

DISCOVERY STUDIO® を 使用した高分子モデリング

酵素、受容体、抗体、DNA、RNA、などの高分子の3次元構造とその特性の同定は、さまざまな研究活動の基本となっています。たとえば、低分子が結合する場所とその特性の予測や、治療用生物製剤の安定性や選択性の最適化などにも、厳密で正確な分子モデルへのアクセスが必要です。Discovery Studio は、市場をリードする検証済みの計算科学ツールを統合された形で提供し、高分子ベースの研究のあらゆる側面を支援します。

高分子ベースの設計

Discovery Studioを使用すると、次の作業を迅速かつ簡単に実行できます。

- ・ 3D構造モデルの構築
 - 3D構造データベース(PDBなど)から取得した構造の分析とクリーンアップ
 - 配列情報またはX-線解析データからのモデルの構築
 - 構造モデルの品質評価
- ・ 高分子の結合相手との相互作用の研究
 - タンパク質-タンパク質ドッキングによる、タンパク質の結合相手の予測
- ・ カ場ベースのシミュレーションの実行
 - 指定したpHにおけるタンパク質のイオン化および残基のプロトン化の予測
 - 水溶媒を露わに扱った高分子シミュレーションの実行

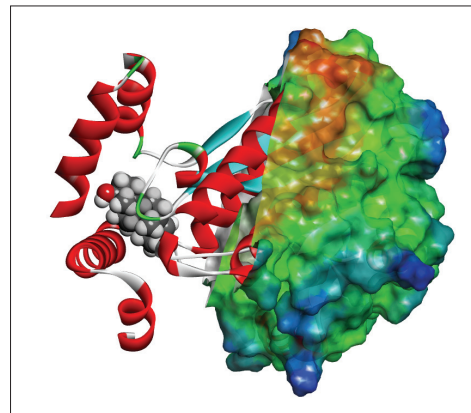


図1: リボン構造と疎水性表面により表示された、17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素タイプ1とテストステロンの複合体 [PDB: 1JTV]

- Implicit Solvation モデルまたは Implicit Membraneモデルを使用した高分子シミュレーションの実行
- ・ アミノ酸変異による高分子の特性に対する影響の予測
 - 結合親和性に対する影響
 - 熱安定性
 - タンパク質凝集

高分子: 構造データベースの利用

現在では非常に多くの高分子構造が公開または社内の構造データベースに登録されており、場合によっては、必要なモデルが既に登録されていることもあります。

- ・ RCSBデータベースの直接検索: ID、部分構造、配列のモチーフなど、シンプルな、または高度な検索条件の指定が可能です。
- ・ タンパク質レポートの作成: 取得した構造の情報や潜在的な問題を要約します。
- ・ タンパク質のクリーンアップ: 自動または手動で次の処理を実行します。
 - 標準: 原子名の標準化、“AlternativeConformation”の除去、欠落した主鎖/側鎖原子の補完
 - オプション: 水分子の除去、金属原子とタンパク質原子の間の結合の切断
- ・ 欠落したループ構造の構築: PDB SEQRES データを使用して構築し、そのコンフォメーションを最適化します。
- ・ 側鎖コンフォメーションの最適化: 欠落した残基について、CHARMMシミュレーションを使用して最適化します¹。

高分子: 配列の利用

高分子構造を常々に実験で得られるとは限りませんが、近縁関係にあるタンパク質ホモログからモデルを作成できることもあります。

- ・ テンプレートの特定
 - BLASTまたはPSI-BLASTを使用してPDBからテンプレートを検索し、対象のタンパク質に最適なテンプレートを特定します。
 - 特定の種を指定してフィルタリングすることにより、テンプレート選択の精度を高めます。
- ・ 配列の迅速かつ正確なアラインメントの実施: 多重配列アラインメントのアルゴリズムを使用して、対象の配列をテンプレート配列にアラインメントします。
 - Align123²を使用して、アラインメント済みの配列群（プロファイル）に対して、別の一連の配列をアラインメントします。
 - SALIGN³を使用して、2つのプロファイル間のアラインメントの実行や、相同性の低い領域に対する配列アラインメントの向上を実現します。

