株式会社バイオモデリングリサーチ

BioMoDeLing Research

チュートリアル

マニュアルドッキング

MolDesk Basic Ver. 1.1.54 を使用

株式会社バイオモデリングリサーチ

2018/08/30

本チュートリアルでは、MolDesk Basic を用いて、マニュアルでリガンドを配置する方法について説明します。

目次

1. 本チュートリアルの概要 1
2. マニュアルドッキング 2
2.1. 分子の読み込み 2
2.2. 分子のコピー 8
2.3. 分子の回転と並行移動 9
2.4. 移動した分子の保存 11
3. エネルギー極小化 MD 12
3.1. 分子の挿入 12
3.2. 水素原子付加 15
3.3. 部分電荷付加 16
3.4. エネルギーの極小化 18
3.5. リガンドの保存 22
4. リガンドの比較 23

1. 本チュートリアルの概要

本チュートリアルでは、MolDesk Basic を用いて、リガンドのドッキング位置をマニュアルで変更する方法について説明します。さらに、マニュアル操作で作成した複合体構造のエネルギー極小化を行います。エネルギー極小化により比較的安定な複合体構造モデルの作成が可能です。

ここでは、リゾチームと糖鎖を含む化合物との複合体の X 線結晶構造を用いて、リガンドの結合位置をマニュアル操作で変更します。リゾチームには、細長い窪みがあり、そこに糖結合サイトが 6 個並んでいます。複合体の X 線結晶構造では、3 つの結合サイトに糖が結合しています。ここでは、リガンドの結合位置を 1 つ分ずらした構造を作成します。

使用するファイル：

レセプタータンパク質の PDB ファイル：pdb4hp0.ent

(ファイル名はダウンロードする PDB のサイトによって若干異なりますが、PDB ID が 4HP0 のものです。あらかじめ、PDBj 等からダウンロードしておいてください。)

2. マニュアルドッキング

本章では、マニュアル操作でリガンド位置を変更する方法について説明します。

2.1. 分子の読み込み

”File”→”Open Molecular File”でファイル選択のダイアログからファイルを選択します。ここでは pdb4hp0.ent を読み込んでください。レセプター分子を読み込むと自動的に新しいプロジェクトが作成されます。ここでは、インターネットに接続している場合には、”File”→”Open Remote PDB”でダイアログから PDB ID を入力することで同じ PDB ファイルを読み込むことができます。ここでは、4 HP0 を入力してください。しかし、本チュートリアルの後半の作業で PDB ファイルを、ファイルから読み込む箇所がありますので、PDB ファイル(pdb4hp0.ent)を、あらかじめダウンロードしておいてください。

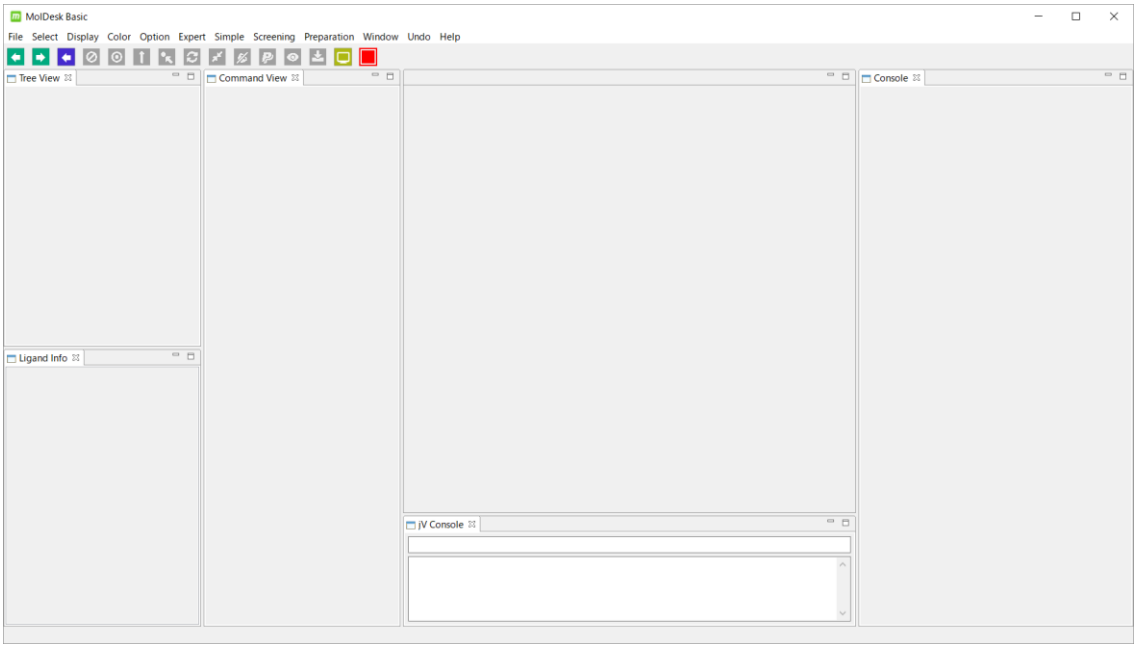

図 1　起動直後の画面

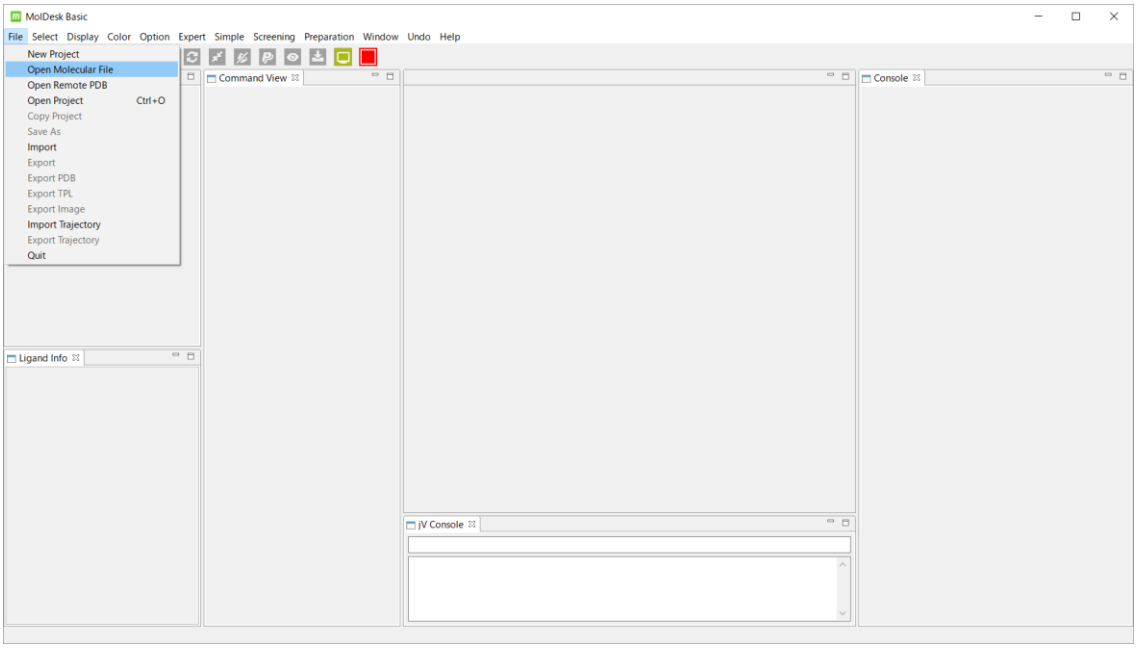
MolDesk Basic
File Select Display Color Option Expert Simple Screening Preparation Window Undo Help
New Project
Open Molecular File
Open Remote PDB
Open Project Ctrl+O
Copy Project
Save As
Import
Export
Export PDB
Export TPL
Export Image
Import Trajectory
Export Trajectory
Quit
Command View
Console
Ligand Info
jV Console

