

複数結合ポーズ系の標準自由エネルギー計算

○谷田 義明、松浦 東

富士通研究所 (〒243-0197 厚木市森の里若宮 10-1)

【緒言】

計算機システムの高速度化、計算手法の進展によって Fragment Based Drug Design (FBDD: 計算機支援によるフラグメントベースの創薬) が現実のものになろうとしている。我々は、フラグメントライクな分子に対して、アルケミカル変換法による結合親和性 (結合自由エネルギー) 予測への影響について調べた。対象として、テオフィリン分子/RNA 複合体を用いた。その結果、リガンド分子と結合サイトの距離のみを拘束したシミュレーションでは、結合自由エネルギー推定値が結合サイトを参照するアンカー位置に大きく依存することが分かった。このことは、シミュレーション中にリガンド分子が他の準安定構造や微細なポテンシャルミニマムに長時間トラップされてしまうことを示唆している。

【方法】

結合親和性の定量予測するために、アルケミカル変換法による結合自由エネルギー計算を行った。熱力学的サイクル中で標準状態との関係を維持するために、距離拘束ポテンシャルを用いた (図 1)。また、標的分子側のアンカー原子群を三種類変化させて自由エネルギー計算を行った (表 1)。図 1 から、標準結合自由エネルギーは、

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{bind}}^{\circ} &= \Delta G(B \rightarrow B^*) \\ &- \{ \Delta G(AB \rightarrow AB^R) + \Delta G(AB^R \rightarrow AB^{R*}) \} \\ &+ \beta^{-1} \ln(V/V^{\circ}) \end{aligned}$$

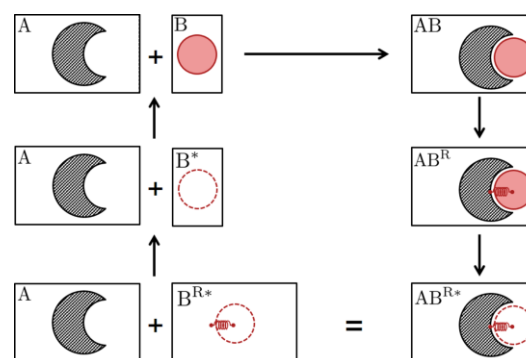


図 1. アルケミカル自由エネルギー計算に用いた熱力学的サイクル

で与えられる。右辺の第 1、2、3 項は Multistate Bennett Acceptance Ratio (MBAR) 法 [1] で評価し、第 4 項は解析的に評価した。

テオフィリン分子/RNA 複合体構造のモデル化には 1O15 (PDB) [2] を用いた。RNA の力場は ff14SB を使い、テオフィリン分子は点電荷に RESP、力場に GAFF を用いた。ユニットセル中に 3 個の Mg^{2+} イオンを Gouda

ら [3] のモデルに従って配置し、セルを中性化するように 26 個の Na^+ イオンを導入した。自由エネルギー評価のために構造サンプリングは、ストキャスティック動力学計算を用いて時間刻み 2 fs で 100 fs ごと構造をサンプリングした。なお、統計誤差を小さくするために、各原子の初期運動量を乱数で 5 種類発生させて解析に用いた。計算に用いたアルケミカル径路は、結合パラメータ λ ($\equiv (\lambda_R, \lambda_C, \lambda_L)$) で中間状態を記述し、 $(0, 0, 0) \rightarrow (1, 0, 0) \rightarrow (1, 1, 0) \rightarrow (1, 1, 1)$ の径路に沿って、それぞれ不等間隔に 11 点、6 点、15 点とった。また、バネ定数は分散が熱揺らぎ程度になるように選んだ。

【結果】

各アンカー原子群に対して、得られた結合自由エネルギーとその成分を表 2 に示す。#1 とそれ以外との自由エネルギー差が大きいことが分かる。一般に、フラグメント分子は低分子量なために、結合親和性が小さく、かつ結合サイトに複数の結合ポーズをもつことが多い。そこで、我々

表 1. 三種類のアンカー原子群

#	アンカー原子群	平均距離 (Å)	バネ定数 (kcal/mol Å ²)
1	C22(C4'), C22(C3'), C22(O3')	10.2	12.5
2	A7(C4'), A7(C5'), A7(O5')	8.9	3.3
3	U23(C4'), U23(C3'), U23(O3')	10.8	5.8

はメタダイナミクス法を用いて結合ポーズ探索を行ったところ、結合サイト内に複数の結合ポーズを持つこと

表 2. シミュレーションで得られた自由エネルギー成分 (単位は kcal/mo、括弧内は統計誤差).

