

プロジェクト名(タイトル):

## 分子動力学シミュレーション解析人工知能システムの応用研究

利用者氏名:

山根 努、藤原崇幸

理研における所属研究室名:

計算科学研究センター 分子デザイン計算知能ユニット

## 1. 本プロジェクトの研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

本研究では、近年創薬における新しいモダリティーとして注目されている中分子に分類される環状ペプチドについて、その膜透過過程の分子シミュレーションにより得られたトラジェクトリに基づき、その膜透過性を予測するモデルを構築することを目的としている。

環状ペプチドは、細胞膜を透過できるものが知られており、かつ蛋白質間相互作用の阻害に十分な分子サイズであることから、細胞内の蛋白質間相互作用というこれまで扱うことのできなかった創薬ターゲットを対象とした薬剤開発の可能性を秘めている。しかしながら、環状ペプチドは、その構造変化により周辺環境に対する分子の性質(疎水性、親水性)を変化させることが可能である。また、その構造変化のプロセスが複雑なことから膜透過性を付与するための分子デザインが困難である。また、環状ペプチドと周辺環境分子との間には様々な相互作用が数多く存在している。これらは単一での寄与は小さいが、多数存在することにより膜透過性への寄与が大きいと考えられる。これまで、我々のグループはこれらの相互作用を検出するプログラム(intDesc)を開発し、薬剤と蛋白質の間の結合親和性の評価などに非常に有用であることを示してきた。

そこで、本研究では二次元のレプリカ交換法 gREST/REUS 法により、より広い構造空間での構造サンプリングを担保しつつ、水中から膜中までの環状ペプチドの膜透過過程の構造サンプリングを、スーパーコンピュータ「富岳」により実施した。これにより得られたトラジェクトリから、HOKUSAI-BW により、intDesc による相互作用の検出を実施し、予測モデルを作成するための、特徴量として利用することを目的とする。ここでは、intDesc により得られた相互作用について、膜透過過程における相互作用の変化と分子の膜透過性への寄与を考察した。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

本研究の計算対象は、Nメチルアミノ酸の位置および数の

異なる 54 種類のサイクリックアラニンヘキサペプチド(CAHP)である。これらはCaco-2アッセイにより膜透過性が既知の分子である(1)。我々は、これらの環状ペプチドについて、膜透過過程の分子動力学シミュレーションをgREST/REUS 法(2)によりスーパーコンピュータ「富岳」にて実施した。

上述のシミュレーションにより得られた 54 種類の環状ペプチドのトラジェクトリについて、以下のような処理を行い、特徴的な水中から膜中までの位置の構造を抽出し、相互作用記述子による解析を、HOKUSAI-BW により実施した。

まず、すべての環状ペプチド 54 種類についてのgREST/REUS のシミュレーションにより得られたすべてのレプリカ(120 レプリカ)のトラジェクトリについて、脂質二重膜の lower leaflet の脂質分子 72 分子のリン原子の重心および環状ペプチドの重心のz座標の間の距離を求める。さらに、z 座標の値が  $20 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $25 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $30 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $35 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $40 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $45 \pm 0.5 \text{ \AA}$ ,  $50 \pm 0.5 \text{ \AA}$  の範囲にある構造を前トラジェクトリからピックアップし、それらの構造について intDesc による解析を行った。

## 3. 結果

54 種類の CAHP のトラジェクトリより intDesc を用いて求めた 1 フレーム当たりの環状ペプチド水、環状ペプチド脂質分子の相互作用の総数を示す(図1)。

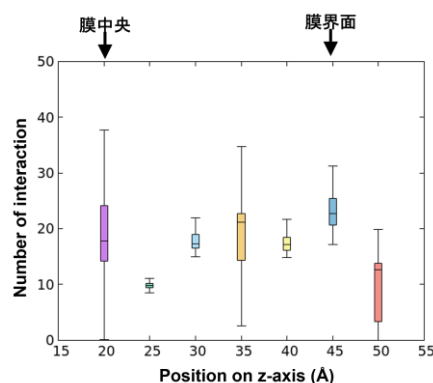


図 1: CAHP54 種類の z 軸上の各位置における相互作用の総数の分布。値はトラジェクトリ 1 フレーム当たりの平均の相互作用数を示している。

この図では、 $z = 20 \text{ \AA}$ が脂質二重膜の中央であり、upper leaflet と lower leaflet の境目である。また、 $z=45 \text{ \AA}$ 付近が、upper leaflet の膜-水界面に相当する。図よりいずれの位置においても、相互作用の総数の中央値はおおよそ 10~20 個付近に分布している。しかし、 $z=20, 35, 50 \text{ \AA}$ 付近では分布の幅が広い。この解析に用いた各 $z$ の位置のトラジェクトリは、gREST におけるすべての温度範囲が含まれており、環状ペプチドの構造が常温よりも多様であり、これらの領域の環境により対応した構造が存在すると考えられる。とくに、 $z=20 \text{ \AA}$ 、 $35 \text{ \AA}$ および  $50 \text{ \AA}$ 付近は、それぞれ脂質二重膜中央(疎水環境)、脂質分子のグリセリン骨格周辺の酸素原子が存在する領域(親水環境)、および水中に対応し、それぞれの環境に対応した安定な構造の取りやすさの違いが、これらの領域の相互作用の数の広い分布を与えていると考えられる。

