

論文の内容の要旨

論文題目 Theory and Applications of Computational Peptide Design (計算機支援によるペプチド設計の理論と応用)

氏名 山岸純也

ペプチドはタンパク質と相互作用することで数多くの生体内反応に関わる。人工的に設計したペプチドを用いてペプチド-タンパク質間相互作用を制御することができれば、広範な生体内反応の制御が可能となり、医薬品開発などへの様々な展開が期待できる。

計算化学的手法を用いた分子設計技術(Computer Aided Molecular Design: CAMD)は合理的な分子設計を可能にする。CAMD の代表的な技術のひとつに分子ドッキングが挙げられる。分子ドッキングは受容体タンパク質の 3次元構造を用いて、リガンド分子の結合様式・結合親和性を予測する技術である。しかし分子ドッキングは、CAMD と同様に低分子医薬品の設計を目的に発展を遂げてきた。そのため、低分子化合物と性質が異なるペプチドに従来の手法をそのまま適用することは難しい。本研究ではペプチドの特性に即すように、分子ドッキングを基礎とするスクリーニング手法の改良を図る。それによりペプチドを対象としたスクリーニング性能の向上を目指す。

方法

本研究では、分子ドッキングによる複合体の構造予測と MM-PBSA 法による親和性の再評価を基礎としたペプチドの親和性評価を行う。以下に我々が行った特徴的な改善点について 3 点述べる。

① GPU を用いるドッキング(配座探索)ソフトウェアの開発

ペプチドは低分子化合物と異なる特徴を有するため、従来の分子ドッキングソフトウェアによる複合体構造の予測の精度が低い。そのため、我々はペプチドの特徴に即したドッキングソフトウェアの開発を行い、精度の向上を図った

ペプチドの特徴は多くの極性官能基を有することと、内部自由度が高いことである。配座探索において、極性官能基の多さは標的タンパク質のみならず溶媒である水分子との相互作用をも記述できる詳細な評価関数を要求する。本研究では分子力場と一般化ボルン溶媒に基づくポテンシャルエネルギーを評価関数として組み込んだ。さらにペプチドの配座探索では、内部自由度の高さより、多くの配座の評価が必要となる。これらの特徴はいずれも計算コストの上昇をもたらす。そこで我々は、GPU (Graphics Processing Unit)を用いて計算処理の加速化を試みた。結果、CPU1 コアと比べて数百倍の高速化を達成することに成功した。また分子内自由度の高いペプチドの分子ドッキングにおいては、実験的に決定された複合体構造を参考にした人為的な拘束条件の付与が結果に多大な影響を及ぼすこともわかった。適当な拘束条件化の下において、我々のド

ドッキングソフトウェアは複合体構造の高い予測精度を有する。

② 結合に伴うリガンドの構造変化の考慮

リガンド分子はタンパク質に結合すると、水中に単独で存在する時とはいくらか異なる配座で構造が拘束される。この構造変化が親和性に与える負の影響は、従来の分子設計では考慮されていない。それは低分子化合物の内部自由度が比較的低いため、構造変化自体が小さいと考えられているからである。しかしペプチドは内部自由度が大きいため、結合に伴う構造変化も大きく、それが親和性に与える影響も大きいと考えられる。そこで我々は複合体構造の予測に加え、ペプチド単体の非結合状態での配座探索も上記ソフトウェアにより行った。ペプチドの結合状態・非結合状態という2つの構造を用いて親和性評価を行うことで、スクリーニング性能の向上を図った。

③ Poisson Boltzmann 溶媒の精度向上

本研究では、上述の予測構造(複合体・ペプチド単体)に MM-PBSA 法の一点計算を適用し、ペプチドの結合親和性の予測を行う。MM-PBSA 法で使用する Poisson Boltzmann(PB)法は、溶質の極性溶媒和と自由エネルギーを予測するが、タンパク質に適用した際の精度の低さが指摘されている。本研究では PB 法において重要なパラメーターである原子半径セットを新しく設計することで、PB 法の高精度化を図った。はじめに各アミノ酸からなるテンプレート構造に対して、TIP3P 溶媒を用いた自由エネルギー計算を行った。続いて、その計算結果に PB 法で計算した結果が合うように原子半径を設計した。図 1 より、我々が設計した半径を用いる手法は、従来の手法に比べて TIP3P 溶媒を用いたときの自由エネルギー計算結果を高精度に再現できることがわかる。

