

平成29年6月29日
分子モデリングと分子シミュレーション

複合体構造モデリング

東京大学大学院農学生命科学研究科
アグリバイオインフォマティクス
教育研究プログラム
寺田 透

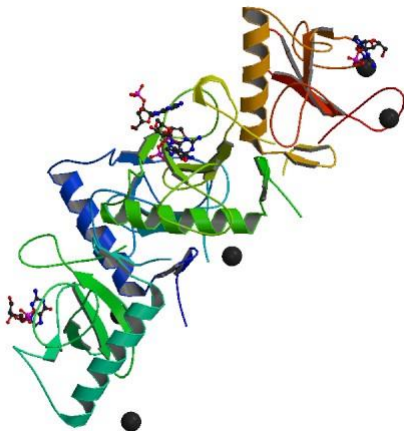
本日の講義内容

- シミュレーション実行上の注意点
- タンパク質・タンパク質ドッキング
- タンパク質・低分子化合物ドッキング
 - 課題
- 分子シミュレーションの応用

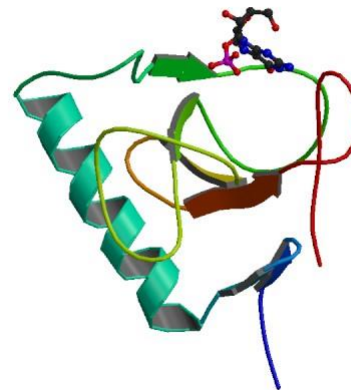
シミュレーション実行上の注意点(1)

- 立体構造の取得

- PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>) からダウンロード
- 通常、生物学的に機能する単位である biological unit 構造に対してシミュレーションを行う
- 例: Ribonuclease T1 (PDB ID: 1I0X)



非対称単位の構造

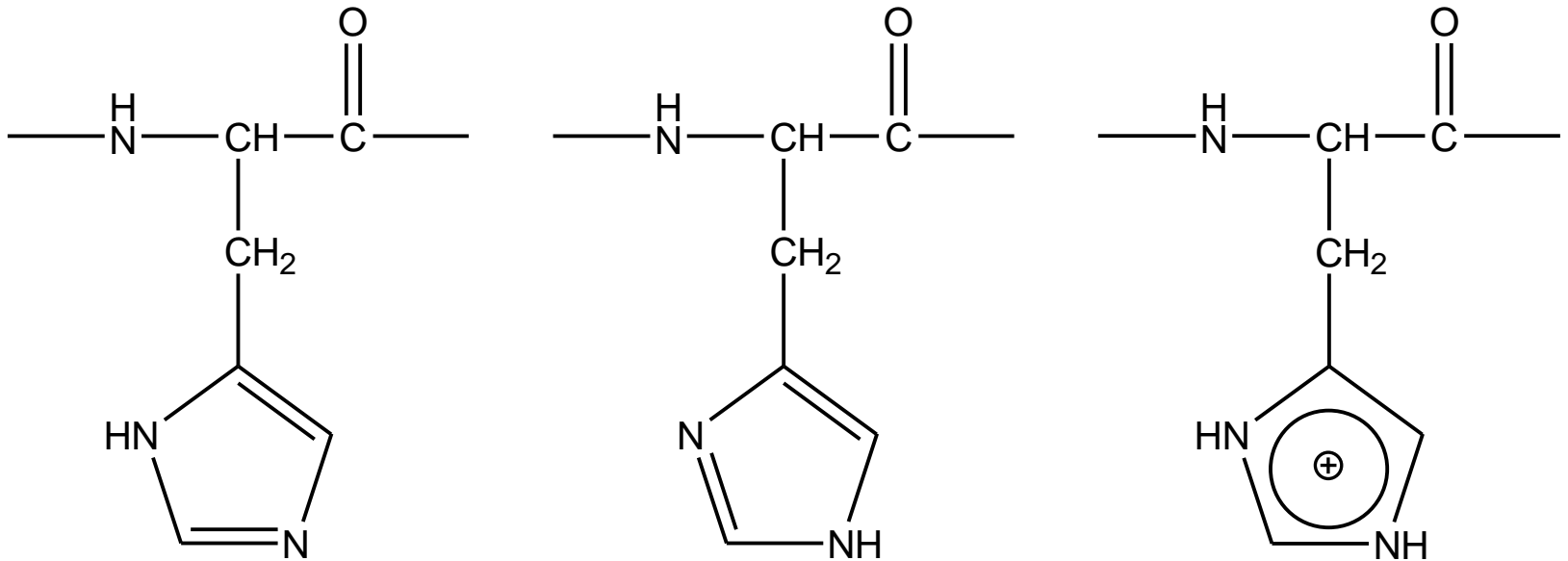


Biological Unitの構造

シミュレーション実行上の注意点(2)

- 欠失残基はモデリングなどで補う
 - N末端、C末端が欠失している場合は、欠失残基の前後の残基をacetyl基、N-methyl基でブロックしても良い
- 水素原子付加
 - SS結合の有無、Hisのプロトン化状態に注意

Hisのプロトン化状態



δ位にプロトン化

ε位にプロトン化

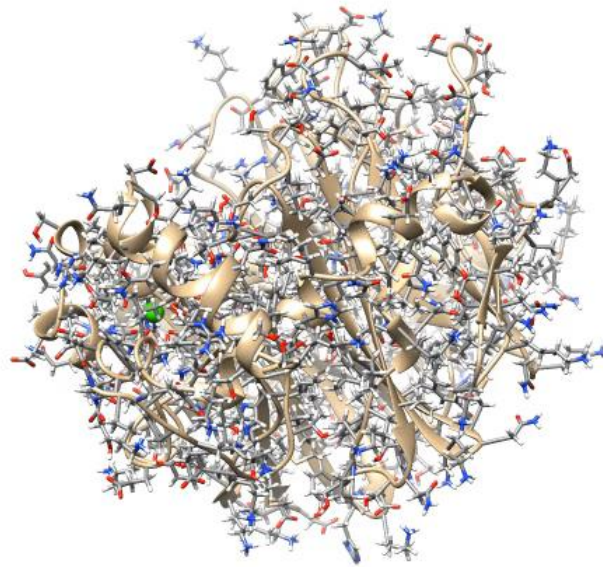
δ, ε位にプロトン化

- His側鎖の pK_a は中性付近であるため2つの窒素原子とも水素原子が結合した状態も十分にとりうる
- His周りの水素結合ネットワークからプロトン化状態がわかる

シミュレーション実行上の注意点(3)

- リガンドの力場パラメータは分子動力学ソフトウェアに含まれていないので、自分で作成するか、Amber Parameter Database*等から取得する
- PMEを利用する場合は、電荷を中性にするためにカウンターイオンを配置
- 平衡化は、十分に時間をかけて行う
 - 少なくとも1 ns程度
 - 初期構造からあまりずれないように束縛し、平衡化の過程で束縛力を徐々に弱めるのが良い

水溶性タンパク質の例

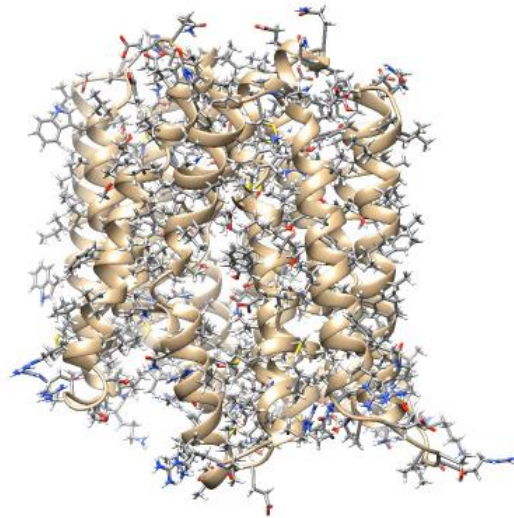


Levansucrase (PDB ID: 1PT2)

膜タンパク質のシミュレーション

- 膜タンパク質の場合は、タンパク質を水和した脂質二重層に埋め込む
- 脂質
 - 原核生物: phosphatidylethanolamine
 - 真核生物: phosphatidylcholineなど
- 膜タンパク質の配向データベース
 - Orientations of Proteins in Membranes (OPM) database
 - <http://opm.phar.umich.edu/>
- 初期構造の生成サーバ
 - <http://www.charmm-gui.org/>

膜タンパク質の例



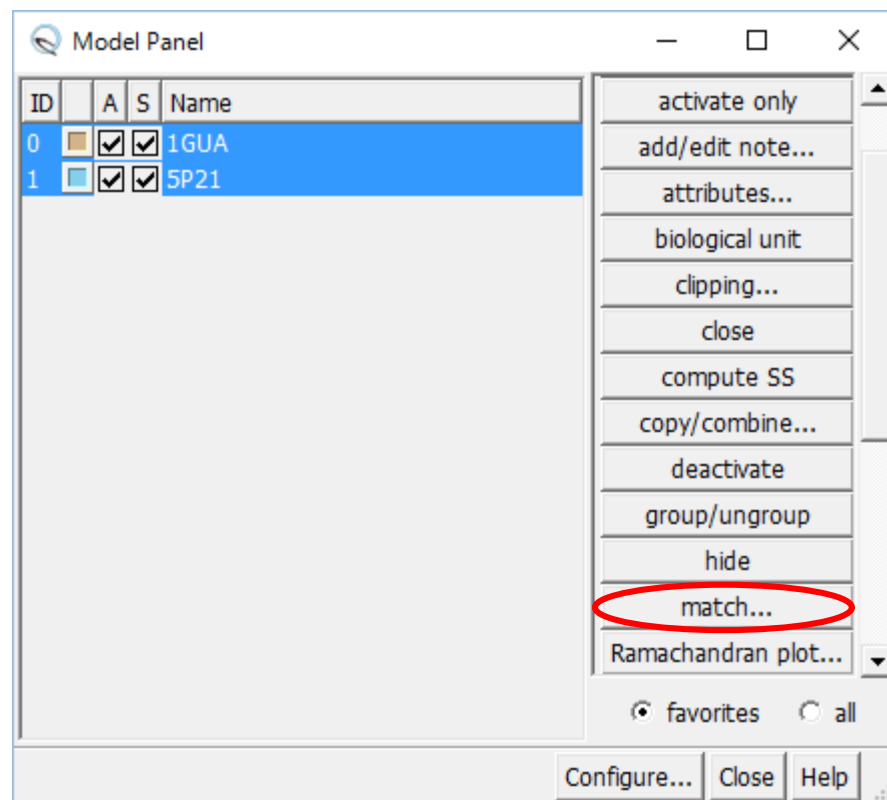
E. coli multidrug transporter MdfA (PDB ID: 4ZOW)