- 膜タンパク質の膜貫通ヘリックスを配列から予測します。
- 系統発生的および進化トレース法による解析ツール⁴を用いて、アミノ酸配列と構造保存性との関係を特定することも可能です。
- ・ タンパク質構造の重ね合わせ: ある範囲の残基を指定して、配列アラインメントから、あるいはC-alphaペアを利用して重ね合わせを実施できます。
 - ファイルに保存された大量のタンパク質を重ね合わせることも可能です。
- ・ ホモロジー モデルの作成
業界標準のMODELER^{5,6,7}を使用し、対象タンパク質のホモロジー モデルを自動的に作成します。
 - LOOPERアルゴリズム⁸によって主鎖のコンフォメーションを系統的に探索し、CHARMM^{9,10}を使用してランク付けを行います。
 - ループ コンフォメーションを手動でテンプレート構造から対象のモデルへコピーすることも可能です。
 - CHARMM¹を使用して、側鎖のコンフォメーションを系統的に探索します。

高分子: X-線の利用

X-線結晶学解析を活用することで、さまざまな高分子の構造を直接得られるようになりました。CNX (Crystallography and NMR Explorer)をベースとした一連の精密化ツールを利用できます。

- ・ 電子密度マップの作成: 分子構造と、それに対応するX-線反射データを使用して電子密度マップを作成します。
- ・ 完全な精密化: 剛体モデルによる最適化、焼きなまし法 (SA: Simulated Annealing)、座標最適化、占有率最適化、温度因子(B-factor)による最適化によって、モデル構造を精密化します。
- ・ HT-X PIPEの使用: タンパク質-リガンド複合体構造の構築を自動的にかつ高速に処理します。

高分子: 核酸の利用

標準的ならせんパラメータを使用して、1本鎖、2本鎖、3本鎖のDNA分子をA型、B型、Z型で迅速に構築します。

- ・ RNAおよびDNA-RNA: A型の1本鎖または2本鎖のRNAおよびDNA-RNAハイブリッド分子を作成できます。
- ・ モデルの変更: 末端のキャップとプライムの切り替えや、核酸分子同士の結合、糖成分の変更も可能です。

高分子: モデルの検証

Discovery Studio は、タンパク質モデルの品質検証に必要なツールセットを提供します。

- ・ Verify Protein (Profiles 3D): 各残基がタンパク質中の特定の3次元環境で見つかる確率を算出します。
- ・ Verify Protein (MODELER): 統計ポテンシャルを使用してモデルのコンフォメーションをスコア付けします。
- ・ ラマチャンドラン プロット: アミノ酸の Phi (ϕ) 角と Psi (ψ) 角の分布を検証します。
- ・ さまざまな参照機能: 主鎖角コンフォメーションの確認、ロータマー ライブラリ(Ponder and Richards, Sutcliffeなど)からの側鎖の偏差の確認などが用意されています。

カ場ベースの高分子モデリング

側鎖最適化、全体の構造最適化、詳細なシミュレーションなど、さまざまな手法でモデルの精密化を行います。

- ・ タンパク質イオン化とアミノ酸pK値の予測
新しい自社開発の計算手法^{11,12}をCHARMmのGeneralized-Born (GB) 溶媒モデル^{13,14,15}と共に利用して、タンパク質のイオン化を迅速かつ正確に算出します。
 - プロトンが解離し得るアミノ酸残基のpK(解離定数)と滴定曲線を予測します。
 - 予測されたpK値に基づき、与えられたpHに応じて残基をプロトン化します。
- ・ 高分子構造のシミュレーション
 - 水溶媒を露わに用いて、または Implicit Solvent モデルを用いて分子力学(MM)計算を行います。
 - CHARMMを使用してImplicit Solventモデルを用いた分子動力学(MD)シミュレーションを行います。
 - NAMD¹⁶を起動して、水溶媒を露わに使用したMDシミュレーション*を行うことも可能です。
 - タンパク質構造¹⁵に Implicit Membrane モデルを付加する事により、カ場ベースのシミュレーションによるモデル構築を、より精密に行うことができます。
 - ハイブリッド量子力学(QM/MM)シミュレーションによって、エネルギーの一点計算や受容体-リガンド複合体の構造最適化を行います。