図 2　分子の読み込み

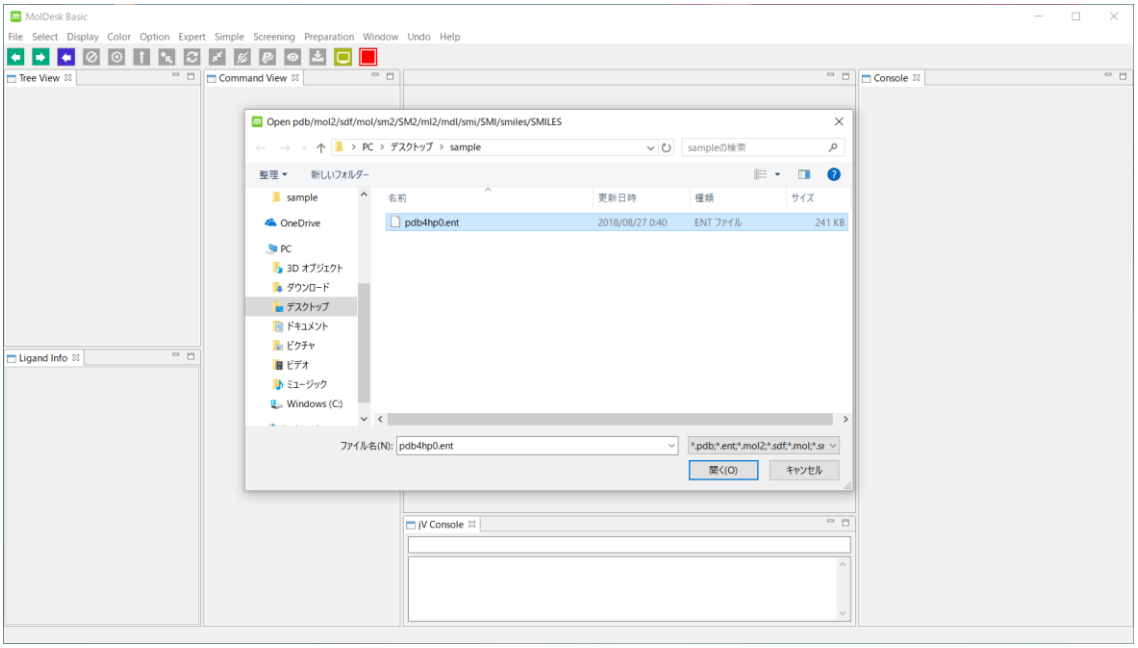

図 3　分子の読み込み 2

3D View に読み込んだ分子が表示されます。

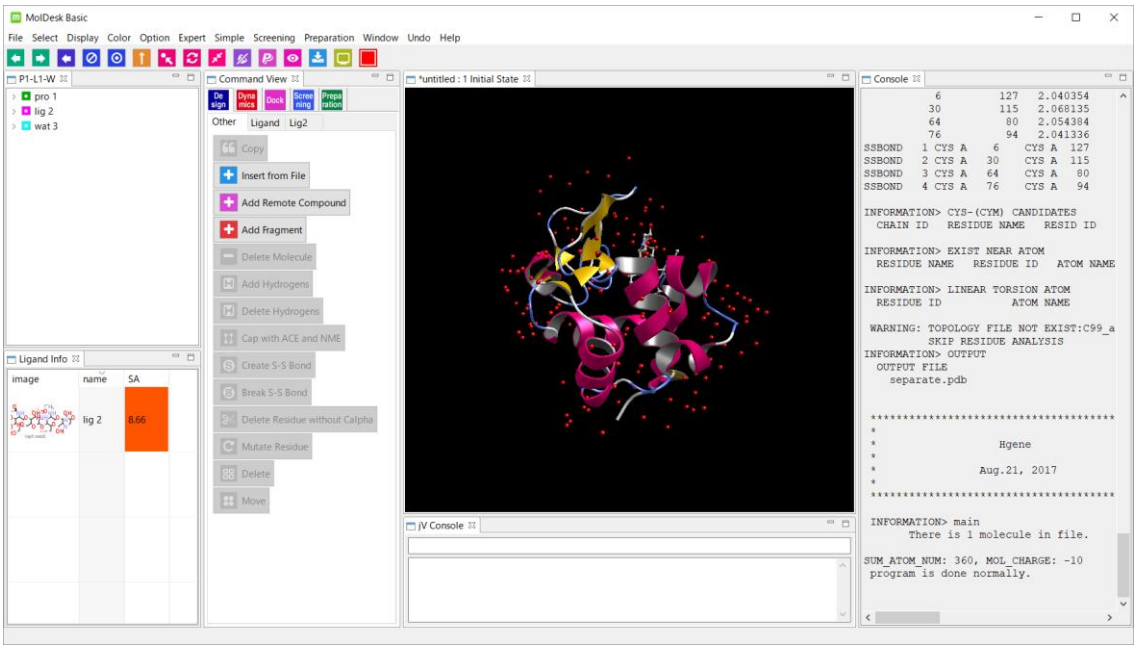

図 4　PDB ファイル読み込み直後の画面

使わないウィンドウを最小化することによって、3D View のウィンドウを大きくすることができます。

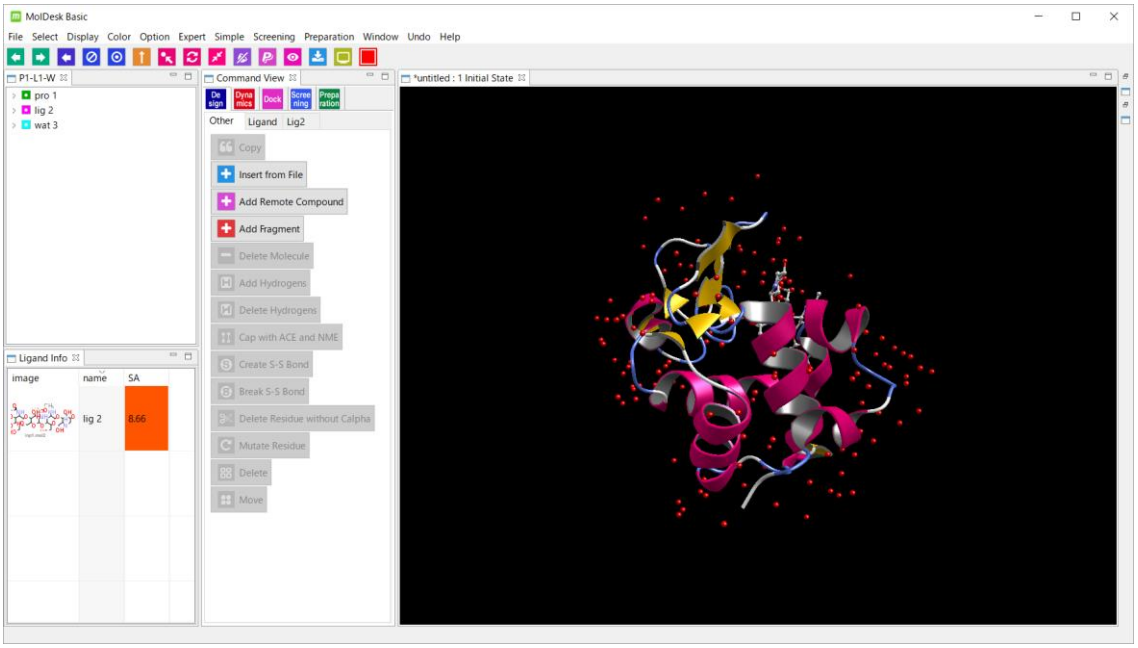

図 5　調整した画面

ここで、これからの作業において不要な分子を除去します。Tree View の pro1 と wat3 を選択して、Command View の Delete Molecule をクリックします。複数の分子を一度に選択する場合には、Ctrl キーを押しながら、分子をクリックしてください。

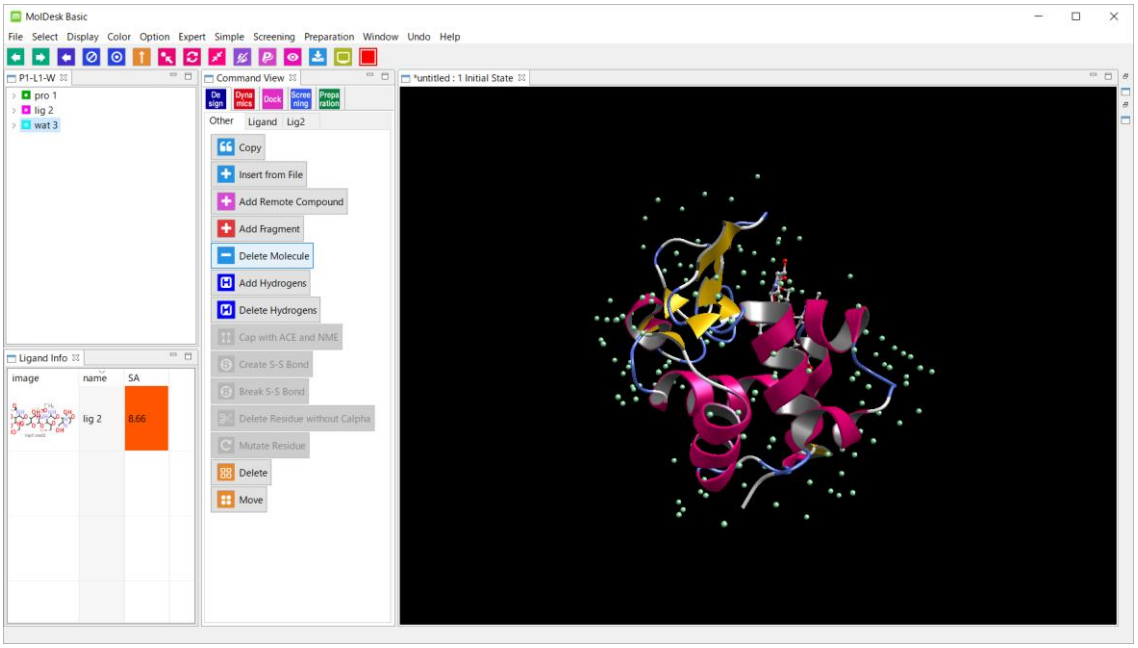

図 6　不要分子の除去

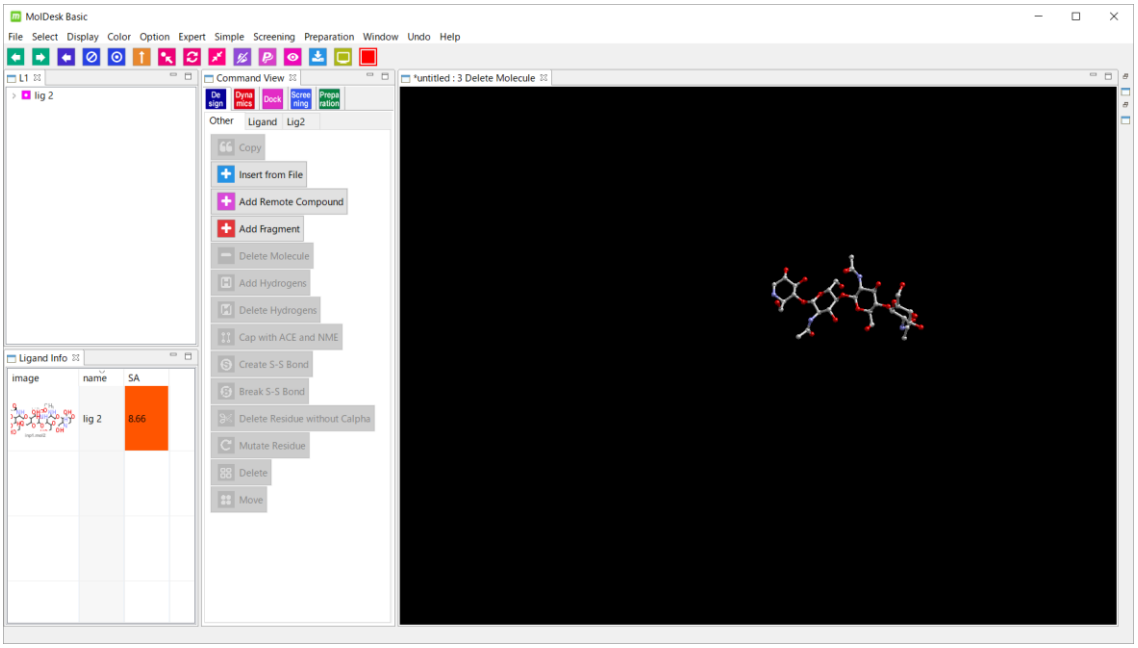

図 7　不要分子除去後の画面

MolDesk Basic に実装されているセンタリングの機能を使うと、選択した分子を 3D View の大きさにフィットしたサイズで分子を表示できて便利です。センタリングは、アイコンバーの中にある Center のアイコンをクリックすることによって実行されます。

