

# 分子動力学計算を活用したインシリコ創薬

産業技術総合研究所  
創薬分子プロファイリング研究センター  
分子シミュレーションチーム  
広川貴次

2015年12月2日

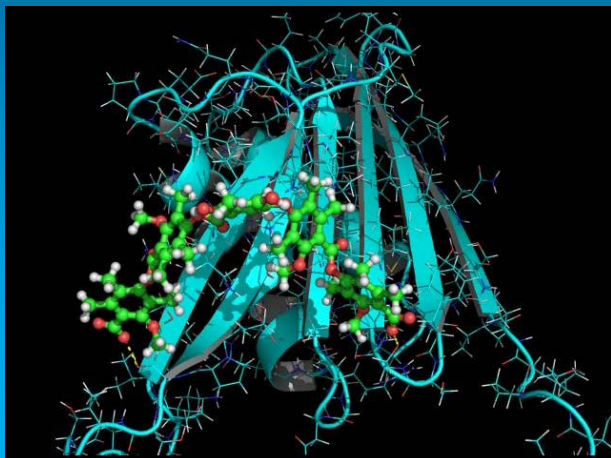
© 2015 Takatsugu Hirokawa

1

神戸大学 計算生命科学の基礎Ⅱ  
生命科学と理工学の融合による生命理解と健康・医療への応用

分子動力学計算を活用した  
インシリコ創薬

本日の講義メニュー



分子動力学計算(MD)とは？

分子モデリングで、他の計算技術と合わせてMDを活用する！

MDを利用して結合エネルギーを高精度に算出したい！

作用機序を調べる：長時間MD？それとも短時間MD？

MDトラジェクトリ-を利用した化合物スクリーニング

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

2

# インシリコ創薬の利点と課題、MDへの期待

**薬物受容体**  
X線、NMR、理論モデル

**候補化合物**  
~700万

Dock

数千~億万円のコスト削減!  
&  
結合メカニズムの根本的な理解!

Test predictions

結合効果が見込まれる  
数百~千に絞って実際に実験を実施

Protein ligand binding mechanisms

(a) Lock and key model

(b) Induced-fit model (KNF model)  
Myosin-Actin, Ge subunit-RGS14, Flis-FIC

(c) Pre-existing equilibrium model (MWC model)  
Antibody Spz7-TnsShear3, GpIb-IX-V-Thrombin, NtrC-P  
C.-S. Goh et al., Curr. Opin. Struct. Biol. 14, 2004.

Protein-protein interaction ligand/drug

現在でもR&Dに多額の研究費が投資されているにもかかわらず、新薬が創出されにくい状況が続いている。

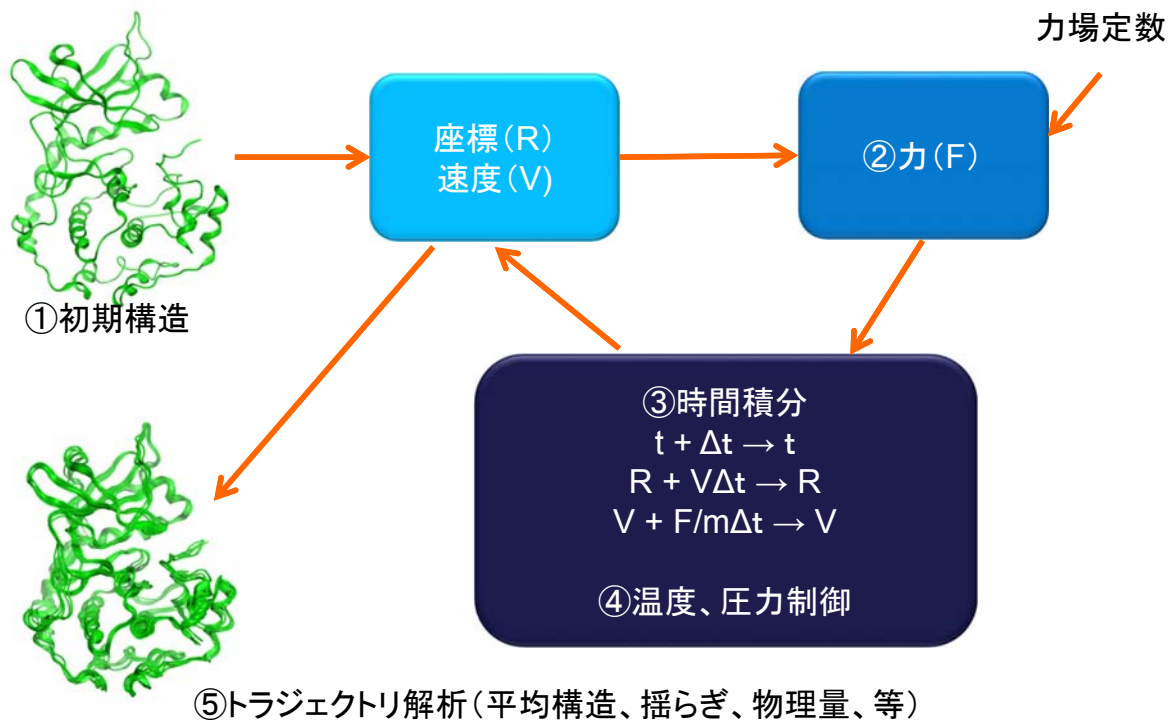
手の届く実(創薬標的ターゲット)は採り尽くされ、現在は、難易度の高い創薬標的ターゲットが残っている。

既存のツールを単一に利用するだけでは解決できない問題が多い  
タンパク質の動的性質を考慮した新しいインシリコ創薬が課題となっている

## 分子動力学(MD)計算の基本的な利用目的

- 動的性質をみる
  - タンパク質構造の揺らぎ、構造変化(初期構造からのずれ、慣性半径、二次構造、水素結合数)
  - タンパク質-化合物相互作用解析、Induced Fit
  - エネルギー、圧力、密度、拡散定数、自己相関関数
- サンプリングを行う
  - 焼き鈍し法(シミュレーテッドアニーリング)
  - レプリカ交換法
  - 化合物、ペプチドの配座探索、タンパク質の折りたたみ(or 変性)シミュレーション

# 分子動力学計算の流れ



2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

5

# 分子力学計算(基本形)

$$E_{total} = \underbrace{\sum_{bonds} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{angles} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{dihedrals} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)]}_{\text{Bonded}} + \underbrace{\sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]}_{\text{Non-bonded}}$$

- 原子から構成される分子を、調和力によって相互に作用しあう質量の集合体として捕らえる計算方法
  - ポテンシャルエネルギーを定義
  - 小分子から巨大分子まで適応
  - 相互作用項(ポテンシャル関数)や力場パラメータに違いによって様々な理論モデルが存在

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

6

# いくつかの代表的な力場

## Mainly Small Molecule

### MM2/MM3/MM4

最も有名な低分子に特化した力場

### Tinker

Polarizable atomic multipole electrostatics

### UFF

全原子対応の力場

### Momec

歪エネルギー極小化計算

### Cosmos

Bond polarization theoryに基づいた半経験的電荷計算

## Biological Molecule

### AMBER

タンパク質、核酸に向けた最も有名な力場

### CHARMM

AMBERと同じく有名な力場の一つ  
Microscopicとmacroscopicのバランスを考慮したパラメータ作成が特徴

### Gromos

タンパク質、核酸、糖に向けた力場

### OPLS

All-atomモデルのほかに、部分的にunited-atomを用いたOPLS-UAなど

### ECEPP

最初の経験的パラメータ力場

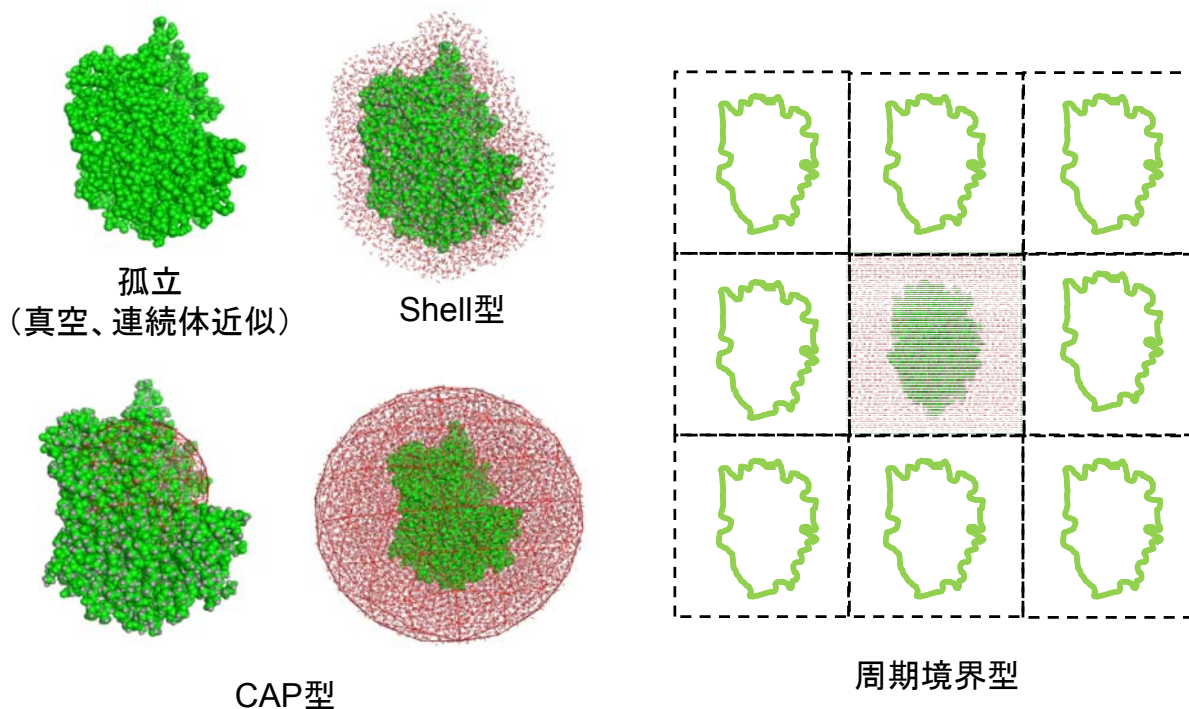
### CVFF/CFE

量子化学計算パラメータを取り入れた力場

### MMFF

Merck社の開発した薬物系化合物にも適した力場

# 生体分子のMDにおける水分子の取り扱い

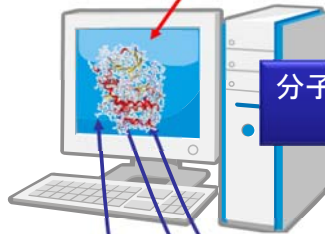




# 動的性質をみる:シミュレーションの取り扱い・再現性

## 選択肢その①:

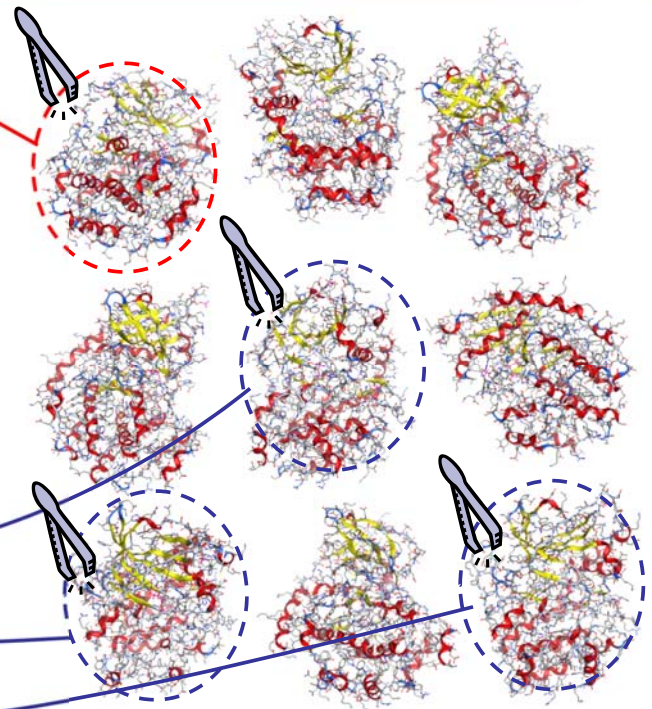
一つの固体を取り出して、きわめて長い時間のシミュレーションを観察することで均一な動的性質を調べる。今度、「京」計算機環境などで実用的になると予想



分子動力学計算の  
実行

## 選択肢その②:

短期間のシミュレーションであるが、複数の固体について観察することで均一な動的性質を調べる。実際には、様々な初速度をふったMDを実施する。現在の計算機環境であれば、この方法が実用的



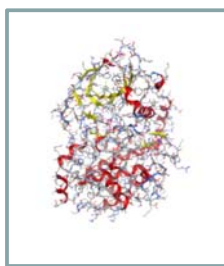
In vitroにおける実際の集合状態

2015年12月2日

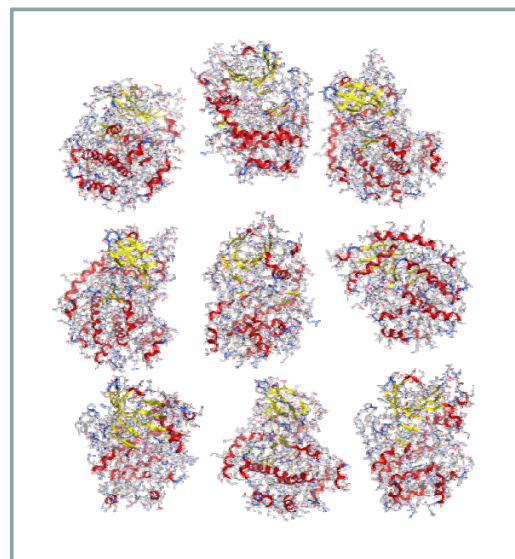
© 2015 Takatsugu Hirokawa

9

# シミュレーションの系、アンサンブル



NVE:ミクロカノニカルアンサンブル  
粒子数・体積・エネルギー一定  
タンパク質1分子を含む孤立系



NTV:カノニカルアンサンブル 粒子数・温度・体積一定  
NTP:圧力アンサンブル 粒子数・温度・圧力一定  
タンパク質を $10^{23}$ 個程度含む温度・圧力一定の系

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

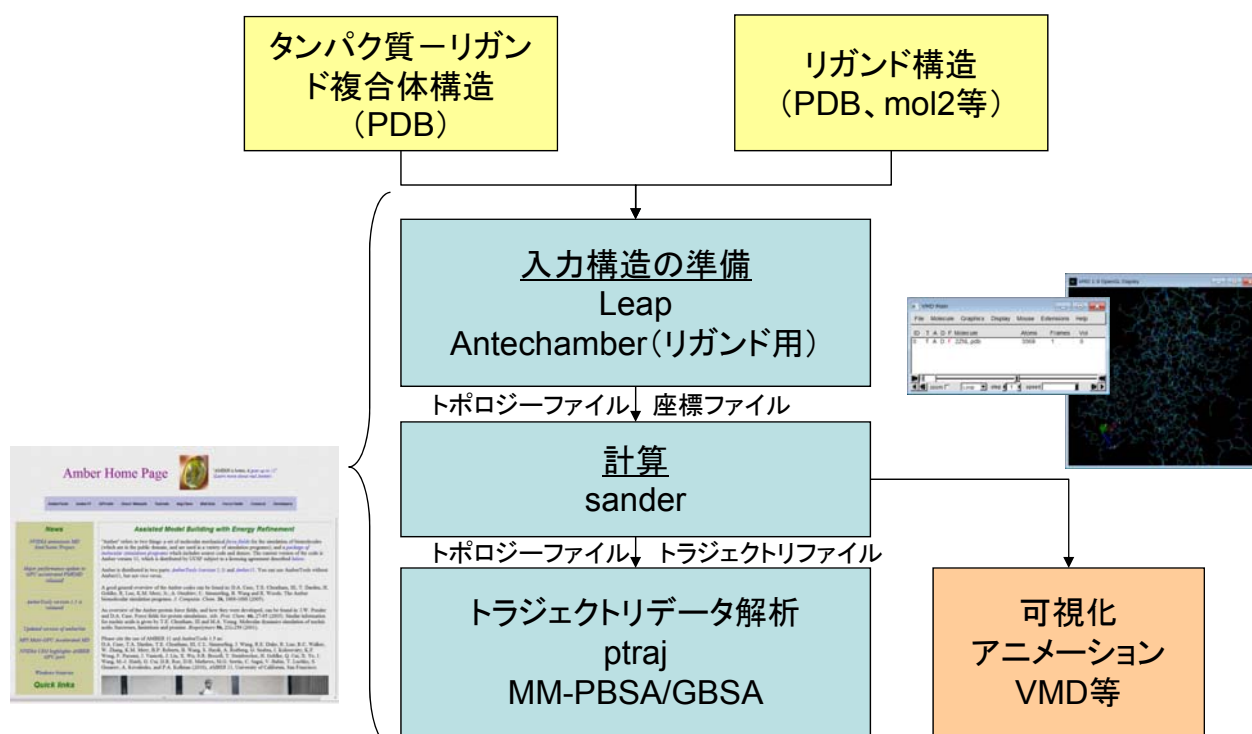
10

# 代表的な計算用ソフトウェア

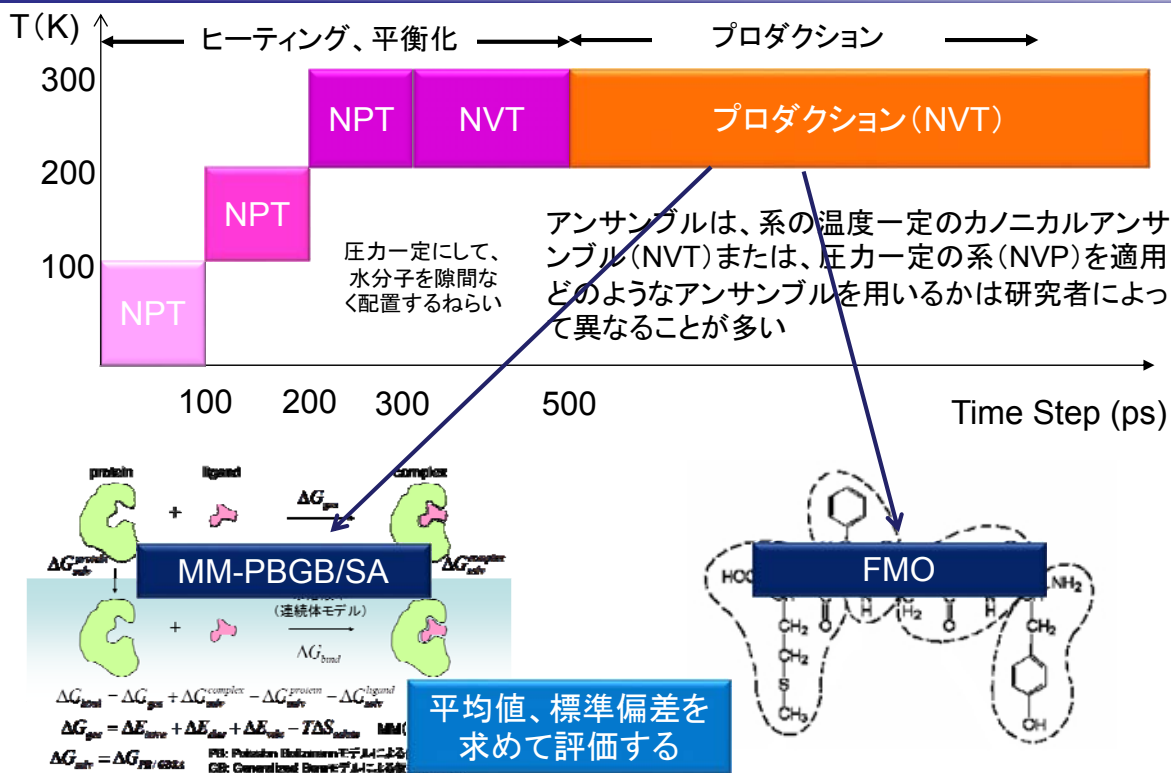
ソフトウェア名	速度	特徴
AMBER	中	使いやすさ、実施例多数
CHARMM	遅	多機能であるが、利用が難しい
Desmond	速	解析用ソフトウェアが少ない
GROMACS	速	商用でも無料
NAMD	中	並列化効率が高い。大規模計算向き

