

課題名 (タイトル) :

## 高精度生体分子シミュレーションとインシリコスクリーニングへの応用

利用者氏名 : ○渡邊 千鶴, 仙石 徹\*, 高谷 大輔, 沖山 佳生, 幸 瞳, 佐藤 朋広, 永瀬 駿平, 神坂 紀久子, 津田 和実, 本間 光貴

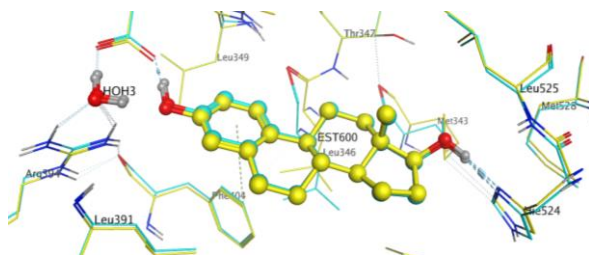
所属 : 横浜研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 構造・合成生物学部門 創薬分子設計基盤ユニット, \*横浜研究所 横山構造生物学研究室

<p>1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係</p> <p>本研究室では、疾患に関連したタンパク質に対して、ドッキングや MD シミュレーション等を用いて、それらの機能を制御する低分子化合物や、ペプチドや核酸などの高分子をデザインする研究を行う。本年度は、三つの研究テーマについて HOKUSAI のリソースを用いて MD シミュレーション、QM 計算による静電ポテンシャル解析、QM/MM 構造最適化等を実施した。</p> <p>2. EarP・EF-P・dTDP-beta-L-ラムノース三重複合体の MD シミュレーション</p> <p>髄膜炎菌由来 EarP タンパク質はラムノース転移酵素であり、dTDP-beta-L-ラムノースを供与体として翻訳伸長因子 EF-P の Arg32 にラムノースを付加する。EarP によるラムノース転移機構の詳細な解明のため、EarP・EF-P・dTDP-beta-L-ラムノース三重複合体のモデル構造を構築し、分子動力学シミュレーションによりラムノースのコンフォメーション変化を調べた。</p> <p>2.1. 具体的な利用内容、計算方法</p> <p>分子動力学シミュレーションに使用する dTDP-beta-L-ラムノースのパラメータファイルを、Gaussian と Amber を用いて作成した。得られたパラメータファイルを使い、EarP・EF-P・dTDP-beta-L-ラムノース三重複合体の分子動力学シミュレーション (10 ナノ秒) を、Amber を用いて行った。</p> <p>2.2. 結果</p> <p>ラムノースの安定なコンフォメーションを得ることができ、それを安定化する EarP 残基を同定することができた。</p> <p>3. 静電ポテンシャルを用いた水素結合受容能の予測</p> <p>ドラッグデザインにおいて阻害剤はそのターゲット</p>	<p>タンパク質と水素結合を形成することが多い。阻害剤設計において水素結合能をあらかじめ知ることができると、官能基の新規導入時や置換時の水素結合能の維持および修正について、生物学的等価性ととも検討が可能となり、創薬上有用な情報となる。水素結合能の予測法については Kenny ら [J. Med. Chem. 2016] が報告しており、本手法を参考にして水素結合能予測プロトコルを実装した。</p> <p>3.1. 具体的な利用内容、計算方法</p> <p>概要はローカル計算機でポテンシャル探索点を発生後、HOKUSAI 上で Gaussian を用いて静電ポテンシャルを計算 (HF/6-31G*レベルで EFG オプションを付した一点計算)、その後結果を回収し水素結合能を文献の式を参考にして算出するものである。</p> <p>3.2. 結果</p> <p>3.3. 本手法の構築と適用例については CBI 学会 2016 年會にてポスター発表を行った。(Hydrogen bond basicity prediction for common fragments in high-activity compounds; P2-13, Okiyama et al)</p> <p>4. エストロゲン受容体の QM/MM 構造最適化</p> <p>本研究室では、フラグメント (FMO) 分子軌道法に基づくタンパク質-リガンド間相互作用解析を簡便に実施するため、半自動で FMO 計算用構造のモデリング、FMO 計算の実施、相互作用解析を実施するためのプロトコルを開発している。高精度な相互作用解析を実施するため、QM/MM 構造最適化により、リガンド周辺構造の精密化を行った。</p> <p>4.1. 具体的な利用内容、計算方法</p> <p>エストロゲン受容体タンパク質とリガンド複合体構造 (PDB-ID:1ERE) について、モデリングソフト MOE を使用し、水素や欠損原子等を構造補完し、補完した原子のみ力場ベース (Amber10:EHT</p>
---	---

力場) の構造最適化を実施した。その MM 最適化構造を初期構造として、リガンドとリガンドポケットを QM 領域、それ以外のタンパク質構造を MM 領域として Gaussian を用いて QM/MM 構造最適化 (HF/6-31G\*:Amber) を実施した。

#### 4.2. 結果

タンパク質とリガンド複合体の QM/MM 構造最適化を行いリガンドの水素結合部位について精密な構造を得ることが出来た。



#### 5. まとめ

EarP によるラムノース転移反応について反応直前状態の構造について精密なモデルを構築することができた。EarP は抗菌剤の標的として有望であり、本研究はそのような低分子の開発に有用な情報を与えると期待される。

リガンドの水素結合受容能を予測することができた。今後は、これらの知見を新規化合物設計に適用していく予定である。

QM/MM 構造最適化により、リガンドポケット周辺構造をより精密にモデリングすることが可能となった。これにより、QM 計算に基づく構造を用いた精緻な相互作用解析による創薬支援が期待される。

#### 6. 今後の計画・展望

本年度は、主に QM/MM 構造最適化の半自動計算の実装を行った。次年度以降は様々なタンパク質について QM/MM 構造最適化を実施し、QM/MM 計算に基づく精密構造を基にしたタンパク質-リガンド相互作用解析を実施したい。また、MD シミュレーションによるタンパク質の構造サンプリングなども実施する予定である。