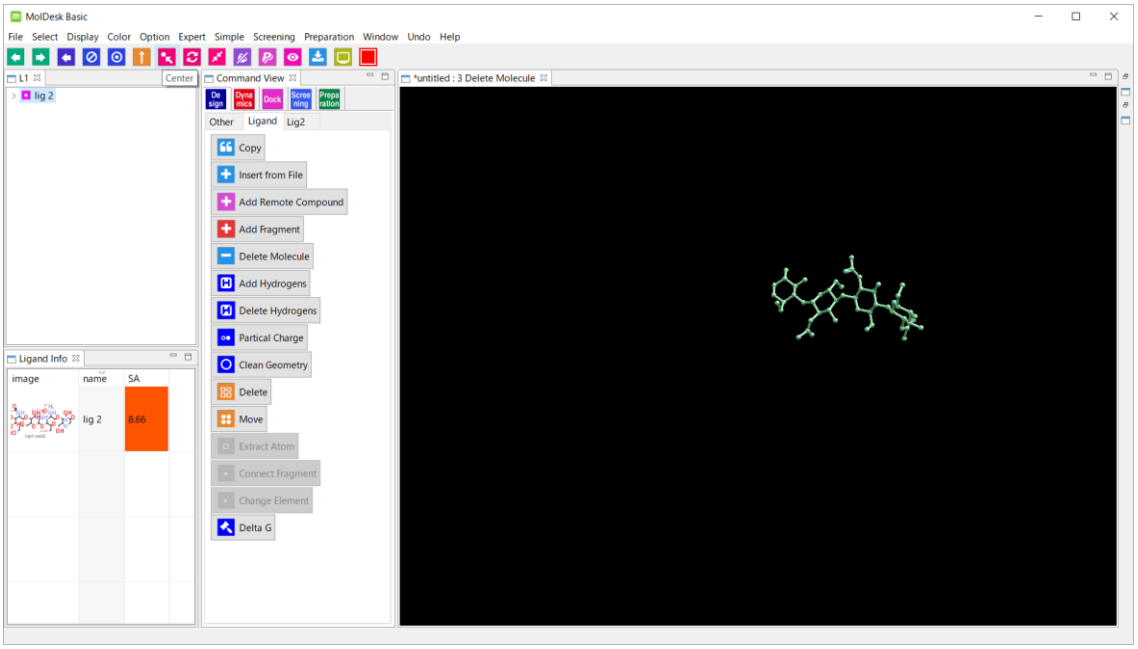

図 8　分子のセンタリング

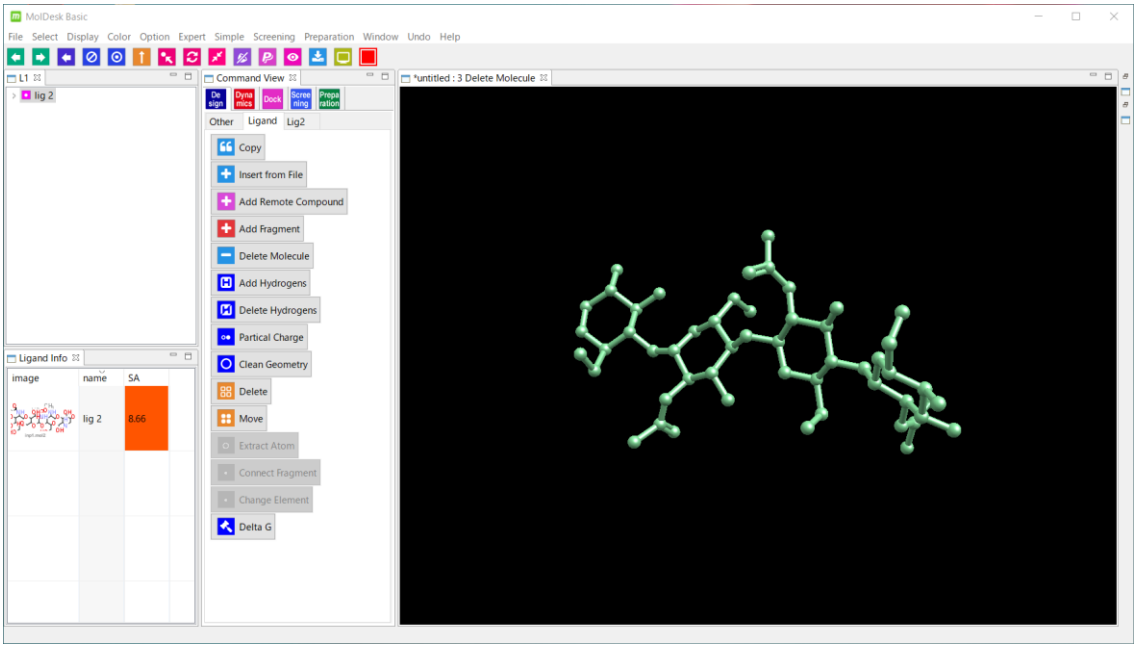

図 9　センタリング後の分子

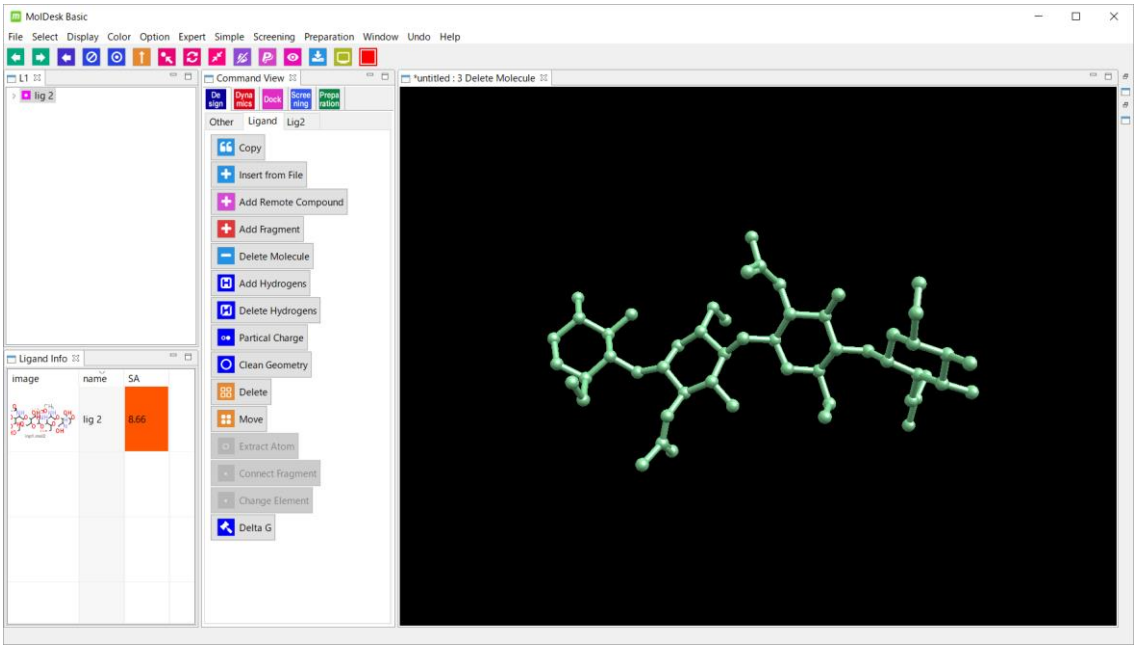

図 10　分子の角度を少し変えた画面

2.2. 分子のコピー

ここで分子の複製を作成します。Tree View の lig2 を選択後に、Command View の Copy をクリックします。

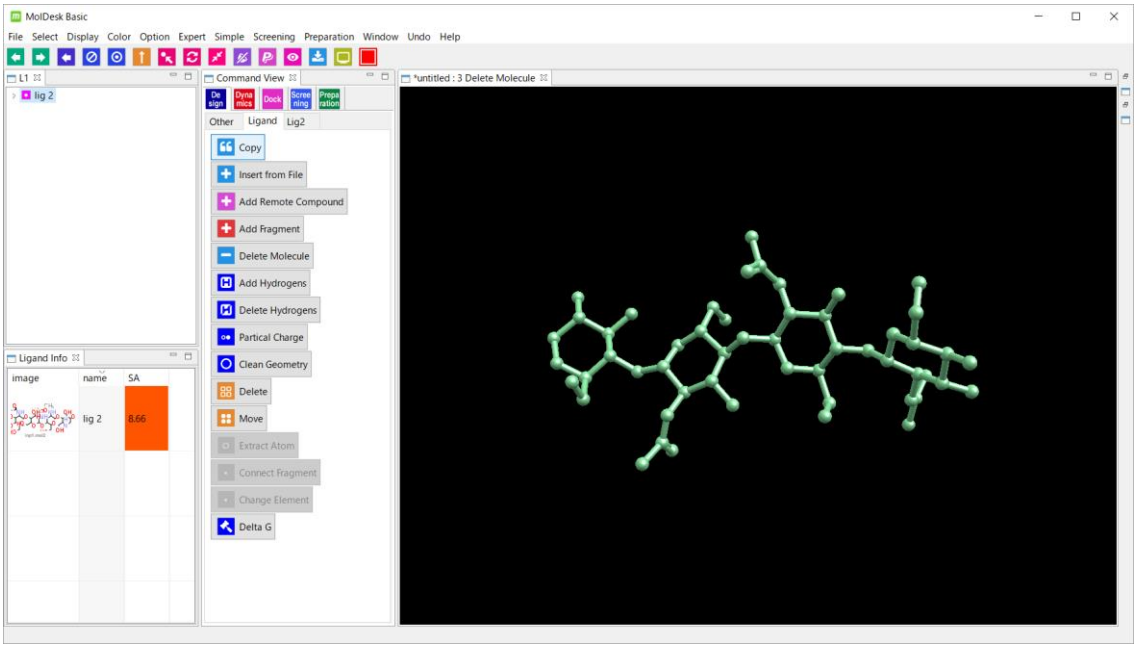

図 11　分子のコピー

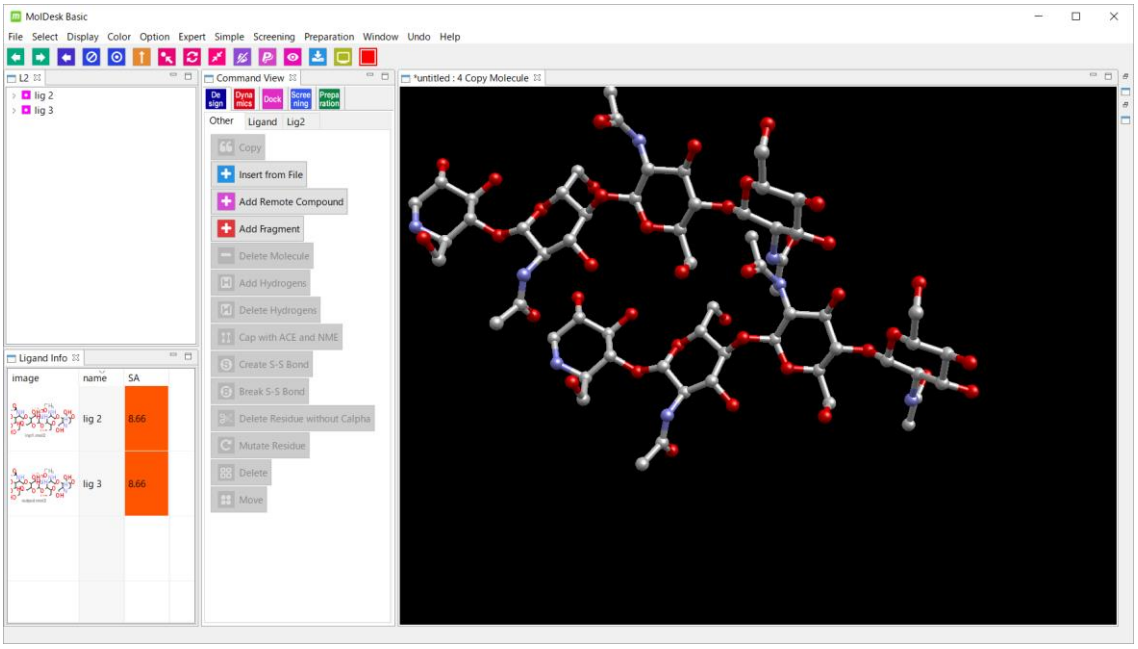

図 12　分子のコピー実行後の画面

2.3.　分子の回転と並行移動

ここでは、環を１つだけずらして、３つの環ができるだけ良く重なった座標を作成する。環状部分から出ている官能基の長さに注目すると、上下にフリップしたものがより重なると考えられる。ここでコピーした分子を上下にフリップする。lig3 を選択後に Command View の Move(Design タブ)をクリックする。マウスカーソルを lig3 の原子のいずれかに重ねて、**マウスの左ボタンを押したままマウスを動かして分子を回転させる。**(この操作は少し難しいです。系全体が回転してしまうことがあります。その場合は、回転する分子を異なる場所で選択して操作をやり直してください。)

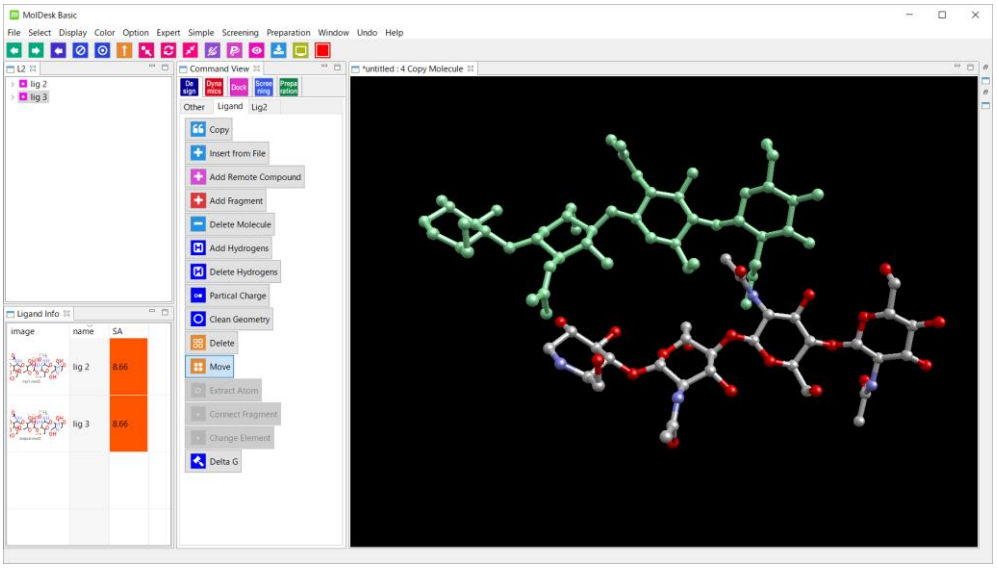

図 13　分子の移動・回転１

図 14 において、下の分子における右から２つ目と３つ目の環にコピーした分子の右から１つ目と２つ目の環ができるだけ重なる向きになるように回転させる。平行移動は、回転操作とは別に行う。