力場の名前と同じ名称であることが多いので、どちらを指しているのか注意が必要である。例えば、CHARMMの力場を利用してGROMACSで計算など

## MDの操作手順: AMBERを例に



# 相互作用エネルギー精度向上のためのトラジェクトリ-活用

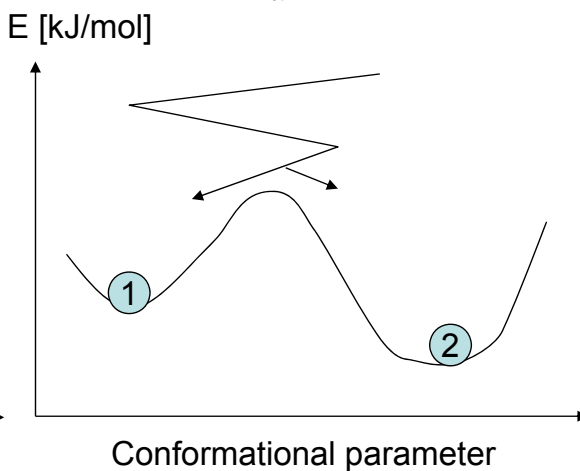
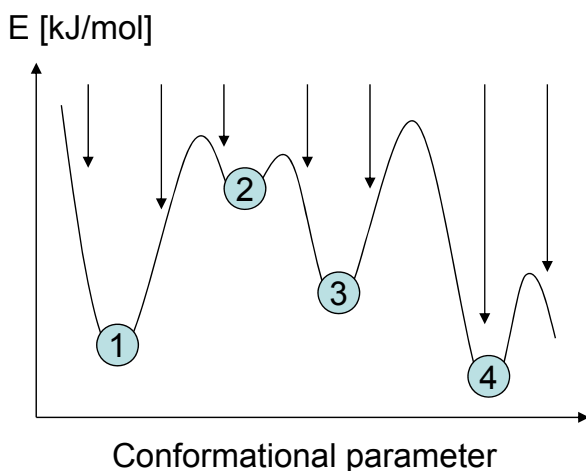


## MDを構造サンプリングに利用する場合

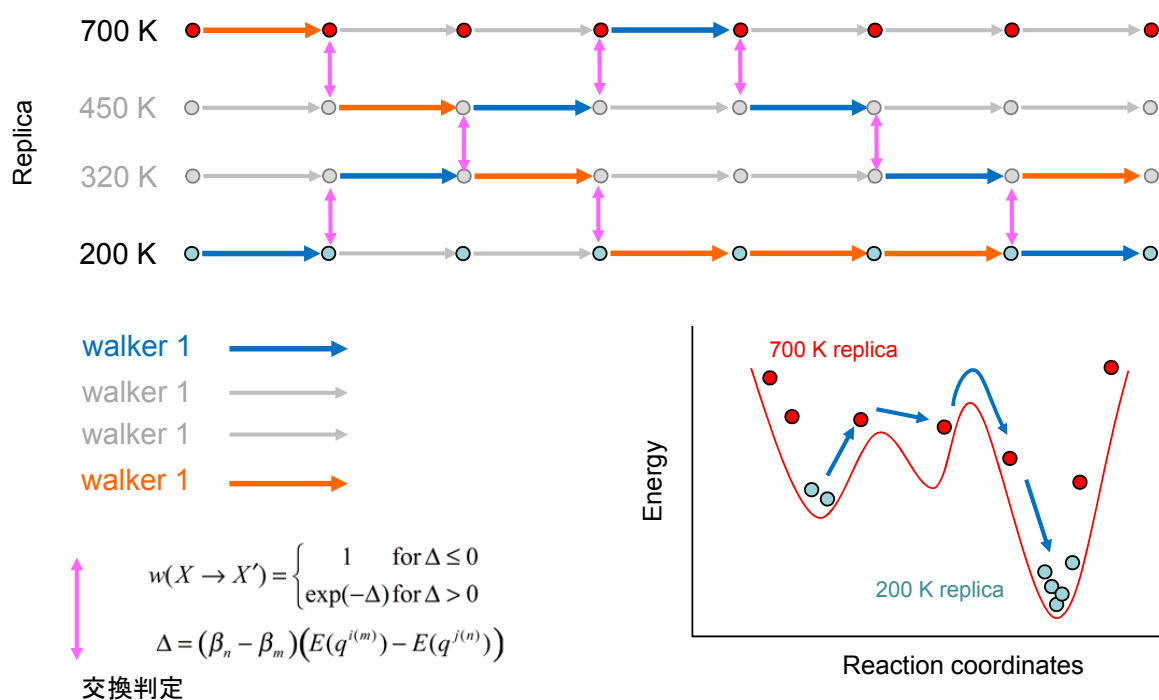
- 分子力学、動力学計算 (MD) などシミュレーション技術による配座探索。MD、モンテカルロ法、焼きなまし法等が代表的

MDの軌跡から配座をサンプリング

高温から低温への温度計画による極小構造の探索



# レプリカ交換法

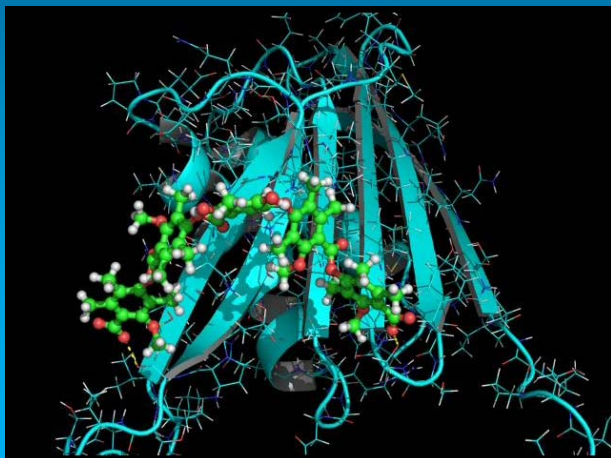


Sugita, T. and Okamoto, Y., Chem. Phys. Let., 314:261-(1999)

神戸大学 計算生命科学の基礎Ⅱ  
生命科学と理工学の融合による  
生命理解と健康・医療への応用

分子動力学計算を活用した  
インシリコ創薬

本日の講義メニュー



分子動力学計算(MD)とは？

分子モデリングで、他の計算技術と合わせてMDを活用する！

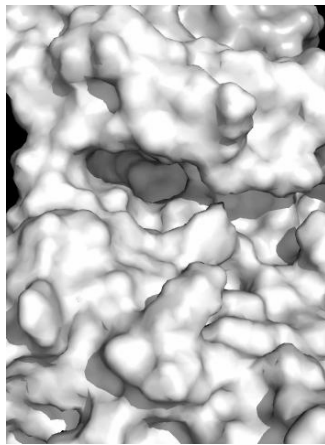
MDを利用して結合エネルギーを高精度に算出したい！

作用機序を調べる：長時間MD？それとも短時間MD？

MDトラジェクトリ-を利用した化合物スクリーニング

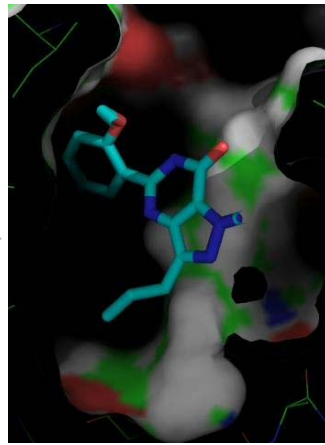


# 他の方法と組み合わせてMDを活用する

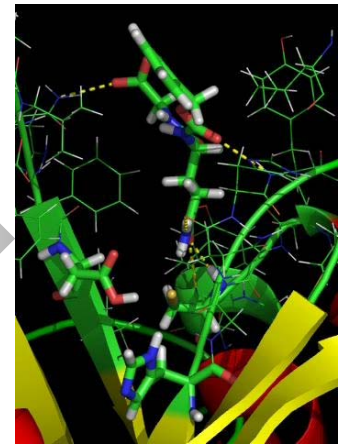


Pre-Docking処理

- レセプターモデリング
- Pre-Existingモデル
- アンサンブルバーチャルスクリーニング
- ポケット探索



ドッキング計算

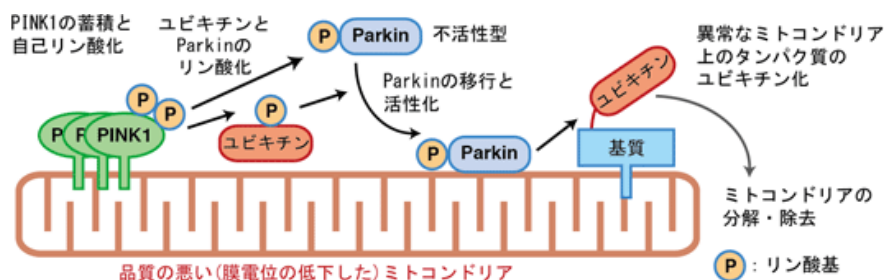


Post-Docking処理

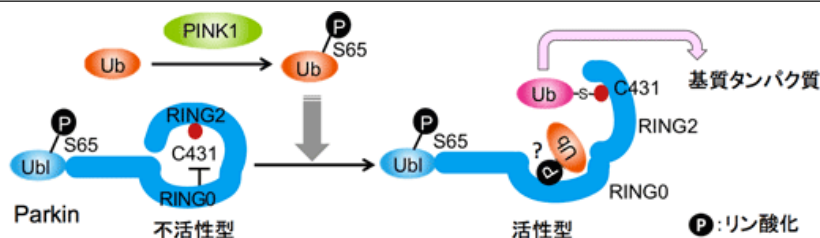
- ドッキングポーズの判定
- 高精度エネルギー計算
- 相互作用フィンガープリント

## MDによるタンパク質-タンパク質ドッキング計算の最適化

### リン酸化Ubiによる活性型Parkinの構造予測



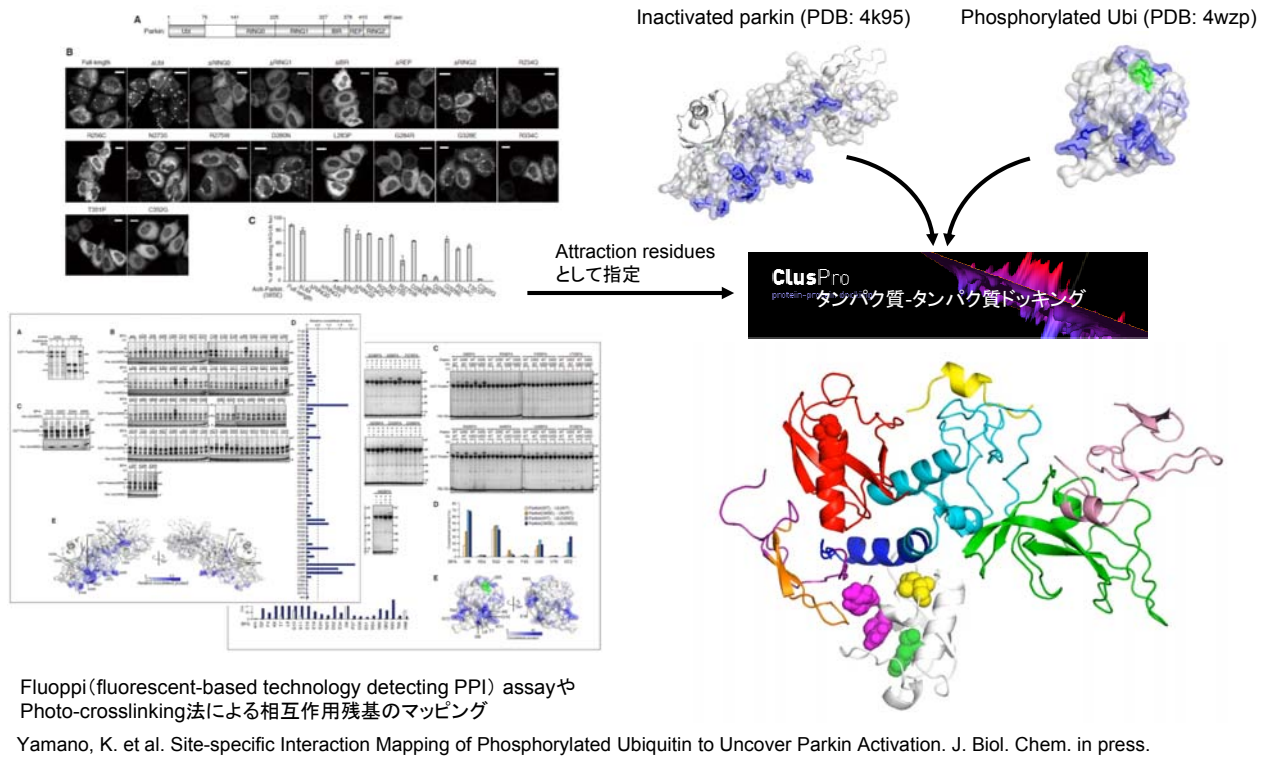
上記システムが働かないと、本来は除去されるべき細胞内の異常なミトコンドリアが取り除かれない。  
→ 脳内に低品質のミトコンドリアが蓄積して、最終的に遺伝性劣性パーキンソン病が発症する。



Ub はユビキチン、Ubl は Ubiquitin-like ドメイン、C431 は RING2 ドメインに存在する Parkin の酵素活性中心システインを表す。Ser65リン酸化ユビキチンは、C431に対するRING0ドメインの自己阻害活性を外すことで、Parkin を活性化すると考えられる。

<http://www.igakuken.or.jp/protein/jpn/research/matsuda-team.html>より

# MDによるタンパク質-タンパク質ドッキング計算の最適化

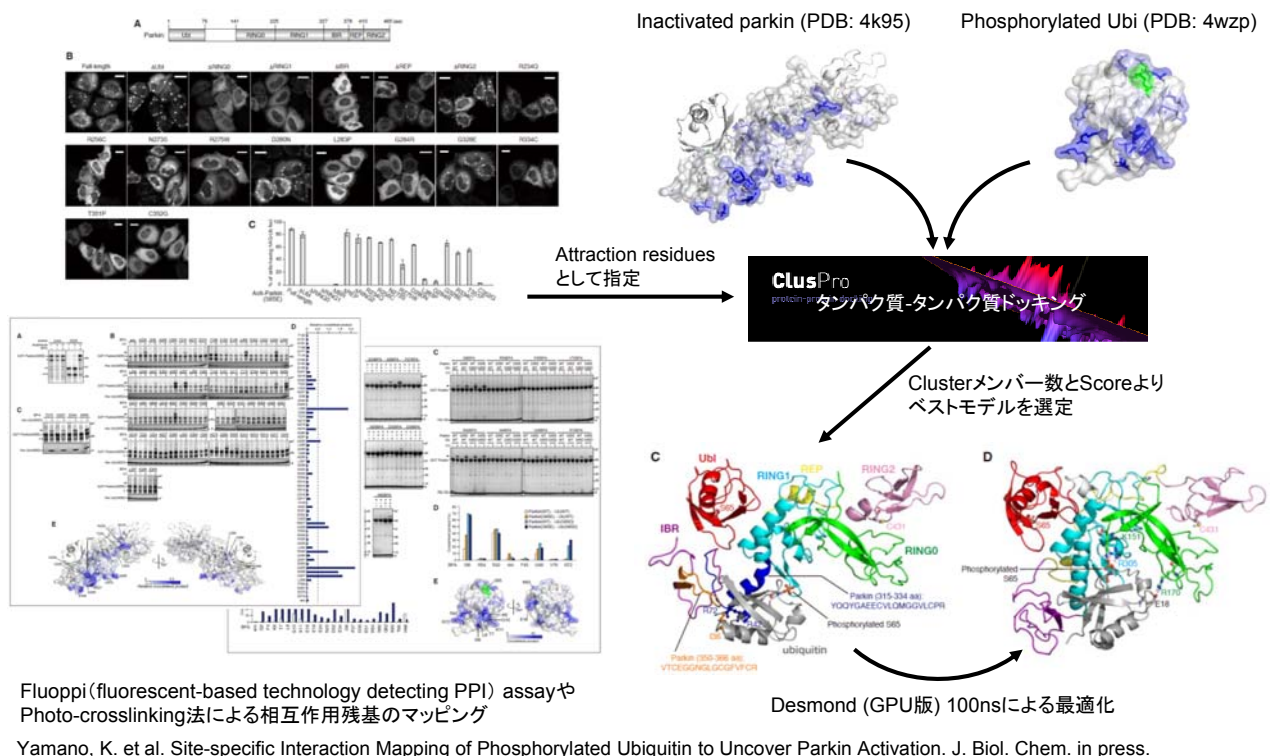


2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

19

# MDによるタンパク質-タンパク質ドッキング計算の最適化



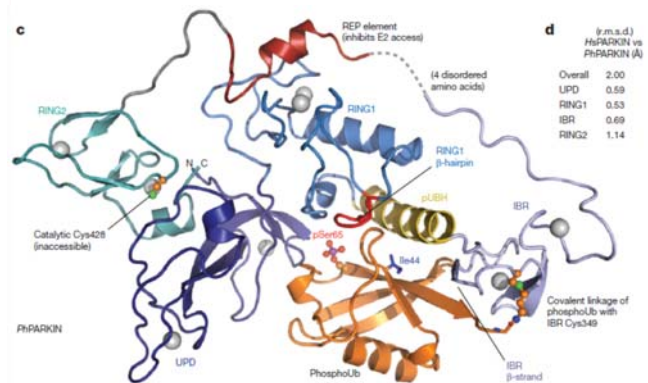
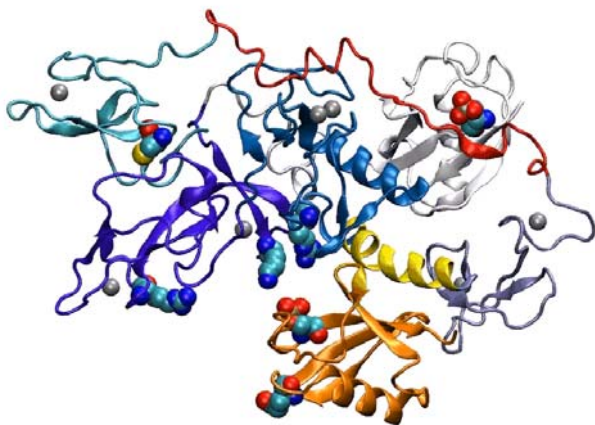
2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

20

# MDによるタンパク質-タンパク質ドッキング計算の最適化

## MDによる構造最適化とX線構造と予測の比較



Wauer T. et al., Nature 524, 370-374 (2015)

タンパク質-タンパク質ドッキングである程度の構造を予測しておけば、MDの最適化が効果的に働く

Yamano, K., Queliconi, B.B., Koyano, F., Saeki, Y., Hirokawa, T., Tanaka, K., Matsuda, N. Site-specific Interaction Mapping of Phosphorylated Ubiquitin to Uncover Parkin Activation. J. Biol. Chem. Epub ahead of print (2015).