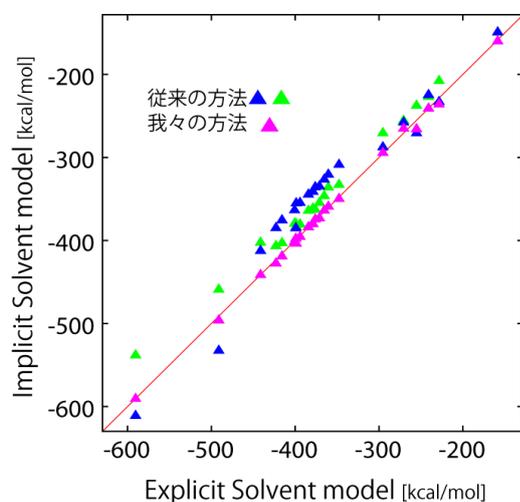


図 1) PB 法における手法の比較。

結果

我々が提案する手法のペプチドスクリーニングにおける性能評価を行った。比較には従来から用いられている手法を用いる。ここでは3種類のSH2ドメイン(Crk, Grb2, Src)に対する既知の結合ペプチドの検出率をROC曲線の曲線下面積として表し、各スクリーニング性能とした。ドッキングソフトウェアの選択(我々のソフト、GOLD[1])、PB法の選択(我々の手法、AMBERに組み込まれている手法[2]、Swansonらが開発した手法[3])において、6種類の組み合わせが考えられるが、どのタンパク質に対しても、我々が提案した手法を組み合わせた手法が最も高いスクリーニング性能を示した。ペプチド分子の結合に伴う構造変化の考慮はCrkとSrcに対しては

良い結果をもたらすが、Grb2 に対しては精度の低下を招いた。この原因として考えられるのは Grb2 結合ペプチドの結合状態における配座柔軟性の高さである。Grb2 結合ペプチドは Grb2 SH2 ドメインと結合状態にあっても、末端アミノ酸残基が溶媒に露出しており自由に構造を変えることができる。そのためリガンド分子の構造変化における状況が、他の 2 分子に比べて異なる。今後はペプチド分子の結合状態における配座柔軟性の高さを考慮にいれて方法論を精査する必要がある。

またペプチド分子の構造変化の考慮は、より物理現象に即した手法であるが、精度の低い PB 法と組み合わせるとスクリーニング性能が低下する。従来の複合体構造のみを用いる親和性予測においては、PB 法の精度の低さは結合エネルギー計算によってある程度打ち消しあっていた。しかしリガンド分子の結合変化を考慮すると、その打ち消しの度合いは半分になるため、PB 法の精度の悪さが露呈する。より物理現象に即したスクリーニング手法の実現において、我々の PB 法は非常に有用である。

まとめ

我々は分子ドッキングを基礎とした精度の高いペプチドスクリーニングの実現を目指し、ペプチドの特徴に合わせた手法の改良を試みた。分子力場と陰溶媒を基礎とした分子ドッキングは、適切な拘束条件下において高い複合体予測の性能を有する。PB 法の改善は、ペプチドの構造変化を考慮に入れたスクリーニング手法を可能にし、性能の向上をもたらした。これらの方法は、従来の手法から低分子化合物のみに適用可能であった近似を取り除き、より物理現象に根ざす形に改良することによってもたらされた。これらのスクリーニング手法は低分子化合物においても非常に有用であると期待される。

1. Kang, L., et al., *An improved adaptive genetic algorithm for protein-ligand docking*. Journal of computer-aided molecular design, 2009. **23**(1): p. 1-12.
2. Tan, C.H., L.J. Yang, and R. Luo, *How well does Poisson-Boltzmann implicit solvent agree with explicit solvent? A quantitative analysis*. Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(37): p. 18680-18687.
3. Swanson, J.M.J., et al., *Optimizing the Poisson dielectric boundary with explicit solvent forces and energies: Lessons learned with atom-centered dielectric functions*. Journal of chemical theory and computation, 2007. **3**(1): p. 170-183.