3C02

誘導適合分子ドッキング法による基質–タンパク質の結合構造予測

（金沢大学理工研究域）○齋藤大明，川口一朋，長尾秀実

Prediction of a ligand-receptor binding pose: an induced-fit molecular docking study

(Institute of Science and Engineering, Kanazawa University) ○Hiroaki Saito, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao

【序】新規薬剤の開発のためには、タンパク質の機能を阻害/活性化する基質（薬剤）分子や結合サイトの同定，複合体構造の詳細が必須であり，これらを高速・高精度に予測・解析するための理論的手法の開発が切望されている。

コンピュータを用いた薬剤スクリーニングや複合体構造の予測法にドッキングシミュレーションがある。ドッキングシミュレーションは，創薬開発コストを効率化・迅速化させるための基盤技術として用いられて久しいが、未だこれら技術による新規薬剤の開発・実用化には至っていない現状にある。これは, タンパク質–基質間の親和性評価のためのスコア関数が, 計算速度の制限から単純化されていることや，タンパク質の構造を剛体として取り扱っていることが原因の一つである[1]。タンパク質の結合サイトの動的構造は, 基質との形状補償(「鍵と鍵穴」）や分子親和性（分子間相互作用），誘導適合（induced fit）を決定する重要特性であることから，タンパク質の構造フレキシビリティを考慮した分子ドッキング法の開発は至要課題である．本研究では（１）分子動力学(MD)計算を用いて結合ポケットの形状変化を含めたレセプターのアンサンブル構造作成し，これら構造に対して（２）分子ドッキング計算を行い，（３）結合構造の最適化（induced fit）を行う．これら手法の開発・洗練により，より相互作用や構造補償が良い基質の結合構造を見いだす.

【方法・計算モデル】

本研究では基質–リガンドモデルとして Estrogen receptor (ER, PDB ID: 1WGR)を用いた（図１）[2]。ER は基質の結合構造が X 線構造解析によりすでに解かれているモデルである。この PDB ファイルからリガンド分子(Estrogen)を取り除き、レセプターの周りに水分子を配置させて初期構造を作成した。始めに定温・定圧 MD 計算(T = 300K, P = 1atm)を実行し、タンパク質の溶媒和された平衡構造を作成する。MD の力場は Amber03 を用い，水分子のモデルは TIP3P を用いた。MD 計算には Amber14 を用いた。

分子ドッキング計算は MD 計算によって生成されたレセプターのアンサンブル構造に対して行う。本研究ではレセプターの分子誘導適合をモデルするために、ドッキングにより示された結合ポーズの構造最適化を行う。その後、最適化された結合構造に対し MM-GBSA 法[3]を用いてリガンド–レセプターの結合自由エネルギー（スコア値）を評価する。最後に、作成したリガンド分子配座に対して、結晶の基質座標を reference にした根平均自乗変位(RMSD)計算を行い、結果の正当性を評価する。誘導適合分子ドッキング計算は系が平衡化した 50ns 以降のデータを用いて行いた。本研究では 1500 個のレセプター構造に対して誘導適合分子ドッキング計算を行い、それらの結合ポーズに対するスコア値と RMSD 計算を行った。ドッキ

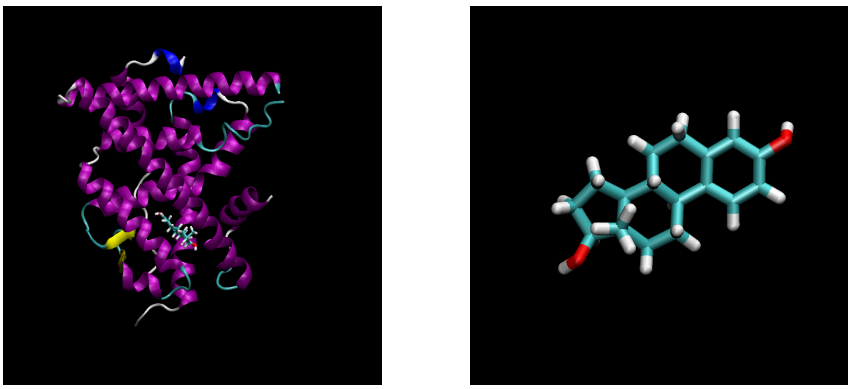

図 1. Structure of the Estrogen receptor (left) and estrogen (right).

ングに用いたプログラムは Dock6.6 を用い、リガンドの力場パラメータは Generalized Amber Force Field (GAFF) [4], 原子の部分電荷は AM1 法を用いて RESP 電荷を適用した。構造最適化と結合自由エネルギー計算には Amber14 を用いた。

【結果】ドッキングによって予測された全ての基質配座のスコア値（結合自由エネルギー）を RMSD 値に対してプロットした結果を図２に示す。図２に示される様に RMSD の値が小さくなるに従って結合エネルギーが低くなる結果が得られ、用いた手法の有効性が示された。図３に最も結合エネルギーが低かった時のリガンド分子の結合構造を示す。この時の RMSD 値は ～0.9 Å 程度であり、結晶で解かれた基質配座とほぼ一致する結果を示した。

【参考文献】

[1] Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J., & Corbeil, C. R. (2008), British journal of pharmacology, 153 Suppl 1, S7–26.

[2] Warnmark, A.,Treuter, E.,Gustafsson, J.-A.,Hubbard, R.E.,Brzozowski, A.M.,Pike, A.C.W. J.Biol.Chem., 277:21862-, 2002.

[3] Samuel Genheden & Ulf Ryde, Expert Opin. Drug Discov. (2015) 10(5):449-461.

[4] Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., & Case, D. A. (2004), *J. Comp. Chem.*, *25*(9), 1157–1174.

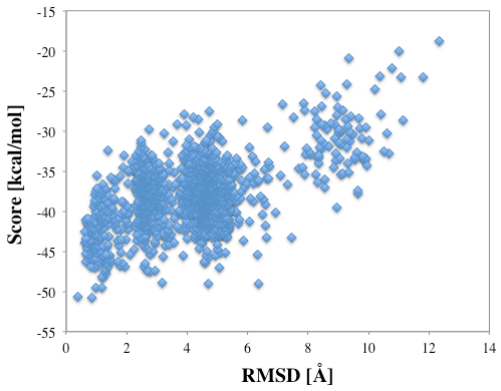

図２: RMSD 値に対する結合エネルギー

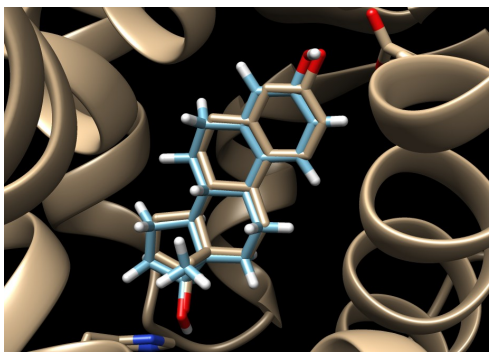

図３: ドッキング計算によるリガンド配座構造