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

21

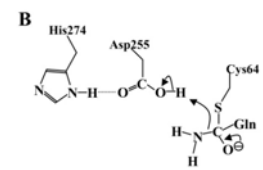
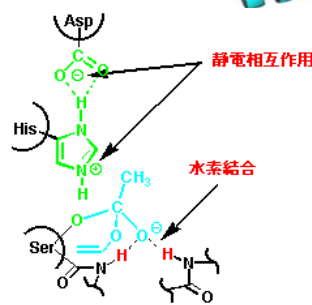
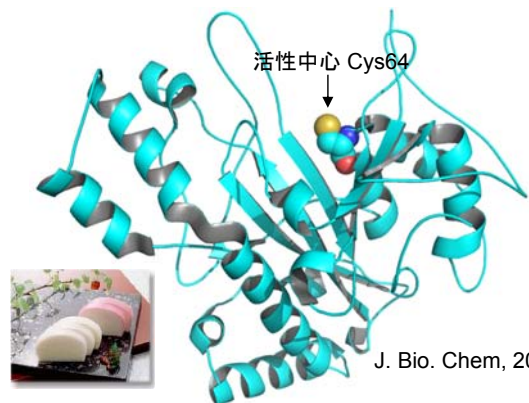
## ドッキングポーズの正しさをMDで確認する: Post-docking処理



Substrate specificity of microbial transglutaminase as revealed by three-dimensional docking simulation and mutagenesis  
Tagami et al., *PEDS* 22, 2009

酵素-基質タンパク質認識の新しい分子機構をシミュレーション(CBRC)と実験で検証(味の素)

- ミトコンドリアトランスグルタミナーゼを標的とした酵素機能解析へ分子モデリング技術を応用
- 蛋白質中のGlnとLysの架橋を触媒する酵素⇔分解酵素、味の素においてTGaseの結晶構造決定
- 豆腐、蒲鉾、ソーセージ等の蛋白質含有食品の物性改善に利用
- しかし基質認識メカニズムは、不明
- 複数の結合モデルの構築とBlueGeneを用いた大規模MD計算により検証。安定な結合モデルは、変異体実験の結果とも一致。
- 触媒機構に必須なオキシアニオンホールを可視化



触媒ダイアッドの可能性  
オキシアニオンへのドナー原子が未知

MTGaseで推定される触媒機構

セリンプロテアーゼ等の触媒機構  
<http://achem.okayama-u.ac.jp/soc/lecture/catalyticcycle.html>より

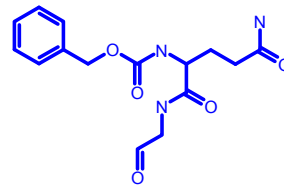
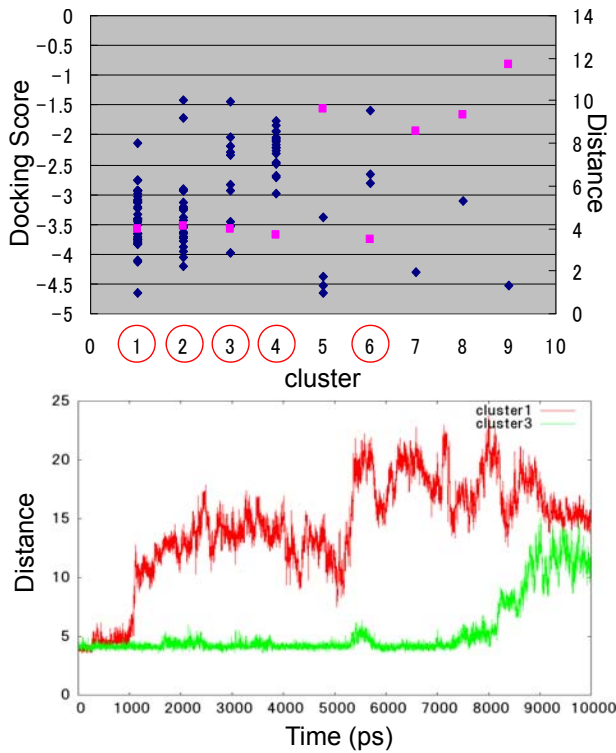
2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

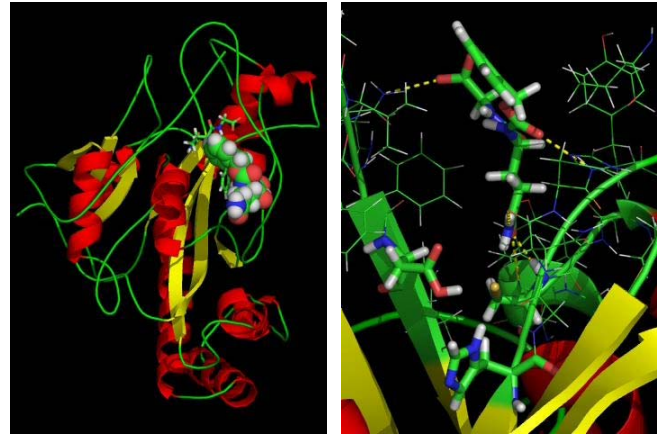
22



# ドッキングポーズの正しさをMDで確認する: Post-docking処理



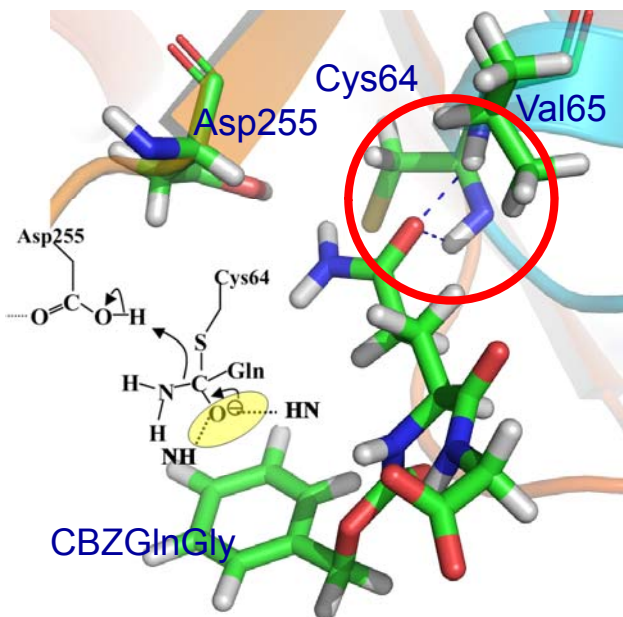
基質リガンド  
CBZ-Gln-Gly



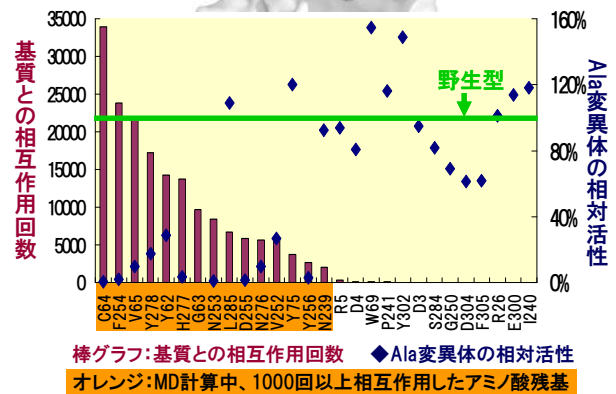
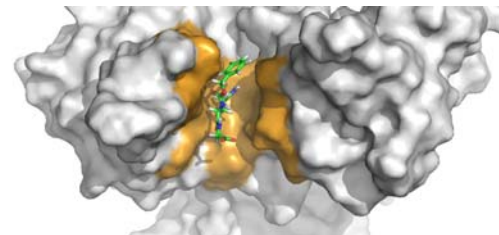
Cluster 1

Cluster 3

# ドッキングポーズの正しさをMDで確認する: Post-docking処理



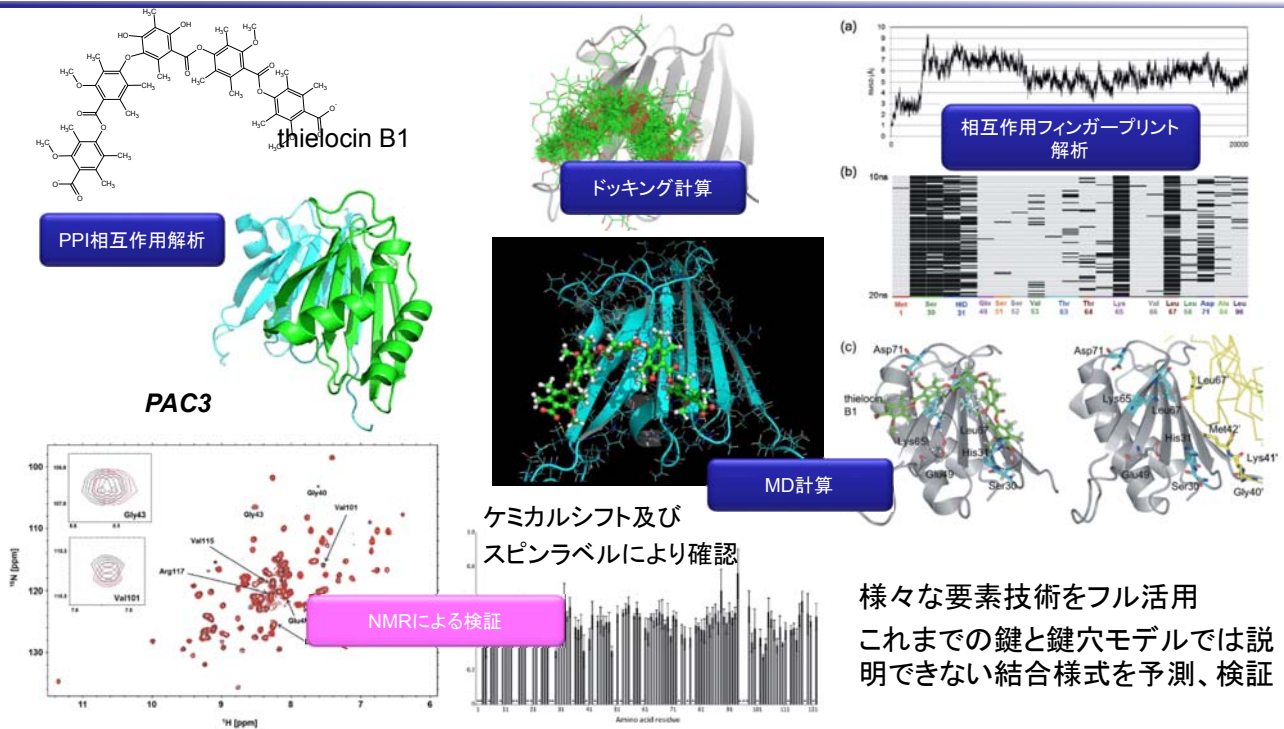
オキシアニオンホールの予測 (Cys64, Val65の主鎖NHが形成に関与): LIGPLOT解析より



棒グラフ: 基質との相互作用回数 ◆ Ala変異体の相対活性  
オレンジ: MD計算中、1000回以上相互作用したアミノ酸残基

高頻度で基質との結合に関与する残基とAla変異実験 (相対活性) との相関

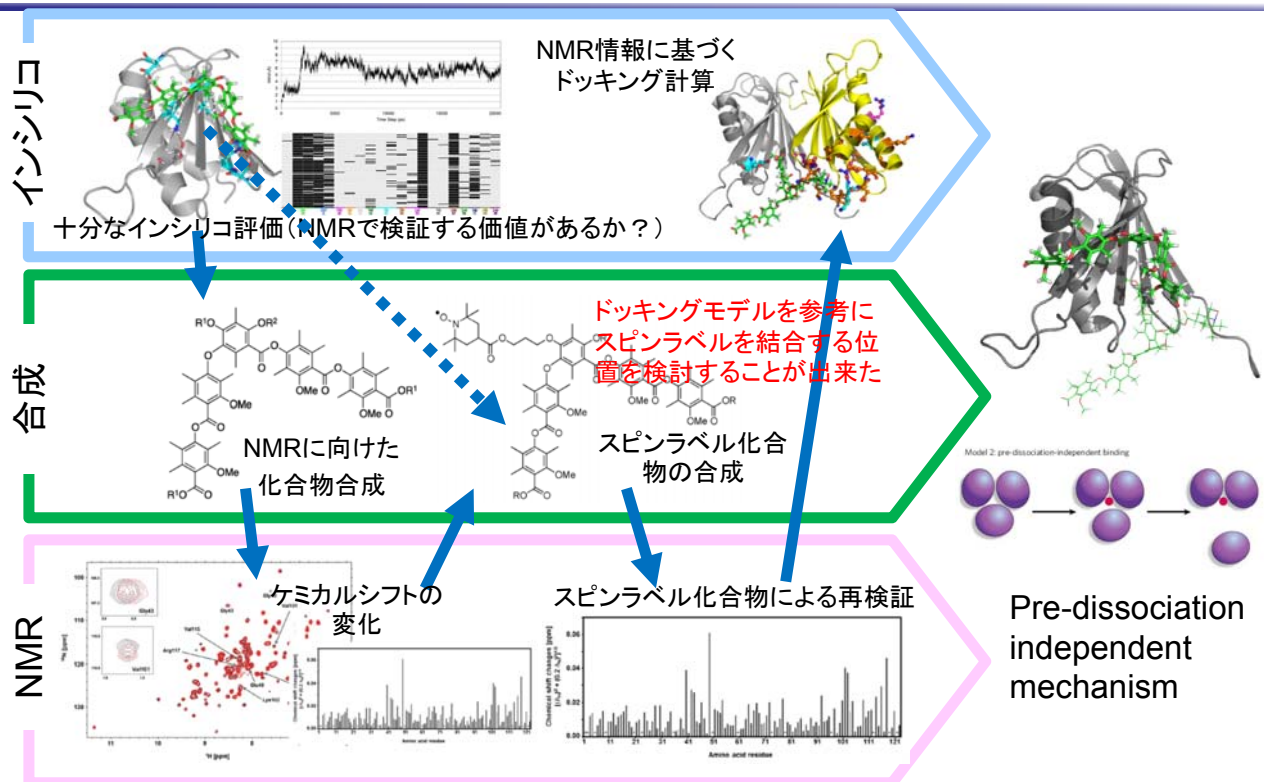
# タンパク質間相互作用阻害天然物の作用機序解明



様々な要素技術をフル活用  
 これまでの鍵と鍵穴モデルでは説明できない結合様式を予測、検証

Doi, T. *et al.*, "Total synthesis and characterization of thielocin B1 as a protein-protein interaction inhibitor of PAC3 homodimer", *Chemical Science*, 2014, **5**, 1860-1868.

# タンパク質間相互作用阻害天然物の作用機序解明





# DockingとMDをバーチャルスクリーニングで融合した例

Okimoto N et al., High-performance drug discovery: computational screening by combining docking and molecular dynamics simulations, PLoS Comput Biol. 2009 Oct;5(10):e1000528.

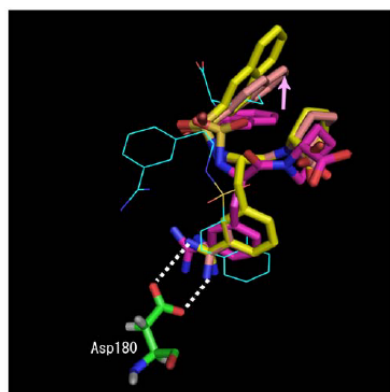
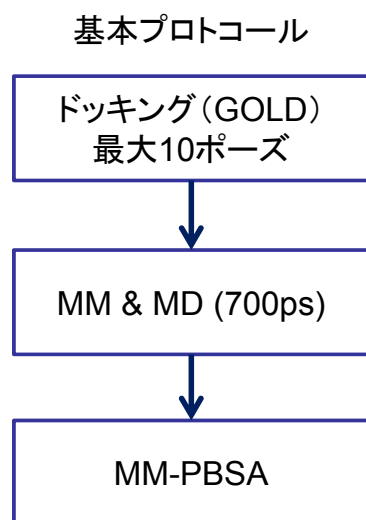


Figure 1. Successful example of MD simulations using multiple poses. The color codes for the stick models are as follows: yellow, conformation of the inhibitor in the crystal structure; purple, 7<sup>th</sup>-ranked docking pose; and pink, conformation of the 7<sup>th</sup>-ranked docking pose after the MD simulation. In addition, the highest-scored docking pose is shown by the wireframe model. The highest-scored docking pose (wireframe model) is inaccurate, but the 7<sup>th</sup>-ranked docking pose is similar to that of the crystal structure. MD simulation of the 7<sup>th</sup>-ranked pose improved the key hydrogen bonds and the position of the naphthalene group and G06 value of the 7<sup>th</sup> ranked docking pose was the lowest in all the poses. doi:10.1371/journal.pcbi.1000528.g001

•4つの標的タンパク質( )は活性化化合物数

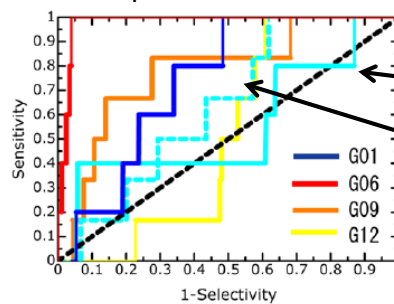
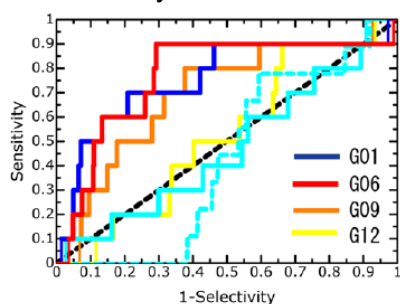
Trypsin (21)  
HIV\_PR (8)  
AchE (14)  
CDK2 (26)

•MaybridgeライブラリーよりDecoyセットを構築10000化合物

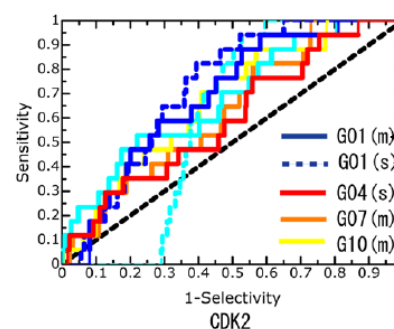
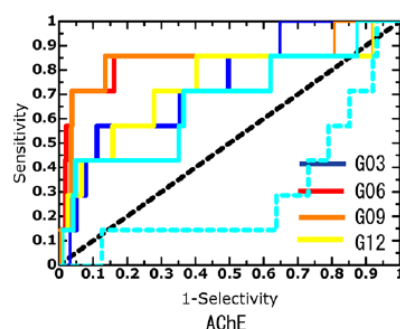
•活性化化合物とDecoyをドッキングし、Top Score 1000化合物について、最大10ポーズをMDの対象  
最終的には約6000ポーズがMD対象(不適切なポーズは除外)

# DockingとMDをバーチャルスクリーニングで融合した例

Okimoto N et al., High-performance drug discovery: computational screening by combining docking and molecular dynamics simulations, PLoS Comput Biol. 2009 Oct;5(10):e1000528.