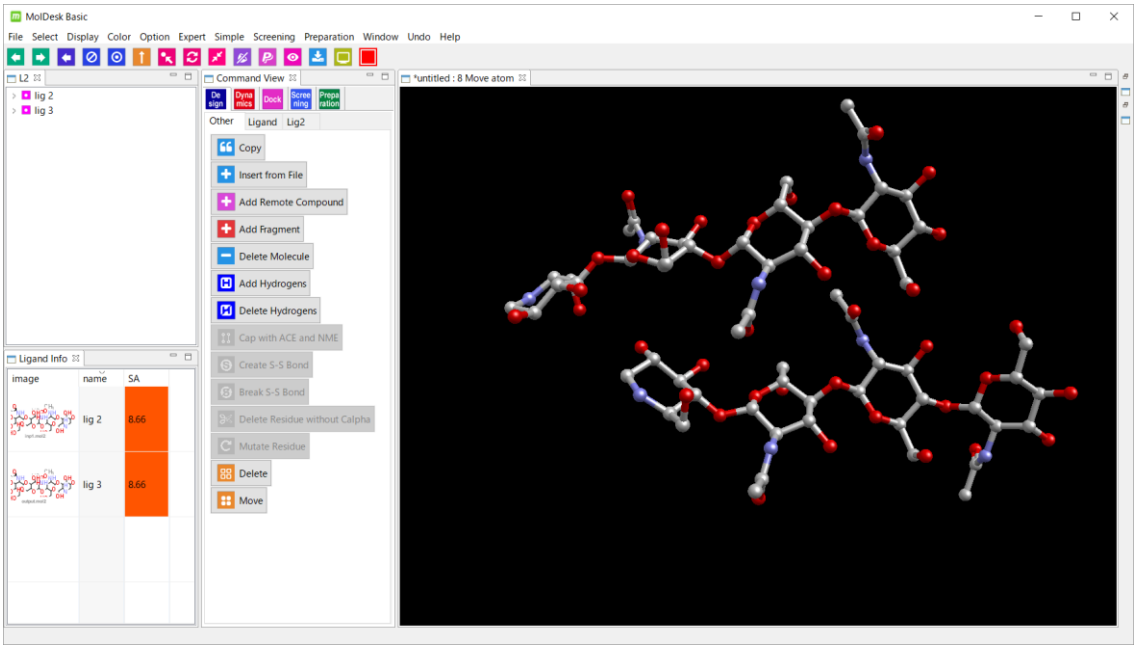

図 14　回転後の分子

並行移動は、マウスの右ボタンを押したままマウスを動かします。並行移動は、XY 方向（画面の手前から奥の方向を Z 方向とする）のみしかできませんので、ある画面で手前や奥への並行移動は系を回転させてから、横・上下方向の並行移動で目的の並行移動を実行します。

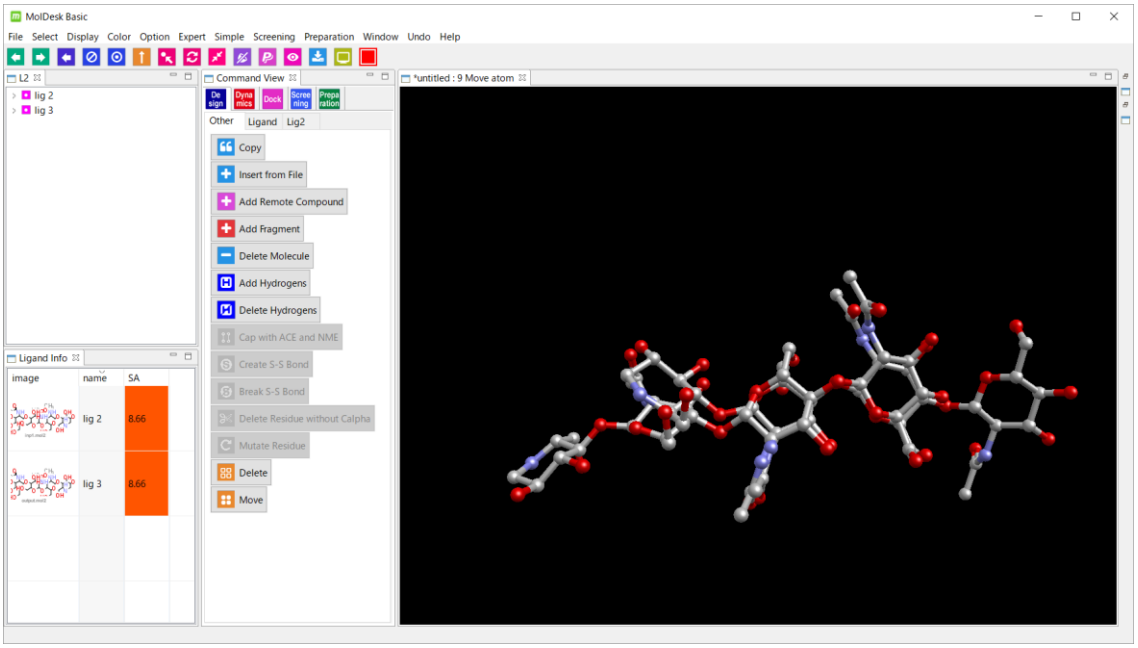

図 15　平行移動後の画面

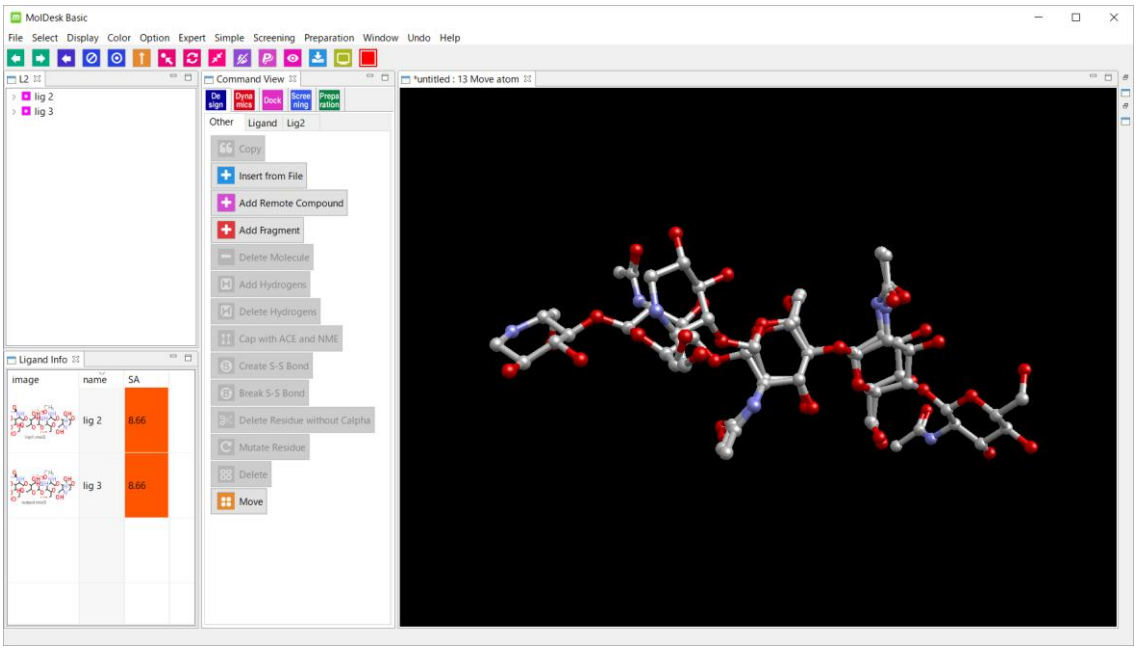

図 16　3 つの環をマニュアル操作で重ねた画面

2.4.　移動した分子の保存

この構造（座標）を、後から参照できるように、ここで一旦、分子の座標を保存します。Tree View の lig3 を右クリックして、出てきたプルダウンメニューの中から、Export Single Mol2 を選択します。ここでは、lig_moved0.mol2 という名前で保存してください。

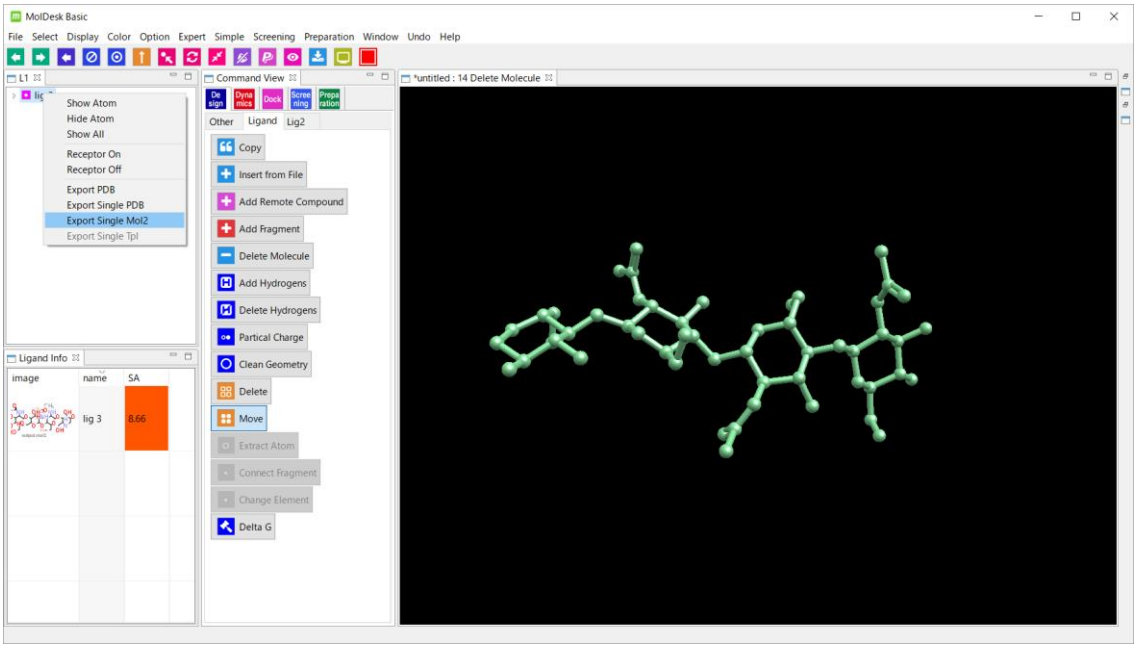

図 17　分子の保存

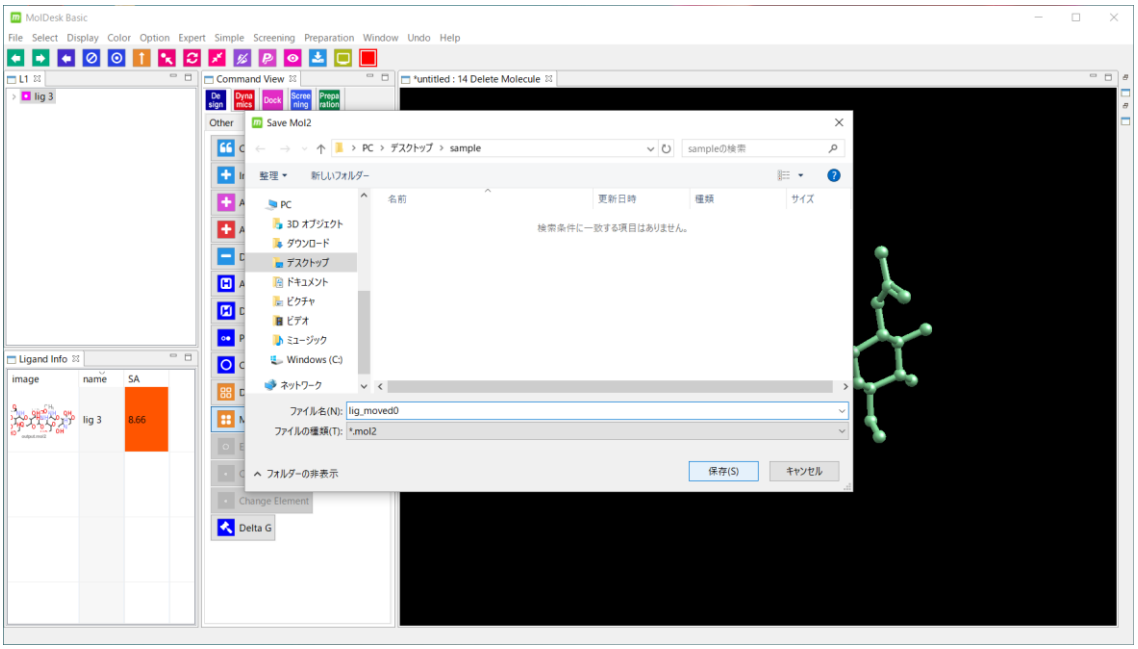

図 18　分子の保存 2

3. エネルギー極小化 MD

3.1. 分子の挿入

ここで、再度、X 線結晶構造を読み込みます。既に画面に出ている分子と同じ画面に分子を表示するためには、Command View の Insert from File で pdb4hp0.ent を読み込みます。(File→Open Molecular File/Open Remote PDB を使うと、別のプロジェクトを作成して、別のタブに分子を表示します。)

