

課題名(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

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. 本課題の研究の背景、目的、関係する課題との関係

本研究では、分子動力学シミュレーションの結果をより効率的に解析する方法である、分子動力学シミュレーション解析人工知能システム(Gini ツール)の開発を行っており、その利用応用の一つとして、anaplastic lymphoma kinase (ALK)と阻害薬である Crizotinib の複合体の分子動力学(MD)シミュレーションの解析を行った。

ALK は、がんの発生に関連のある蛋白質であり、これまでにいくつもの ALK 阻害薬が開発・上市されている。一方で、ALK にはいくつかの変異体が知られており、これらの変異体が ALK 阻害薬のひとつである Crizotinib の活性を減弱することが知られている。また ALK 変異体の Crizotinib に対する結合活性は、MD シミュレーションに基づく結合自由エネルギー計算により再現することができている(Okada et al.)。そこで、本研究では、複数の ALK 変異体-Crizotinib 複合体の分子動力学シミュレーションの結果から Gini ツールによりこれらのダイナミクスを比較し、ALK 変異体の Crizotinib の活性の減弱のメカニズムについて解析することを目的とする。

2. 具体的な利用内容、計算方法

Gini ツールでは、比較を行うトラジェクトリについて、指定した種々の特徴量を計算し、得られた複数の特徴量が、これらの比較対象のトラジェクトリの差異を表現することへの寄与を Gini importance として求め、それに基づきトラジェクトリの挙動の違いを考察する。

本研究では、ALK-Crizotinib 複合体 (wild type)および ALK 変異体(G1202R)-Crizotinib 複合体 (G1202R)についての、各 1 μ 秒のトラジェクトリについて、Gini ツールによる解析を実施し、Crizotinib-蛋白質間での相互作用の違いについてしらべた。MD シミュレーションは、京都大学荒木准教授のグループでの計算結果を利用した。

Gini ツールに用いる特徴量として、我々のグループで開発した相互作用記述子を算出し、それらに基づいて Gini ツールによる解析を実施した。

Gini ツールでは必要な計算を実施するプログラムを内部で呼び出して、1.各トラジェクトリに対する特徴量に基づいたクラスタリング、2. Decision Tree や Random Forest による機械学習を実施することにより、求めた特徴量の Gini importanceを算出する。本研究で Gini ツールによる解析に用いた、相互作用記述子の計算は、トラジェクトリ中の1フレームに対しての計算に時間がかかることから、トラジェクトリ中の大量の構造に対しての計算を実施するために、HOKUSAI-BW2での計算を必要であり、Giniツールの解析を HOKUSAI-BW2 で実施した。Gini ツールプログラムは Python で記述されており、特徴量の解析にいくつかの別のプログラムを内部で呼び出す必要があるため、それらを統合してインストールされている仮想環境を、Docker コンテナを用いて開発を行っている。HOKUSAI-BW2 での計算実行時には Docker コンテナを Singularity イメージ(SIF ファイル)に変換し、Singularity コンテナとして実行した。Gini ツール内部での機械学習については、Random Forest により実施し、ハイパーチューニングとして木の深さ(3, 5, 8, 10)および木の数(10, 20, 30)について、すべての組み合わせを各 5 回ずつ実施して、Gini importance の値の変動の少ない条件を用いた。

3. 結果

まず wild type, G1202 の MD シミュレーションの結果から、Crizotinib の相対位置の RMSD を比較した。その結果、G1202Rのほうが、RMSDの値がwild typeに比べて大きく、5 オングストロームを超える場所が散見される(Fig1)。このことから、G1202R では、Crizotinib の結合安定性が wild に比べて小さくなっていることが示唆される。

これら2つのMDトラジェクトリについて、Gini ツールによる解析を実施した結果、19 種類の相互作用について、Gini importance の値が示された(Table 1)

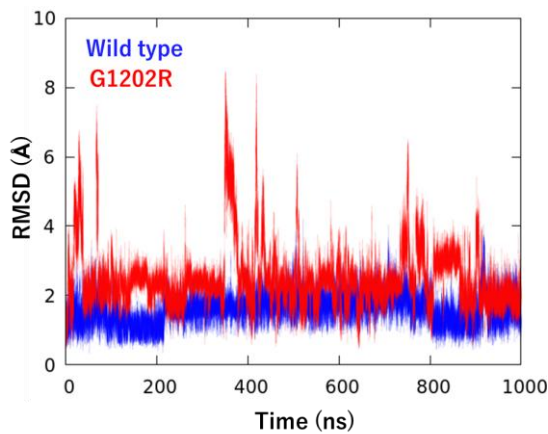


Fig. 1: ALK-Crizotinib 複合体における、Crizotinib の ALK に対する相対的な RMSD.