#	$\Delta G(B \rightarrow B^*)$	$\Delta G(AB^R \rightarrow AB^{R*})$	$\Delta G(AB \rightarrow AB^R)$	$\Delta G(B^{R*} \rightarrow B^*)$	$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ}$
1	16.09(0.02)	29.24(0.05)	0.25(0.00)	-5.47	-7.68(0.05)
2	16.09(0.02)	27.06(0.05)	0.30(0.00)	-4.28	-6.69 (0.05)
3	16.09(0.02)	27.17(0.05)	0.25(0.00)	-4.78	-6.30(0.05)

-8.9 (実験値)

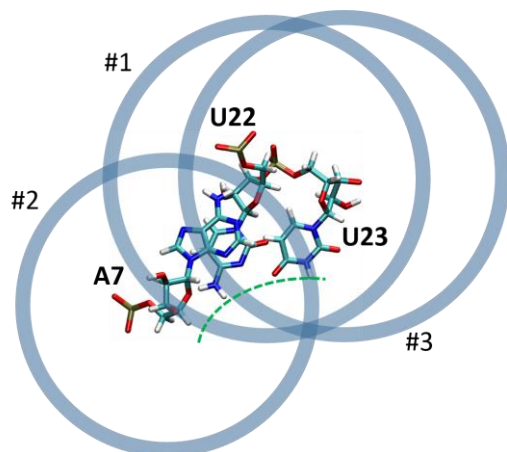


図 3. アンカー原子群によるサンプリング空間 (薄く塗った薄皮領域) の違い.

結果である (図 3、4 参照)。一方、#1 以外のアンカー原子群の場合は、 P_2 の谷が見えないため、他の微小な谷にトラップされてしまうことを反映している。この問題を克服するためには

- i. 結合サイトに対して、リガンド分子の相対的な"向き"を拘束して (P_1 近傍の位相空間) 計算を行うこと (位相空間分割法)、
- ii. 薄皮領域の全域を効率よく探索すること (拡張アンサンブル法)、

などが考えられる。

位相空間分割法によって、得られた自由エネルギー推定値は -8.81 (0.04) kcal/mol となった。この結果は、実験値を非常に良く再現しており、フラグメントベースのドラッグデザインがコンピュータシミュレーションで可能であることを期待させる。

が分かった。そこで、最も安定な自由エネルギーを与える結合ポーズ P_1 と二番目に安定な自由エネルギーを与える結合ポーズ P_2 について調べたところ、#1 のアンカー原子群からほぼ等距離に構造 P_1 、構造 P_2 が存在していることが分かった。また、メタダイナミクス法の結果は、両者の自由エネルギー差は約 2 kcal/mol であった。これらのことから、距離のみを拘束したサンプリングでは、#1 のアンカー原子群の場合、構造 P_2 のトラップの影響が大きく、他のアンカー原子群では構造 P_2 の存在を認識できないため、その他の微細な自由エネルギーミニマムのトラップの影響が大きいことが示唆される。すなわち、#1 の結合自由エネルギー推定値は、結合パラメーター λ の変化とともに P_1 から脱出したリガンド分子が準安定構造 P_2 に長時間トラップされた

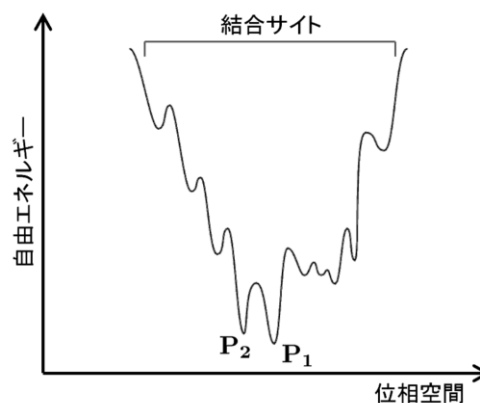


図 4. #1 の張るサンプリング空間の模式図.

参考文献

- [1] M. R. Shirts and J. Chodera, *J. Chem. Phys.*, 129, 124105 (2008).
- [2] G. M. Clore and J. Kuszewski, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 1518 (2003).
- [3] H. Gouda *et al.*, *Biopolymers*, 68, 16 (2003).