

奨励金No.1550

先端インシリコ創薬技術で実現する化合物のフレキシブルドッキングと結合ポケットのテーラーメイドデザイン

原田 隆平

筑波大学 計算科学研究センター 准教授

Development of a New Flexible Docking Method and its Extension to Drug Discovery

Ryuhei Harada,

Center for Computational Sciences, University of Tsukuba, Associate Professor



独自開発の先端シミュレーション手法である Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD) を拡張することで、標的分子と化合物が示す揺らぎを考慮し、複合体構造を予測するフレキシブルドッキングを開発した。さらに、本手法から予測される結合ポーズから分子動力学計算をスタートさせ、結合ポケット周りで化合物が示す構造揺らぎを調べることで可動できる有効体積を数値化し、結合ポケットのテーラーメイドデザインに有益な設計情報を提供できる計算手法へ深化させた。

A new flexible docking method has been developed based on an extension of a rare-event sampling method called parallel cascade selection molecular dynamics (PaCS-MD). As demonstrations, the present method has been applied to Covid-19 main protease and acetylcholinesterase with their ligands. The flexible docking based on PaCS-MD explicitly consider the fluctuation of both compounds and target proteins, leading to the rational drug design instead of the conventional rigid docking method. By explicitly considering the ligand-binding process, the present flexible docking allows for the tailor made design of binding pockets for any compounds, cutting edge of the next *in-silico* drug discovery.

1. 研究内容

1.1 研究背景

標的分子の活性を阻害する薬剤（化合物）の結合ポーズを予測することは、合理的な薬剤設計において重要である。ドッキングシミュレーションをはじめとするインシリコ創薬の発展により、合成実験をすることなく標的分子と化合物が結合した複合体を予測できるようになってきた。しかしながら、従来のドッキングシミュレーションは、計算コストを抑える理由から、標的分子と化合物のダイナミクス（構造揺らぎ）を考慮しない「リジッドドッキング」であることが多い。リジッドドッキングはこれまで一定の成功を収め、化合物

の結合ポーズを低い計算コストで予測することに成功してきた。しかし、名前の通り標的分子と化合物の構造揺らぎを固定した（考慮しない）ドッキングであり、「鍵と鍵穴モデル」に基づく計算技術である。このため、化合物が標的分子に結合するプロセスで構造揺らぎが重要な役割を果たす場合、リジッドドッキングにより生成した結合ポーズには一定の割合で合理的でない予測結果も含まれる。事実、リジッドドッキングの予測結果を調べてみると、結合ポケットが歪んでおり、結合能が弱い結合ポーズを提供する場合も多く、最終評価が難しい。また、標的分子と化合物は生体内で絶えず揺らいでいる事実から考察しても、双方の

構造揺らぎを考慮することは合理的である。以上により、複合体構造を予測する新しい計算技術として「フレキシブルドッキング」の開発が必要である。そこで本研究では、独自に開発した先端分子シミュレーション（PaCS-MD: Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics）[*J. Chem. Phys.*, **139**, 035103 (2013)] を拡張することで、構造揺らぎをあらわに考慮したフレキシブルドッキングを実現する。さらに、フレキシブルドッキングから予測される複合体から分子動力学計算（MD）をスタートさせ、標的分子の結合ポケット周りで化合物がどのような構造揺らぎを示すのかを調べ、化合物が可動できる有効体積（結合ポケット）を数値化する。解釈として、結合ポケットが小さければ強い結合能を示す結合ポーズと考えられ、逆に大きければ結合能が弱い結合ポーズと考えられる。また、結合ポーズの結合能を構造揺らぎに基づき評価することで、結合ポケットもテーラードデザインできる。結合ポケットを定量的に評価できれば、結合能の強さに関する新しい測定量を提案でき、化合物の結合能を特徴付ける評価軸を増やせるため、従来法と比較して合理的な結合ポーズ予測が実現する。以上により、独自に開発した先端分子シミュレーション（PaCS-MD）を拡張することでフレキシブルドッキングと結合ポケットのテーラードデザインを実現する新しい計算手法を提供する。