Table 1 各特徴量の Gini importance のランキング

Ranking	Features *	
1	L#PI_Pi#Pro	PI-PI 相互作用
2	L#CH_O#Pro	CH-O 相互作用
3	L#HB_NH_O#Pro	NH-O 水素結合
4	L#Elec_NH_O#Pro	NH-O 静電相互作用
5	L#CH_Pi#Pro	CH-PI 相互作用
6	L#CH_F#Pro	CH-F 水素結合
7	L#vdW#Pro	vdW 相互作用
8	L#CH_Hal_Cl#Pro	CH-Cl 相互作用
9	L#NH_F#Pro	NH_F 相互作用
10	L#CH_N#Pro	CH-N 相互作用
11	L#Elec_NH_N#Pro	NH-N 静電相互作用
12	L#HB_NH_N#Pro	NH-N 水素結合
13	L#Hal_Cl_O#Pro	Cl-O 相互作用
14	L#NH_Hal_Cl#Pro	NH-Cl 相互作用
15	L#NH_Pi#Pro	NH-PI 相互作用
16	L#Dipo#Pro	双極子相互作用
17	L#Hal_Cl_S#Pro	Cl-S相互作用
18	L#Hal_Pi_Cl#Pro	PI-Cl 相互作用
19	L#S_NH#Pro	S-NH 相互作用

*L: リガンド (Crizotinib), Pro: タンパク質 (ALK), # で囲まれた部分が相互作用を示す。ランキングの上位の相互作用ほど、トラジェクトリの違いを表現するのにより大きな寄与があることを示している。

上述の特徴量のうち、Gini importance 1 位であった、Crizotinib と蛋白質の間の PI-PI 相互作用は、Crizotinib の芳香環と、Phe1127 の間の相互作用であり、G1202R のみで観察された。この相互作用は、P ループと呼ばれるフレキシブルな領域に存在するフェニルアラニン残基 (Phe1127) が、シミュレーションの間に Crizotinib 近傍に接近し、相互作用をしたことが示唆される。(Fig 2)。

また、Crizotinib の構造中の芳香環のフリップが生じることが観測されており、このことにより、Phe1127 との PI-PI 相互作用が生じている。この原因を調査するために、フリップが

生じる時刻 (5ns) までのトラジェクトリを用いて、Gini ツールによる解析を実施した。その結果、G1202R と wild type の変位箇所 (残基番号 1202) における、CH-PI 相互作用の数に変化が生じており、これと連動してフリップを生じる芳香環と蛋白質の間の CH-Pi 相互作用の変化が観測された。このことから Crizotinib の芳香環のフリップは、ALK の残基番号 1202 の変異により、ALK-Crizotinib 間の相互作用のバランスが変化したことにより生じる現象であると考えられる。

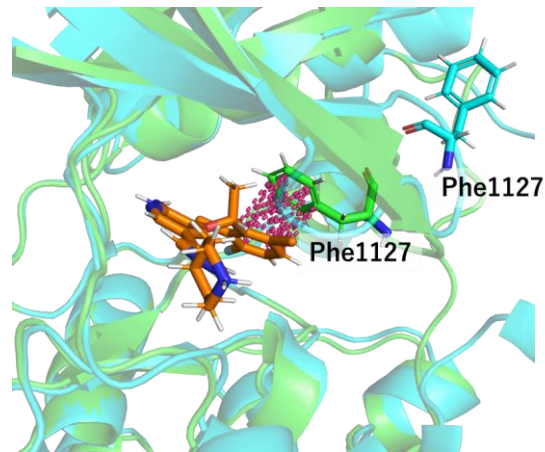


Fig. 2: Pi-Pi 相互作用を形成した、Phe1127 の位置の変化初期構造の Phe1127 (シアン) が、Crizotinib (オレンジ) の近傍に移動して (グリーン)、PI-PI 相互作用 (マゼンタの点線) を形成する。

4. まとめ

これまで開発してきた Gini ツールの解析応用例として、ALK 変異体の ALK 阻害剤 Crizotinib に対する結合性の減弱に関する解析に適用し、結合性の違いをトラジェクトリの特徴量の違いからとらえることに成功した。

また、今回の解析からトラジェクトリの中で生じるイベントの時間スケールを考量して、複数の時間領域での解析を複合的に合わせた解釈が必要であることが分かった。

5. 今後の計画・展望

今後、Crizotinib との結合活性の減弱が既知の他の ALK 変異体について Gini ツールでの解析を実施し、ALK-Crizotinib 間の相互作用変化のメカニズムを解明したい。

参考文献

Okada et al. BioMedicine 41 (2019), 105-119.