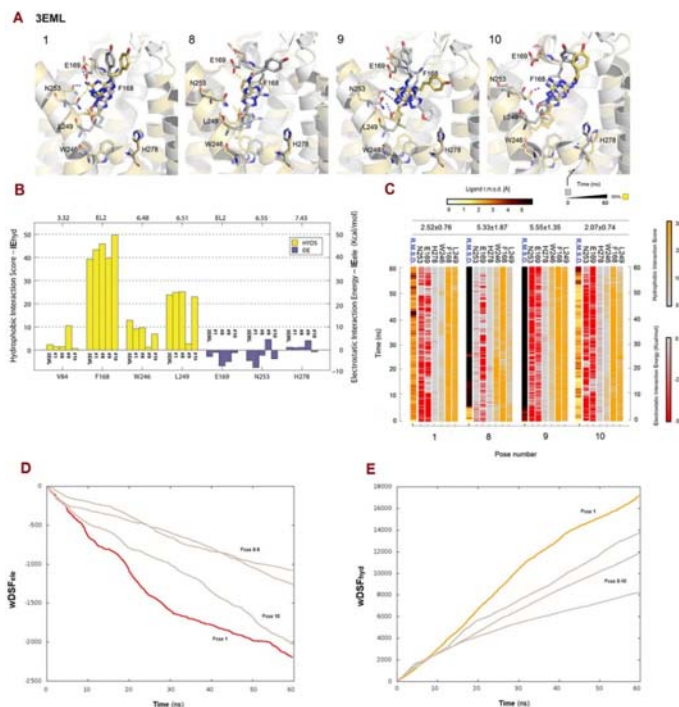
GOLD only  
ChemScore  
でRescoring



Multi-poses  
single-pose

# Post-Docking処理にMDを活用する際の評価関数例

Dabbadin, D. et al., Bridging Molecular Docking to Membrane Molecular Dynamics To Investigate GPCR-Ligand Recognition: The Human A2A Adenosine Receptor as a Key Study, JCI 2014, 54, 169-183



Interaction EnergyはMOEで計算  
トラジェクトリーは、100ps毎計算

$$DSF_{ele} = \sum_{t=0}^n IE_{ele}$$

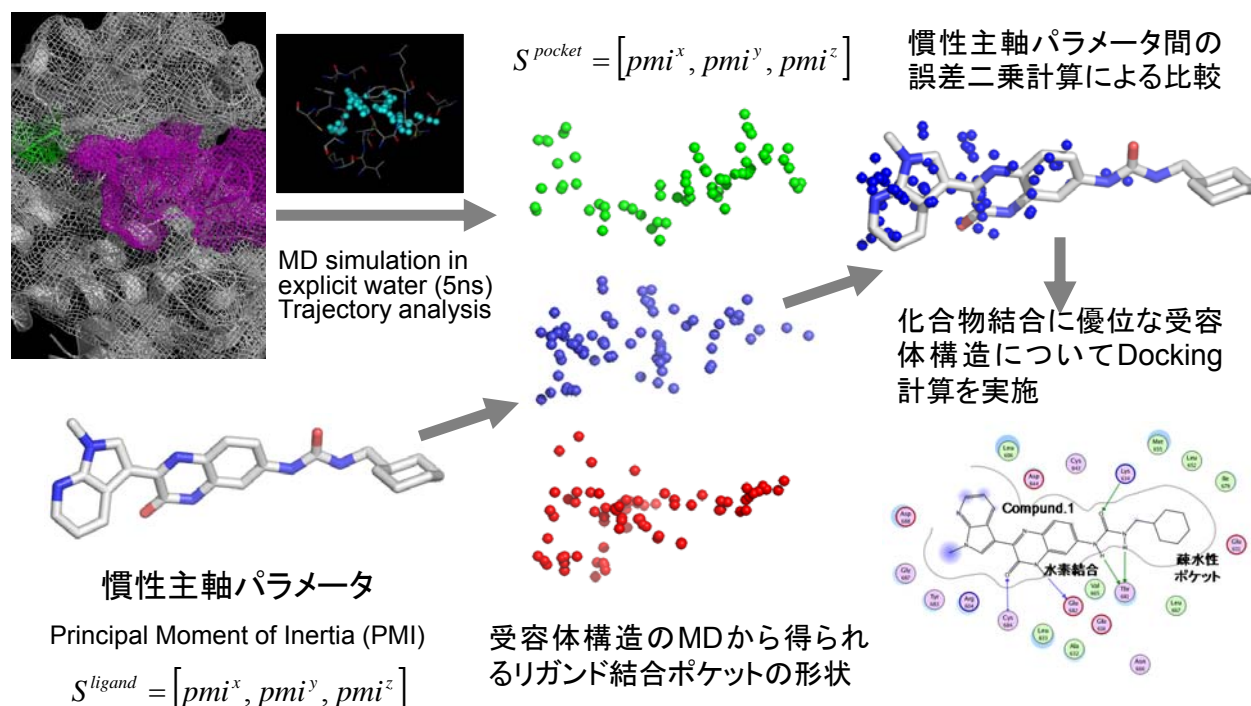
$$DSF_{hyd} = \sum_{t=0}^n IE_{hyd}$$

初期ポーズからのRMSDで割る

$$wDSF_{ele} = \frac{\sum_{t=0}^n IE_{ele}}{RMSD}$$

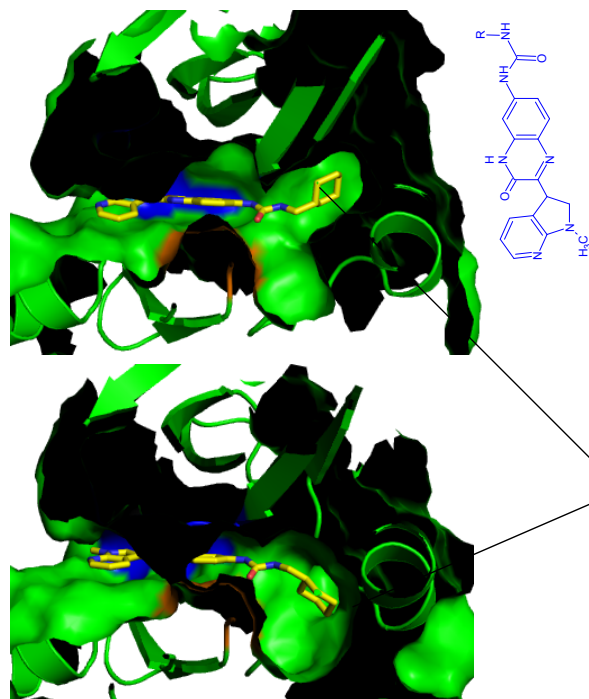
$$wDSF_{hyd} = \frac{\sum_{t=0}^n IE_{hyd}}{RMSD}$$

# MDトラジェクトリからのドッキング鑄型探索

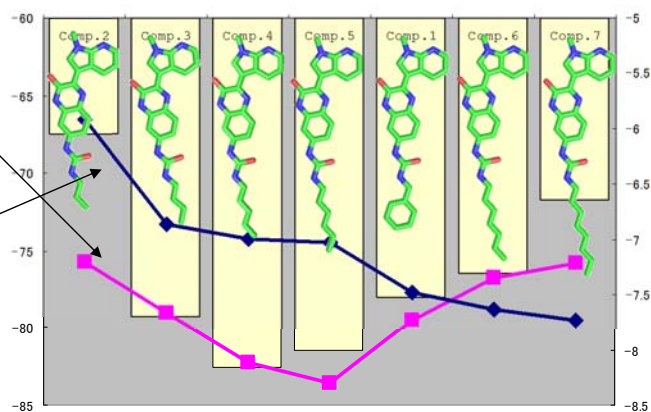


Mori et al., Chem.Pharm.Bull., 2008

# MDトラジェクトリからのドッキング鑄型探索



Comp.	R:	IC50( $\mu\text{mol/l}$ )	binding energy(kcal/mol)	
			Mod.1	Mod.2
1	cyclohexylmethyl	0.030	-75.71	-66.54
2	n-propyl	0.905	-79.02	-73.26
3	n-butyl	0.020	-82.23	-74.26
4	n-pentyl	0.007	-83.61	-74.47
5	n-hexyl	0.010	-79.52	-77.68
6	n-heptyl	0.050	-76.76	-78.78
7	n-octyl	0.230	-75.81	-79.47



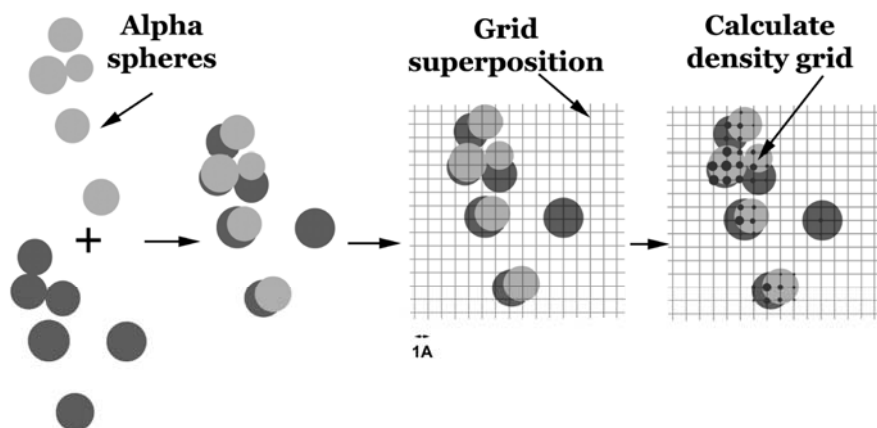
Mori et al., *Chem.Pharm.Bull.*, 2008

# MDトラジェクトリに基づくポケット解析例

[MDpocket: open-source cavity detection and characterization on molecular dynamics trajectories.](#)

Schmittke P, Bidon-Chanal A, Luque FJ, Barril X.  
*Bioinformatics*. 2011 Dec 1;27(23):3276-85.

ソフトウェアはWebで配布



Schematic representation of the MDpocket workflow. Alpha spheres are detected on different pre-aligned conformations of the protein (dark grey 1 conformation, light grey another conformation). A 1Å spaced grid is superimposed to the alpha spheres and on each grid point the density of surrounding alpha spheres and frequency are tracked.

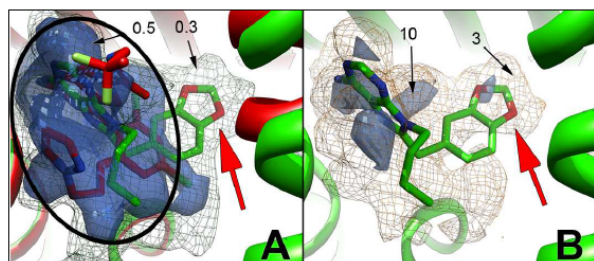


# MDトラジェクトリに基づくポケット解析例

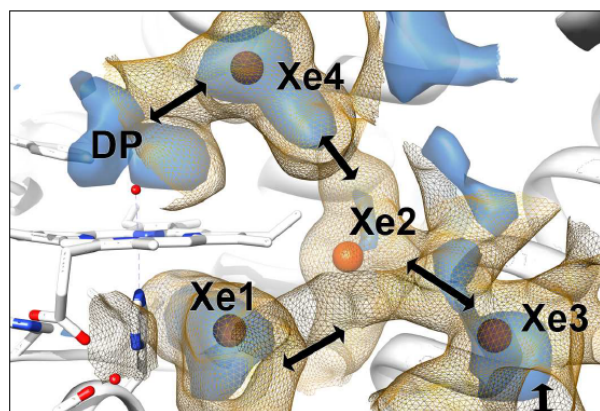
**MDpocket: open-source cavity detection and characterization on molecular dynamics trajectories.**

Schmidtke P, Bidon-Chanal A, Luque FJ, Barril X. *Bioinformatics*. 2011 Dec 1;27(23):3276-85.

ソフトウェアはWebで配布



**Fig. 1.** HSP90 binding site derived from 88 X-ray crystallographic structures. (A) MDpocket pocket frequency map at 50% (blue iso-surface) and 30% (mesh). The red structure corresponds to a crystal structure where the sub-pocket is closed. The green structure has the sub-pocket open. The main pocket (black ellipse) is found in all snapshots. The subpocket (red arrow) is open in 35.2% of all X-ray structures, and the isosurface determined from MDpocket (mesh) appears at 35% of pocket appearance frequency. (B) MDpocket pocket density map (for clarity only the green structure is shown) at two levels of pocket density. The main pocket is found at low (3, yellow mesh) and high (10, blue surface) densities. The subpocket is also found at low (3) densities and a spot (blue surface) can also be seen at high densities despite the fact that the pocket does not open frequently.



**Fig. 4.** Xenon atoms (orange spheres) from PDB structure 1J52 superimposed with MDpocket results on the myoglobin MD trajectory. Blue iso-surface: The pocket frequency map at 60%, which exhibits a close correspondence with all Xe binding sites. Orange iso-mesh: The pocket density map at 2 allows to discern putative migration channels from one Xe binding site to the other.

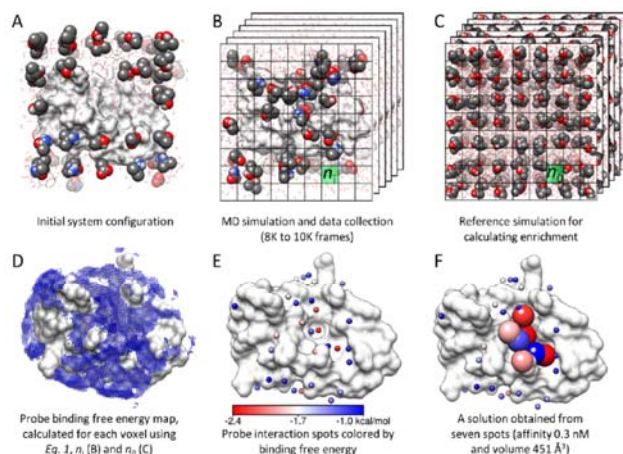
## Mixed solvent法による薬物結合サイト、タンパク質-タンパク質相互作用部位予測

標的タンパク質をプローブ分子を混ぜ込んだ溶媒環境でMDシミュレーションを実施し、タンパク質表面におけるプローブ分子の局在の密度から薬物結合サイトや、タンパク質-タンパク質相互作用部位を予測する手法

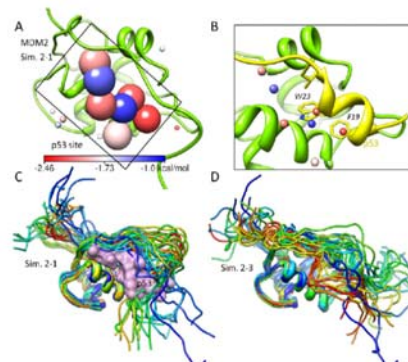
JCTC Journal of Chemical Theory and Computation Article  
pubs.acs.org/JCTC

**Druggability Assessment of Allosteric Proteins by Dynamics Simulations in the Presence of Probe Molecules**

Ahmet Bakan,<sup>1</sup> Neysa Nevins,<sup>2</sup> Ami S. Lakdawala,<sup>1,2</sup> and Ivet Bahar<sup>1,2</sup>



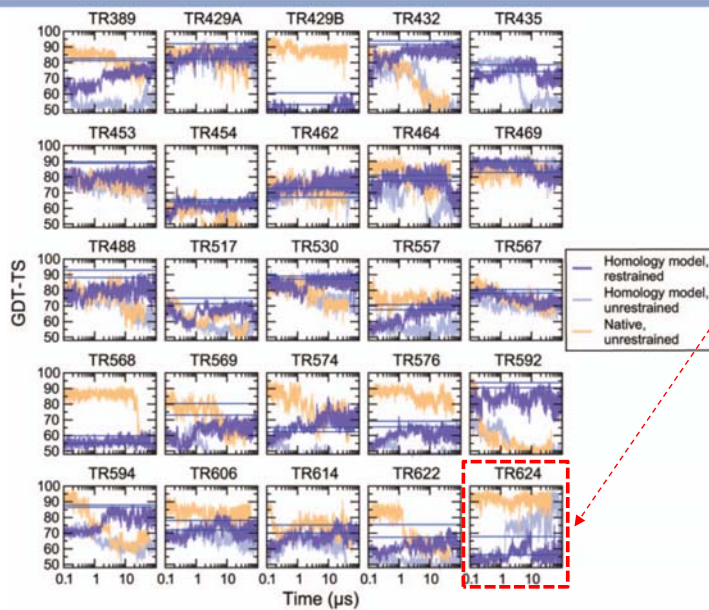
**Figure 1.** Overview of methodology. (A) The druggability simulation box is prepared by immersing the target protein in a box of water and probe molecules. (B) After the superposition of frames onto the X-ray structure using C $\alpha$  atom positions, a grid representation is used to measure the probe density ( $n$ ). (C) A protein-free system is simulated to calculate the expected probe density ( $n_0$ ) used in eq 1. (D) The binding free energy for each voxel is calculated using eq 1. Note that only the outer layer (weaker) interactions are visible in the map. (E) Interaction spots (small spheres) are identified by removing the voxels that overlap with the lower energy voxels. The energy scale in this panel holds for panels D and F as well. (F) Proximal spots are merged to predict maximal affinity. Interaction spots that are in a druggable site are shown as larger spheres color-coded by the corresponding interaction energies with the target. Molecular graphics in this study are generated using Chimera.<sup>27</sup>



**Figure 3.** Druggability assessment of the p53 binding site when occluded by the MDM2 N-terminal tail. The MDM2 NMR model<sup>10</sup> (1Z1M model 2), in ribbon representation, and interaction spots from probe mixture simulation 2-1 (Table S2), as spheres, are shown in panel A. The coloring scheme is the same as in Figure 2. The p53 pocket identified as druggable is indicated by the large spheres. (B) A closeup view of the p53 binding pocket from panel A is shown, with similar coloring as in Figure 2B. We note the overlap of p53 hotspot residues F19 and W23 with probe interaction spots. Panels C and D show 25 evenly spaced snapshots from druggability simulation 2-1 and probe-free simulation 2-3, respectively. In the presence of probe molecules, the p53 pocket was more accessible, whereas in their absence, the pocket remained occluded by the N-terminal tail. Coordinate files for interaction spots and simulation snapshots are provided in the Supporting Information.

# MDによるホモロジーモデルの最適化

Raval A et al., Refinement of protein structure homology models via long, all-atom molecular dynamics simulations. Proteins. 2012 Aug;80(8):2071-9.



**Figure 2**  
GDT-TS as a function of time for unrestrained (light purple) and restrained (purple) simulations starting from the homology model, and for unrestrained (orange) simulations starting from the native state. The horizontal blue lines in each case refer to GDT-TS values of the homology model (lower horizontal line) and of the best refined structure (upper horizontal line) reported by CASPR participants.

約20μ秒で天然構造に近い構造に収束



**Figure 4**  
Refinement of a native-like conformation in an unrestrained simulation of TR624. The initial homology model (grey) has a C<sub>α</sub> RMSD from the native structure (green) of over 5 Å. The simulation trajectory was clustered using k-means clustering with k = 5, 10, ..., 95. For each value of k, the representative frame from the most populated cluster was identified. The most frequently occurring representative frame (red), reached at a average time of 29.1 μs with a GDT-TS value of 84.2, is shown superposed on the native structure. The simulated structure shows excellent agreement of the backbone with that of the native structure, except in a short loop region. Refinement to the native-like conformation in this case required the continuation of less than 1 minute.

100μ秒の長いMDを実施すれば、ホモロジーモデルは、改善されるか？カ場の影響は？CASPRの出題をベンチマークに検証。

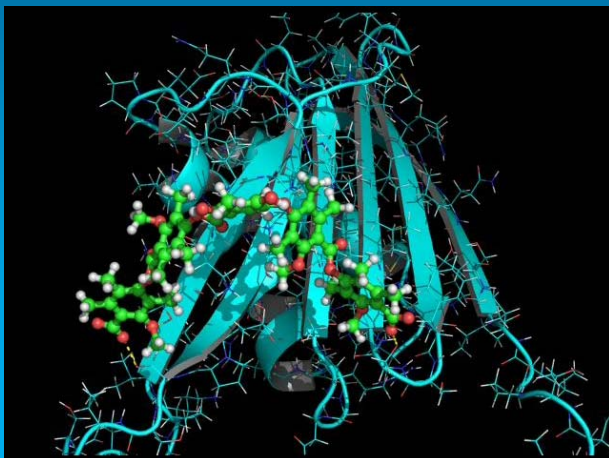
天然構造が100μ秒のMDで安定な場合は、ホモロジーモデルでスタートすると改善がみられる。

天然構造が崩れるような場合は、ホモロジーモデルは改善されないが、初期構造にある程度拘束条件をつけたMDの場合は、改善がみられる。

神戸大学 計算生命科学の基礎Ⅱ  
生命科学と理工学の融合による  
生命理解と健康・医療への応用

分子動力学計算を活用した  
インシリコ創薬

本日の講義メニュー



分子動力学計算(MD)とは？

分子モデリングで、他の計算技術と合わせてMDを活用する！

MDを利用して結合エネルギーを高精度に算出したい！

作用機序を調べる：長時間MD？それとも短時間MD？

MDトラジェクトリ-を利用した化合物スクリーニング



# Linear Interaction Energy (Åqvistら)

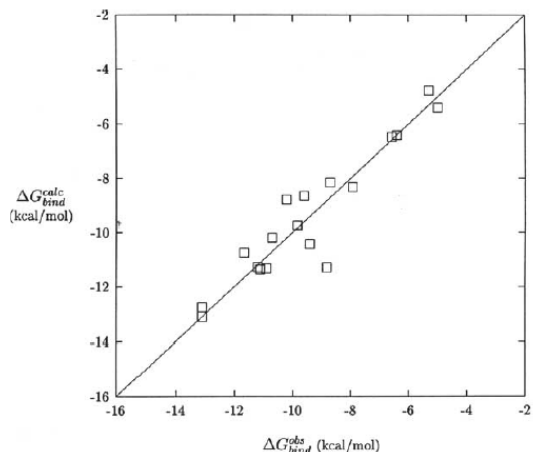
MDによる相互作用エネルギーの平均

$$\Delta G_{bind} = \frac{1}{2} \left\langle \Delta V_{p-w}^{ele} \right\rangle + \alpha \left\langle \Delta V_{p-w}^{vdw} \right\rangle$$

リガンドがタンパク質中にあるときと水中にあるときのポテンシャルの差

実験値に対するフィッティングパラメータ

FEPやTIのように計算コストがかからないが  
既知リガンドの実験値が必要



*Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2001, 4, 613-626

613

## The Linear Interaction Energy Method for Predicting Ligand Binding Free Energies

Johan Åqvist\* and John Marelus

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

37

# Relaxed Complex Scheme

- McCammon's group
  - Lin et al., JACS, 2002他
- 標的タンパク質のアポ状態のMD計算によりトラジェクトリを作成し、トラジェクトリを利用して網羅的ドッキングを実施。
  - AMBER with explicit water
  - 10psごとにトラジェクトリを出力
  - Autodock3.0.5によるドッキングとスコアリング
- 実施例: FKBP (FK506 binding protein他)

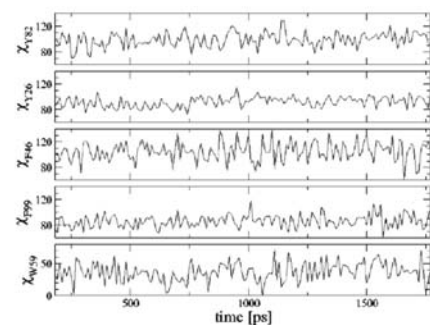


Figure 1. Librational motion of aromatic side chains in the active site. The side chain torsional angle  $\chi$  (in degrees) is defined by the dihedral of  $C_{\alpha}-C_{\beta}-C_{\gamma}-C_{\delta 1}$ .