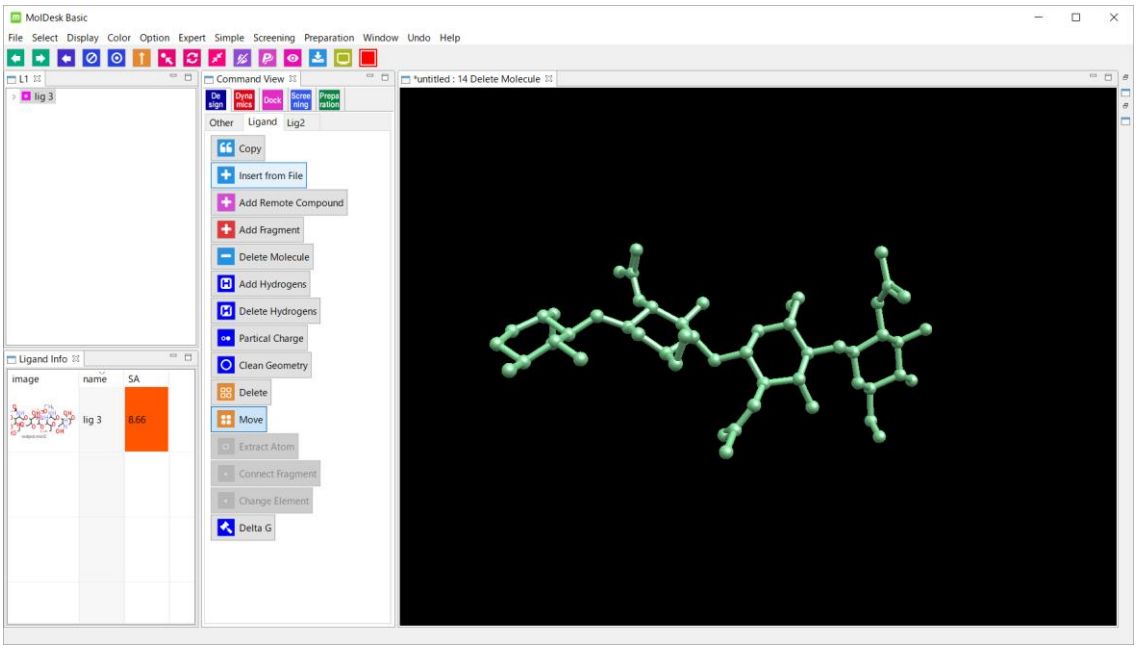

図 19　分子の挿入

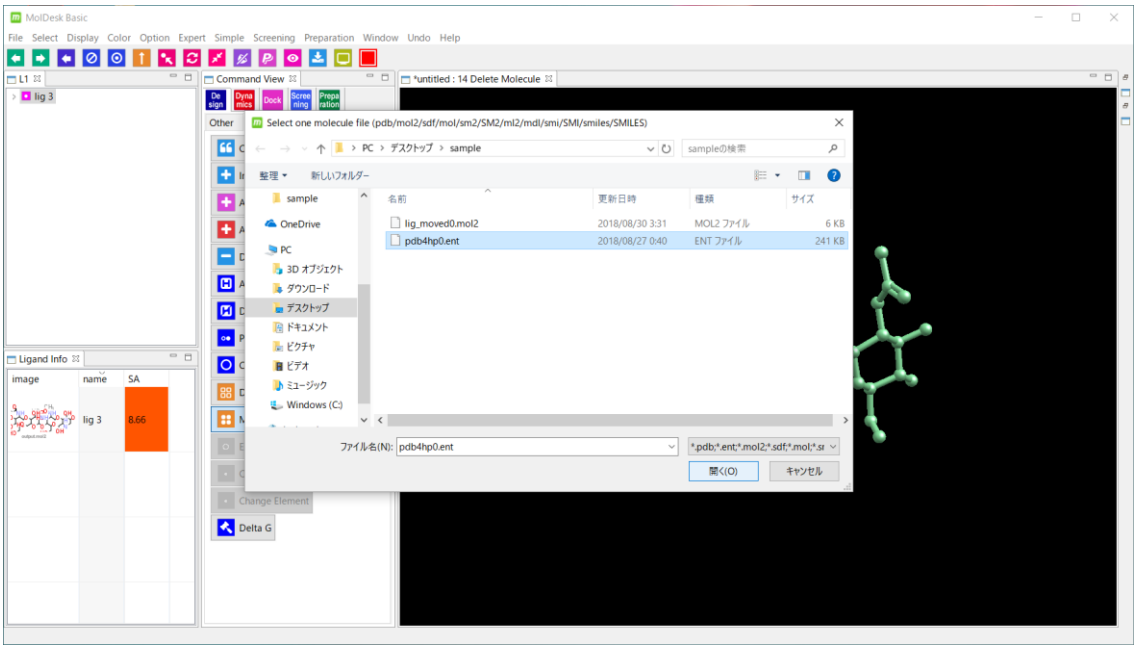

図 20　挿入する分子の指定

Insert from File で分子を読み込む場合には、リガンドの座標系を選択できます。ここでは、”file”を選択します。”mouse”を選択すると、マウスでクリックした場所（ユーザーが決めた場所）に分子を配置します。”file”を選択するとファイルの座標系で分子を表示します。

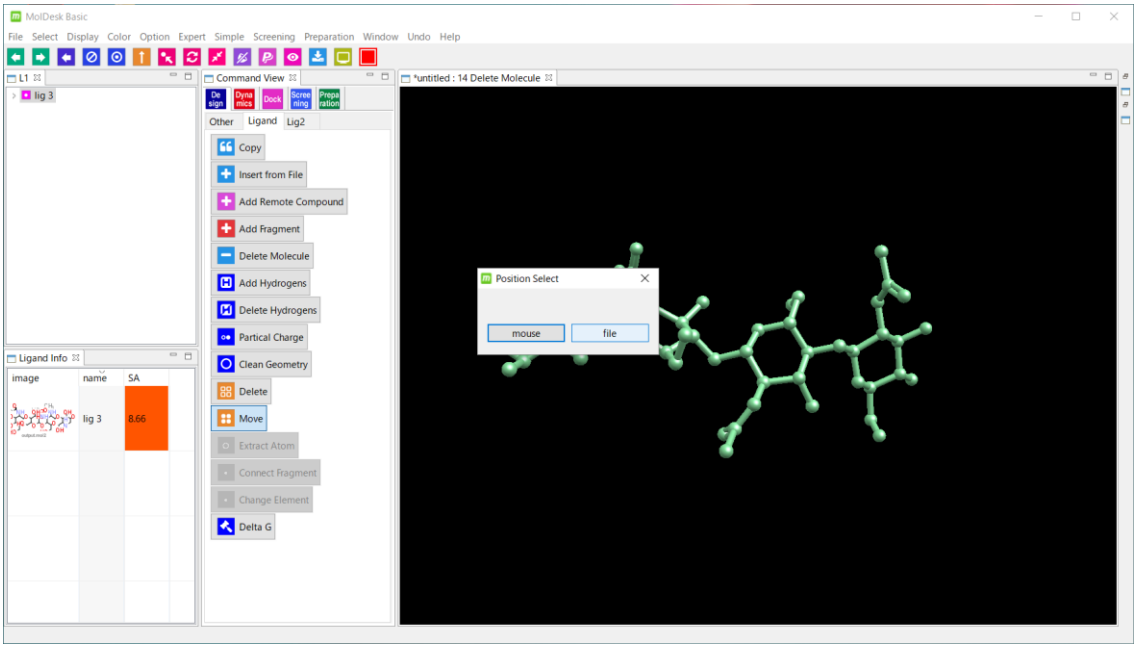

図 21　挿入する座標系の選択

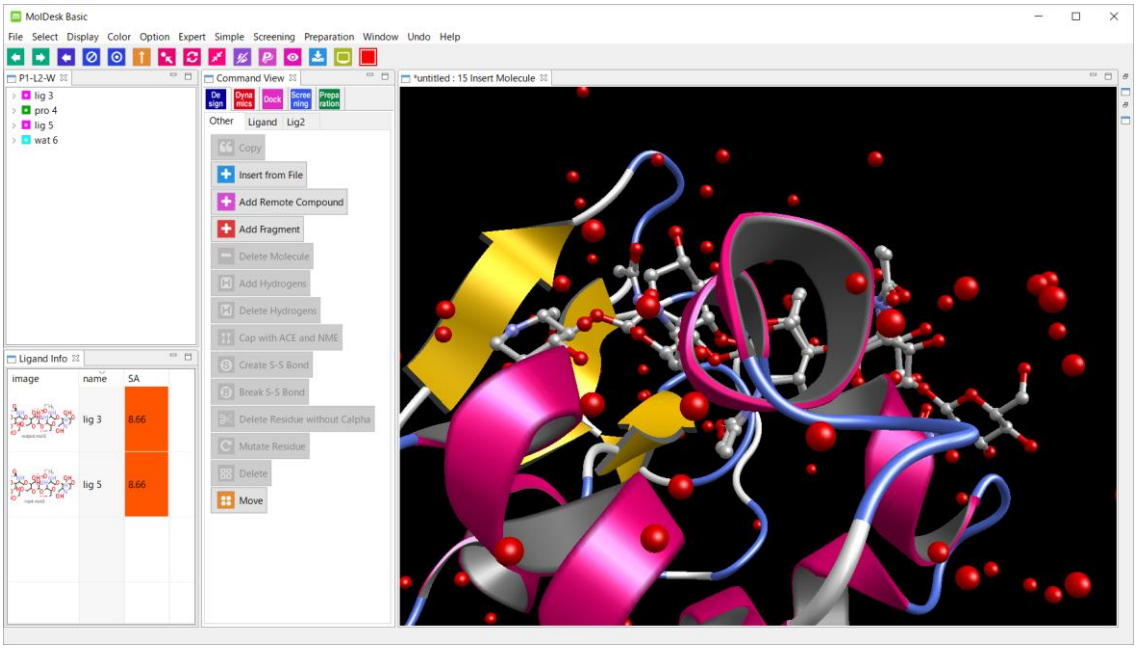

図 22　挿入後の画面

ここで、lig5 と wat6 を削除します。つまり、マニュアル操作で移動したリガンドと、タンパク質との複合体を残します。Ctrl キーを押して、lig5 と wat6 を選択し、その後に、Command View の Delete Molecule をクリックします。