複合体モデリング

- タンパク質とタンパク質を含む他の分子との複合体の立体構造を予測する
- 類似した複合体の立体構造が利用できる
 - ホモロジーモデリング
 - 立体構造の重ね合わせ
- 類似した複合体の立体構造が利用できない
 - ドッキングシミュレーション

重ね合わせによるモデリング(1)

1. UCSF Chimeraを起動
2. 「File」→「Fetch by ID」でPDBを選択し、IDに「1GUA」(Rap1AとRaf-1のRas結合ドメインの複合体構造)を指定して「Fetch」
3. 同様にIDに「5P21」(Ras単体の立体構造)を指定して「Fetch」
4. 「Favorites」→「Model Panel」を開き、1GUAと5P21を選択し、「match」、「OK」→メイン画面下部にRMSDが表示される

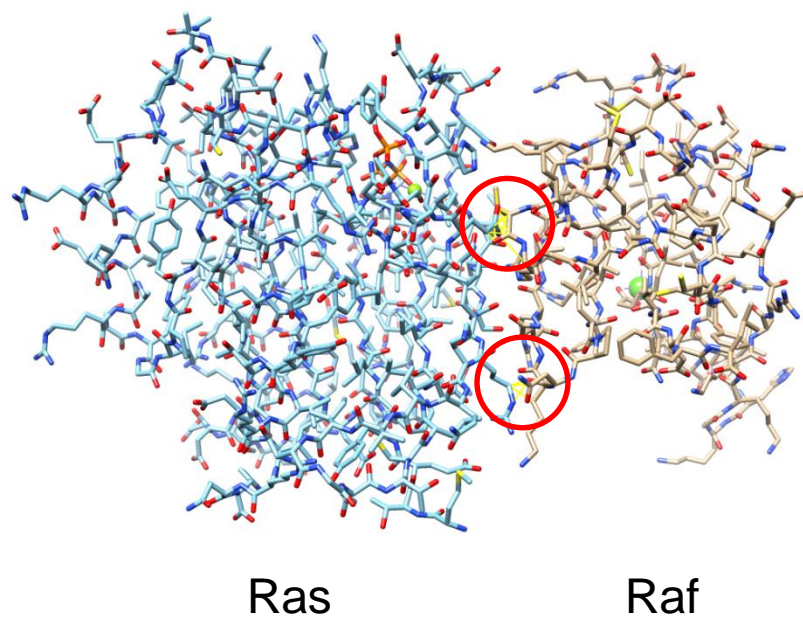


重ね合わせによるモデリング(2)

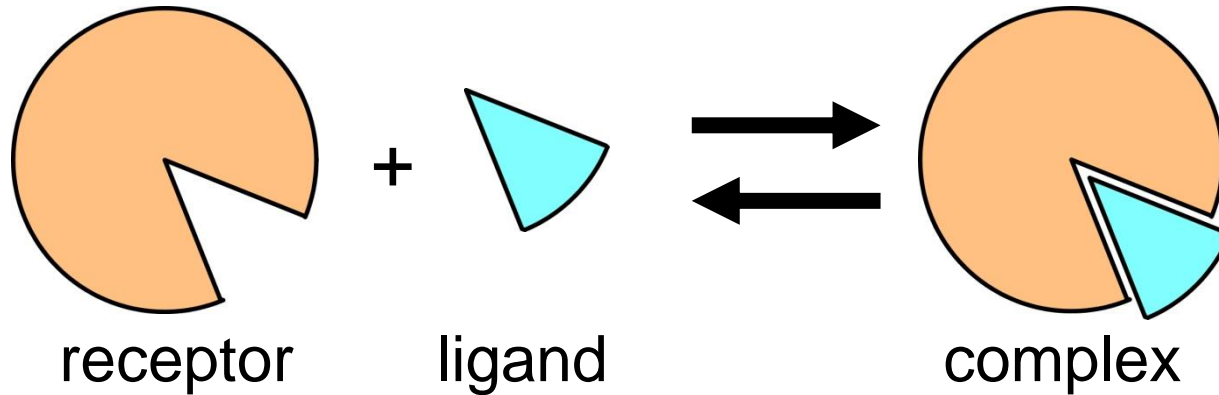
5. 「Select」→「Chain」→「A」→「1GUA」で1GUAのA鎖(Rap1A)を選択し、「Actions」→「Atoms/Bonds」→「delete」で削除
6. 「Select」→「Residue」→「HOH」で水分子を選択し、同様に削除
7. Stick表示にする
8. 「Tools」→「Structure Analysis」→「Find Clashes/Contacts」を選択
9. 「Select」→「Chain」→「A」でA鎖(Ras)を選択し、Find Clashes/Contactsウインドウの「Designate」ボタンをクリック

重ね合わせによるモデリング(3)

10. Check designated atoms againstで、「second set of designated atoms」を選択する
11. 「Select」→「Chain」→「B」でB鎖(Raf)を選択し、「Designate selection as second set」ボタンをクリックし、「OK」→衝突している原子間が黄色の線で示される



ドッキングシミュレーション



- タンパク質 (receptor) の表面にあるligand結合サイトにligandを結合させてみる
- Ligandが、タンパク質か低分子化合物かで異なる方法が用いられる

結合自由エネルギー

- 複合体の立体構造は自由エネルギー最小構造
- 複合体の自由エネルギーと単体の自由エネルギーの差＝結合自由エネルギー (ΔG_{bind})

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} = G_{\text{complex}}^{\circ} - (G_{\text{receptor}}^{\circ} + G_{\text{ligand}}^{\circ})$$

$$K_D = \exp(\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} / RT)$$

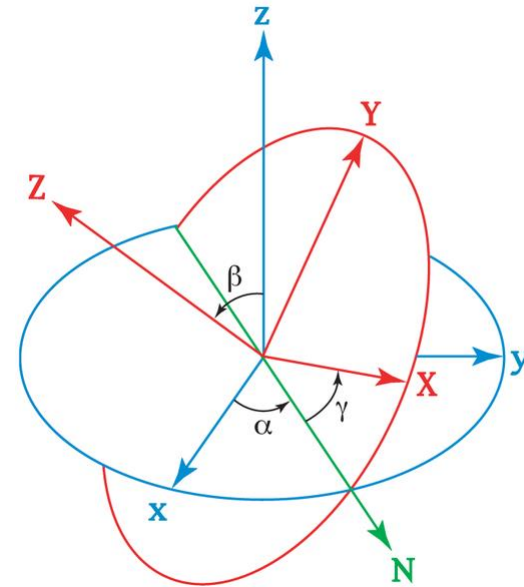
- Ligandをタンパク質表面上の様々な場所に、様々な向き、構造で結合させ、結合自由エネルギーが最も小さい(負で絶対値が大きい)複合体構造が、実際の複合体構造と一致する

結合自由エネルギーの計算

- 計算対象の複合体構造の数が少ない場合
 - 複合体の結晶構造に対して計算する場合など
 - MM-PB/SA法
 - 自由エネルギー摂動法、熱力学的積分法
- 計算対象の複合体構造の数が多い場合
 - ドッキングシミュレーションなど
 - スコア関数の利用

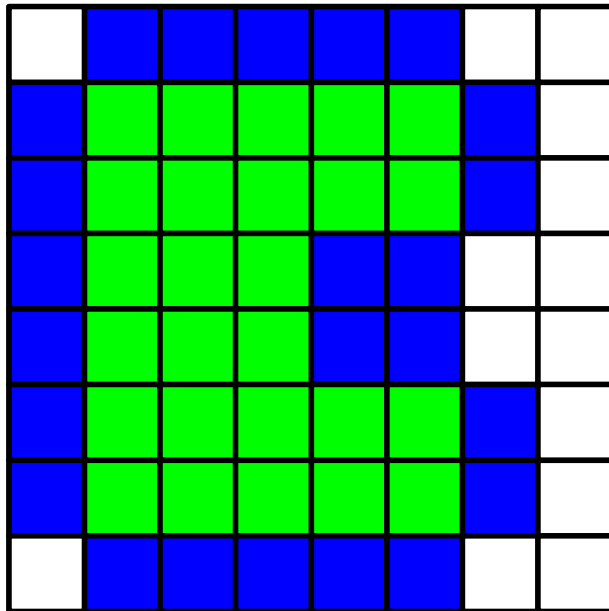
タンパク質・タンパク質ドッキング

- Receptor、ligandともに剛体とみなし、複合体形成による立体構造変化は考慮しない
- Receptorは原点に固定し、ligandの並進3自由度、回転3自由度の計6自由度のみを考慮
 - 回転はEuler angleで記述
- 形の相補性が特に重要

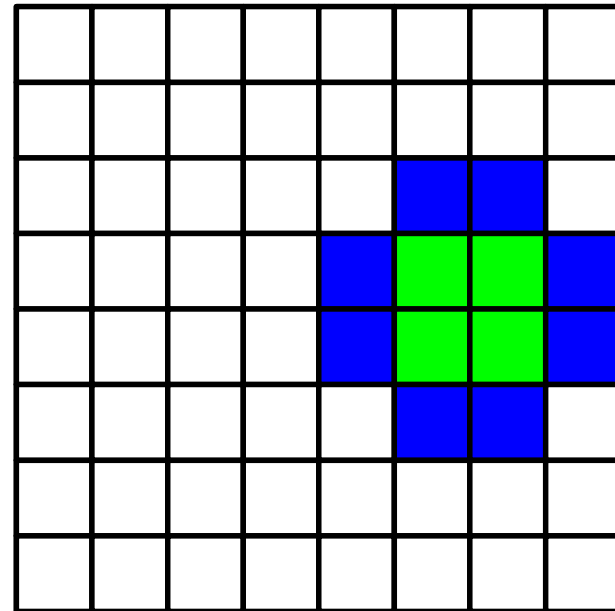


形の相補性計算(1)

Receptor



Ligand

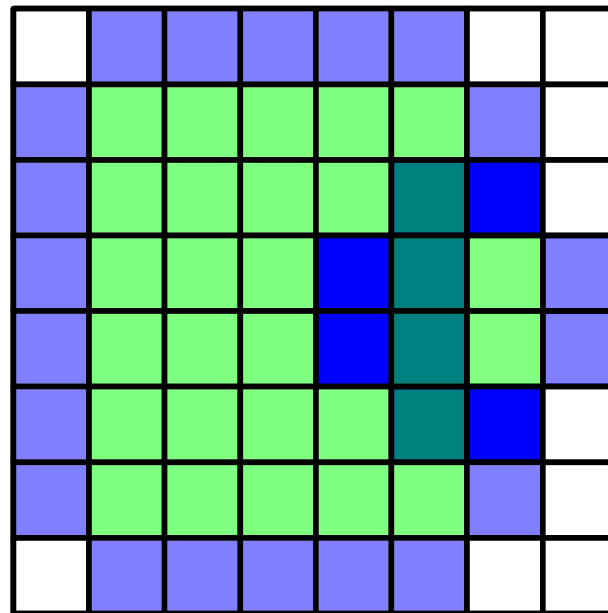


= 1 (solvent accessible surface layer)