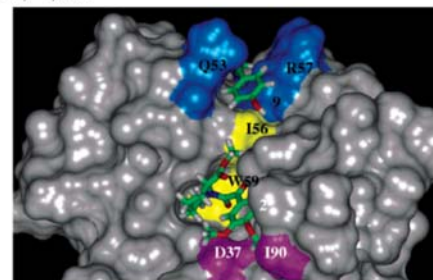


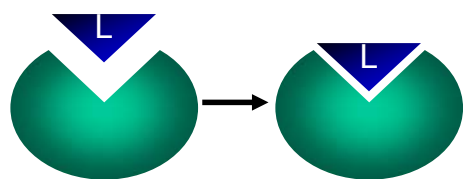
Figure 4. Location of 2 and 9 in the docked complex. 9 was docked in the presence of 2.

2015年12月2日

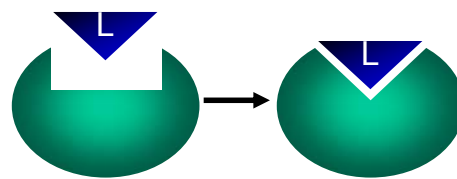
© 2015 Takatsugu Hirokawa

38

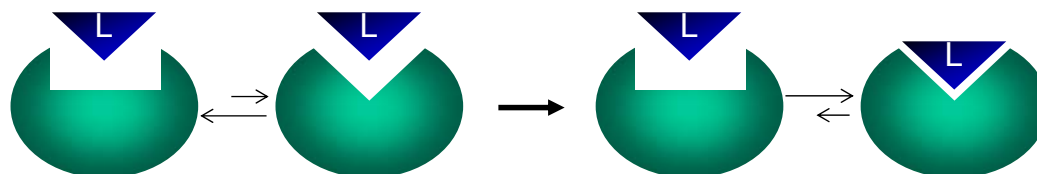
# タンパク質-リガンド結合メカニズム



(a) Lock and key model



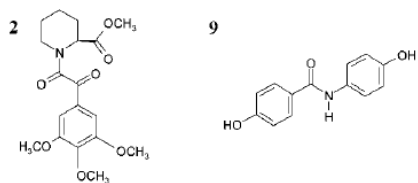
(b) Induced-fit model (KNF model)  
Myosin-Actin,  $G\alpha$  subunit-RGS14,  
Flis-FlisC



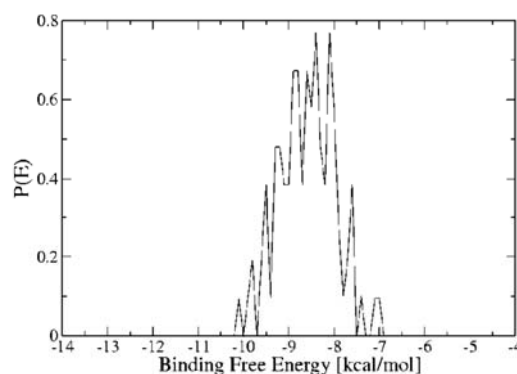
(c) Pre-existing equilibrium model (MWC model)  
Antibody Spe7-TrxShear3, Gplb-IX-V-Thrombin, NtrC-P

C.-S. Goh *et al.*, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 14, 2004.

## Relaxed Complex Scheme (続き)



**Figure 2.** Chemical structures of the compounds **2**, trimethoxyphenyl pipercolinic acid derivative, and **9**, 4-hydroxy(1-hydroxy)benzanilide.



**Figure 3.** Probability distribution of the binding free energies of **2**.

atom of ILE56) of **9** was conducted. This “focused” docking enables a more extensive search for binding modes of **9** that are within a possible linker distance to **2**, while automatically excluding any unproductive binding modes. The final docked ternary complex is in very good agreement with experimental structure.<sup>2</sup> The relative binding free energy ( $\Delta\Delta G = \Delta G_0 - \Delta G_2$ ) is 2.10 kcal/mol, which is also very close to the experimental value of 2.33 kcal/mol.

Lin JH *et al.*, *J Am Chem Soc.* 2002 May 22;124(20):5632-3.

# 高精度結合自由エネルギー計算

- BAR法と大規模計算機による完全結合自由エネルギー計算予測
  - Fujitani et al., J.Chem.Phys.128, 2005
  - BAR: Bennett acceptance ratio
  - BioServer: 1920 FR-V processors
- FKBPタンパク質と8つのリガンドについて分子動力学計算と自由エネルギーシミュレーションを実施
- リガンドと周囲の原子との相互作用を結合パラメーター $\lambda$ で変化させ、この $\lambda$ の変化に伴う仕事の分布から水和自由エネルギーを統計的に推定
- 誤差: 0.4 kcal/mol

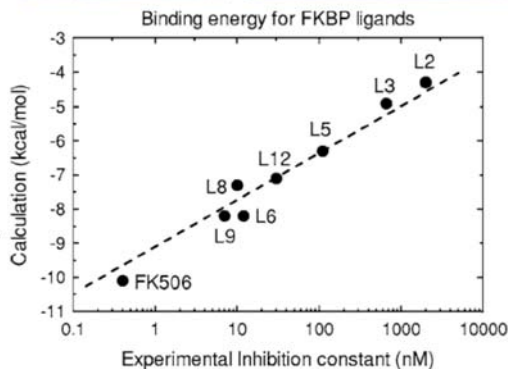
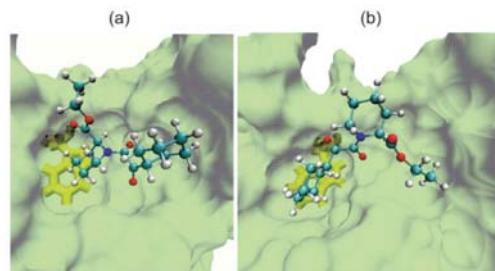
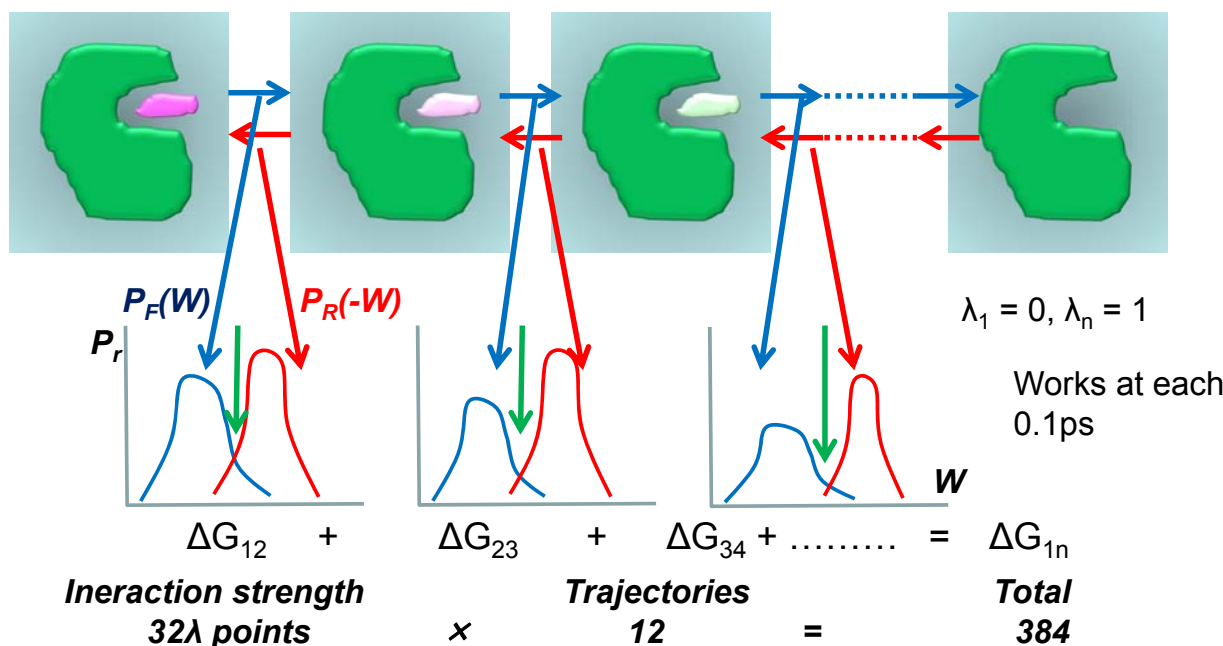


FIG. 4. Calculated absolute binding free energies vs experimental inhibition constants for eight ligands. The dashed line indicates  $\Delta G = RT \ln(K_i) + 3.2$ .  
Fujitani et al., J.Chem.Phys.128, 2005より

# 高精度結合自由エネルギー計算(続き)

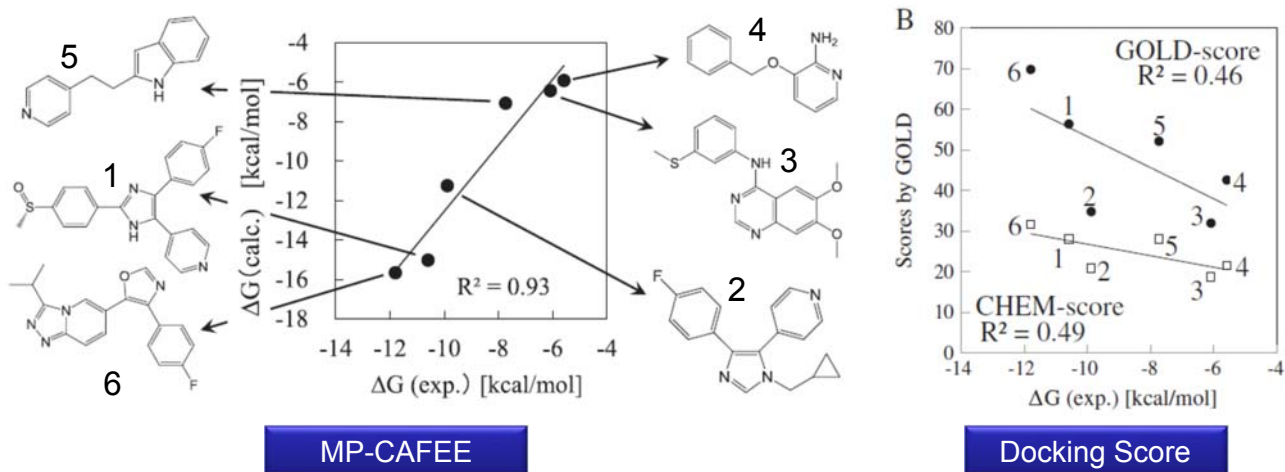
タンパク質-リガンド相互作用強度:  $\lambda_i$



東京大学藤谷先生のご講演内容を参考に作成

# 最近のMP-CAFEE検証事例

Okada, O. et al., Prediction of the binding affinity of compounds with diverse scaffolds by MP-CAFEE. *Biophys Chem.* 2013 Oct-Nov;180-181:119-26.

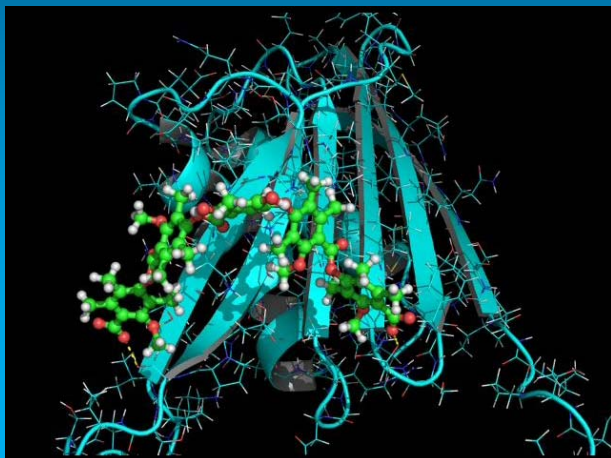


一般に、構造活性相関は、共通母格を有する化合物シリーズで評価することが暗黙の設定であったが、この論文では、MP-CAFEEでは、異なる母格間でも構造活性相関を示すことができたことを主張

神戸大学 計算生命科学の基礎Ⅱ  
生命科学と理工学の融合による  
生命理解と健康・医療への応用

分子動力学計算を活用した  
インシリコ創薬

本日の講義メニュー



分子動力学計算(MD)とは？

分子モデリングで、他の計算技術と合わせてMDを活用する！

MDを利用して結合エネルギーを高精度に算出したい！

作用機序を調べる：長時間MD？それとも短時間MD？

MDトラジェクトリを利用した化合物スクリーニング

# 長時間MD vs 工夫した短時間MD

- 長時間MD
  - MD自身は、クラシカルな手法。専用のスパコン環境が必須(例: DEShawらのAnton)
- 工夫した短時間MD
  - 溶媒の取扱いを工夫
  - 構造変化が起こりやすいように工夫
  - MDの行く末を予め指定し、そこに積極的に導く
  - 短時間MDを多数サンプリングし、アンブレラサンプリングやマルコフモデルで長時間MDに組み上げる

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

45

## 医薬品分子は、どうやって鍵穴を見つけるか？



J|A|C|S  
JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY

COMMUNICATION  
pubs.acs.org/JACS

### How Does a Drug Molecule Find Its Target Binding Site?

Yibing Shan,<sup>†</sup> Eric T. Kim,<sup>‡</sup> Michael P. Eastwood,<sup>‡</sup> Ron O. Dror,<sup>‡</sup> Markus A. Seeliger,<sup>§</sup> and David E. Shaw<sup>\*,†,§</sup>

<sup>†</sup>D. E. Shaw Research, New York, New York 10036, United States

<sup>‡</sup>Center for Computational Biology and Bioinformatics, Columbia University, New York, New York 10032, United States

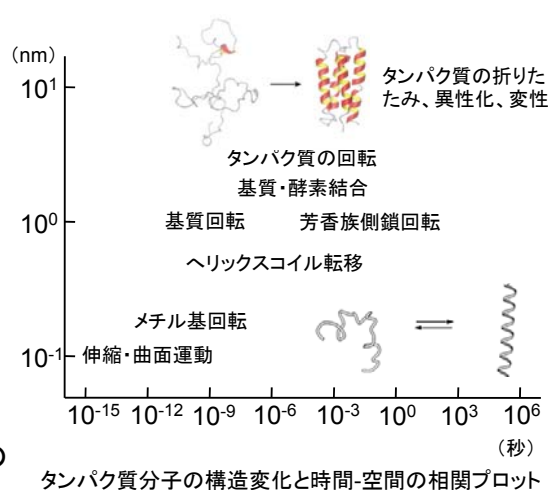
<sup>§</sup>Department of Pharmacological Sciences, Stony Brook University, Stony Brook, New York 11794, United States

### D.E. Shaw研究所

- D.E. Shaw氏は、世界最大規模のヘッジファンド D.E. Shaw & Coの創立者。運用資産2.5兆円。現在は、D.E. Shaw Researchのチーフサイエンティスト。MDのアルゴリズムやAntonシステムの開発を行っている。同研究所の運用費用はShaw氏のポケットマネーで賄われていると言われている。

### Anton

- 分子動力学(Molecular Dynamics:MD)計算専用のスパコン。2万3,558原子のDHFRでは10.4 $\mu$ s/day、11万6,650原子のT7Ligでは3.06 $\mu$ s/dayの性能を達成。
- これまでの汎用スーパーコンピュータでは、1日かかって100ns程度に相当するシミュレーションしか出来ず、msのシミュレーションには何万日も掛かってしまうのが現状。



2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

46



# 医薬品分子は、どうやって鍵穴を見つけるか？



## How Does a Drug Molecule Find Its Target Binding Site?

Yibing Shan,<sup>†</sup> Eric T. Kim,<sup>†</sup> Michael P. Eastwood,<sup>†</sup> Ron O. Dror,<sup>†</sup> Markus A. Seeliger,<sup>§</sup> and David E. Shaw<sup>\*,†,‡</sup>

<sup>†</sup>D. E. Shaw Research, New York, New York 10036, United States

<sup>‡</sup>Center for Computational Biology and Bioinformatics, Columbia University, New York, New York 10032, United States

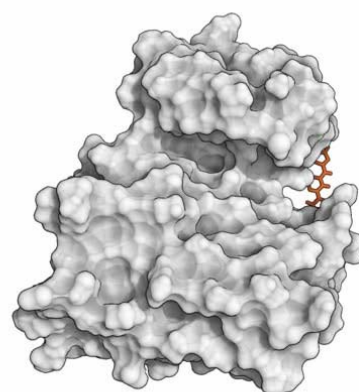
<sup>§</sup>Department of Pharmacological Sciences, Stony Brook University, Stony Brook, New York 11794, United States

### D.E. Shaw研究所

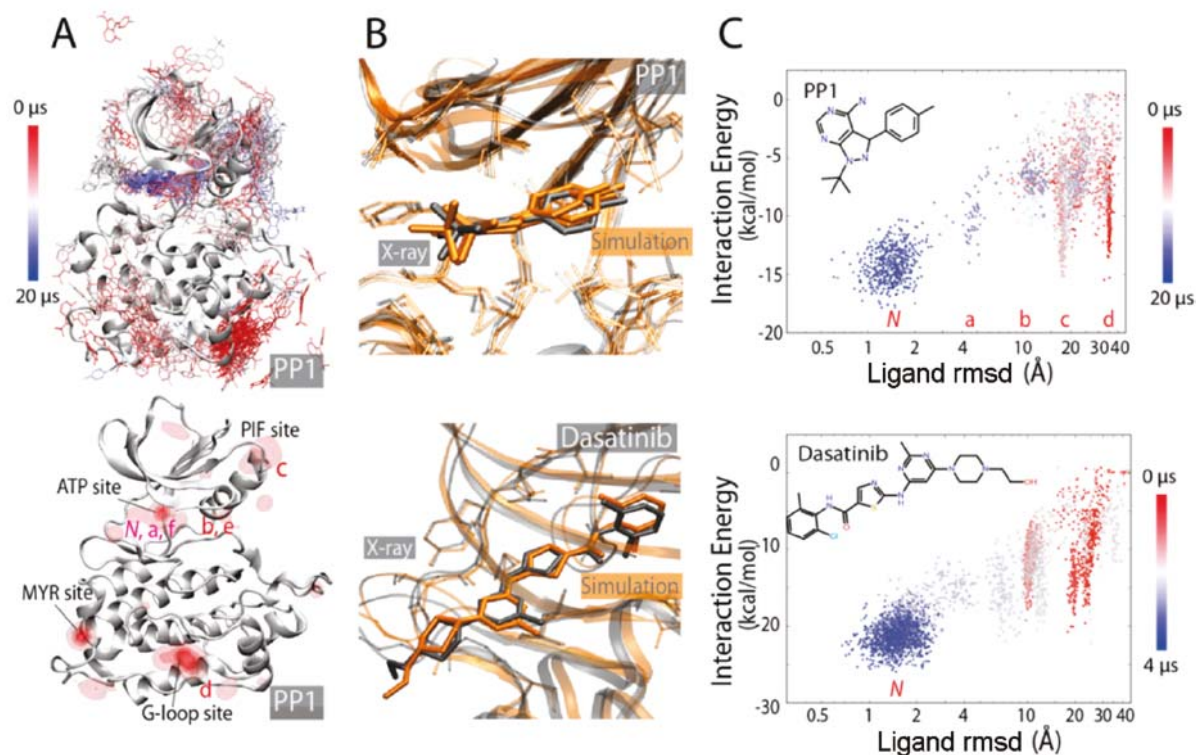
- D.E. Shaw氏は、世界最大規模のヘッジファンド D.E. Shaw & Coの創立者。運用資産2.5兆円。現在は、D.E. Shaw Researchのチーフサイエンティスト。MDのアルゴリズムやAntonシステムの開発を行っている。同研究所の運用費用はShaw氏のポケットマネーで賄われていると言われている。

### Anton

- 分子動力学(Molecular Dynamics:MD)計算専用のスパコン。2万3,558原子のDHFRでは10.4 $\mu$ s/day、11万6,650原子のT7Ligでは3.06 $\mu$ s/dayの性能を達成。
- これまでの汎用スーパーコンピュータでは、1日かかって100ns程度に相当するシミュレーションしか出来ず、msのシミュレーションには何万日も掛かってしまうのが現状。

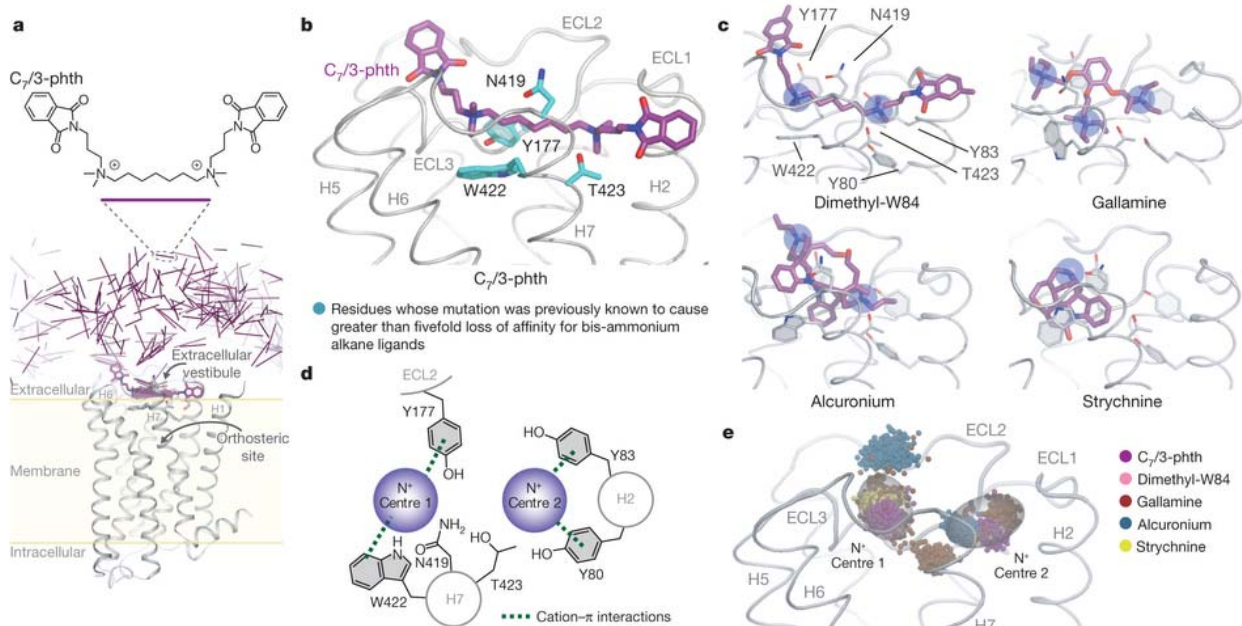


# 医薬品分子は、どうやって鍵穴を見つけるか？



# MDによるallosteric drugsの結合予測 (DEShaw)

Dror RO et al., Structural basis for modulation of a G-protein-coupled receptor by allosteric drugs., Nature. 2013, 503(7475):295-9.