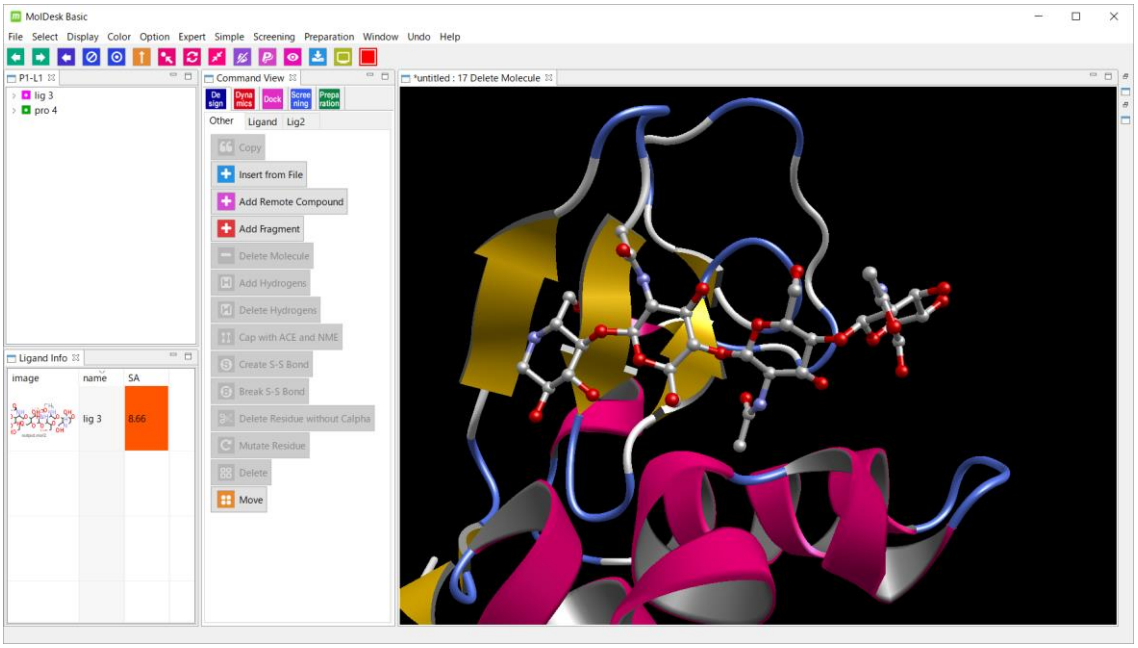

図 23　不要分子除去後の画面

3.2.　水素原子付加

ここでリガンドに水素原子を付加します。Tree View の lig3 を選択後に、Command View の Add Hydrogens をクリックします。

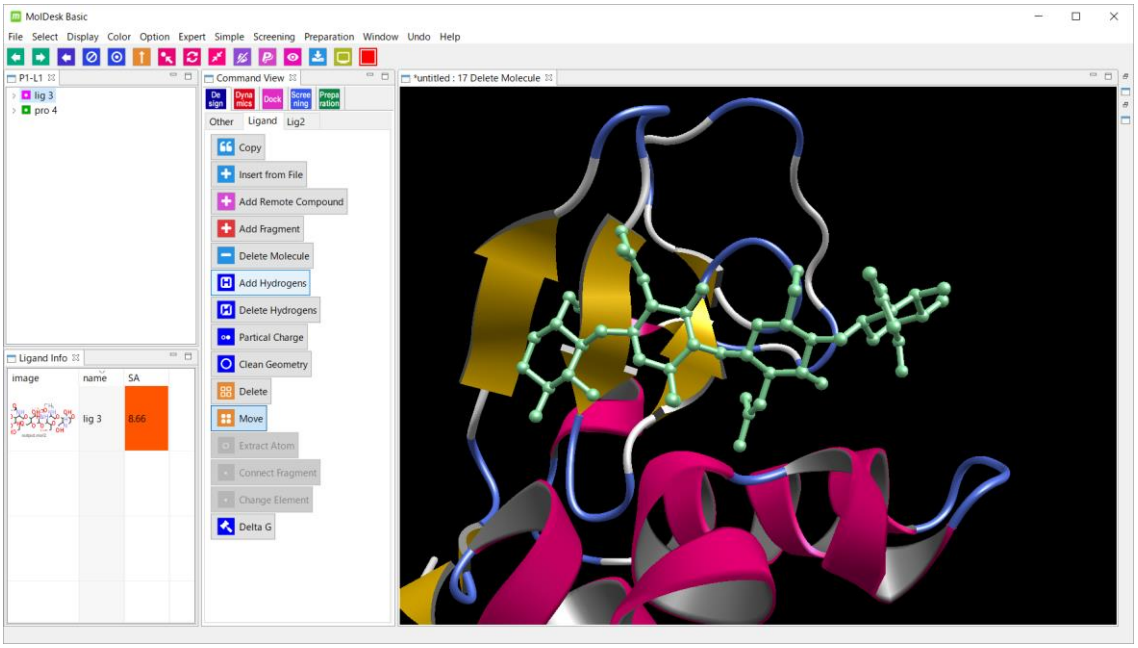

図 24　リガンドの水素原子付加

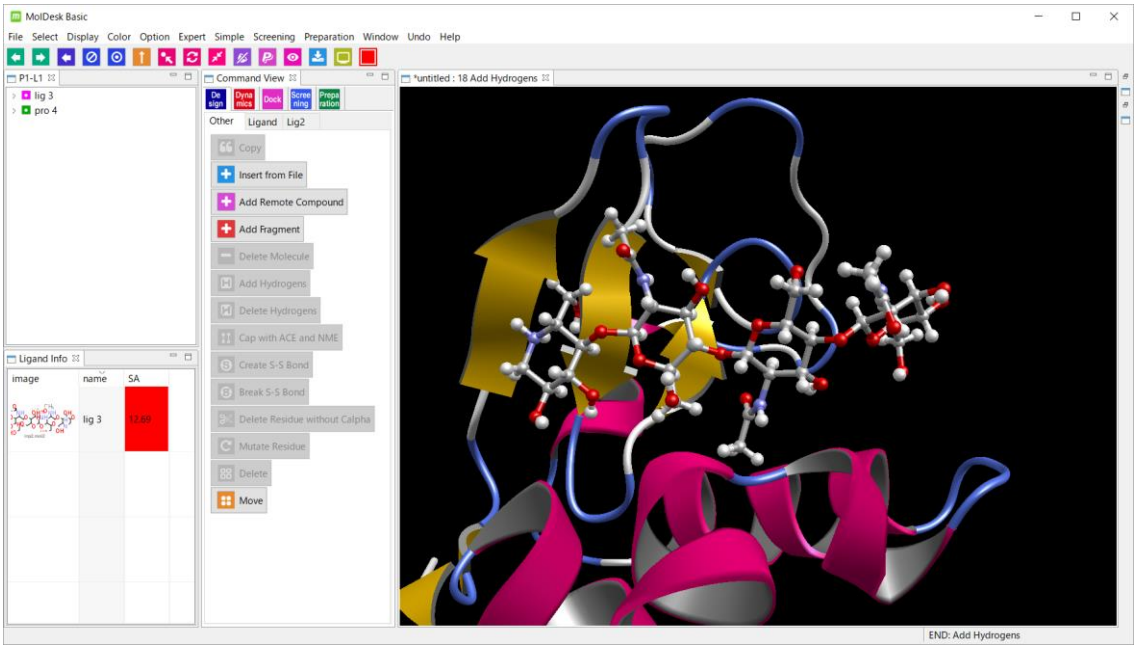

図 25　水素原子付加後の画面

3.3.　部分電荷付加

次に、リガンドの各原子について部分電荷を計算します。Tree View の lig3 を選択後に、Command View の Partial Charge をクリックします。

図 26　リガンドの部分電荷付加

ここでは、MOPAC7 AM1 BCC を使います。

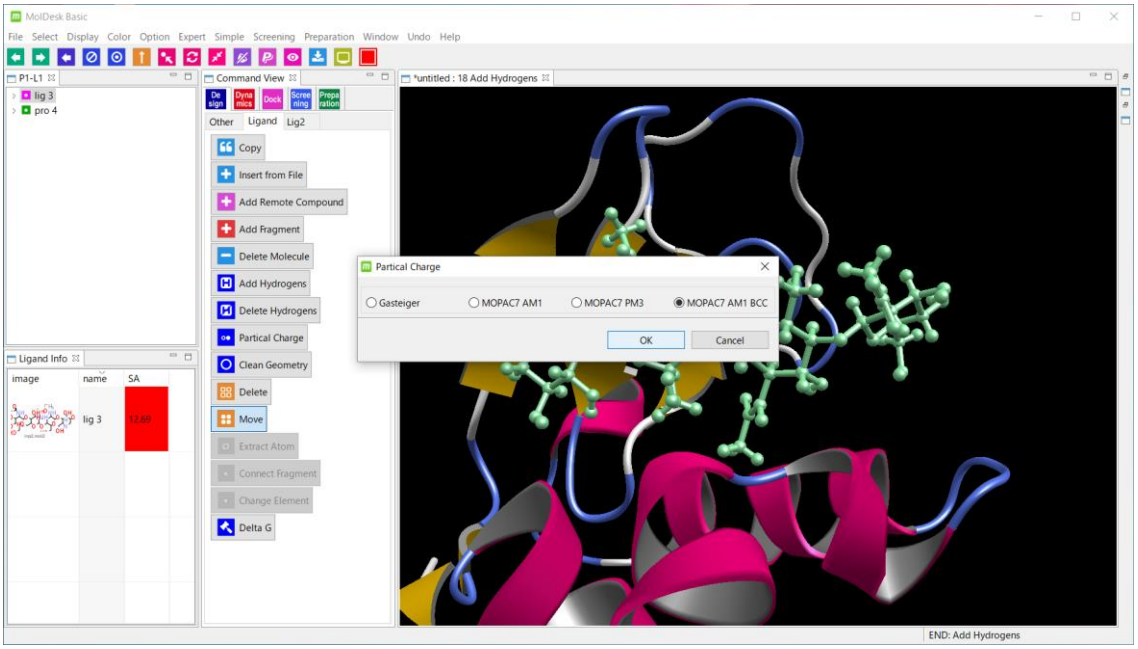

図 27　電荷計算方法の選択

MOPAC7 AM1 BCC は、少し長めの計算時間がかかります（多くの場合は、数分)。計算中は、右下に、”START: Partial Charge”と表示されます。また、Command View のメニューが灰色になり、使えない状態になります。

図 28　電荷計算中の画面

計算が終わると、右下の表示が”END: Partial Charge”となり、Command View の一部が使えるようになります。

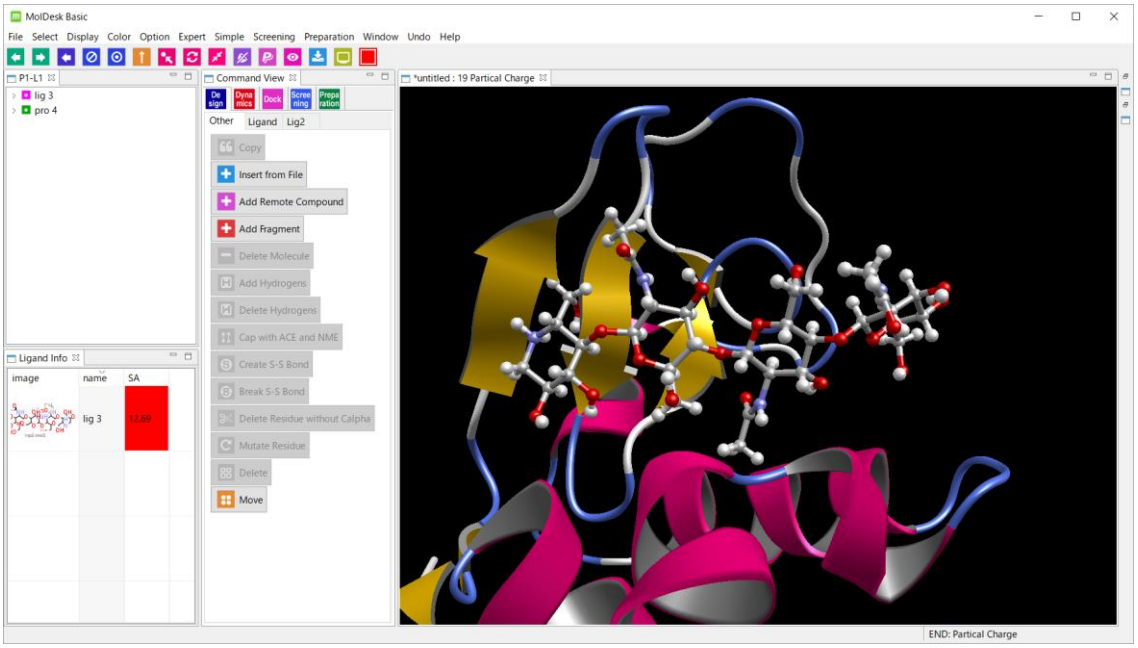

図 29　電荷計算完了後の画面

3.4.　エネルギーの極小化

エネルギー極小化計算を開始するために、Command View の Dynamics タブを選択し、Global Minimize をクリックします。

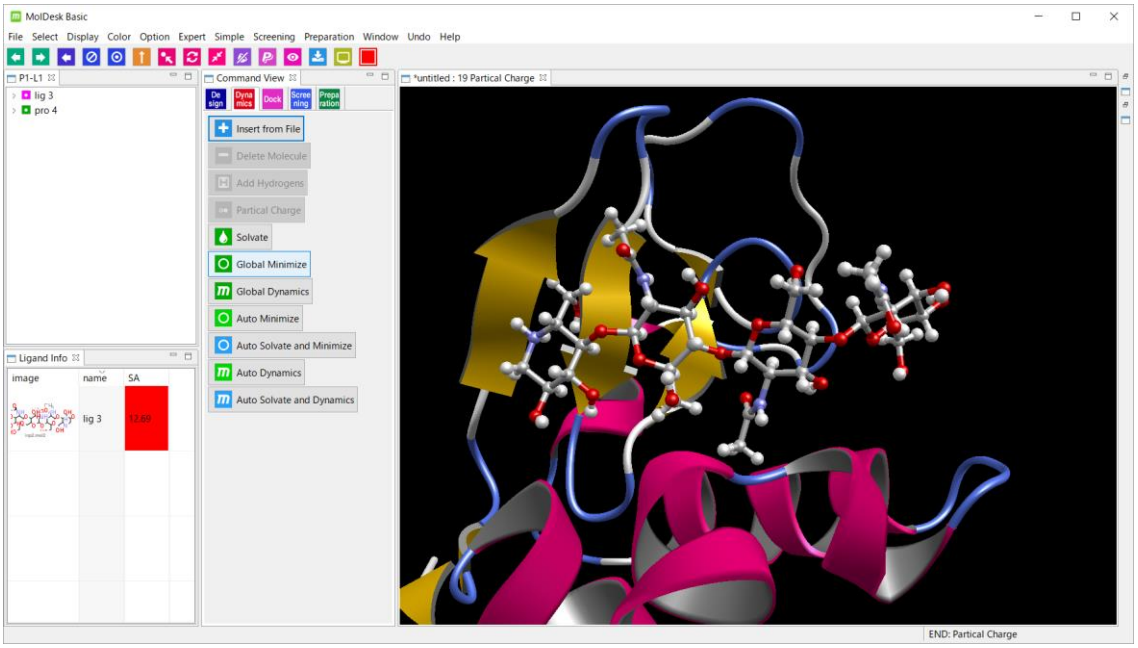

図 30　エネルギー極小化計算の開始

出てきたダイアログでエネルギー極小化計算の設定をします。ここでは、タンパク質の原子には位置束縛をかけて動かさないようにし、Generalized Born 法で陰溶媒モデルを使ったエネルギー極小化計算を行うことにします。