= $9i$ (solvent excluding surface layer)

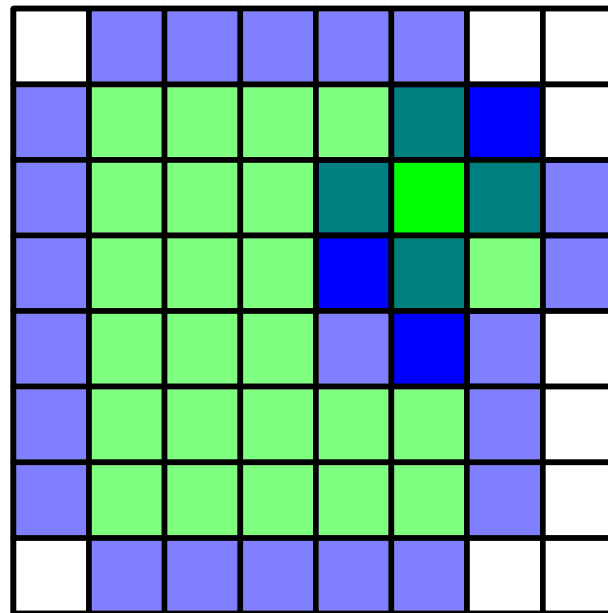
形の相補性計算(2)



重ね合わせてグリッドごとにスコアの積を計算する

スコア積の和の実部 = ドッキングスコア = 4

形の相補性計算(3)



重ね合わせてグリッドごとにスコアの積を計算する

$$\text{スコア積の和の実部} = \text{ドッキングスコア} = 3 - 81 = -78$$

計算の高速化

- 計算の一般化

$$S(a,b,c) = \sum_{x,y,z} f(x,y,z)g(x+a,y+b,z+c)$$

スコア S を最大にするligandの並進位置
(a, b, c)を求める

- これは高速フーリエ変換 (fast Fourier transform; FFT) を用いて高速に計算できる

$$\tilde{S}(h,k,l) = \tilde{f}(h,k,l)\tilde{g}(h,k,l)$$

- これをligandのいろいろな向きについて計算する
- 静電相互作用など、他の相互作用も同様に高速に計算できる

ソフトウェアの例

- DOT
<http://www.sdsc.edu/CCMS/DOT/>
- FTDock
<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/docking/ftdock.html>
- GRAMM-X
<http://vakser.bioinformatics.ku.edu/resources/gramm/grammx>
- HEX
<http://hex.loria.fr/>
- ZDOCK
<http://zlab.umassmed.edu/zdock/index.shtml>

ZDOCKを用いた計算例(1)

1. <http://zdock.umassmed.edu/>にアクセス
2. Input Protein 1のPDB IDに1ZG4
(β -lactamase)を入力
3. Input Protein 2のPDB IDに3GMU
(β -lactamase inhibitory protein)を入力
4. メールアドレスを入力し「Submit」

ZDOCKを用いた計算例(2)

5. 必要に応じて、結合に関与しない残基や関与する残基を指定して「Submit」
(実際にはsubmitしないこと)

ZDOCK SERVER

[ZDOCK](#) [M-ZDOCK](#) [Help](#) [Links](#) [References](#)

Step 2: Pick Contact and Blocking Residues

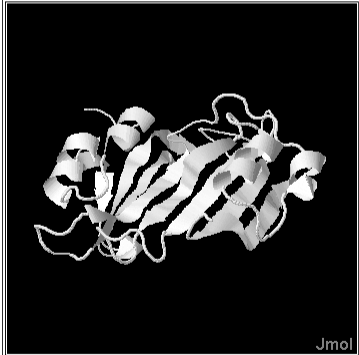
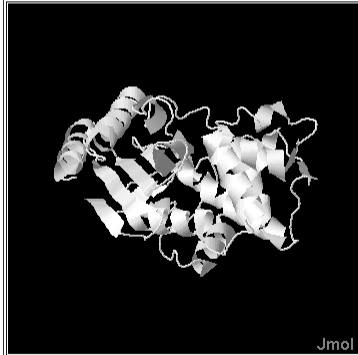
Select Residues to Block from the Binding Site:

1ZG4	3GMU
26 Chain A HIS	1 Chain B ALA
27 Chain A PRO	2 Chain B GLY
28 Chain A GLU	3 Chain B VAL
29 Chain A THR	4 Chain B MET
30 Chain A LEU	5 Chain B THR
31 Chain A VAL	6 Chain B GLY
32 Chain A LYS	7 Chain B ALA
33 Chain A VAL	8 Chain B LYS
34 Chain A LYS	9 Chain B PHE
35 Chain A ASP	10 Chain B THR

Select Binding Site Residues for Filtering Output:

1ZG4	3GMU
26 Chain A HIS	1 Chain B ALA
27 Chain A PRO	2 Chain B GLY
28 Chain A GLU	3 Chain B VAL
29 Chain A THR	4 Chain B MET
30 Chain A LEU	5 Chain B THR
31 Chain A VAL	6 Chain B GLY
32 Chain A LYS	7 Chain B ALA
33 Chain A VAL	8 Chain B LYS
34 Chain A LYS	9 Chain B PHE
35 Chain A ASP	10 Chain B THR

Spin



Jmol

Submit

ZDOCKを用いた計算例(3)

6. 計算が終了するとメールが届くので、メールに記載されたリンクをクリックして結果を表示
7. 講義のページから、「Top 10 Predictions」を収めた top_preds.zip をダウンロードし、デスクトップに解凍
8. 生成された top_preds フォルダには、スコアが高いものから順に complex.1.pdb ~ complex.10.pdb が含まれているが、このままでは表示できないため、講義のページから conv.pl をダウンロードし、このフォルダに保存、ダブルクリックして実行
→ complex.1.conv.pdb ~ complex.10.conv.pdb が生成

ZDOCKを用いた計算例(4)

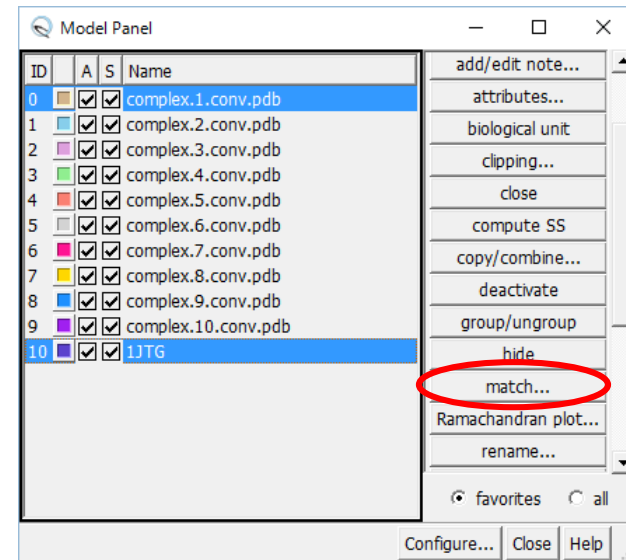
9. Chimeraを起動し、complex.1.cov.pdb～complex.10.conv.pdbを開く

10. 正解の複合体構造1JTGを開く

11. 「Favorites」→「Model Panel」を開き、complex.1.conv.pdbと1JTGを選択して「match」、「OK」

12. 1JTGのC鎖、D鎖を削除

complex.1.cov.pdb～complex.10.conv.pdbのうち、どの構造が正解に近いか？



タンパク質・低分子化合物ドッキング

- タンパク質 (receptor) の表面にあるリガンド結合部位をあらかじめ探し、そこにリガンドを結合させる
- リガンドは、回転・並進に加えて、回転可能な結合の二面角をすべて回転させて自由エネルギー (またはスコア) が最小となる構造 (poseと呼ばれる) を探索
- Receptorの原子は通常動かさず、剛体として扱うことが多い

参考:ドッキングソフトウェア

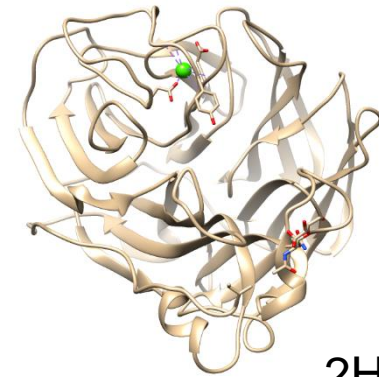
- AutoDock Vina
 - <http://vina.scripps.edu/>
- DOCK
 - <http://dock.compbio.ucsf.edu/>
- Glide
 - <http://www.schrodinger.com/Glide>
- GOLD
 - <http://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-discovery/components/gold/>
- AutoDock VinaとDOCKは無料、GlideとGOLDは有料
- いずれも化合物の並進・回転と二面角の自由度のみを考慮し、タンパク質は剛体として扱う

ドッキングシミュレーション実習

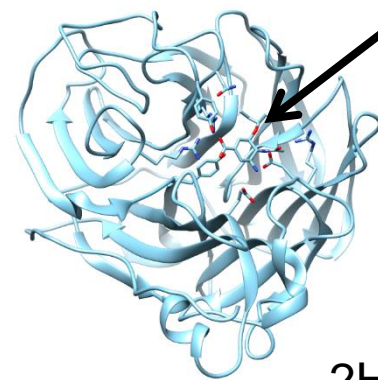
- AutoDock Vinaを用いてN1 neuraminidaseに阻害剤をドッキングする
 1. N1 neuraminidaseの結晶構造の取得
 2. 阻害剤構造の作成
 3. Cavity検出
 4. ドッキングシミュレーション
 5. 結果の解析

1. 結晶構造の取得

1. Chimeraを起動
2. 「File」→「Fetch by ID」でPDB IDに「2HTY」を指定し「Fetch」
3. 「Select」→「Chain」→「A」でA鎖を選択
4. 「File」→「Save PDB」で「Save selected atoms only」をチェックし、File nameに「2HTY_A.pdb」と指定しデスクトップに保存
5. 「File」→「Close Session」の後、同様にPDB IDに「2HU4」を指定して「Fetch」しA鎖を「2HU4_A.pdb」としてデスクトップに保存



