

## タンパク質-フラグメント結合ポーズ探索における サンプリング空間の効率化

<sup>1</sup>富士通研

○佐藤博之<sup>1</sup>, 谷田義明<sup>1</sup>, 松浦東<sup>1</sup>

### Efficient approach to search fragment-binding poses in the restricted sampling space

○Hiroyuki Sato<sup>1</sup>, Yoshiaki Tanida<sup>1</sup>, Azuma Matsuura<sup>1</sup>

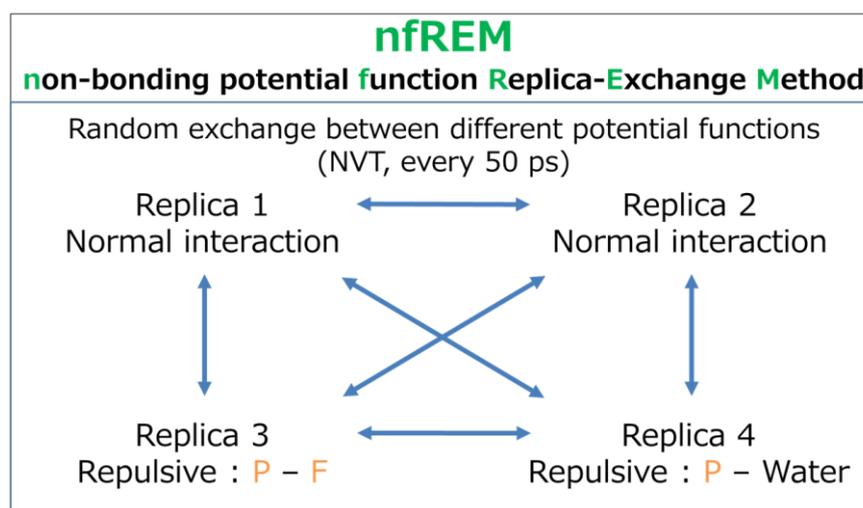
<sup>1</sup> *Fujitsu Laboratories Ltd., Japan*

**【Abstract】** We present an efficient method, non-bonding function replica-exchange method (nfREM), for searching various fragment-binding poses to a protein using MD simulation. In this method, protein replicas interact with fragments using different non-bonding potential function from each other, and the replicas are randomly exchanged in a short cycle time. nfREM make it possible to find over 50 times binding trials during a 10 ns simulation, whereas the conventional MD find only one binding trial in the same condition. This indicates that our method provides over ten times binding trials and various binding poses candidates through a short-time simulation compared with the conventional MD. Furthermore, the sampling space of MD is able to be restricted and rationalized using these candidates' information. Finally, metadynamics is executed to search stable binding poses in the restricted sampling space. We will discuss our approach in detail at the meeting.

**【序】** 近年、京などに代表される超並列計算機の普及に伴い、分子シミュレーションによる創薬の研究が盛んになってきた。タンパク質に強く結合する、薬の候補となる化合物（リガンド）を設計する際に、リガンドの構成要素となり得るフラグメントとタンパク質との結合情報をリガンド設計に活かすフラグメントベースの創薬（Fragment-Based Drug Discovery, FBDD）は、要な研究分野の一つである。FBDDへのコンピュータシミュレーションの適用についても、これまで種々の有用な手法が提案されている[1]。しかしフラグメントのサイズがタンパク質の結合ポケットのサイズに近い場合、これまで提案されてきた手法では、フラグメントが一度結合した後に他の結合ポーズに移行する可能性は低い。そのため結合ポーズにどのようなバリエーションがあるかを知るためには、長時間の分子動力学（MD）計算か、メタダイナミクスのようなバイアスポテンシャルをかけるMDが必要だった。しかし前者だけでなく後者でも通常マイクロ秒以上の多大な計算時間が必要になるため、計算の効率化に対する需要は大きい。今回我々は、結合ポーズのバリエーションを効率的に得るための手法として、レプリカ交換法を応用したMD計算でフラグメント結合ポーズ候補の取得を行う、non-bonding function Replica Exchange Method (nfREM)を提案する。nfREMは短時間のシミュレーションで多数の結合トライアルを実現するため、タンパク質とフラグメントからなる系について、異なる非共有結合的な相互作用関数を導入したレプリカを複数構成し、それらを短時間でランダムに交換させている。もし結合ポーズ候補を多数得られれば、その情報を用いてメタダイナミクスのポーズ探索空間を制限し、計算時間の短縮が可能になる。ここでは血液凝固因子 Xa (fXa) を解析対象とした本手法の適用事例を紹介する。

**【方法】** 今回解析対象とした fXa の構造データには、リガンド RDR との共結晶構造 (1NFX.pdb) を用いた[2]。フラグメントには、RDR の部分構造であるクロロベンゾチオフェンの水酸化物 (6-chloro-1-benzothiopen-2-ol) を用いた。またフラグメントの初期位置には RDR 中のフラグメントに相当する部分構造と同じ位置を用いた。nfREM のレプリカ数は 4 とし、レプリカ 1 と 2 には通常の相互作用を用い、レプリカ 3 ではタンパク質とフラグメントとの間のみを反発的な相互作用に変更、レプリカ 4 ではタンパク質と水との間のみ反発的な相互作用に変更した。各レプリカは NVT アンサンブルで 50 ps 毎にランダムに交換させ、10 ns まで計算を実施した (Fig. 1)。結合ポーズの候補構造はフラグメントの MD 結果のクラスタリングで求めた。最終的な安定結合ポーズ探索のためのメタダイナミクスは、結合ポーズ候補の中心の移動範囲に基づいて制限した探索空間で 1  $\mu$ s 実施した。ここでタンパク質の力場には Amber99SB-ILDN-PHI を、水の力場には TIP3P を用いた。リガンドは点電荷に RESP、力場に General amber force field (GAFF) を用いた。MD 計算のプログラムには Gromacs 2016.4 と Plumed v2.4.0 を用い、MD 計算の結果解析には VMD-1.9.3 を用いた。

**【結果・考察】** nfREM による fXa の結合ポーズ候補探索では、10 ns の短い MD 計算の間に、通常の相互作用を持つレプリカ 1 と 2 合わせて 50 以上の結合トライアルが実現された。比較として通常の MD 計算を 10 ns 実行した結果は、初期の結合ポーズを保ったままで結合トライアルは一度も起こらなかった。この結果は結合ポーズ候補の探索に関し、nfREM の探索効率が非常に高いことを示している。フラグメントをクラスタリングして得られた結合ポーズ候補から探索範囲を制限してメタダイナミクスを実施し、自由エネルギーを解析した結果、安定な自由エネルギーとなる複数の結合ポーズの中に、fXa のリガンド RDR のフラグメントに相当する部分構造と同様のポーズが存在した。これらの結果から、nfREM によりタンパク質結合サイトへのフラグメントの結合トライアルを、短時間の計算で効率的に実現でき、さらに nfREM で得られる結合ポーズ候補の情報で探索空間を制限したメタダイナミクスにより、適切な安定結合ポーズを、効率的に探索できることがわかった。詳細は当日発表する。



**Fig. 1.** Overview of non-bonding potential function Replica Exchange Method (nfREM). “P” and “F” stand for a protein and a fragment, respectively.

### 【参考文献】

- [1] E. P. Raman, *et al.*, *J. Chem. Inf. Model.*, **51**, 877 (2011). 他  
 [2] A. Maignan *et al.*, *J. Med. Chem.*, **46**, 685 (2003).