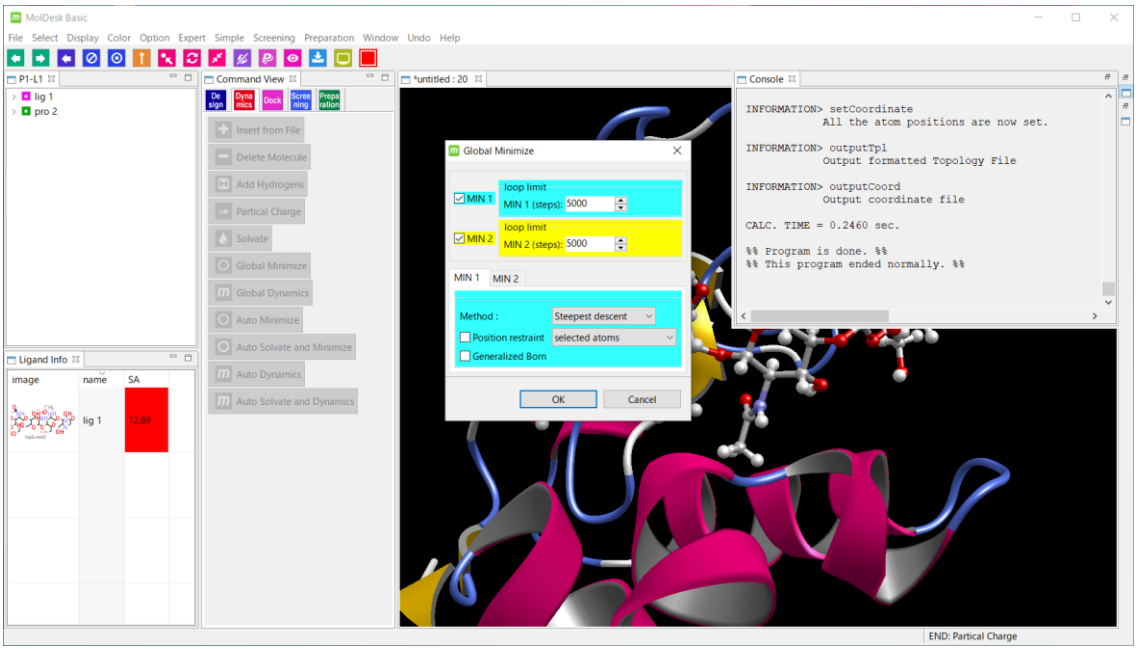

図 31　エネルギー極小化計算の設定ダイアログ

選択した原子に対して位置束縛をする設定を使用するために、まず、Tree View の pro2 を選択します。

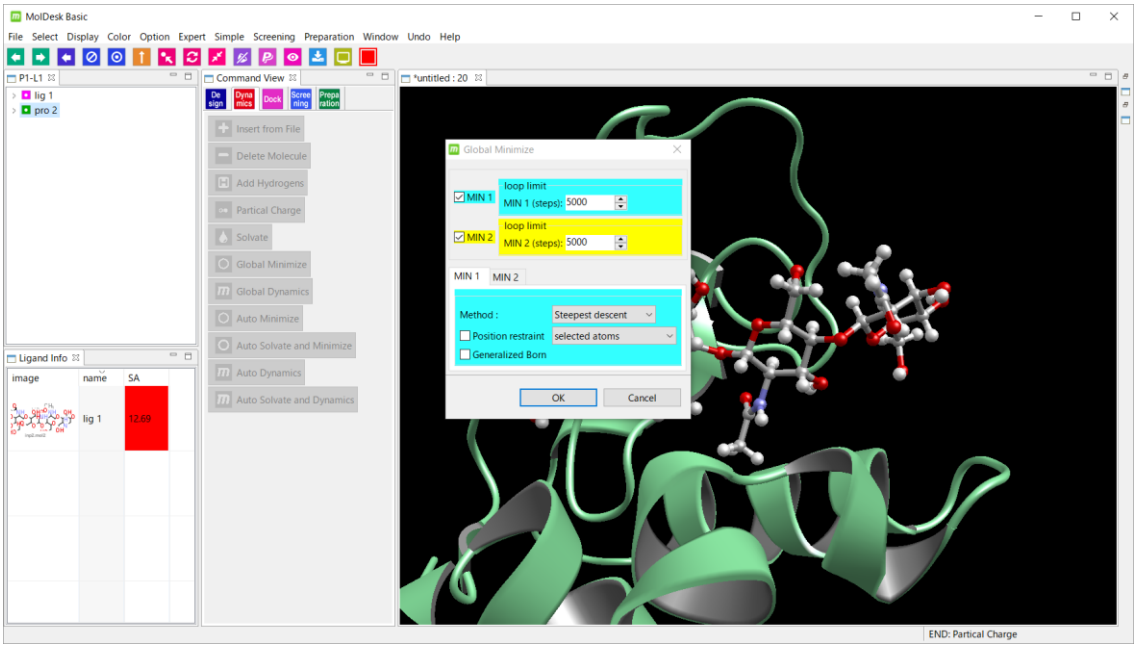

図 32　束縛に使う分子の選択

ここでは、エネルギー極小化計算は２段階で行うことにします。１段階目(MIN1)は Steepest descent 法で、２段階目(MIN2)は Conjugate gradient 法で計算します。MIN1 と MIN2 の詳細設定は、MIN１と MIN2 のタブで設定します。両方のタブで、Position restraint のチェックボックスにチェックを入れ、プルダウンメニューから selected atoms を選択し、Generalized Born のチェックボックスにもチェックを入れます。