**a**, C<sub>7</sub>/3-phth diffuses freely before binding stably in the M2 receptor extracellular vestibule. The C<sub>7</sub>/3-phth position at various times is represented by a stick connecting its two ammonium groups. (Top: C<sub>7</sub>/3-phth structure.) **b**, Typical bound pose of C<sub>7</sub>/3-phth (purple). Residues known to reduce binding greater than fivefold upon mutation (cyan) all contact C<sub>7</sub>/3-phth more than 90% of the time after it binds. **c**, Typical bound poses for dimethyl-W84, gallamine, strychnine and alcuronium. Ammonium groups are highlighted (blue disks). **d**, Schematic representation of the ammonium binding centres. **e**, Bound locations of modulator ammonium groups (spheres). C<sub>7</sub>/3-phth, dimethyl-W84 and gallamine each occupy centres 1 and 2 (grey ellipsoids); strychnine occupies only centre 1, and alcuronium only centre 2. The position of each centre varies slightly depending on the bound modulator because the surrounding residues reposition to accommodate the modulator. The third gallamine ammonium and the second of alcuronium lie outside the two centres (alcuronium cannot occupy both simultaneously owing to its geometry).

2015年12月2日

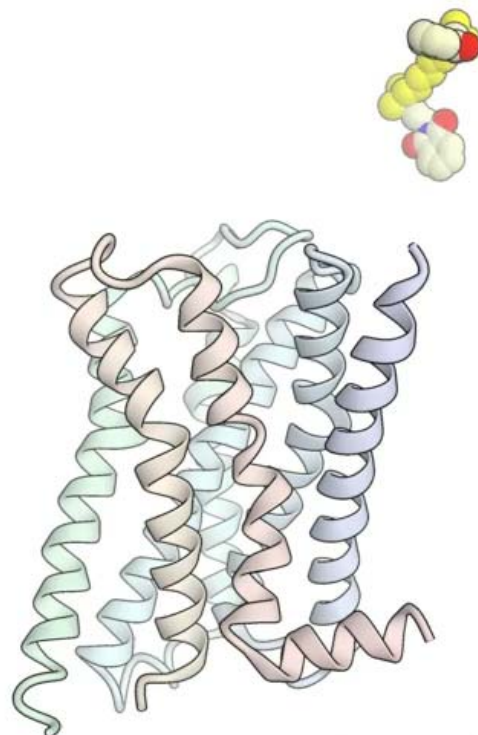
© 2015 Takatsugu Hirokawa

49

# MDによるallosteric drugsの結合予測 (DEShaw)

Dror RO et al., Structural basis for modulation of a G-protein-coupled receptor by allosteric drugs., Nature. 2013, 503(7475):295-9.

0.0 us



Dror et al., Nature 2013

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

50

# Accelerated MD (aMD) : 短時間MDで効率的なサンプリング

Hamelberg D, Mongan J, McCammon JA. "Accelerated molecular dynamics: a promising and efficient simulation method for biomolecules", J Chem Phys. 2004 Jun 22;120(24):11919-29.

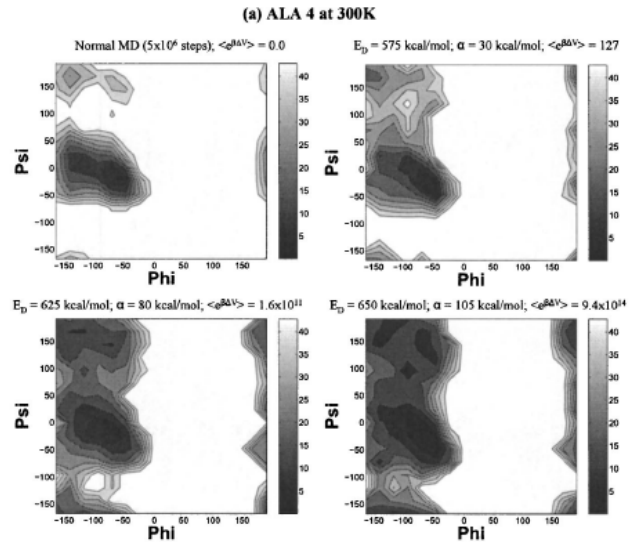
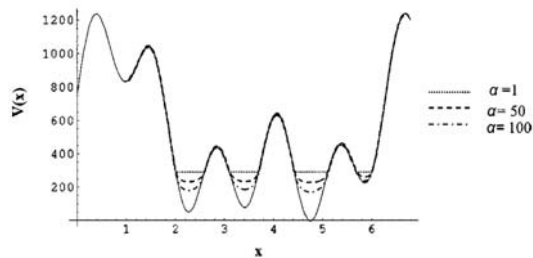
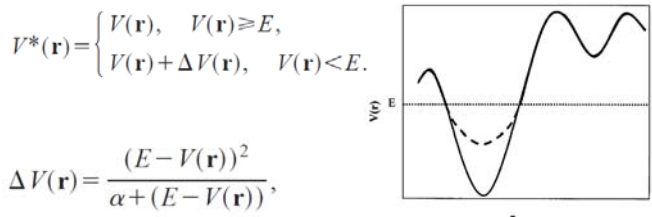


FIG. 8. Backbone torsional angles of the fourth alanine residue of hepta-alanine at (a) 300 K and (b) 400 K shown as free energy (kcal/mol) plots for the normal MD simulation and several accelerated MD simulations at various and increasing values of  $E_D$ . Darker regions indicate potential energy wells and are heavily sampled.

# aMDによるDFG flipの構造変化解析

Insights into MAPK p38alpha DFG flip mechanism by accelerated molecular dynamics.  
Filomia F, De Rienzo F, Menziani MC.  
Bioorg Med Chem. 2010 Sep 15;18(18):6805-12

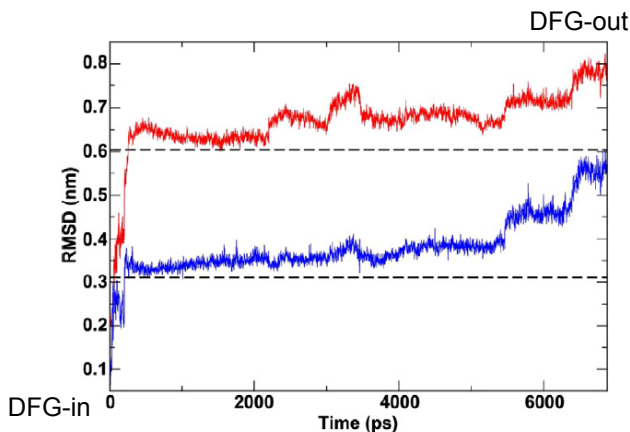


Figure 2. RMSD value evolution: RMSD value of all the DFG motif atoms (red curve, RMSD-in) and backbone DFG motif atoms (blue curve) calculated with respect to the corresponding atoms in the initial DFG-in conformation (PDB ID: 1P38), during the AMD simulation.

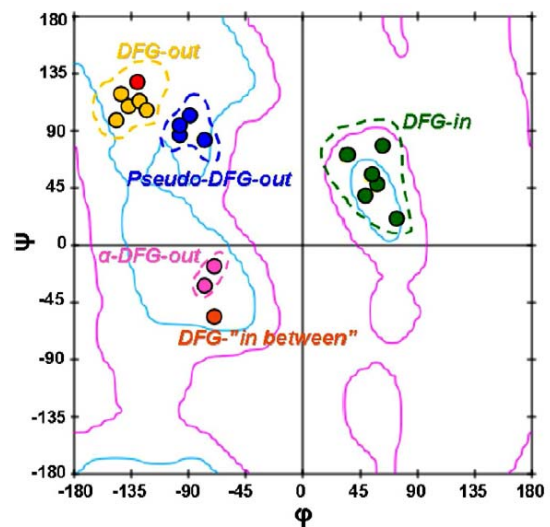


Figure 3. Ramachandran plot for the  $\phi$  and  $\psi$  angles of D<sup>188</sup> in the experimental p38 $\alpha$  DFG-out conformation; in the experimental p38 $\alpha$  DFG-in conformation; in the X-ray structures of a representative crystal complex (orange; PDBID: 3IW6) and in the DFG mutants F169G and F169R (pink; PDBID: 2PV8 and 2PTJ), which present DFG intermediate conformations, named DFG-'in between' and  $\alpha$ -DFG-out, respectively; and in the computed pseudo-DFG-out conformation (blue). The inner contours (cyan) enclose preferred conformational regions, and the outer contours (pink) enclose allowed regions for all amino acids but prolines and glycines.



# aAMDによるDFG flipの構造変化解析

Insights into MAPK p38alpha DFG flip mechanism by accelerated molecular dynamics.

Filomia F, De Rienzo F, Menziani MC.

Bioorg Med Chem. 2010 Sep 15;18(18):6805-12

目的とする構造が明らかな場合に有効  
Steering vectorsを与えたMD  
(Gromacsで設定可能)

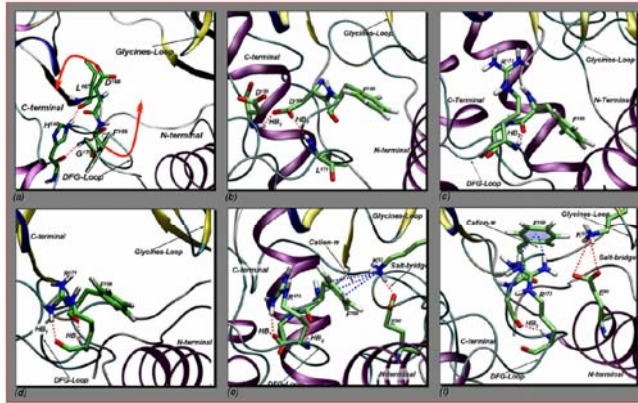


Figure 6. Mechanism proposed for the transition from the DFG-in conformation (a) to the DFG-out conformation (f) through the intermediate pseudo-DFG-out conformations (b to e). The orientation of the highlighted residues are referred to Fig. 1. The DFG-loop and the active site residues are in sticks with colour code: C atoms: green; N atoms: blue; O atoms: red; H atoms white. H-bonds are indicated with red dotted lines; cation- $\pi$  interactions are indicated with blue dotted lines. The orange arrows in (a) point out the directions of the applied vectors.

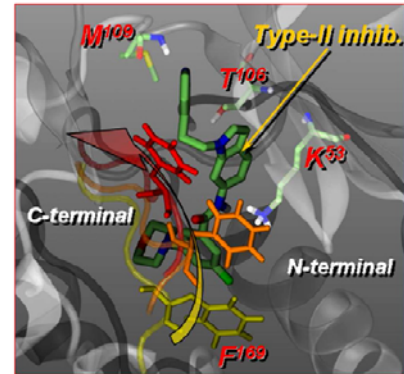


Figure 7. Type-II inhibitor BIRB796 docked into three MD trajectory snapshots illustrating the first steps of the DFG flip. The final DFG-out conformation is not shown.

# GPCRを標的としたMD計算

The longest single atomistic MD (30 $\mu$ s)

Rosenbaum DM et al., Structure and function of an irreversible agonist- $\beta$ (2) adrenoceptor complex. Nature. 2011 Jan 13;469(7329):236-40.

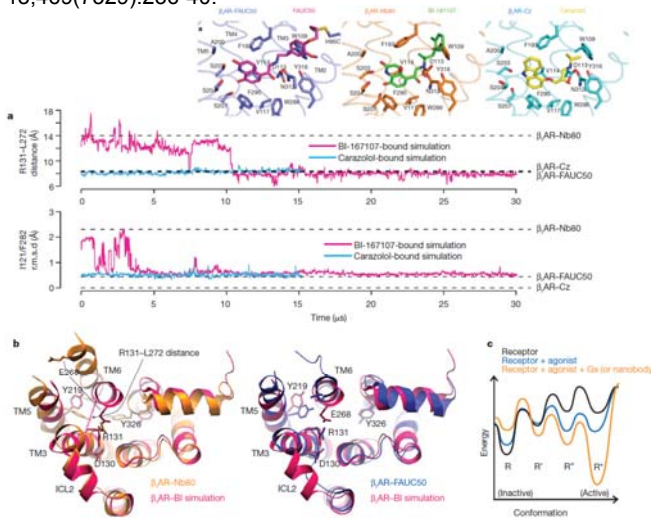


Figure 3 | Molecular dynamics simulations. a, An unbiased simulation initiated from the nanobody complex ( $\beta_2$ AR-Nb80) structure, with the agonist BI-167107 bound but the nanobody removed (magenta), and a carazolol-bound simulation initiated from the inactive structure ( $\beta_2$ AR-Cz) (blue). Top: distance between C $\alpha$  atoms of Arg 131<sup>200</sup> and Leu 272<sup>201</sup>, and bottom, r.m.s.d. (root mean squared deviation) from the inactive structure of non-symmetric non-hydrogen atoms in residues Ile 121<sup>198</sup> and Phe 282<sup>199</sup>. Dashed lines indicate corresponding quantities from crystal structures. b, Cytoplasmic view of the simulated agonist-receptor complex after 30  $\mu$ s, compared to the  $\beta_2$ AR-Nb80 (left) and  $\beta_2$ AR-FAUC50 (right) structures. The conformations of intracellular loop 2, Tyr 219<sup>198</sup> and Glu 268<sup>197</sup> shown for the agonist-bound simulation differ from  $\beta_2$ AR-FAUC50, but have been observed in inactive  $\beta_2$ AR simulations<sup>48</sup> and in other inactive-state GPCR structures<sup>4</sup>. c, Proposed energy landscape model, in which both an agonist and a cytoplasmic binding partner are required to stabilize the fully active receptor conformation (R'') over intermediate (R' and R'') and inactive (R) states.

Accelerated MD (~400ns)

Tikhonova IG et al., Simulations of Biased Agonists in the  $\beta_2$  Adrenergic Receptor with Accelerated Molecular Dynamics. Biochemistry. 2013 Aug 20;52(33):5593-603

作用機序の異なる2つのアゴニストを用いてMDによりランドスケープを解析

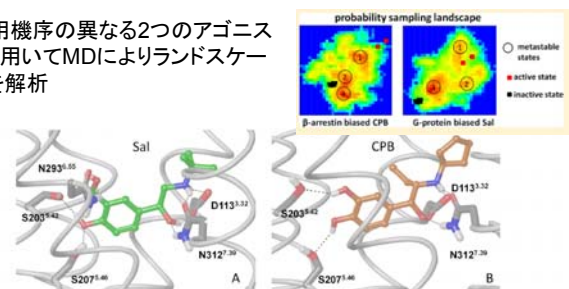


Figure 1. Binding mode of salbutamol (Sal) and N-cyclopropylbutanephene (CPB) in the  $\beta_2$  adrenergic receptor ( $\beta_2$ AR).

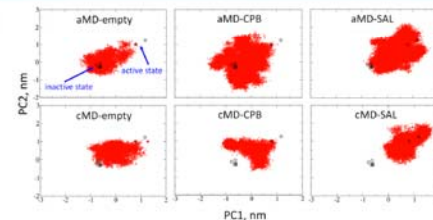


Figure 2. Projection of the receptor conformational space simulated by cMD and aMD onto the two lowest principal components produced from the analysis of all simulated trajectories. The projection of the crystal structures is in black. The two black dots with positive values along PC1 correspond to the projections of the active states (the  $\beta_2$ AR crystal structures with the G protein-like antibody and the Gs protein).

# GB溶媒和によるMD: 大きな構造変化

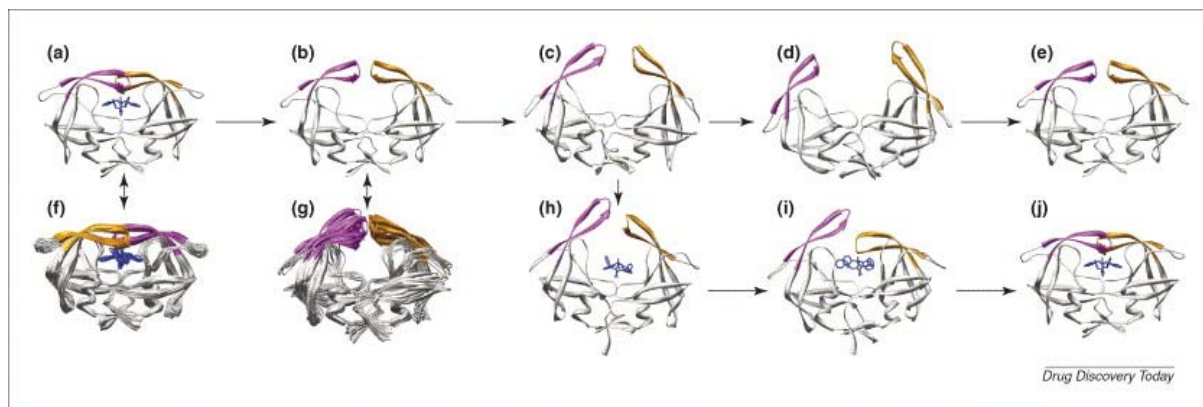


FIGURE 2

Snapshots from molecular dynamics simulations of inhibitor-bound and free protease, and from simulations following the manual docking of the inhibitor into the binding site. The 'closed' conformation (a) is represented by an ensemble of closed structures with high similarity (f). By contrast, the 'semi-open' conformation (b) represents a much more flexible ensemble (g) with larger fluctuations of the flaps. These eventually lead to full opening of flaps (c,d); the 'open' form is transient and returns to the semi-open conformation (e). When the inhibitor is manually placed into a binding site (h), it induces an asymmetric flap closure with initial closing of one of the flaps (i), finally converting to the fully closed form (j) with flaps pulled into the binding site and flap handedness appropriate for the closed state.

