



薬剤が効くメカニズムの 分子レベルでの解明 —結合速度定数 (Kon)、解離速度定数 (Koff) 予測—

研究・開発機関 : NPO法人バイオグリッドセンター関西
 利用施設 : スーパーコンピュータ「京」
 計算規模 : 62.4万ノード時間/ペア
 利用ソフトウェア : GROMACS, McMD, pyEMMA (MSM解析ツール)

Before

- 病気の原因となる蛋白質に結合し、その機能を阻害する薬剤候補化合物を複数見出した際に、どの化合物が薬としての効果(薬効)が高いかを見極める手段は、結合のしやすさ(結合親和性)予測などに限られていました。
- そのため、多種多様な実験を各化合物で行う必要があり、有望な化合物の選定にはコストがかかっていました。

After

- 薬効の指標には親和性だけでなく、結合した状態がどの程度長く続くか(解離しにくい)などがあり、解離速度定数「Koff」と呼ばれています。Koffが大きいほど解離し難く、薬効が大きくなります。
- 分子シミュレーションによって精度よくかつ短時間でKoffを予測できると、その分の実験コストが軽減され、創薬効率が高まります。

背景と目的

病気の原因は主に蛋白質の機能暴走です。その機能を止めるには、蛋白質にある構造上のポケットに化合物を結合させることで可能となり、この化合物がいわゆる薬剤となります。

蛋白質と薬剤の結合のしやすさは図1の ΔG (結合自由エネルギー)で決まり、その値が大きいほど結合しやすくなります。

自然界では水が高いところから低いところへ流れるように、エネルギーも高いところから低いところへ移動しようとするので、結合していない状態より結合している状態のエネルギーが低ければ蛋白質と薬剤は結合しようとしていきます。

しかし、似たような ΔG を持つ化合物の場合、結合した後に解離しにくい化合物の方が薬剤として有利、つまり、解離速度定数(Koff)という指標が有効だと言われています。図1にあるように、結合速度定数(Kon)は結合するときに越えなければならないエネルギー、Koffは結合状態から乖離状態に移行するときに越えなければならないエネルギーに相当します。Koffが大きいほど解離しにくい、つ

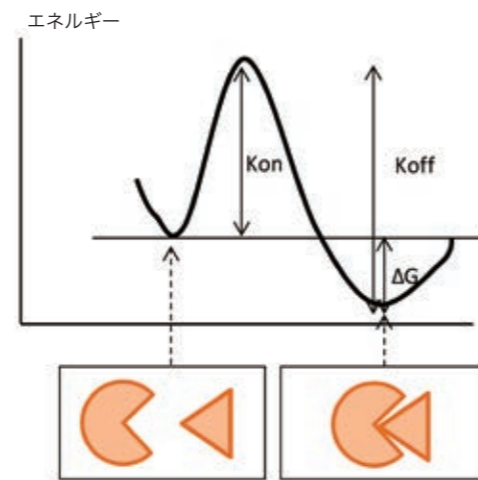


図1 結合のエネルギー強度

まり薬効が高いと言えます。そこで分子シミュレーションによってKon、Koffを予測する手法を開発しました。

利用成果

蛋白質と薬剤のKon、Koffを求めるには、長時間のシミュレーション計算(MD(molecular dynamics)計算)(100 μ 秒以上)を必要としますがこれを実行することは現状不可能です。そこで、「京」上で短時間のシミュレーションを複数行い、これを図2のMarkov State Modelsと呼ばれる手法に基づいて連結させることで、見かけ上の長時間MDを達成し、Kon、Koffを算出する手法(MD/MSM法)を開発しました。

MD/MSM法をガン細胞の代謝拮抗薬の標的となるDihydrofolate reductase(DHFR)蛋白質と阻害薬に適用したところ、図3のように、高い計算精度でKon、Koffを予測することに成功しました。図3の右のグラフはKon、Koff予測値(実線)と実験値(点線)との比較です。