*NAMDは、イリノイ大学アーバナ シャンペーン校が提供しています。 <http://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/>

タンパク質-タンパク質ドッキング

新しい標的に対するタンパク質-タンパク質相互作用を迅速かつ正確に予測することができます。

- ・ ZDOCK^{17,18}の使用: タンパク質-タンパク質相互作用パターンを網羅的に探索し、想定されるドッキング ポーズを出力します。
- ・ ZRANK スコアリング関数の使用: ドッキング ポーズのランキングの精度を高めます¹⁹。

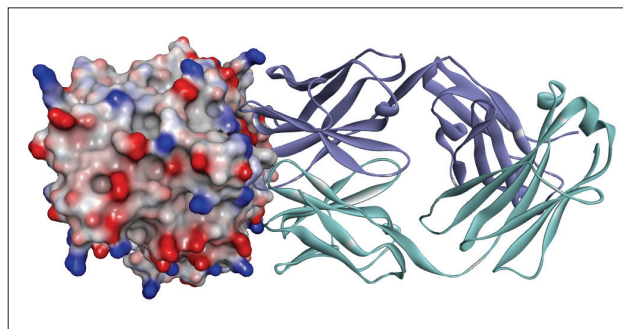


図2: 抗体Fab ドメインとその抗原の、タンパク質-タンパク質結合相互作用の例 [PDB: 3PGF]

タンパク質設計

- ・ 結合親和性の予測
 - アミノ酸の系統的変異導入を行い、結合親和性に対する点変異の影響を評価します。
 - 19のタンパク質における380の点変異実験で得られた、公表された一連の $\Delta\Delta G_{\text{bind}}$ エネルギー値に基づいて評価されています²⁰。

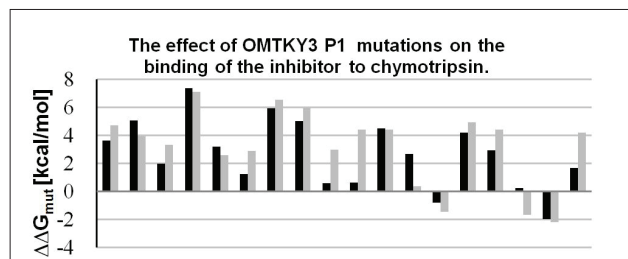


図3: Leu18を様々なアミノ酸に変換した場合の、Chymotrypsinをに対するTurkey Ovomuroid阻害剤の結合自由エネルギーの変化^{21,22}、黒: 計算値、灰色: 実験値

・タンパク質安定性の最適

- 任意の温度でのタンパク質安定性に対する点変異の影響を算出します。
- 指定した変異導入箇所リストから、タンパク質構造を最も安定化する2部位/3部位の変異箇所を予測します。

・“Spatial Aggregation Propensity”アルゴリズム

実験により実証されたSpatial Aggregation Propensityアルゴリズム^{23,24,25}を使用し、タンパク質凝集に寄与と思われる部位や、タンパク質-タンパク質結合²⁶が起こりやすい部位を予測します。

- このアルゴリズムは、マサチューセッツ工科大学のTrout教授の研究室で開発され、ライセンスは同大より供与されています。

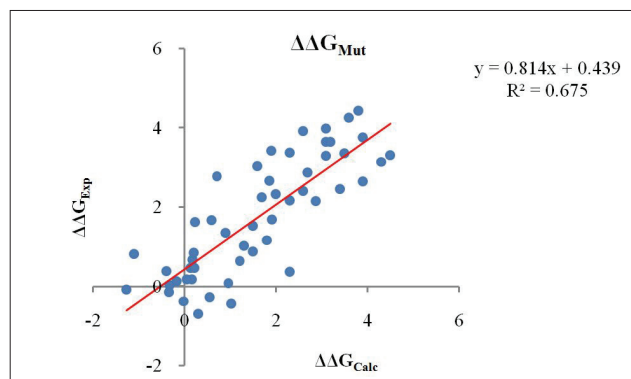


図4: T4リゾチームへの変異導入によるタンパク質安定性に対する影響予測の例²⁷

Discovery Studioの詳細については次のURLを参照して下さい。
<http://accelrys.co.jp/products/discovery-studio/>