2HTY A鎖

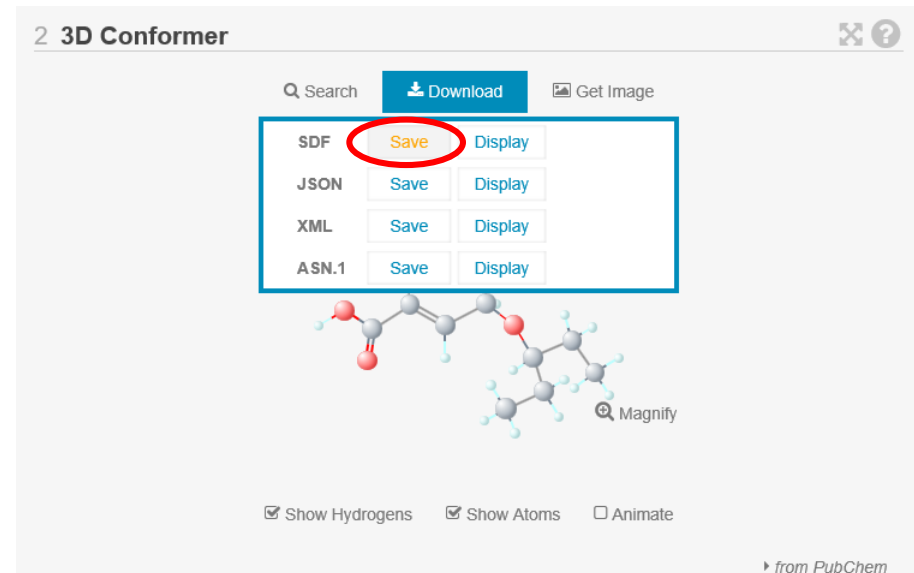


oseltamivir
carboxylate

2HU4 A鎖

2. 阻害剤構造の作成(1)

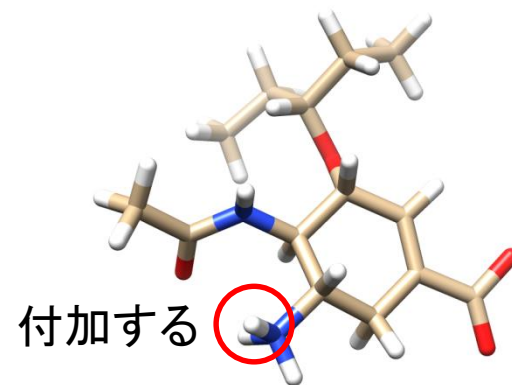
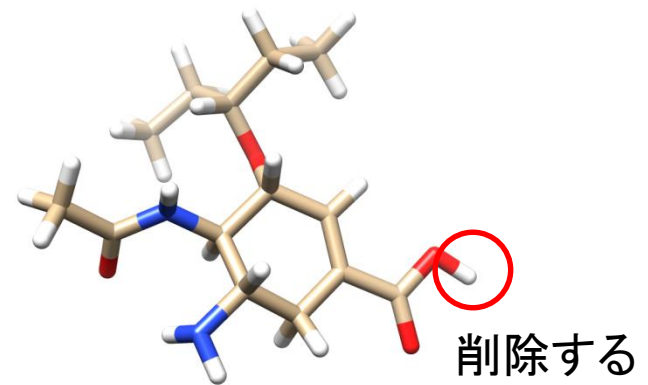
1. ブラウザでPubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)を開く
2. 「“oseltamivir carboxylate”」と入力し「Go」
3. CIDが449381であることを確認する
4. 3D ConformerをSDF形式でデスクトップに保存
5. UCSF Chimeraで開く



ファイル名は
Structure3D_CID_449381.sdf

2. 阻害剤構造の作成(2)

6. 「Ctrl」キーを押しながらカルボキシル基についている水素原子を左クリックし、この原子を選択
7. 「Actions」→「Atoms/Bonds」→「delete」で削除
8. 「Tools」→「Structure Editing」→「AddH」でアミノ基に水素原子を付加
9. 「Tools」→「Structure Editing」→「Add Charge」で電荷を計算(全電荷は+0)
10. 「Tools」→「Structure Editing」→「Minimize Structure」で構造最適化
11. 「File」→「Save Mol2」でデスクトップに「ose.mol2」として保存

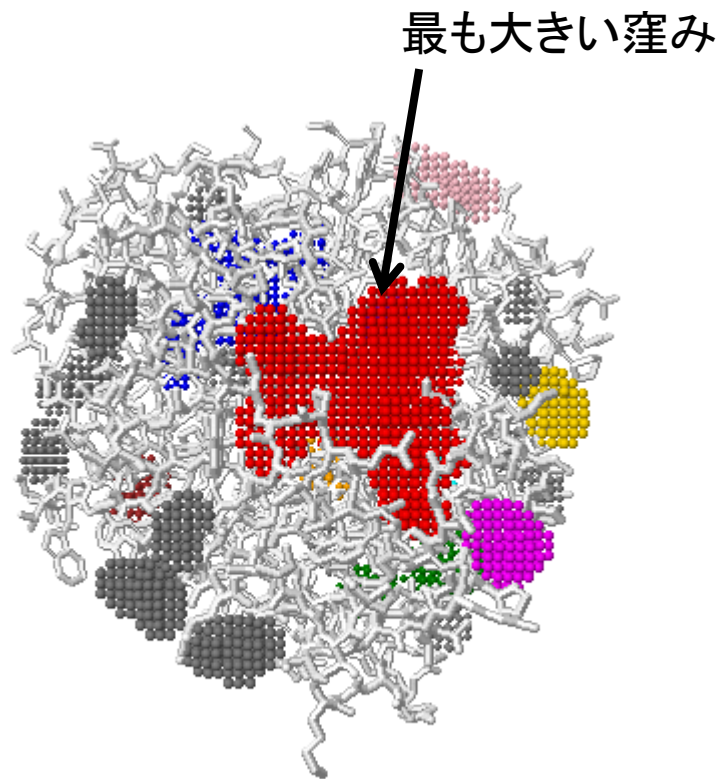


参考：化合物ライブラリ

- Available Chemicals Directory (ACD)
 - 商用化合物データベース
 - <http://accelrys.com/products/collaborative-science/databases/sourcing-databases/biovia-available-chemicals-directory.html>
- DrugBank
 - 医薬品とそのターゲットのデータベース
 - <http://www.drugbank.ca/>
- PubChem
 - NCBIが運営する化合物データベース
 - <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- ZINC
 - USCFが運営する化合物データベース
 - <http://zinc.docking.org/>

3. Cavity検出

- 薬剤が結合するタンパク質表面の窪みを検出する
 - ここでは、GHECOMサーバを用いる
(<http://strcomp.protein.osaka-u.ac.jp/ghecom/>)
 - Input PDBIDに「2hty」
 - 最も大きい窪みの中心：
(-0.260, 78.567, 112.835)



JSmol

参考 : Cavity検出ソフトウェア

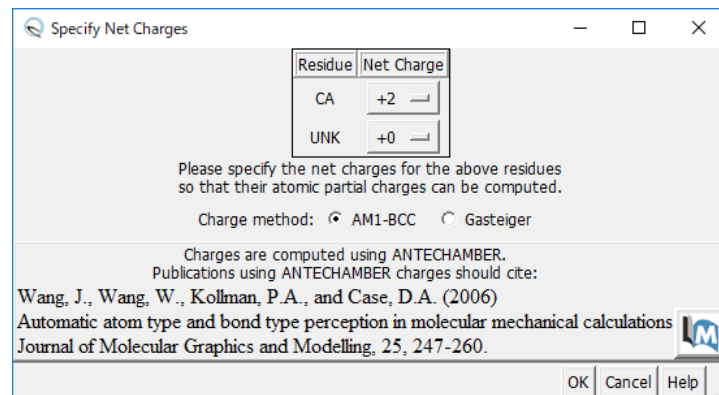
- SURFNET
 - <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/SURFNET/>
 - タンパク質分子表面の”gap region”を検出
- PASS
 - <http://www.ccl.net/cca/software/UNIX/pass/overview.shtml>
 - タンパク質分子表面のcavityを検出しランク付け
- Q-SiteFinder
 - CH₃プローブのエネルギー値に基づいてランク付け

4. ドッキングシミュレーション(1)

1. デスクトップに「docking」フォルダを作成し、2HTY_A.pdb、2HU4_A.pdb、ose.mol2を移動
2. 講義のページから、vina.exeをダウンロードし、デスクトップに保存
3. Chimeraで「File」→「Close Session」
4. 「File」→「Open」で、dockingフォルダに移動した、2HTY_A.pdbを開く
5. 「Select」→「Residues」→「NDG」で糖を選択し、「Actions」→「Atoms/Bonds」→「delete」で削除
6. 同様に水分子(残基名:HOH)を削除

4. ドッキングシミュレーション(2)

7. 「File」→「Open」で、ose.mol2を開く
8. 「Tools」→「Surface/Binding Analysis」→「Dock Prep」を開く
9. Molecules to prepで、「2HTY_A」と「CID 449381」が選択されていることを確認し、「Write Mol2 file」のチェックをはずして「OK」
10. Add Hydrogens for Dock Prepウィンドウが現れるので、「OK」
11. Assign Charges for Dock Prepウィンドウでは、Standard residuesに「Amber ff14SB」をOther residuesに「AM1-BCC」を指定し「OK」
12. Specify Net ChargesではCAに「+2」、UNK (oseltamivir carboxylateのこと)に「+0」を指定し「OK」
(Warningが出るが無視して良い)



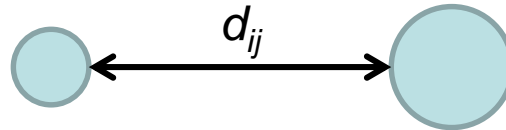
4. ドッキングシミュレーション(3)

13. 「Tools」→「Surface/Binding Analysis」→「AutoDock Vina」を開く
14. Output Fileでは、「Browse」ボタンを押し、dockingフォルダで、「ose.pdbqt」を指定
15. Receptorに「2HTY_A.pdb」、Ligandに「449381」を指定
16. Receptor search volume optionsを展開し、Centerに、「-0.260 78.567 112.853」を、Sizeに「20 20 20」を指定
17. Executable locationを展開し、「Local」を選択し、Path で「Browse」ボタンを押し、デスクトップに保存した「vina.exe」を指定
18. 「OK」をクリック→計算が始まる(1分ほどかかる)

参考：スコア関数

- 以下の c が小さくなるように複合体構造を最適化

$$c = \sum_X w_X \sum_{i < j} h(d_{ij})$$



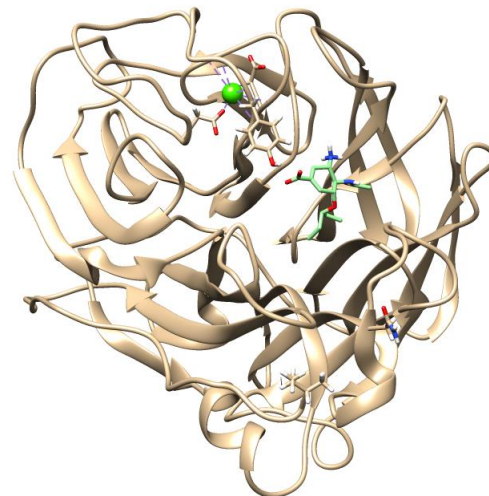
- X は、gauss1、gauss2、repulsion、hydrophobic、hydrogen bondingの5種類
- 以下の式により、結合自由エネルギーを予測

$$s = \frac{c - c_{\text{intra1}}}{1 + w_{\text{rot}} N_{\text{rot}}} \quad c_{\text{intra1}} : c \text{ が最小となるモデルの分子内相互作用の値}$$

- s と ΔG_{bind} の実験値が相関するように w_X を最適化

5. 結果の解析(1)

- 計算が終了すると結果が自動的に表示される
- ViewDockウィンドウにスコアの良い順にモデルが並んでいる
- モデルの行をクリックすると、表示されるモデルも切り替わる



ViewDock - C:\Users\Hterada\Desktop\170629#nose.pdbqt

File Compounds Cqlumn Selection Chimera HBonds Movie

S	Score	RMSD l.b.	RMSD u.b.
V	-6.7	0.0	0.0
V	-6.2	2.384	5.788
V	-6.2	2.37	4.171
V	-6.2	2.773	4.81
V	-6.1	2.057	4.404
V	-5.8	1.85	2.642
V	-5.8	2.339	6.32
V	-5.7	3.543	6.613
V	-5.7	2.175	4.829
..