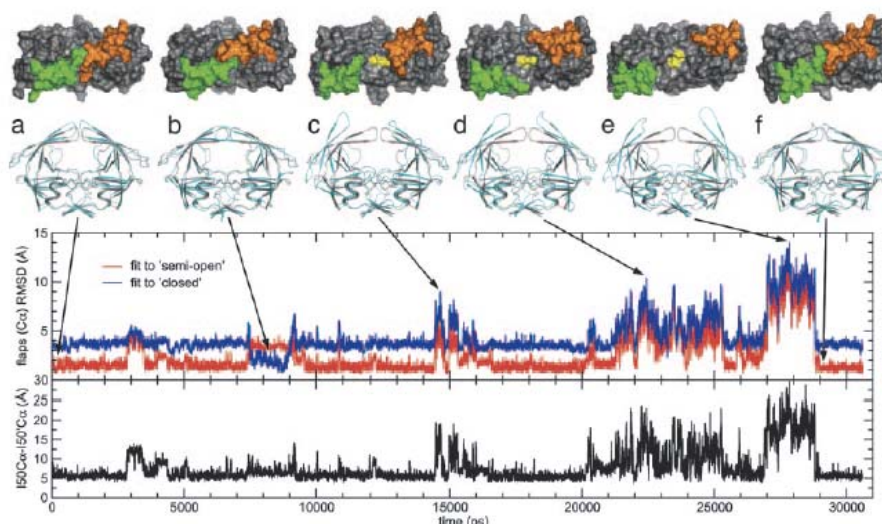
## Targeting Structural Flexibility in HIV-1 protease inhibitor binding (Hornak and Simmerling, DDT 12, 2007)

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

55

# GB溶媒和によるMD: 大きな構造変化



30ns程度!

Fig. 4. Flaps RMSD and flap tips distance for free HIV-PR simulation started from a semiopen crystal structure. Snapshots (cartoon diagrams, side view) along the trajectory (cyan) are shown overlapped on the semiopen crystal structure (gray). Surface representations (top view) depict flap handedness and access to the active site, with the two flaps in green/orange and the catalytic Asp-25/25' in yellow. The semiopen conformation is prevalent (low RMSDs for red line). Note that the transiently sampled closed structure (structure b) has the flap handedness characteristic of bound (closed) crystal structures, even though flaps do not become fully pulled into the active site in this simulations. Large flap openings are sampled (structures c-e), with flap tip distances reaching ~30 Å and subsequently returning to the semiopen form (structures e-f).

## HIV-1 protease flaps spontaneously open and reclose in molecular dynamics simulations

PNAS | January 24, 2006 | vol. 103 | no. 4 | 915-920

Viktor Hornak\*, Asim Okur<sup>†</sup>, Robert C. Rizzo<sup>‡§</sup>, and Carlos Simmerling<sup>\*†§¶</sup>

2015年12月2日

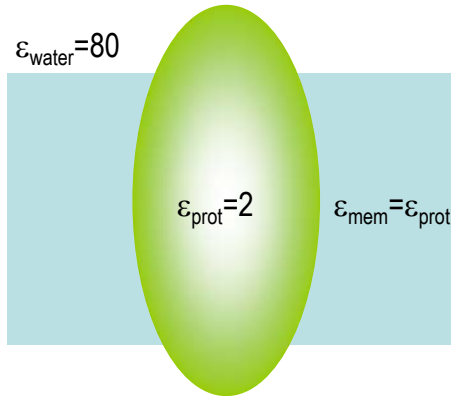
© 2015 Takatsugu Hirokawa

56



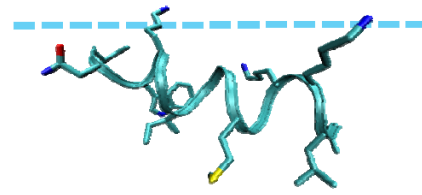
# 膜GBによる膜への相互作用予測

GBSA/IM model (Spassov et al., 2002)

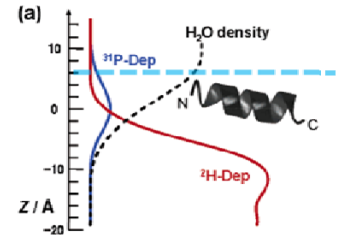


- Approximate membrane as a planar dielectric slab
- Assume membrane has same dielectric constant as protein
- Approximate effective atomic Born radii ( $\alpha$ ) for the membrane as a simple empirical function

膜を誘電体として近似し(膜GBエネルギー)MD計算。  
脂質の粘性高い→近似により1億倍以上高速化。構  
造だけでなく、膜中での配置(深さ・向き)も一致



計算 (B 構造)

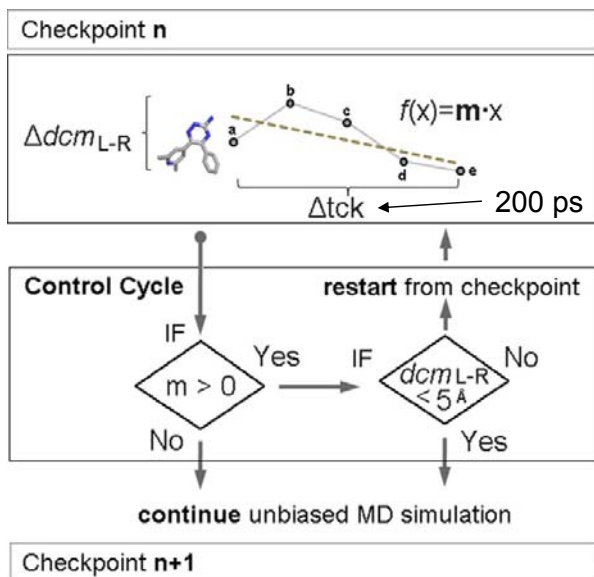


実験(固体NMR)

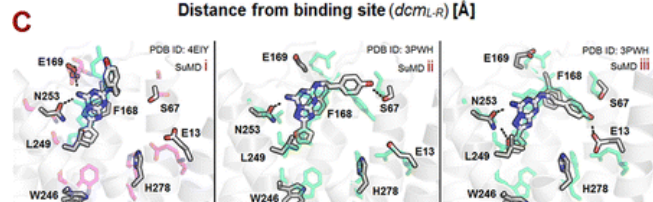
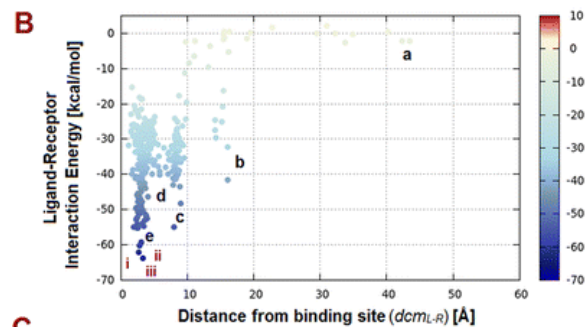
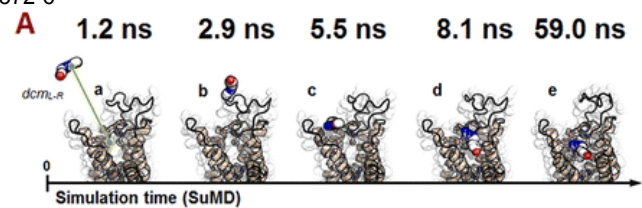
Ikedak, KamedaT et al: JPC b (2011)

## Supervised Molecular Dynamics (SuMD) : 短い計算時間でGPCR-Ligand結合シミュレーションを行う方法

Sabbadin D1, Moro S. "Supervised Molecular Dynamics (SuMD) as a Helpful Tool To Depict GPCR-Ligand Recognition Pathway in a Nanosecond Time Scale.", J Chem Inf Model. 2014 Feb 24;54(2):372-6

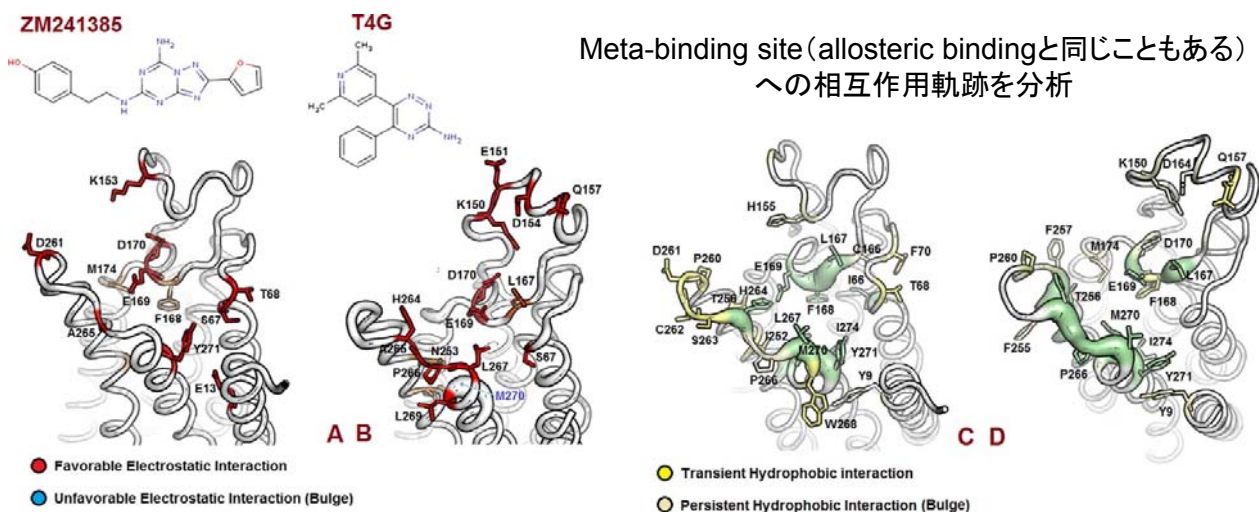


Scheme of the ligand-receptor distance vector ( $dcm_{L-R}$ ) supervision algorithm implemented in the supervised molecular dynamics (SuMD) technique.



# Supervised Molecular Dynamics (SuMD) : 短い計算時間でGPCR-Ligand結合シミュレーションを行う方法

Sabbadin D1, Moro S. "Supervised Molecular Dynamics (SuMD) as a Helpful Tool To Depict GPCR-Ligand Recognition Pathway in a Nanosecond Time Scale.", J Chem Inf Model. 2014 Feb 24;54(2):372-6

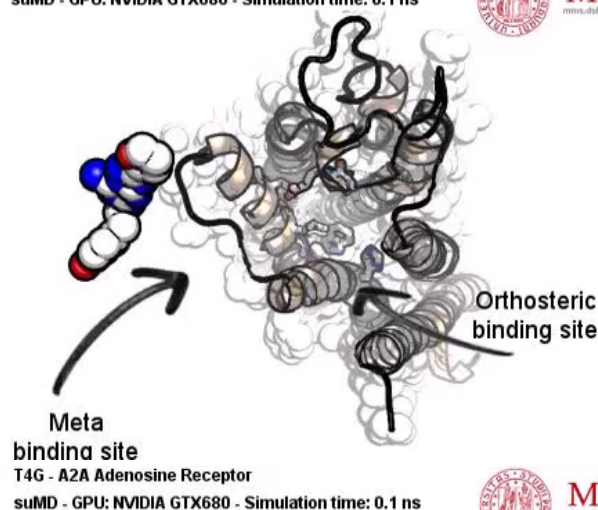
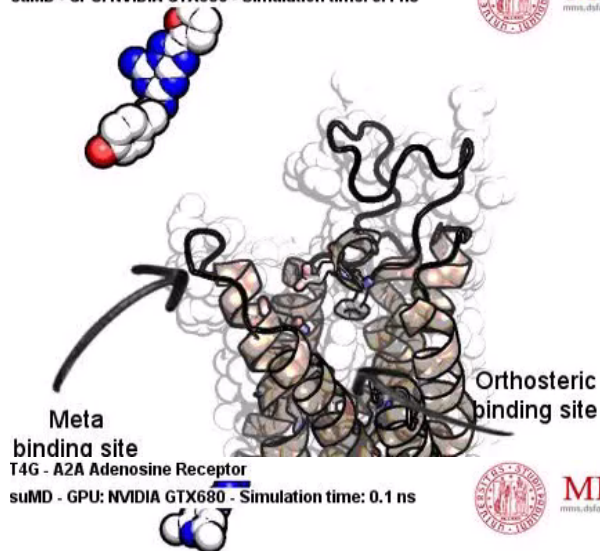


Electrostatic (A, B) and hydrophobic (C, D) contributions to the interaction energy of each receptor residue involved in the binding with the high affinity h2A AR antagonists ZM241385 and T4G during the metabinding sites recognition process. Contributions to ligand binding were calculated during the first 15 ns of SuMD simulations. Ribbon representation is viewed from the extracellular side, and hydrogen atoms are not displayed.

ZM241385 - A2A Adenosine Receptor  
suMD - GPU: NVIDIA GTX680 - Simulation time: 0.1 ns



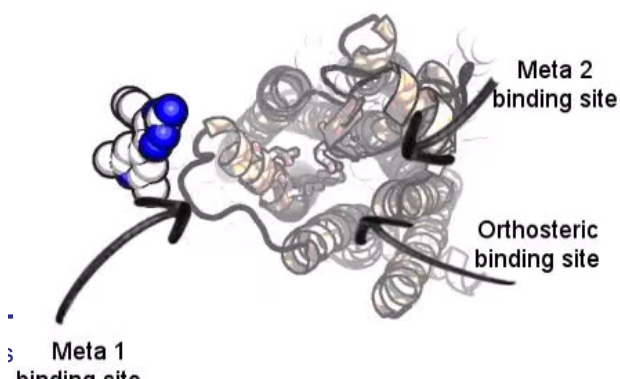
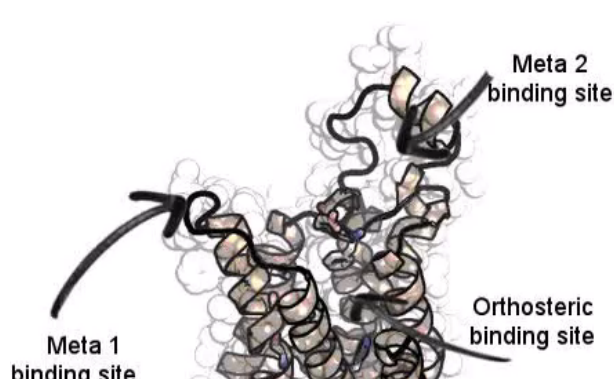
ZM241385 - A2A Adenosine Receptor  
suMD - GPU: NVIDIA GTX680 - Simulation time: 0.1 ns



T4G - A2A Adenosine Receptor  
suMD - GPU: NVIDIA GTX680 - Simulation time: 0.1 ns



T4G - A2A Adenosine Receptor  
suMD - GPU: NVIDIA GTX680 - Simulation time: 0.1 ns

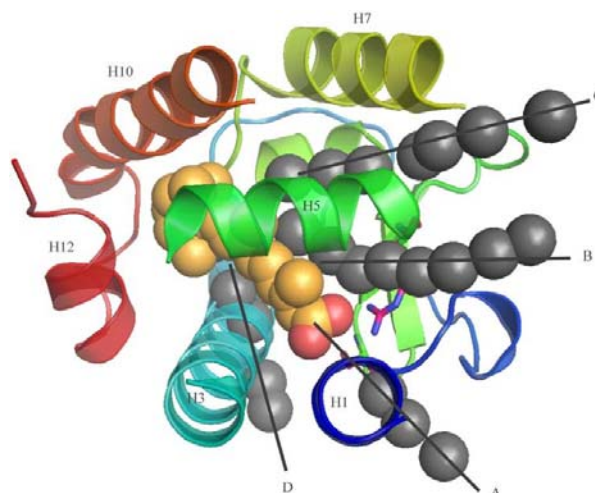
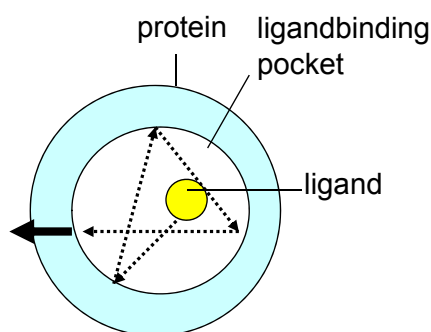


# RAMD Steered MDを用いたUnbinding解析

Unbinding of retinoic acid from the retinoic acid receptor by random expulsion molecular dynamics.

Carlsson P, Burendahl S, Nilsson L. Biophys J. 2006 Nov 1;91(9):3151-61.

Random Acceleration MD (RAMD)を Retinoic Acid Receptorとligandの Unbindingメカニズム解析に活用



- Retinoic acid ligand can unbind the receptor without causing major conformational changes.
- None of the pathways exit close to helix 12
  - A binding/unbinding mechanism, different to the previously suggested mechanism

# 自由エネルギー地形解析

Kondo HX et al., Free-energy landscapes of protein domain movements upon ligand binding. J Phys Chem B. 2011 Jun 16;115(23):7629-36.

いくつかの構造状態からMDを実施。アンブレラサンプリングにより、自由エネルギー (Potential of mean force) を算出し自由エネルギー地形解析を実施

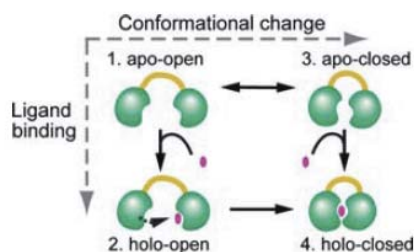


Figure 1. Two representative models for protein conformational change, the induced-fit and preexisting equilibrium dynamics models. The horizontal and vertical axes represent conformational change and ligand binding, respectively. The pathways 1-2-3 and 1-3-4 represent the induced-fit and preexisting equilibrium dynamics models, respectively.

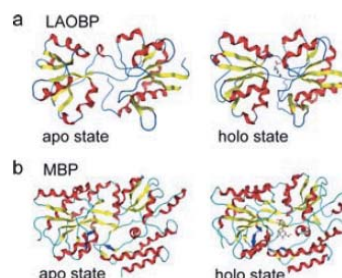
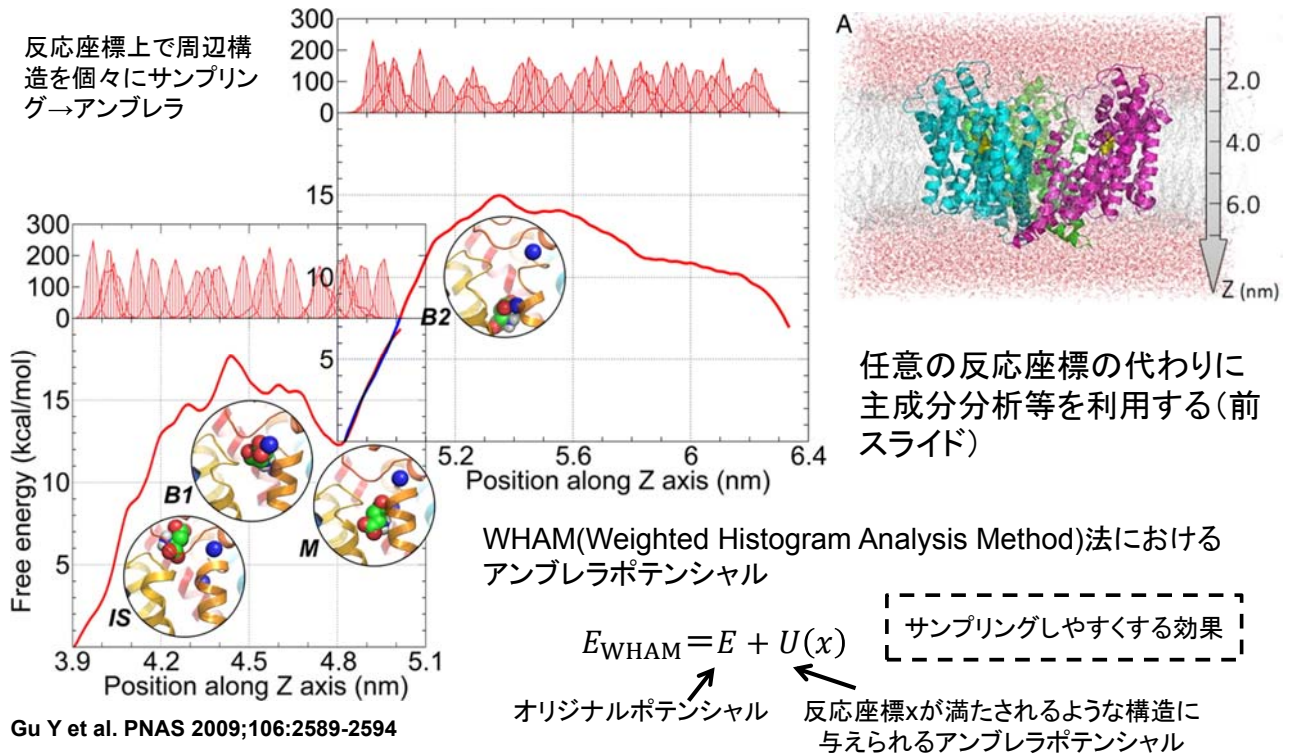


Figure 2. Crystal structures of the model proteins in the apo and holo states. (a) Front view of the crystal structures of lysine/arginine/ornithine-binding protein (LAOBP) in the presence and absence of the ligand (right and left, respectively). (b) Front view of the X-ray structures of maltose/maltodextrin-binding protein (MBP) in the presence and absence of the ligand (right and left, respectively). The residues from 170 to 175 (loop region) and those from 95 to 101 are colored blue. These are the important residues for domain movement for MBP, and the details are explained in Figure 10.