1.2 研究方法

標的分子と化合物の結合プロセスは原理的には双方の揺らぎをあらわに考慮できる分子動力学計算（MD）で抽出できる。しかしながら、現状におけるMDの到達時間よりも長時間スケールにおいて誘起されるダイナミクスであるため、抽出が難しい。そこで、効率的に結合プロセスを抽出するため、先端分子シミュレーションとして独自に開発した長時間ダイナミクス抽出法（PaCS-MD）を拡張する。PaCS-MDは長時間MDに代え、条

件の良い（遷移確率の高い）初期構造を選択し、短時間MDをリスタートするサイクルを繰り返すことで、長時間スケールで誘起される生体分子のレアイベント（機能発現に関係する重要な構造変化）を抽出する。本研究ではPaCS-MDを拡張し、化合物が標的分子の結合ポケットに結合する長時間ダイナミクスを抽出する。具体的には、図1に示すように化合物と結合ポケットの重心間距離（ d_{COM} ）が小さい構造を選択し、それらから短時間MDをリスタートするサイクルを繰り返すことで化合物の結合プロセスを抽出する。各サイクルにおいて d_{COM} が小さい構造からリスタートすることで、標的分子と化合物の結合確率を高めることができ、効率的に結合プロセスを抽出できる。十分なサイクルを繰り返して d_{COM} が収束したら、複合体を形成したと判定して結合ポーズを得る。以上より、PaCS-MDを拡張することで標的分子と化合物の双方の構造揺らぎを考慮したフレキシブルドッキングを実現し、従来法では予測できない合理的な結合ポーズを提供する。

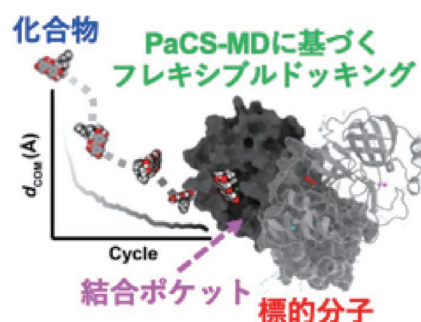


図1：フレキシブルドッキングの概念図

1.3 研究成果

1.3.1 PaCS-MDに基づく結合ポケットのテーラードデザイン

PaCS-MDに基づくフレキシブルドッキングから予測された結合ポーズからMDをスタートさせ、結合ポケット周りで化合物がどのような構造揺らぎを示すのかを調べた。ターゲットとして図2に示すように新型コロナウイルス Covid-19 SARS-

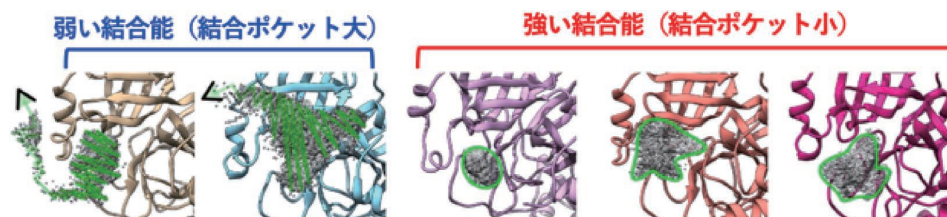


図2：有効体積（緑点）の測定による結合ポケットのテーラーメイドデザイン

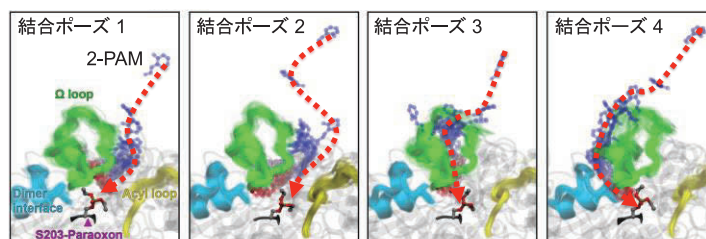


図3：アセチルコリン分解酵素活性化プロセスの抽出
(PaCS-MDにより活性化剤の結合ポーズを抽出)