Chimera Model #3.1

REMARK VINA RESULT: -6.7 0.000 0.000

REMARK 7 active torsions:

REMARK status: ('A' for Active; 'I' for Inactive)

REMARK 1 A between atoms: O1_1 and C3_9

REMARK 2 A between atoms: O1_1 and C7_13

REMARK 3 A between atoms: N1_5 and C1_7

REMARK 1 I between atoms: N1_5 and C11_17

REMARK 4 A between atoms: N2_6 and C2_8

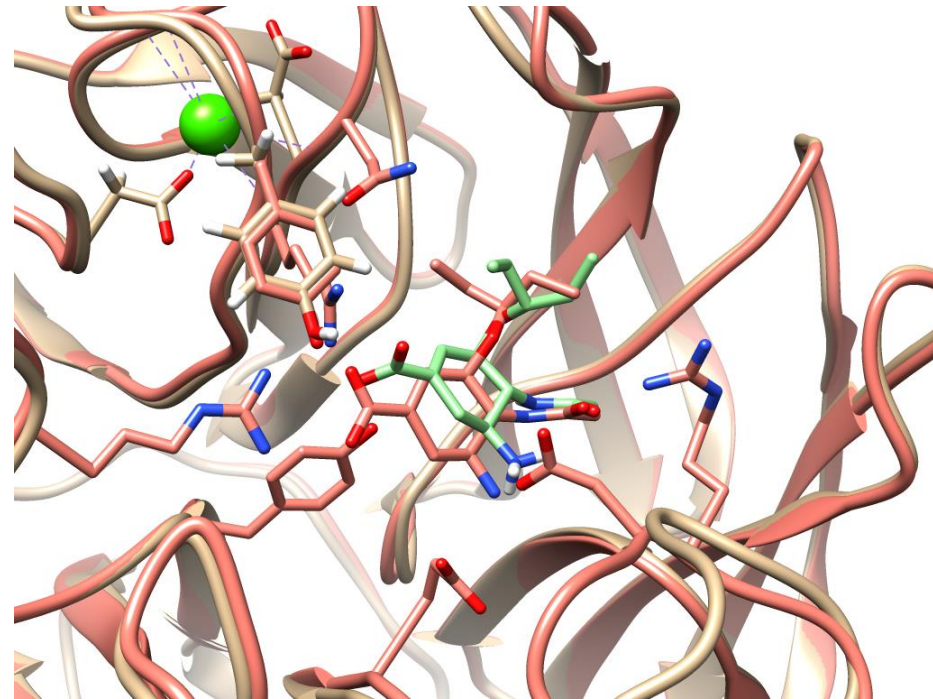
Change Compound State

Viable Deleted Purged

Hide Quit Help

5. 結果の解析(2)

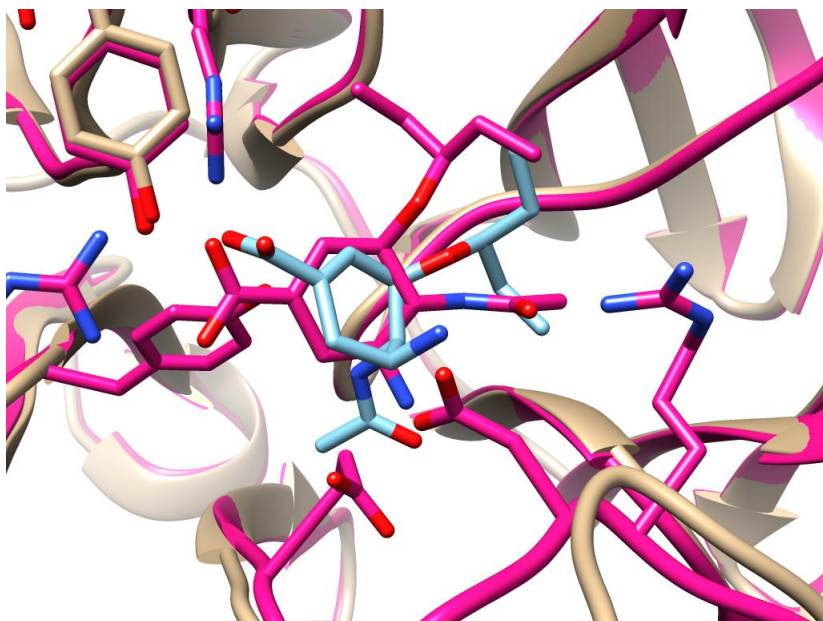
- 結晶構造と比較する
 1. 2HU4_A.pdbを開く
 2. 「Favorites」→「Model Panel」で449381を非表示にする
 3. Model Panelで2HTY_A.pdbと2HU4_A.pdbを選択し、「match」、「OK」
- どのモデルが正解に近いか



5位のモデルと結晶構造の比較

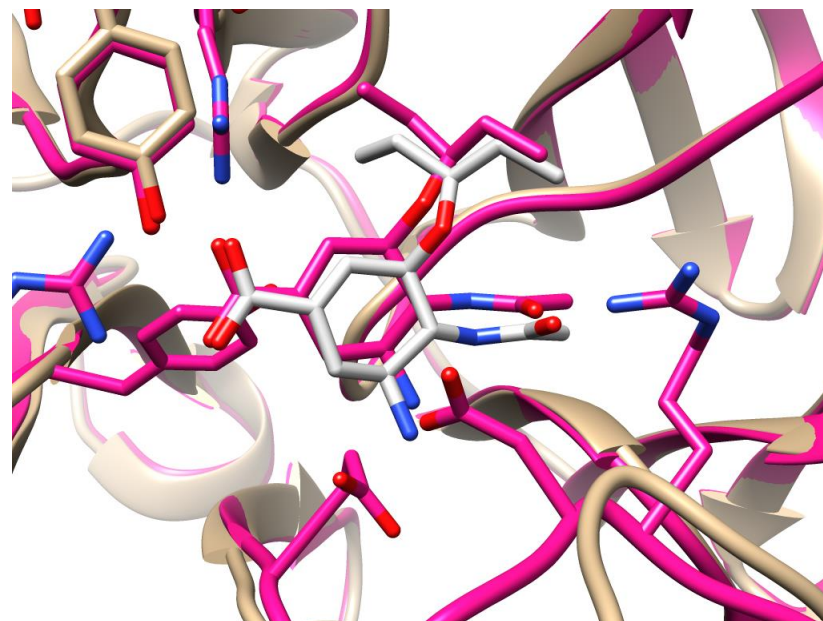
参考 : Glideによるドッキング

1位の構造



水色 : 1位の構造
赤色 : 2HU4

5位の構造

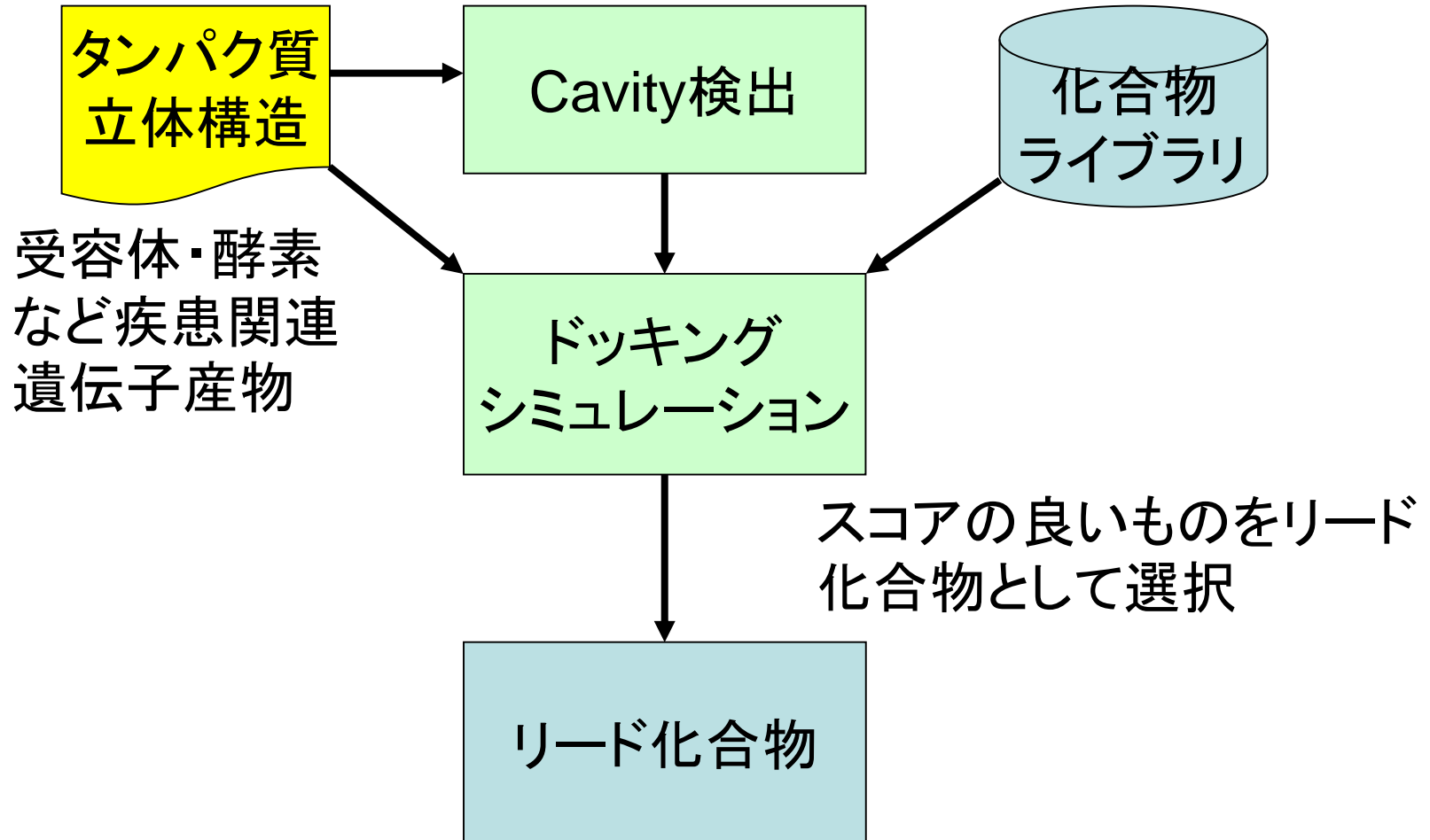


灰色 : 5位の構造
赤色 : 2HU4

ドッキングの創薬への応用

- 創薬の分野では薬剤候補化合物の探索に、化合物のライブラリから、標的タンパク質に強く結合する化合物を、大規模かつ効率的に探し出す high-throughput screening (HTS) がよく用いられる
- 化合物のライブラリの構築、結合のアッセイ系の確立には膨大なコストがかかる
- 化合物の標的タンパク質への結合をコンピュータの中で再現する(=ドッキングシミュレーション)ことで、親和性の評価が可能→virtual screening