# アンブレラサンプリング



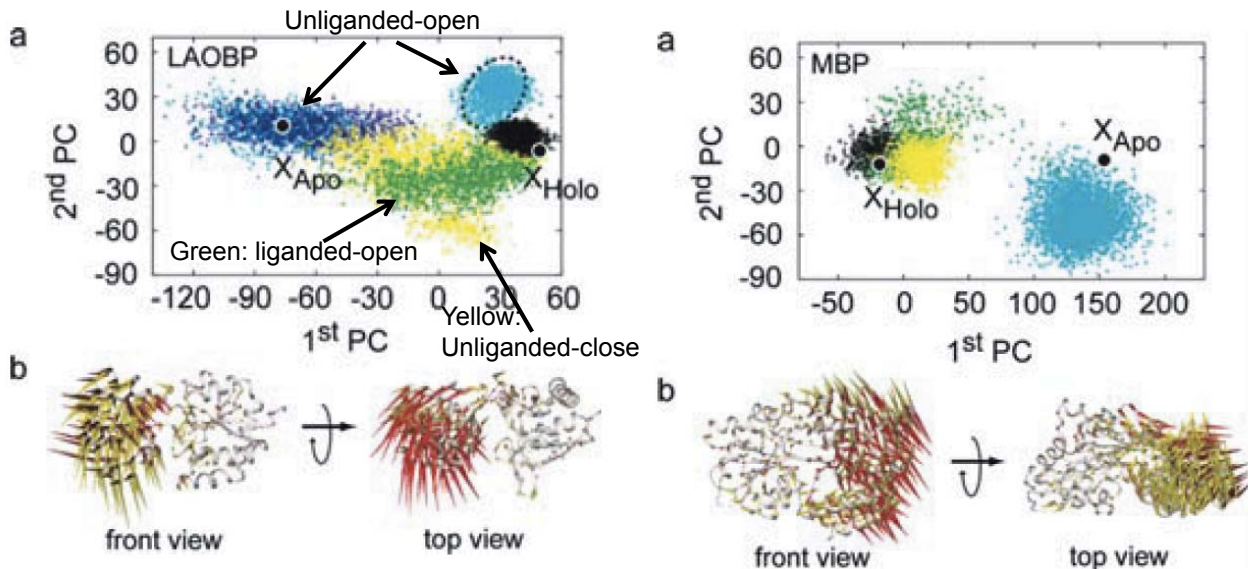
2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

63

# 自由エネルギー地形解析

Kondo HX et al., Free-energy landscapes of protein domain movements upon ligand binding. J Phys Chem B. 2011 Jun 16;115(23):7629-36.



MDのトラジェクトリで主成分分析を行い、反応座標を定義

2015年12月2日

© 2015 Takatsugu Hirokawa

64

# 自由エネルギー地形解析

Kondo HX et al., Free-energy landscapes of protein domain movements upon ligand binding. J Phys Chem B. 2011 Jun 16;115(23):7629-36.

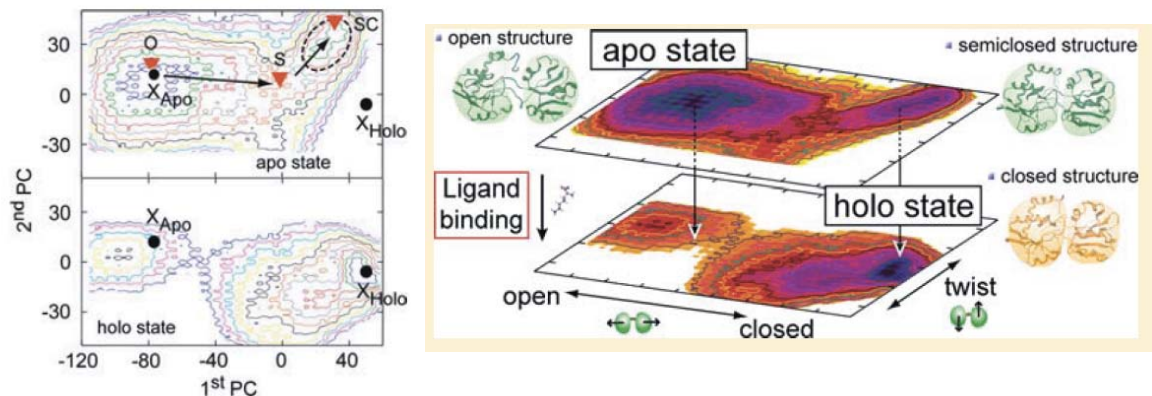


Figure 5. Free-energy landscapes of LAOBP. Free-energy landscape of the apo (upper) and holo (lower) states. As the first PC value increases, the degree of domain closure increases.  $X_{Apo}$  and  $X_{Holo}$  represent the open (apo) and closed (holo) crystal structures, respectively, and the region around the circle drawn with a broken line represents the semiclosed conformation. Contour lines are drawn at every 2 kcal/mol. O, S, and SC indicate the open, saddle, and semiclosed conformations, respectively.

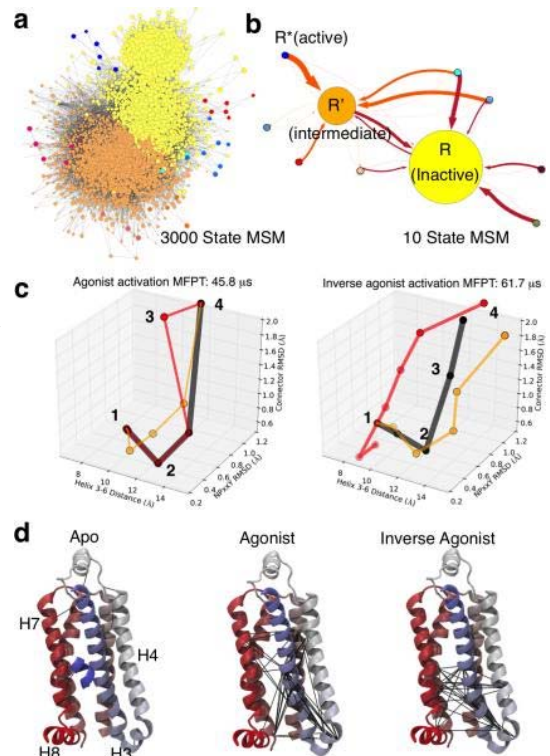
反応座標に沿ってアンブレラサンプリングを実施。自由エネルギー地形を作成

## クラウドを用いた部分MD計算とマルコフモデルによる統合

Cloud-based simulations on Google Exacycle reveal ligand modulation of GPCR activation pathways.

Kohlhoff K.J. et al., Nat Chem. 2014; 6:15-21

- Google Exacycleクラウド環境で短時間MDを多数発生させ、マルコフモデルによってマイクロ~ミリ秒相当のMDシミュレーションに構築した
- $\beta 2$ アドレナリン受容体(GPCR)に適用し、DEShawらの長時間MDの結果や実験結果と比較
- 活性型から不活性型への構造変化パスウェイを構築

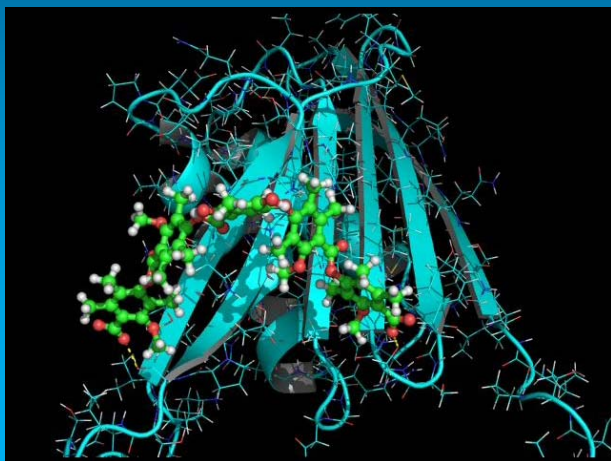


Markov State models and high flux activation pathways for agonist and inverse agonist bound simulations(a) Network representation of the 3000 state MSM built from the simulations of agonist bound GPCR with each circle representing an individual conformational state. (b) 10 State MSMs built from the 3000 state MSMs using spectral clustering methods to identify kinetically relevant states. The circles in the 3000 state MSM are colored according to their membership in the coarse-grained 10 state MSM. The weight of arrow indicates the transition probability between states. (c) Pathways are shown as states (circles) connected along the 3-D reaction coordinate used, in part, to build the MSM. Pathway connections are scaled by the path flux relative to the highest flux in black; for inverse agonist pathways, red is 61% and orange is 51% of the max; for agonist red: 48% and orange: 35%. (d) Mutual information networks of dynamically correlated residues. Black lines indicate connected residue pairs, and only helices 3-7 are shown in the image for clarity. Agonist bound simulations reveal a network of residues that connect the extra and intracellular parts of the receptor to stabilize active states, whereas inverse agonist eliminates these connections and blocks activation.



分子動力学計算を活用した  
 インシリコ創薬

本日の講義メニュー



分子動力学計算(MD)とは？

分子モデリングで、他の計算技術と合わせてMDを活用する！

MDを利用して結合エネルギーを高精度に算出したい！

作用機序を調べる：長時間MD？それとも短時間MD？

MDトラジェクトリ-を利用した化合物スクリーニング

MDトラジェクトリ-を活用したアンサンブルドッキング

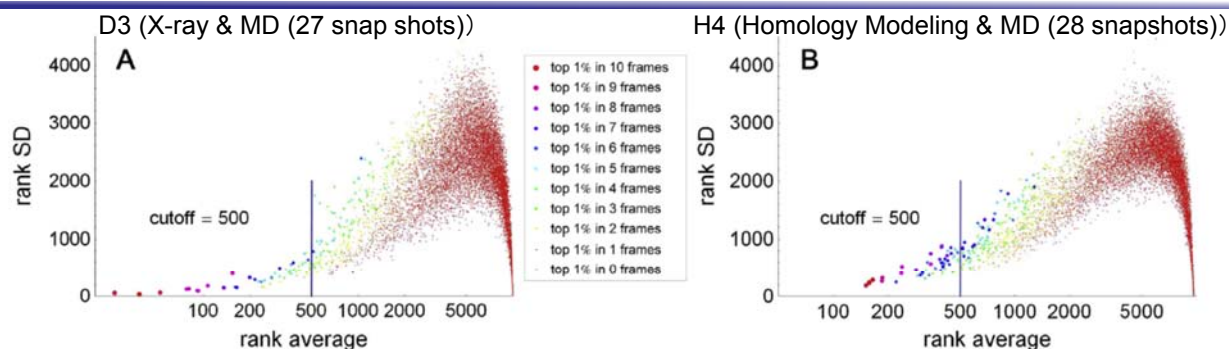


Fig. 3. Log-linear plot of fragment rank averages and standard deviations of ranks in the ensemble docking approach for A) the D3 receptor and B) for the H4 receptor. Rank standard deviation is plotted against rank average calculated from the ranks obtained in the representative receptor structures for the 12,905 fragments. Markers are size and color coded by the number of receptor frames in which the fragment fell within the top 1% of the ranked library. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

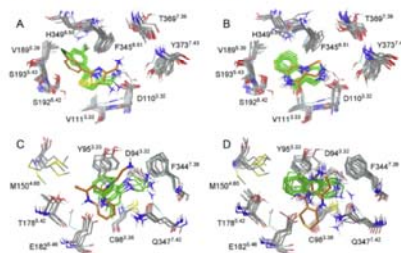


Fig. 4. Interaction modes of selected fragments from obtained by single structure and ensemble docking. A) In the D3 binding pocket. B) In the H4 binding pocket. C) With the H4 binding pocket. D) In the H4 binding pocket. Selected interacting amino acids of the crystal structure and the homology model are shown in light blue. Residues of the representative MD frames in gray single structure docked fragments are in orange and ensemble docked poses in green. Residues: In A) and B) Phe407<sup>D3</sup>, Asp207<sup>D3</sup> and Ser190<sup>D3</sup> are omitted for clarity. In C) and D) Tyr110<sup>H4</sup> and Leu175<sup>H4</sup> are omitted for clarity. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

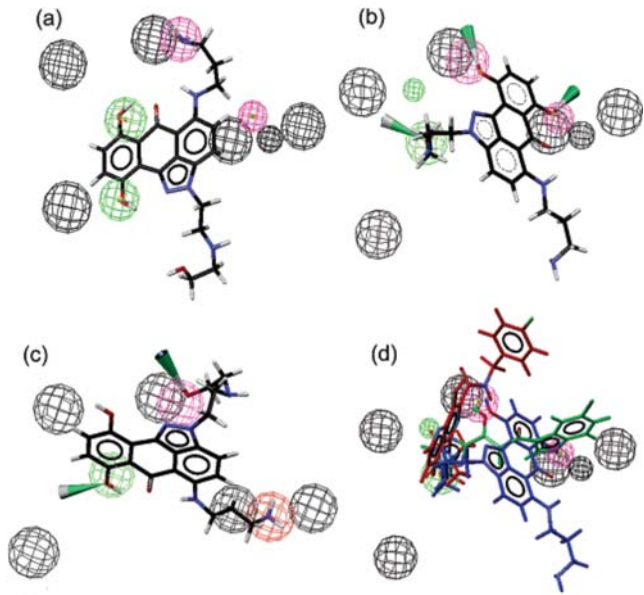
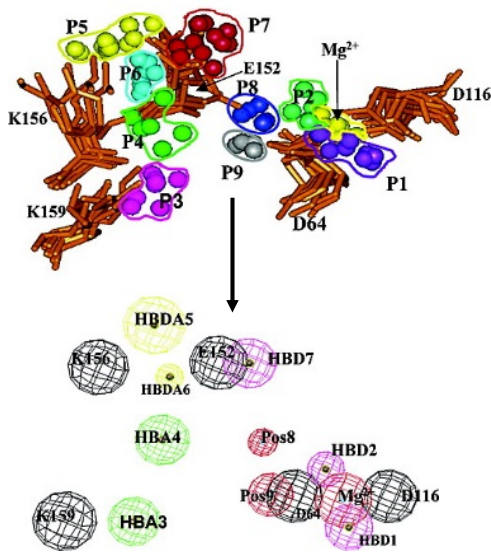
MDは20ns実施。リガンド周辺5Åのアミノ酸残基のクラスタリングにより代表構造を決定

Table 1  
 Hit rate statistics for the two receptors considered in this study. Hits are defined as showing higher than 20% inhibition in the D3 and H4 radioligand binding assays.

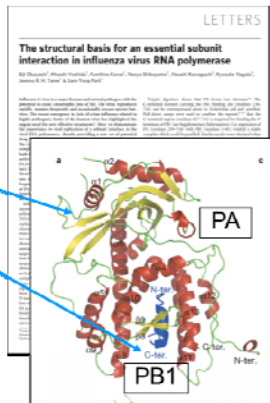
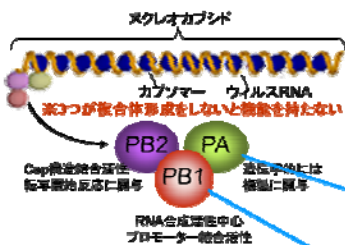
	D3	H4
Combined hit rate	25/92 (27%)	15/85 (18%)
Single structure hit rate	9/50 (18%)	11/50 (22%)
Ensemble docking hit rate	18/56 (32%)	8/50 (16%)
Overlap between hit sets	2/25 (8%)	4/15 (27%)

# MDで得られた揺らぎ情報をファルマコフォアへ

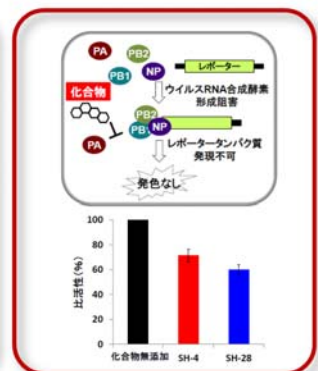
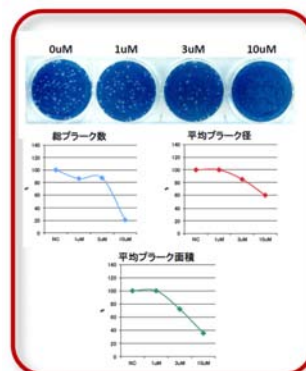
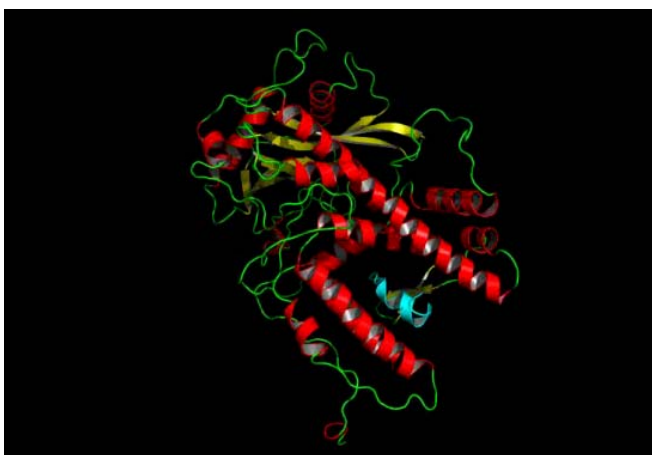
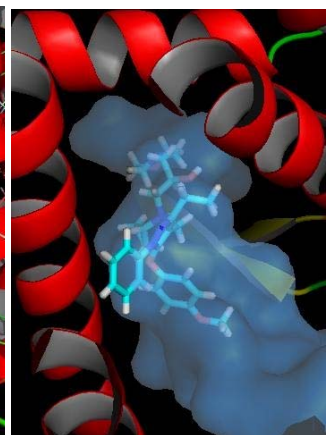
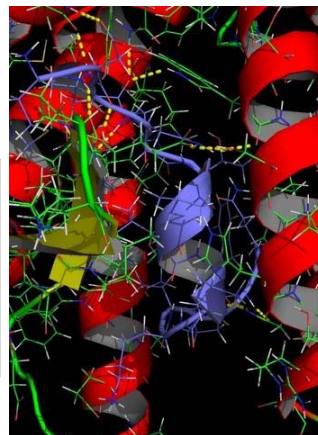
Deng J et al., Dynamic pharmacophore model optimization: identification of novel HIV-1 integrase inhibitors. J Med Chem. 2006 Mar 9;49(5):1684-92.



タンパク質のMDのトラジェクトリーからタンパク質ファルマコフォアをモデリングし、化合物検索に活用している。これをDynamic pharmacophore modelを提唱している



1. PA-PB1複合体結晶構造が解明 (Nature 454, 2008)
2. Structure-Based Drug Designが可能
3. 複製、転写など生命維持に重要なユニットのため種間での保存性が高く、薬剤耐性による遺伝子変異が起こりにくい



筑波大学、東京都医学総合研究所、横浜市立大学との共同研究

## まとめ

---

- 超並列計算環境を用いた大規模MD計算が注目を浴びているが、サンプリング効率の高いaMDや、suMD、マルコフ過程による長時間MDシミュレーションの構築も発展してきている
  - 目的に応じた分子シミュレーション技術の使い分けが重要
- MD計算とポケット解析を組み合わせた、Druggable pocket予測や、Induced-fitモデルが今後も注目される。
- エネルギー評価は重要であるが、ファルマコフォアや相互作用フィンガープリントなどの表現方法を分子設計に役立てることも重要