長く留まることが想定されるため、リガンド分子が長く結合部位に留まることのできる条件をリガンド分子の分布から予測することが今後の課題として残された。また、本手法は多原子イオンチャネルの機能解析へも応用された。具体的には 1)分子シミュレーションから得られたチャネル蛋白質の多数のスナップショットに対して RISM 計算を実行し、2)得られた多数のスナップショットにおいて周囲の多原子イオンの分布を計算し、それぞれのスナップショット上でイオンが存在しやすい空間を探索した。さらに 3)複数スナップショットから得られた分布の濃度の高い領域を繋げ合わせることでイオンの通過する経路を予測した。4)それらを複数の変異体で実行することで、変異と機能との関係を予測した。その結果、変異によるイオン排出活性の低下と矛盾のない結果を得ることができた。この結果は、シミュレーションデータから得た複数のスナップショットを組み合わせることで、結晶構造のみからはわからない動的な挙動を解析することが可能であることを示した。現在本データの論文化を試みている。また、一部のデータは CBI 学会 2023 年大会にて報告された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Masatake Sugita
2. 発表標題 Evaluation of the ability of 3D-RISM theory to identify the correct binding mode of small molecule ligands
3. 学会等名 CBI学会2023年大会
4. 発表年 2023年～2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------