Virtual screening



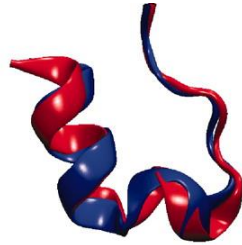
分子シミュレーションの応用

- 運動の追跡
 - クロマチンのシミュレーション
 - フォールディングシミュレーション
 - Aquaporinの水透過シミュレーション
 - リガンド結合シミュレーション
- 自由エネルギー計算
 - MM-PBSA法
 - 自由エネルギー摂動法とその応用

フォールディングシミュレーション



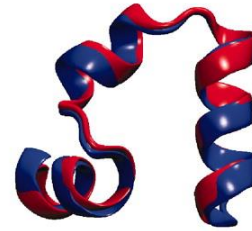
Chignolin 106 μ s
cln025 1.0 Å 0.6 μ s



Trp-cage 208 μ s
2JOF 1.4 Å 14 μ s



BBA 325 μ s
1FME 1.6 Å 18 μ s



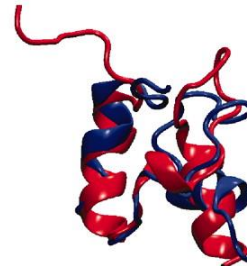
Villin 125 μ s
2F4K 1.3 Å 2.8 μ s



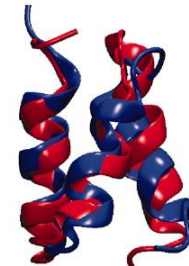
WW domain 1137 μ s
2F21 1.2 Å 21 μ s



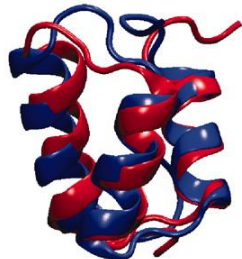
NTL9 2936 μ s
2HBA 0.5 Å 29 μ s



BBL 429 μ s
2WXC 4.8 Å 29 μ s



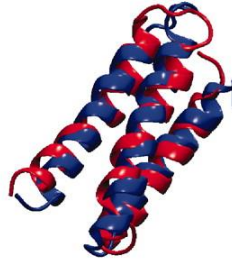
Protein B 104 μ s
1PRB 3.3 Å 3.9 μ s



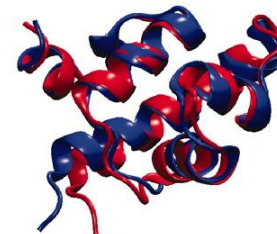
Homeodomain 327 μ s
2P6J 3.6 Å 3.1 μ s



Protein G 1154 μ s
1MIO 1.2 Å 65 μ s



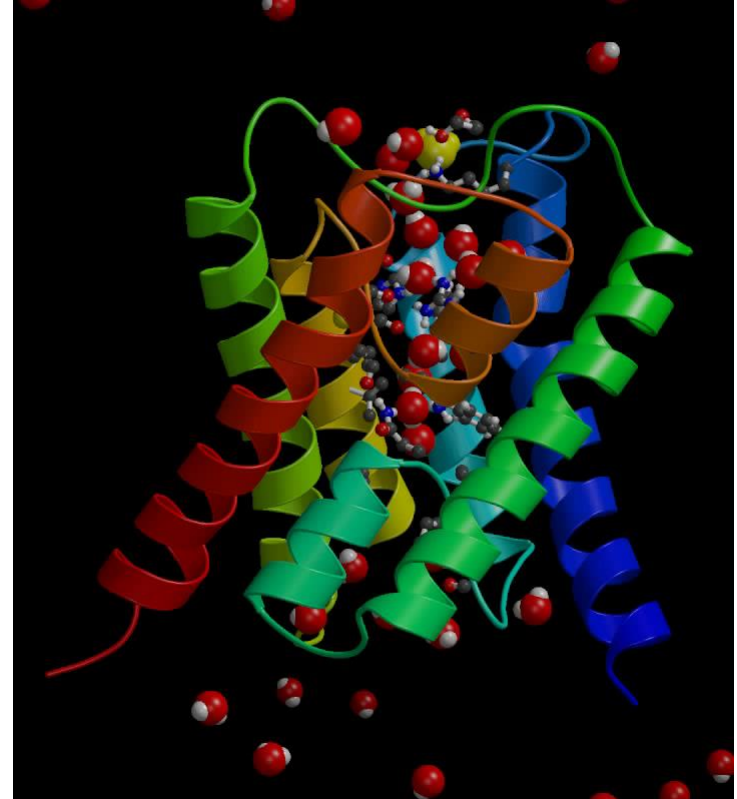
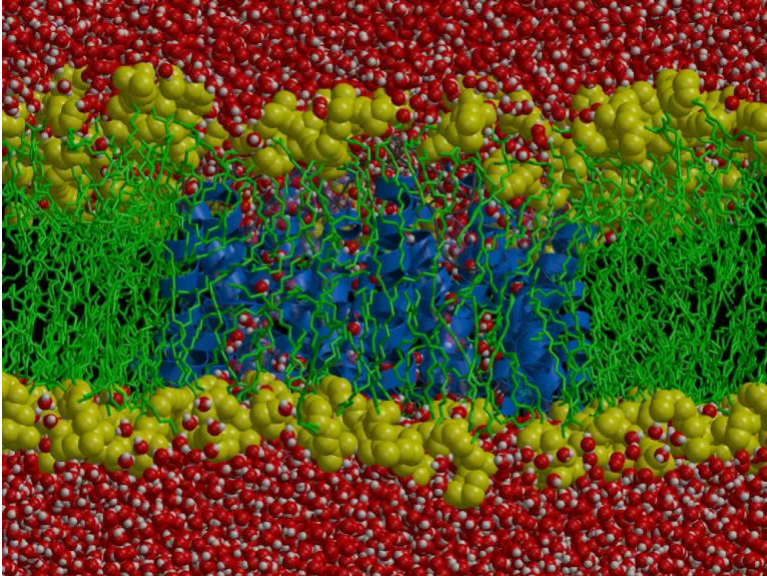
α3D 707 μ s
2A3D 3.1 Å 27 μ s



λ-repressor 643 μ s
1LMB 1.8 Å 49 μ s

Lindorff-Larsen *et al.* *Science* **334**, 517 (2011).

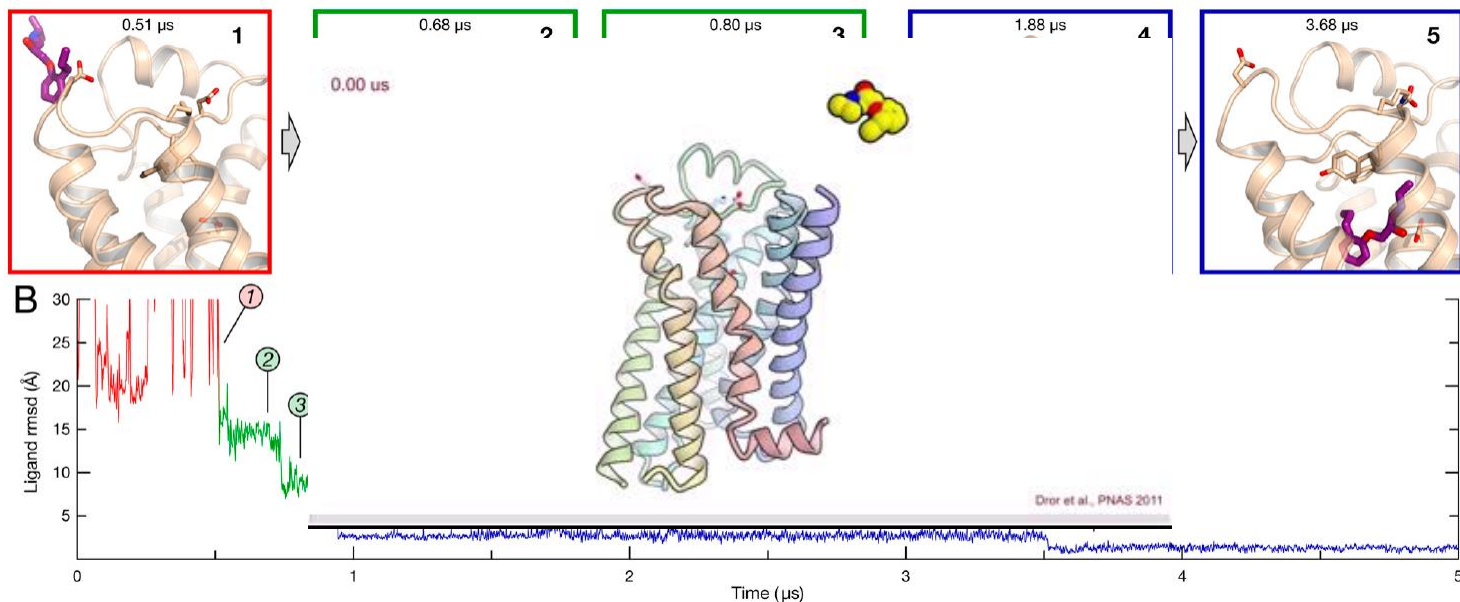
Aquaporinのシミュレーション



- 水分子の透過速度
 - 実験: $3 \times 10^9 \text{ sec}^{-1}$
 - シミュレーション: 16個 / 10 ns
→ $1.6 \times 10^9 \text{ sec}^{-1}$

リガンド結合シミュレーション

- β_2 -adrenergic receptorへの拮抗薬alprenolol等の結合シミュレーション
- 結合速度定数
 - 実験: $1.0 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
 - シミュレーション: $3.1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