$z=40 \text{ \AA}$ 以下の各  $z$  の位置での相互作用の総数の分布は、環状ペプチド脂質分子間の相互作用のみの分布と類似していることから、この領域の相互作用数の変化の挙動は脂質分子との相互作用が大きな寄与をしている(図2)。

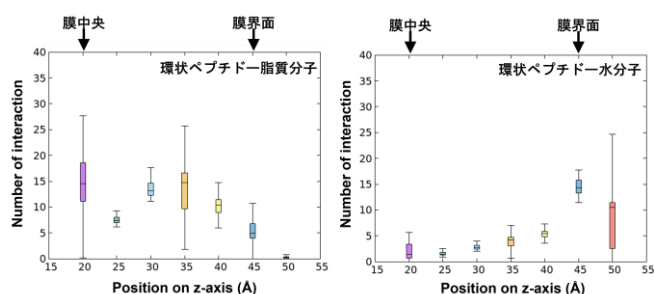


図 2: CAHP54 種類の  $z$  軸上の各位置における環状ペプチド-脂質分子 (左図)、環状ペプチド-水分子 (右図) の相互作用の総数の分布。値はトラジェクトリ 1 フレーム当たりの平均の相互作用数を示している。

一方、 $z=45 \text{ \AA}$ 以上の領域については、環状ペプチド水分子の相互作用の寄与が大きい。とくに膜界面である  $z=45 \text{ \AA}$ 付近では、水分子および脂質分子と環状ペプチドの相互作用の数の分布が逆転しており、水の影響が多くなっていることが示されている(図2)。また、環状ペプチドと水との相互作用は、膜界面周辺だけでなく、膜の中央付近に至るまで約 5 個以下の分布を示している。このことから、本シミュレーションにおける膜透過過程では、環状ペプチドは水和状態で膜中に侵入していると推察される。

また 54 種類の分子の各  $z$  の位置における1フレーム当たりの相互作用の総数の上位 10 種類の相互作用のタイプを分類すると、脂質分子との相互作用に寄与する主要な相互作用のうち、酸素原子との相互作用である CH-O 相互作用

および NH-O の水素結合に注目し、その相互作用の数の分布を観測した(図3)。

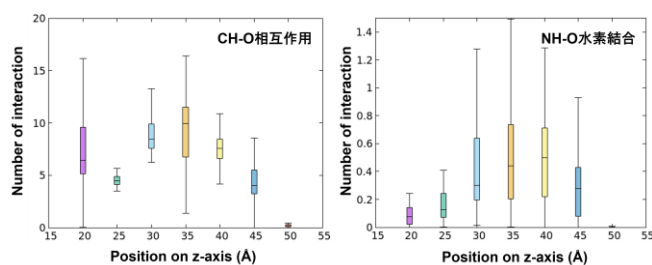


図 3: CAHP54 種類の  $z$  軸上の各位置における環状ペプチド-脂質分子の CH-O 相互作用 (左図)、NH-O 水素結合 (右図) の総数の分布。値はトラジェクトリ 1 フレーム当たりの平均の相互作用数を示している。

CH-O は相互作用数が多く各  $z$  の位置での相互作用の数の中央値は 5 個から 10 個と膜中での相互作用の総数の約半分を担っており、環状ペプチド脂質分子の相互作用の総数の分布の様子が類似している。NH-O の水素結合は、各  $z$  の位置での数はその中央値が 0.5 個であり CH-O に比べると約 4 分の 1 程度であるが、強い相互作用であり膜透過性に強い寄与があると考えられる。NH-O 水素結合は、膜界面および脂質分子のヘッドグループ周辺 ( $z = 30-45 \text{ \AA}$ ) において、幅広い分布を示している。これは本研究で用いている環状ペプチドは、N メチルの数や位置が異なる構造であり、NH-O 水素結合のドナーとなるアミド基のアミドプロトンの数およびアミドプロトンが分子表面に露出のしやすさなどが異なる。このことから、上述の領域での NH-O 水素結合の数が幅広い分布を示しており、膜透過性の違いに寄与していると考えられる。

#### 4. まとめ

環状ペプチドの膜透過予測モデルを構築するために、スーパーコンピュータ「富岳」により得られた gREST/REUS 法による膜透過性既知の 54 種類の CAHP のシミュレーションのトラジェクトリデータを用いて、intDesc から HOKUSAI-BW により相互作用を検出し、膜透過過程の相互作用の変化について解析を行った。その結果、膜中央( $z=20$ )および脂質分子のグリセリン骨格周辺( $z=30$ )、および膜界面( $z=45$ )において、顕著に分子による相互作用の分布の差が表れることがわかり、これらの領域での相互作用の違いが、膜透過性に影響を及ぼすことが示唆された。

#### 5. 今後の計画・展望

今後の計画として得られた相互作用についてのデータに

に基づき、これらを記述子とした、CAHP の膜透過予測モデルを構築する。また、intDesc により得られたデータを、より詳細に各モデル構造における得られた相互作用のタイプによる分布の違い及び膜透過性との相関などを解析し、これからの膜透過性予測の指針を得る。さらに、環状ペプチドを構成するアミノ酸の種類や数を変化させて、構造予測モデルの拡張を目指す。

#### 参考文献

- (1) O. Ovadia, S. Greenberg, J. Chatterjee, B. Laufer, F. Opperer, H. Kessler, C. Gilon, and A. Hoffman., *Mol. Pharmaceutics* 2011, 8, 479-487.
- (2) S. Re, H. Oshima, K. Kasahara, M. Kamiya, Y. Sugita, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2019, 116, 18404-18409.