参考文献:

1. Spassov, V., Yan, L. Flook, P. Protein Science, **2007**, 16(3), 494-506.
2. Thompson J., Higgins D. G., Gibson T. J. Nucl. Acids Res., **1994**, 22(22), 4673-4680.
3. Marti-Renom M.A., Madhusudhan M.S., Sali, A. Protein Science, **2004**, 13, 1071-1087.
4. Lichtarge O., Bourne H.R., Cohen F.E. J Mol Biol., **1996**, 257(2), 342-358.
5. N. Eswar, M. A. Marti-Renom, B. Webb, M. S. Madhusudhan, D. Eramian, M. Shen, U. Pieper, A. Sali. Comparative Protein Structure Modeling With MODELLER. Current Protocols in Bioinformatics, John Wiley & Sons, Inc., **2006**, Supplement 15, 5.6.1-5.6.30.
6. Fiser, A. Sali, A. Methods in Enzymology, **2003**, 374, 463-493.
7. Sanchez, R. Sali, A. Protein Structure Prediction: Methods and Protocols, **2000**, 97-129.
8. Spassov, V.Z., Flook, P.K., Yan, L. Prot. Eng., Design & Selection, **2008**, 21, 91-100.
9. Brooks B. R., Brooks III C. L., Mackerell A. D., Nilsson L., Petrella R. J., Roux B., Won Y., Archontis G., Bartels C., Boresch S., Caflisch A., Caves L., Cui Q., Dinner A. R., Feig M., Fischer S., Gao J., Hodoshcek M., Im W., Kuczera K., Lazaridis T., Ma J., Ovchinnikov V., Paci E., Pastor R. W., Post C. B., Pu J. Z., Schaefer M., Tidor B., Venable R. M., Woodcock H. L., Wu X., Yang W., York D. M., Karplus M. J. Comp. Chem., **2009**, 30, 1545-1615.
10. Brooks B. R., Brucoleri R. E., Olafson B. D., States D. J., Swaminathan S., Karplus M. J. Comp. Chem., **1983**, 4, 187-217.
11. Spassov V.Z., Yan L. Protein Science, **2008**, 17, 1955-1970.
12. Spassov V.Z., Bashford D. J. Comp.Chem., **1999**, 20, 1091-1111.
13. Still, W. C., Tempczyk, A., Hawley, R. C., Hendrickson, T., J. Amer. Chem. Soc., **1990**, 112, 6127.
14. Dominy, B., Brooks, C.L. III., J. Phys. Chem. B, **1999**, 103, 3765-3773.
15. Spassov, V.Z., Yan, L., Szalma, S. J. Phys. Chem. B, **2002**, 106, 8726-8738.
16. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kale L, Schulten K. J. Comp. Chem., **2005**, 26, 1781-1802.
17. Pierce B., Weng Z. Proteins, **2008**, 72(1), 270-279.
18. Chen R., Weng Z. Proteins, **2003**, 52, 80-87.
19. Pierce B, Weng Z. Proteins, **2007**, 67(4), 1078-1086.
20. Kortemme T, Baker, D. PNAS, **2002**, 99, 14116-14121.
21. Krowarsch D., Dadlez M., Buczek O., Krokoszynska I., Smalas A.O. Otlewski J., J. Mol. Biol., **1999**, 289, 175-186.
22. Spassov V.Z., Yan L., In preparation, **2011**.
23. Chennamsetty N., Voynov V., Kayser V., Helk B. and Trout B. L. J. Phys. Chem. B, **2010**, 114(19), 6614-6624.
24. Chennamsetty N., Voynov V., Kayser V., Helk B. and Trout B. L., Proc. Nat. Acad. Sci., **2010**, 106(29), 11937-11942.
25. Chennamsetty N, Helk B., Trout B. L, Voynov V., Kayser V. PCT/US2009/047954. Filed 19th June, **2009**.
26. Chennamsetty N., Voynov V., Kayser K., Helk B., Trout B.L. Proteins, **2011**, 79, 888-897.
27. Gromiha M. M., An J., Kono H., Oobatake M., Uedaira H., Prabakaran P., Sarai A., Nucl. Acids Res., **2000**, 8, 283-285.