また、結合過程の分子メカニズムとして、結合状態(青)から非結合状態(水色)へ遷移する際に、黄色や紫といった中間状態を経由することも明らかになりました。

さらに、Kon、Koffを精度よく予測するためには、薬剤が蛋白質に結合した状態を重点的にサンプリングしておく必要があることも経験的にわかっています。そこで、形成可能な蛋白質-薬剤結合構造(群)を効率的に探索することができるMcMD(マルチカノニカル)法をMD/MSM法に介在させることで、より精密にKon、Koffを予測する手法開発にも取り組んでいます。(図4)

出典 : hp170036, hp180011, hp190020, hp190021
(HPCIシステム利用研究課題番号)

MSM(Markov State Models)法の原理

複数の短時間MD(分子動力学計算)を統合し、構造クラスタリングにより定義した状態間の遷移モデルを構築する事で、分子構造の長時間ダイナミクスを推定する解析手法

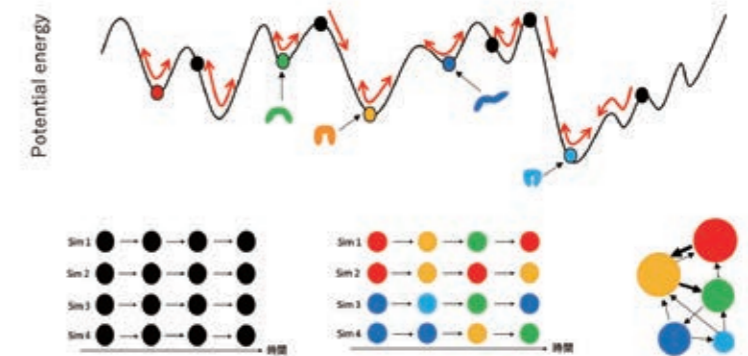


図2 Markov State Models の原理

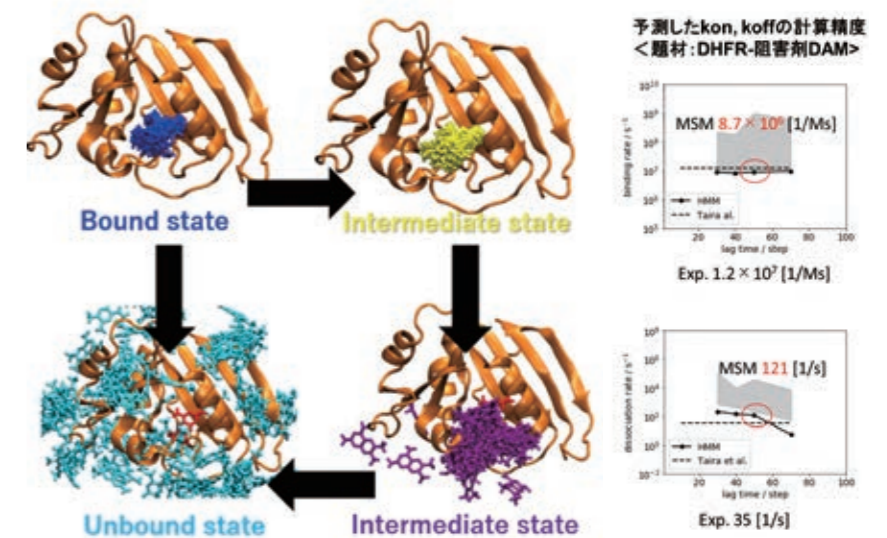
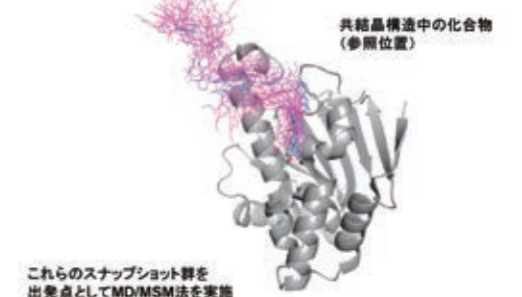


図3 MD/MSM 法による Kon、Koff の予測精度

マルチカノニカルMD法によるMD/MSMの効率化

マルチカノニカルMD法によって推定した化合物結合経路
 <題材:熱ショックタンパク質(HSP90)-阻害薬>



これらのスナップショット群を
 出発点としてMD/MSM法を実施

図4 より精密の良いKon、Koff予測手法