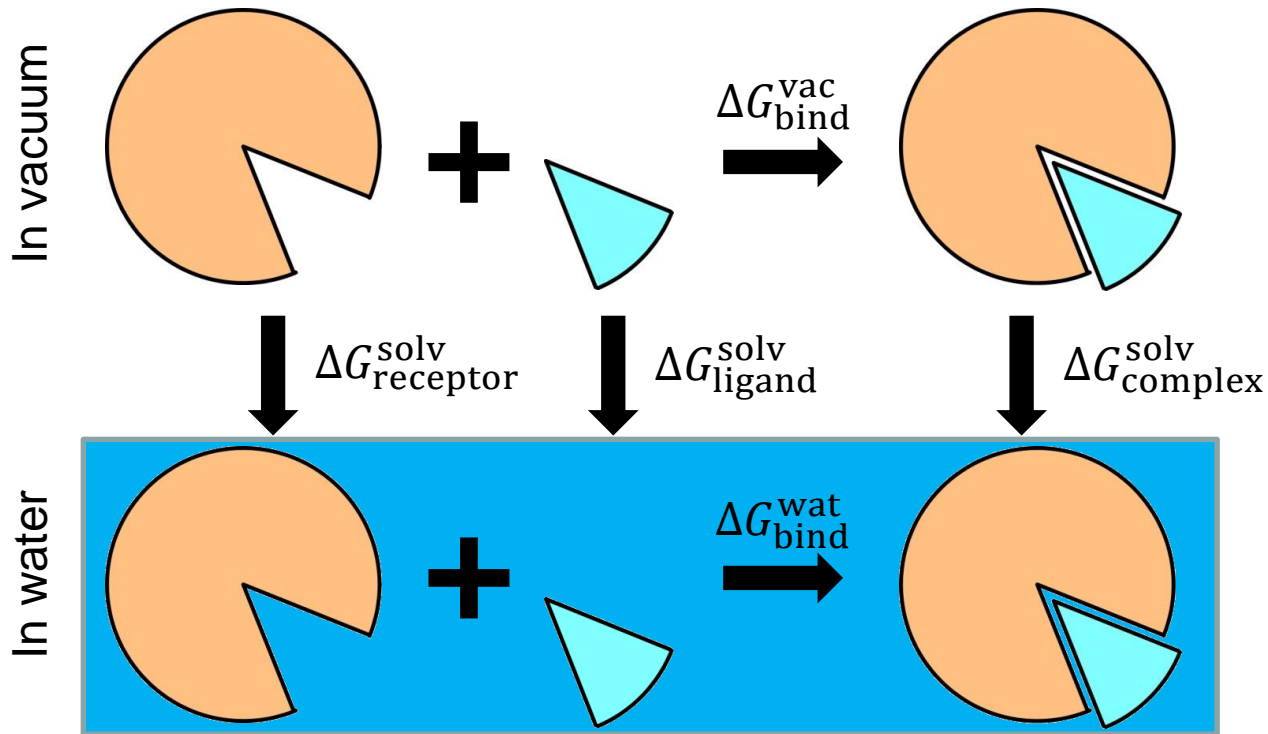


結合自由エネルギー計算法

方法	精度	成分計算	計算コスト
自由エネルギー摂動法 (MP-COFEE法)	◎	不可	大きい (多数の中間状態が必要)
熱力学的積分法	○	可	大きい (多数の中間状態が必要)
MM-PBSA法	△	可	小さい (中間状態は使用しない)

MM-PBSA法(1)

- 以下の熱力学サイクルに基づいて $\Delta G_{\text{bind}}^{\text{wat}}$ を求める



$$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{wat}} = \Delta G_{\text{bind}}^{\text{vac}} + \Delta G_{\text{complex}}^{\text{solv}} - (\Delta G_{\text{receptor}}^{\text{solv}} + \Delta G_{\text{ligand}}^{\text{solv}})$$

MM-PBSA法(2)

- 単体と複合体についてそれぞれ分子動力学シミュレーションを行い、エネルギーの平均値と、エントロピーを求める

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\text{vac}} = E_{\text{complex}}^{\text{R-R}} + E_{\text{complex}}^{\text{R-L}} + E_{\text{complex}}^{\text{L-L}} - (E_{\text{free}}^{\text{R-R}} + E_{\text{free}}^{\text{L-L}}) - T \left[S_{\text{complex}}^{\text{RL}} - (S_{\text{free}}^{\text{R}} + S_{\text{free}}^{\text{L}}) \right]$$

- Poisson-Boltzmann/Surface Area法により溶媒和自由エネルギーを計算し、平均値 ($\Delta G_{\text{complex}}^{\text{solv}}$ 、 $\Delta G_{\text{receptor}}^{\text{solv}}$ 、 $\Delta G_{\text{ligand}}^{\text{solv}}$) を求める

自由エネルギー—摂動法(1)

- 自由エネルギー

$$-G = -RT \log Z, \quad Z = \int d\mathbf{r} \exp[-E(\mathbf{r})/RT]$$

- 状態0と状態1の間の自由エネルギー差 ΔG

$$-\Delta G = G_1 - G_0 = -RT \log Z_1/Z_0$$

$$-\Delta G = -RT \log \frac{\int d\mathbf{r} \exp[-E_1(\mathbf{r})/RT]}{\int d\mathbf{r} \exp[-E_0(\mathbf{r})/RT]} =$$

$$-RT \log \frac{\int d\mathbf{r} \exp[-(E_1(\mathbf{r}) - E_0(\mathbf{r}))/RT] \exp[-E_0(\mathbf{r})/RT]}{\int d\mathbf{r} \exp[-E_0(\mathbf{r})/RT]} =$$

$$-RT \log \langle \exp[-\Delta E(\mathbf{r})/RT] \rangle_0$$

自由エネルギー摂動法(2)

- この方法は $\Delta E(\mathbf{r})$ が大きい時はうまくいかない
- 状態0と状態1の間に多数の中間状態を考え、中間状態間の自由エネルギーの差の和で表す

$$- E_i(\mathbf{r}) = (1 - \lambda_i)E_0(\mathbf{r}) + \lambda_i E_1(\mathbf{r})$$

$$(0 = \lambda_0 < \lambda_1 < \dots < \lambda_{N-1} < \lambda_N = 1)$$

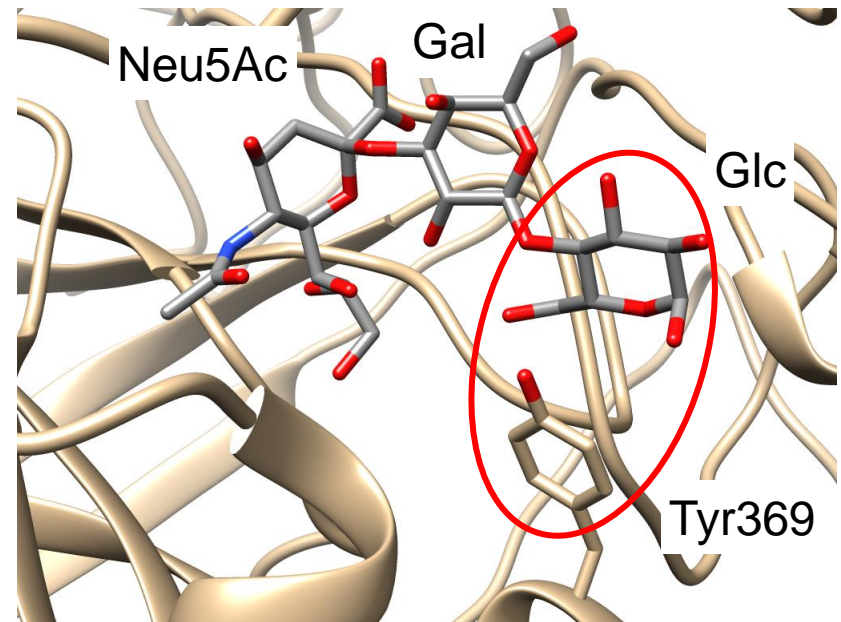
$$- \Delta G = \sum_{i=1}^N (G_i - G_{i-1})$$

$$- G_i - G_{i-1} =$$

$$- RT \log \langle \exp[-(E_i(\mathbf{r}) - E_{i-1}(\mathbf{r}))/k_B T] \rangle_{i-1}$$

ウイルスタンパク質と受容体糖鎖の相互作用解析

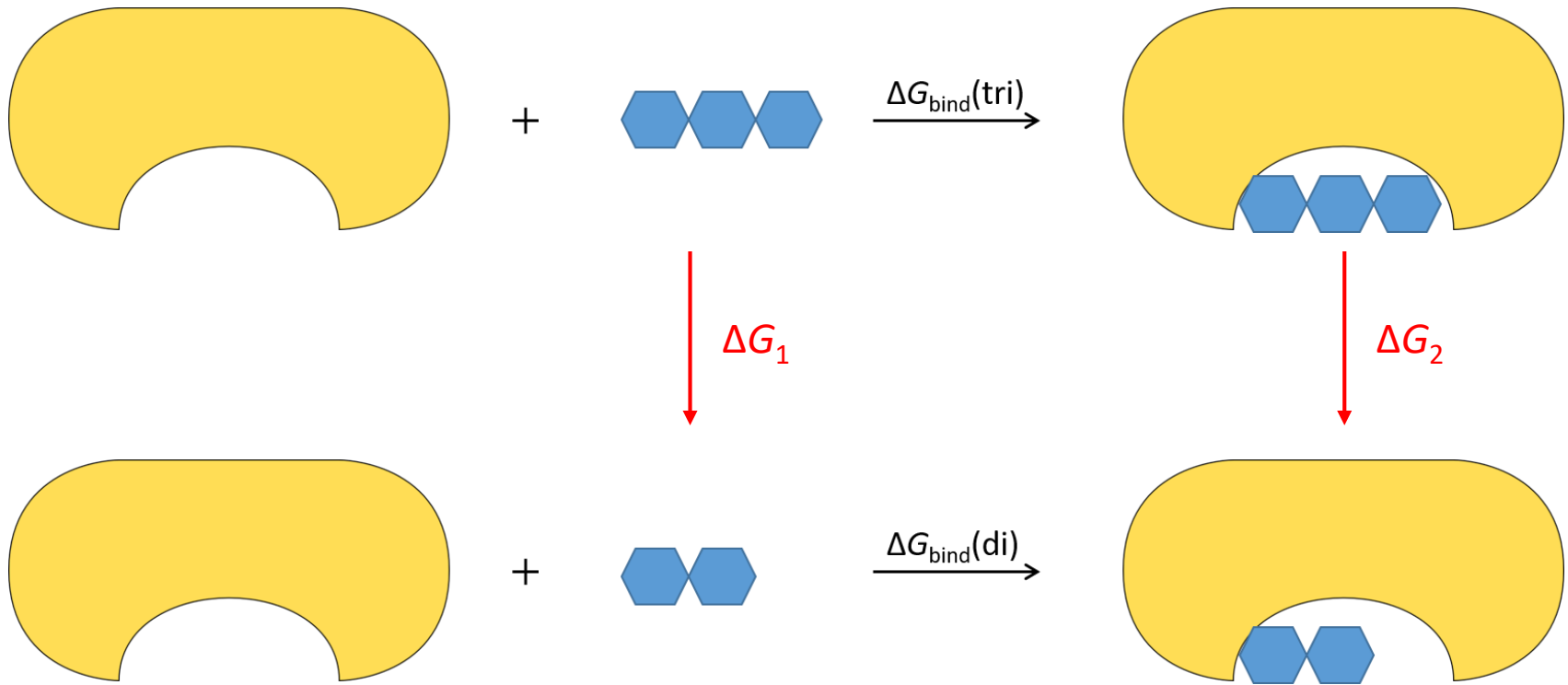
- おたふく風邪ウイルス表面に存在するタンパク質
- 感染時に細胞表面の糖鎖と結合する
- 従来、非還元末端のNeu5Acが結合に重要と言われていた
- 結晶構造解析の結果、GlcとTyr369の間の相互作用の重要性が示唆された
- GlcとTyr369の結合自由エネルギーへの寄与を計算する