CoV-2 メインプロテアーゼを選択し、結合ポケット周りの有効体積を測定した。具体的には、本手法により予測された複合体からMDをスタートさせ、化合物の重心座標（図2の緑点）を追跡することで、結合ポケット周りの有効体積を測定した。軌跡から示唆されるように、結合ポーズごとに有効体積にバリエーションが現れた。このように、PaCS-MDに基づくフレキシブルドッキングにより結合ポーズを予測し、MDを実行して化合物の構造揺らぎを有効体積として測定することにより、結合ポーズの結合能を定量的に評価できる。これらの有効体積は、結合能の強い結合ポケットをテーラーメイドデザインするために有用な情報となりえる。

1.3.2 PaCS-MDの適用によるアセチルコリン分解酵素の再活性化剤メカニズムの解明

PaCS-MDを拡張したフレキシブルドッキングの適用研究として、阻害されたアセチルコリン分解酵素の活性部位と特異的に結合する活性化剤のデザインに挑戦した。図3は、アセチルコリン分解酵素の活性部位（S203）と共有結合している阻害剤（Paraoxon）を切断するため、PaCS-MDに基

づくフレキシブルドッキングにより活性化剤（2-PAM）の結合パスウェイを探索した計算結果である。図3に示すように、PaCS-MDにより結合パスウェイが自動探索され、活性部位における様々な結合ポーズが予測された。実験的な構造解析からアセチルコリン分解酵素は結合サイトに至る3つのドア（Omega Loop, Acyl Door, Back Door）の存在が指摘されており、どのドアを通過すれば阻害部位に効率的に到達して結合確率を高められるのかが合理的な活性化剤を設計するための鍵となる。これに対して、PaCS-MDに基づくフレキシブルドッキングを適用することで全てのドアを通過する活性化剤の結合プロセスが得られ、Acyl Doorを通過する割合が高いことがわかった。次に、活性化剤の結合の前後で活性サイトと基質の分子間相互作用がどのように変化しているか調べてみると、結合前後で活性サイトの近傍のみならず、遠隔の残基も動的に相互作用を組み替えながら段階的に結合していく様子が観察された。解析結果から明らかのように、PaCS-MDを適用して基質結合プロセスを抽出することにより、揺らぎを考慮しないリジッドドッキングでは抽出が難しいダイナミックな相互作用変化を抽出できることが示唆された。

本計算結果は、標的分子と特異性の高い基質デザインに有益な情報として活用が期待される。

4. 原田 隆平、“中分子創薬を革新する分子シミュレーション手法の開発”、第453回CBI学会講演会（2024年2月26日）

2. 発表（研究成果の発表）

[論文]

1. Nitchakan Darai, Kowit Hengphasatporn, Peter Wolschann, Michael T. Wolfinger, Yasuteru Shigeta, Thanyada Rungrotmongkol, Ryuhei Harada, “A Structural Refinement Technique for Protein-RNA Complexes Using Combination of AI-based Modeling and Flexible Docking: A Study of Musashi-1 Protein”, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **96**, 677–685 (2023).
2. Rikuri Morita, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada, “Latrunculin Resistance Mechanism of Non-Conventional Actin NAP1 Uncovered by Molecular Dynamics Simulations”, *Cytoskeleton*, **81**, 143–150 (2023).
3. Rikuri Morita, Yasuteru Shigeta, Ryuhei Harada, “Efficient Screening of Protein-Ligand Complexes in Lipid Bilayers Using LoCoMock Score”, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **37**, 217–225 (2023).

[発表]

1. 原田 隆平、“次世代インシリコ創薬を開拓する新しい分子シミュレーション手法の開発”、CBI研究機構量子構造生命科学研究所シンポジウム（2023年9月11日）
2. 原田 隆平、森田 陸離、Kowit Hengphasatporn、重田 育照、“化合物の結合と膜透過プロセスを紐解くレアイベントサンプリング手法の開発”、日本コンピュータ化学会秋季年会（2023年11月25日）
3. 原田 隆平、“生体機能を紐解く分子シミュレーション手法の開発と応用”、自然科学研究機構計算科学研究センター スーパーコンピュータワークショップ 2023（2024年1月15日）