糖鎖: Neu5Ac α (2 \rightarrow 3)Gal β (1 \rightarrow 4)GlcNAc

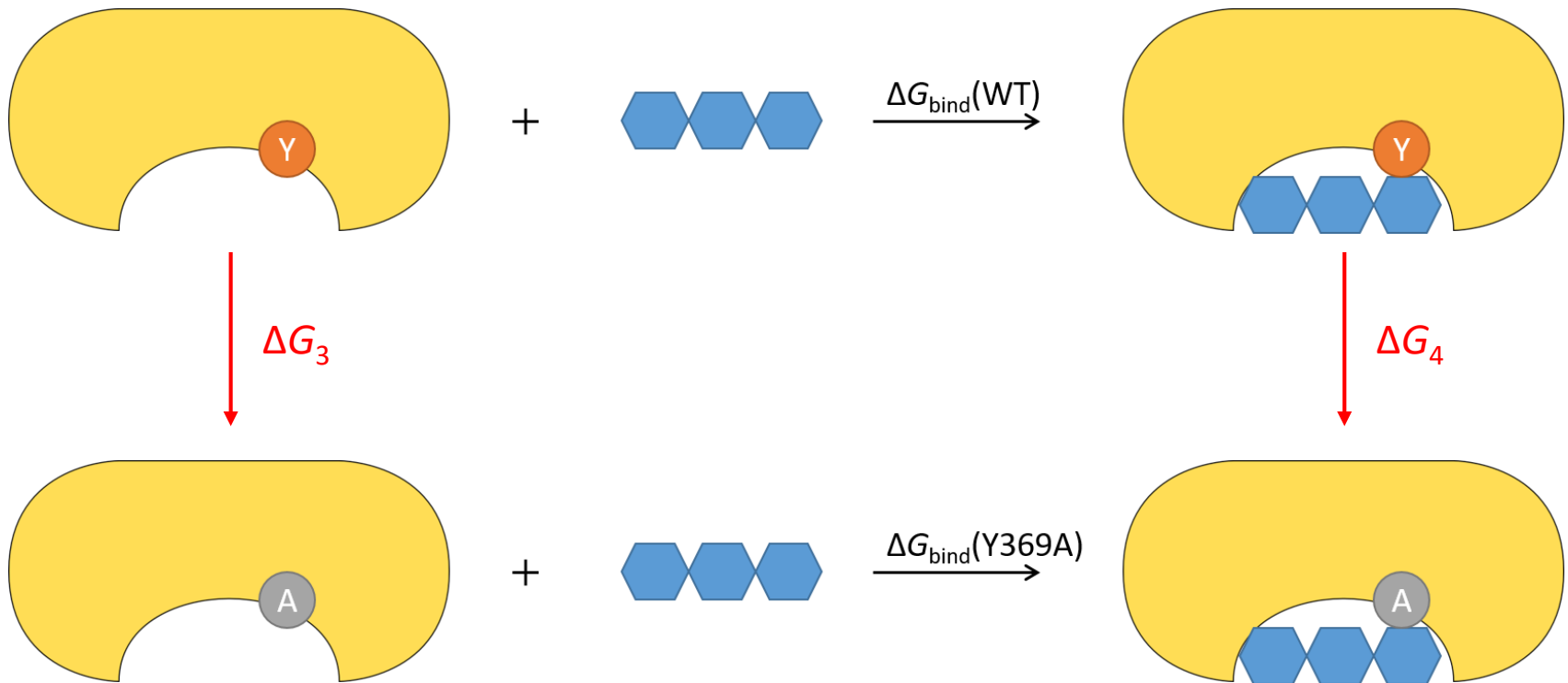
Glcの寄与の計算

$$\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{bind}}(\text{tri}) - \Delta G_{\text{bind}}(\text{di})$$



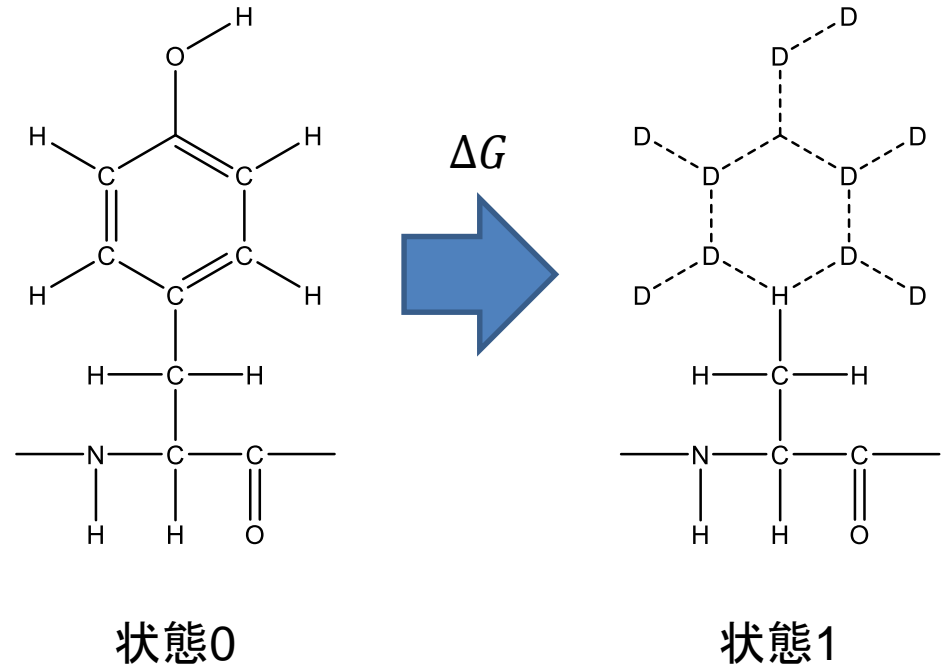
Tyr369の寄与の計算

$$\Delta\Delta G = \Delta G_{\text{bind}}(\text{WT}) - \Delta G_{\text{bind}}(\text{Y369A})$$



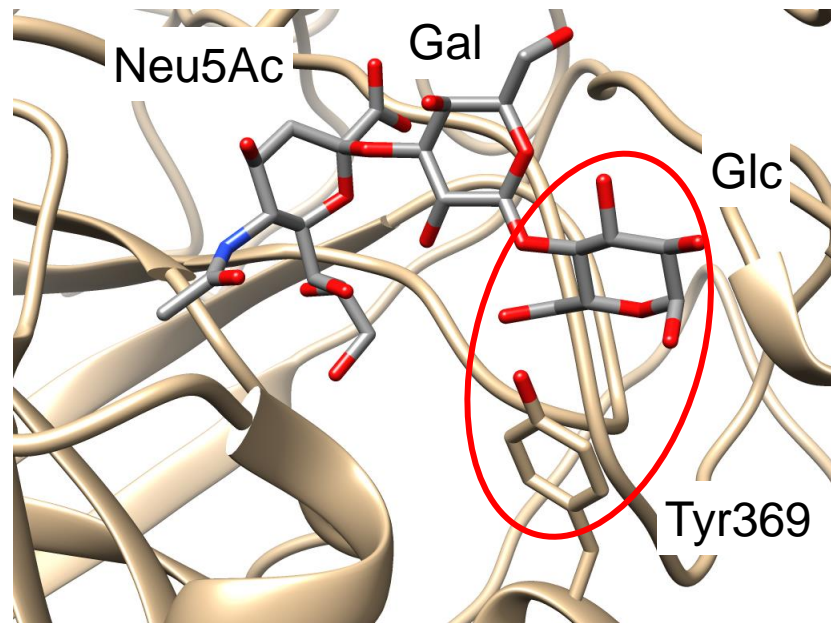
Alchemical transformation

- ここでは、分子を別の分子に変える “alchemical transformation” の自由エネルギー変化を計算している
- TyrからAlaへの変化の例では右図のように、TyrのC γ を水素原子に、これより先の側鎖の原子を他と非共有結合相互作用しないダミー原子に、変化させる



計算結果

- Glcの寄与の計算
 - $\Delta G_1 = -251.2 \pm 0.8 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - $\Delta G_2 = -234.6 \pm 1.2 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - $\Delta\Delta G = -16.6 \pm 1.9 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - Glcは複合体構造の安定化に寄与している
- Tyr369の寄与の計算
 - $\Delta G_3 = 57.6 \pm 0.8 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - $\Delta G_4 = 64.8 \pm 1.2 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - $\Delta\Delta G = -7.2 \pm 2.0 \text{ kJ mol}^{-1}$
 - Tyr369は複合体構造の安定化に寄与している



実験値:

$$K_D(\text{di}) = 56 \mu\text{M}$$

$$K_D(\text{tri}) = 500 \mu\text{M}$$



$$\Delta\Delta G = -5.2 \text{ kJ mol}^{-1}$$

課題

- 2HTYのA鎖に対してoseltamivir carboxylateのドッキングを行い、複合体の結晶構造(2HU4のA鎖)に最も近いモデルのランクとスコアの値を報告せよ
- また、そのモデルについて、結晶構造と重ね合わせて比較した図を作成せよ
- ランク1位のモデルについて、同様な図を作成し、なぜそのモデルが良いスコアを示しているか考察せよ

課題の提出

- ランクとスコア、考察を本文に記したメールを寺田宛tterada@iu.a.u-tokyo.ac.jpに送ること
- 図(結晶構造に最も近いモデルとランク1位のモデルの2つ)のファイルをこのメールに添付すること
- その際件名は「分子モデリング課題」とし、本文に氏名と学生証番号を明記すること