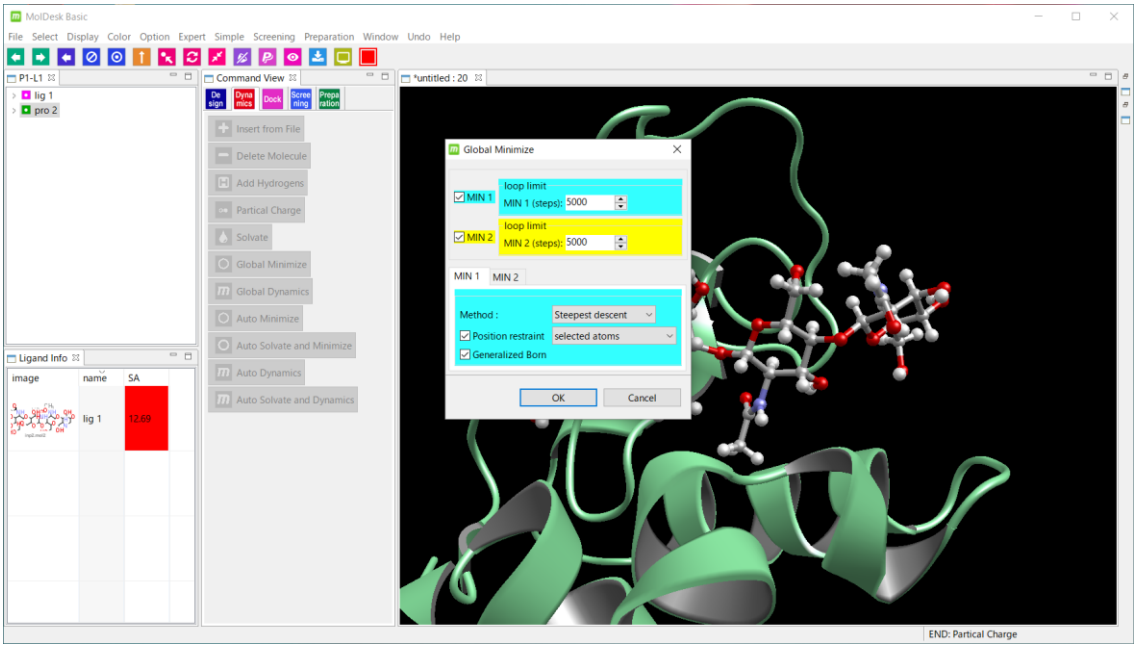

図 33　エネルギー極小化計算の設定１

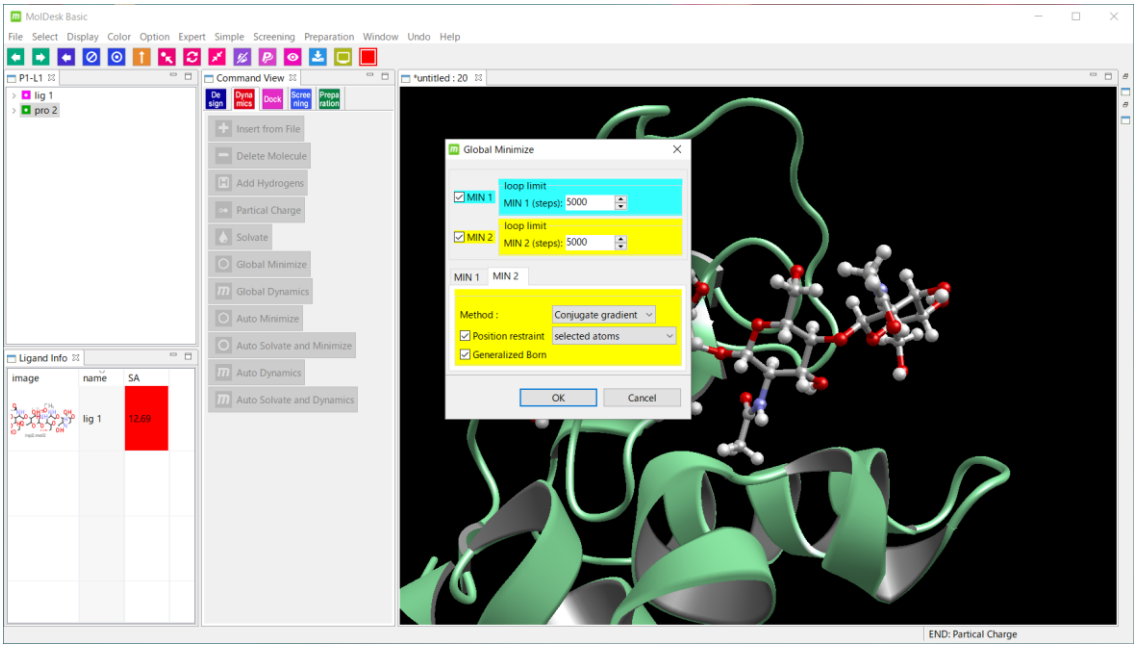

図 34　エネルギー極小化計算の設定 2

エネルギー極小化計算を開始すると、右下に“START: Global Minimize”の文字が表示されます。

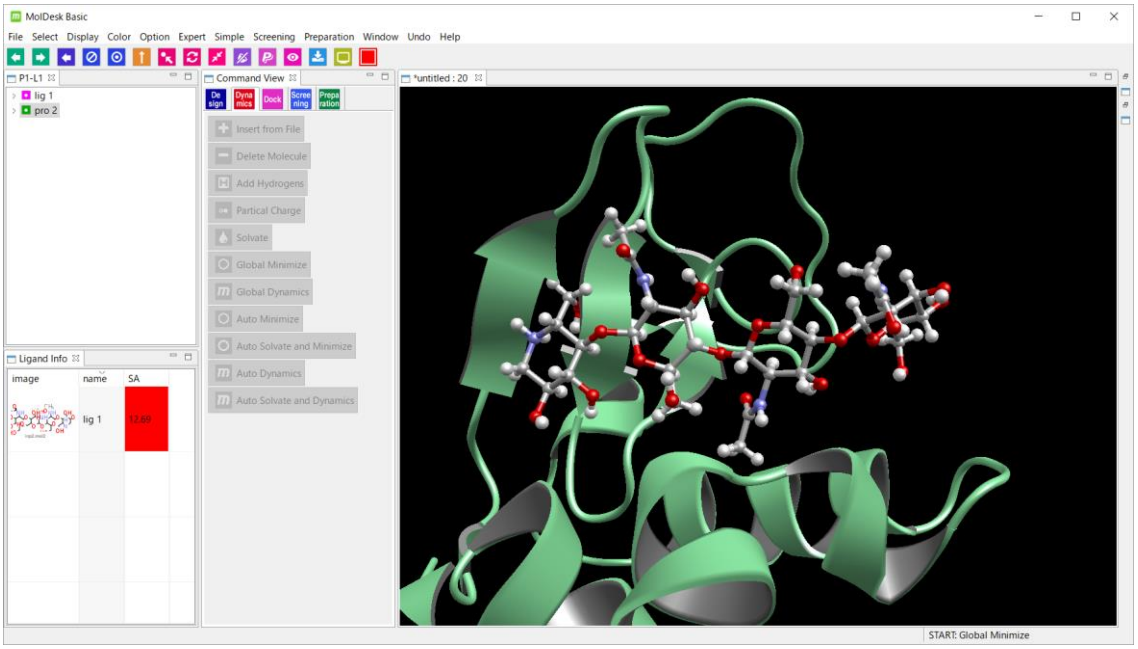

図 35　エネルギー極小化計算中の画面

エネルギー極小化計算が終了すると、右下に“END: Global Minimize”の文字が表示され、MD Analysis のウィンドウが現れます。

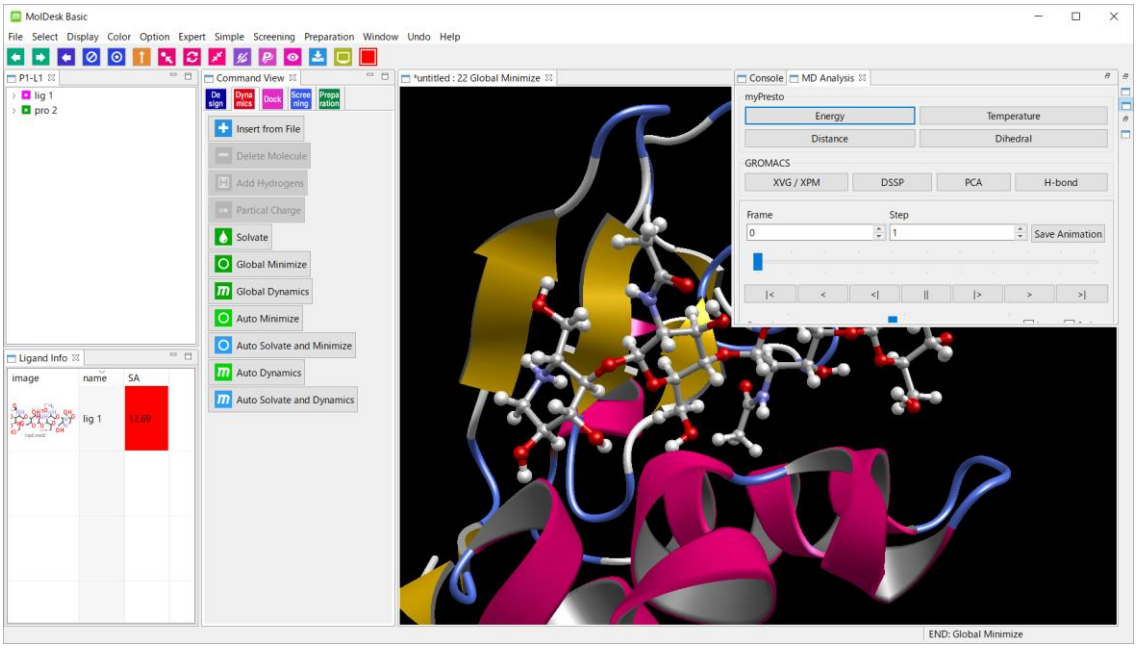

図 36　エネルギー極小化計算完了後の画面

3.5.　リガンドの保存

ここで一旦、エネルギー極小計算後のリガンド座標を保存します。Tree View の lig2 を選択し、Export Single Mol2 をクリックします。ここでは、lig_moved1.mol2 という名前で保存してください。

図 37　エネルギー極小計算後の座標の保存

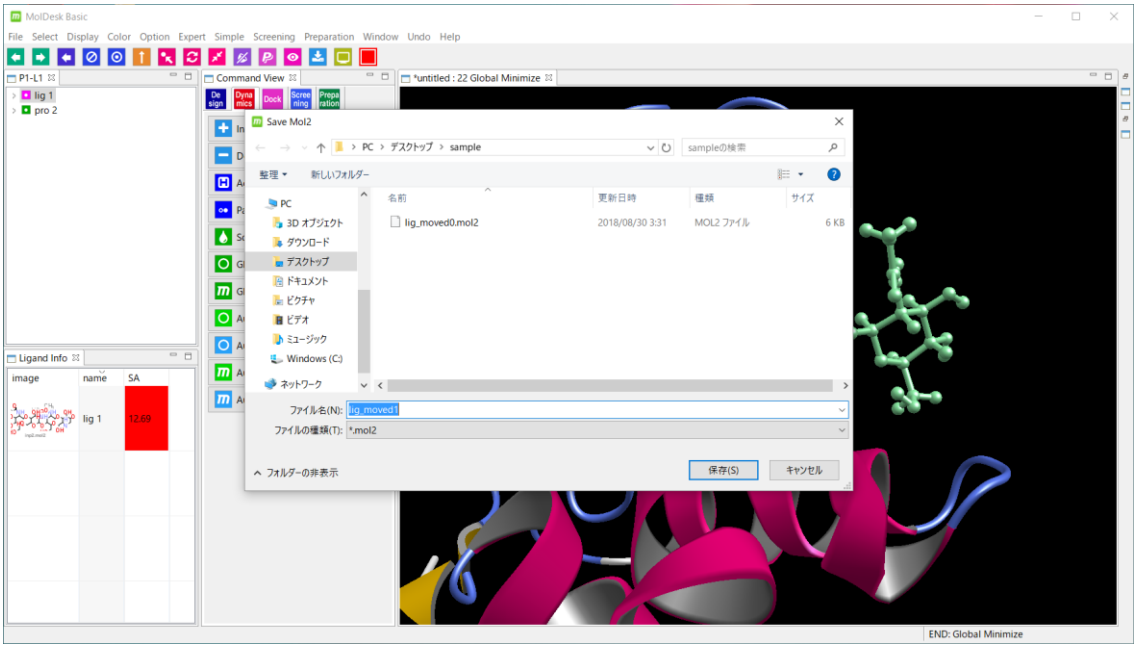

図 38　保存するファイル名の指定

4. リガンドの比較

ここで、エネルギー極小化前後のリガンドの座標を比較してみましょう。ここで、一旦、Tree View の pro2 を選択後に、Command View の Delete Molecule をクリックして pro2 を削除します。その後に、Insert From File で、保存していたエネルギー極小化前の座標(lig_moved0.mol2)を読み込みます。

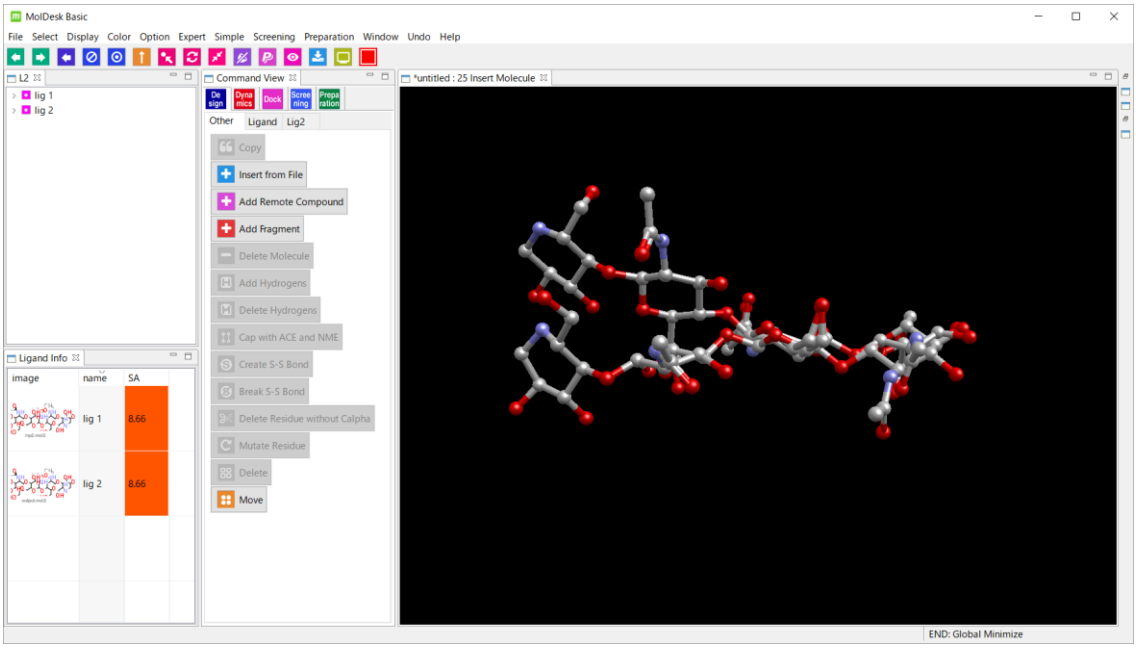

図 39　エネルギー極小化前後の座標の比較

さらに、X 線結晶構造の座標とも比較しましょう。Insert From File で PDB ファイル(pdb4hp0.ent)を読み込みます。

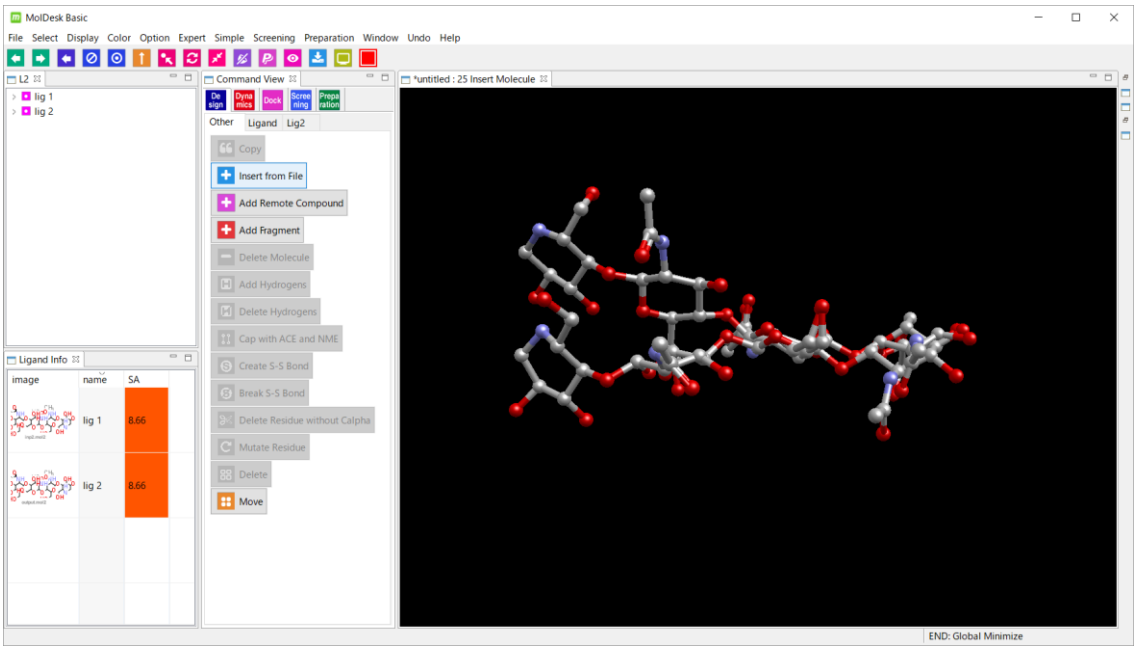

図 40　分子の挿入

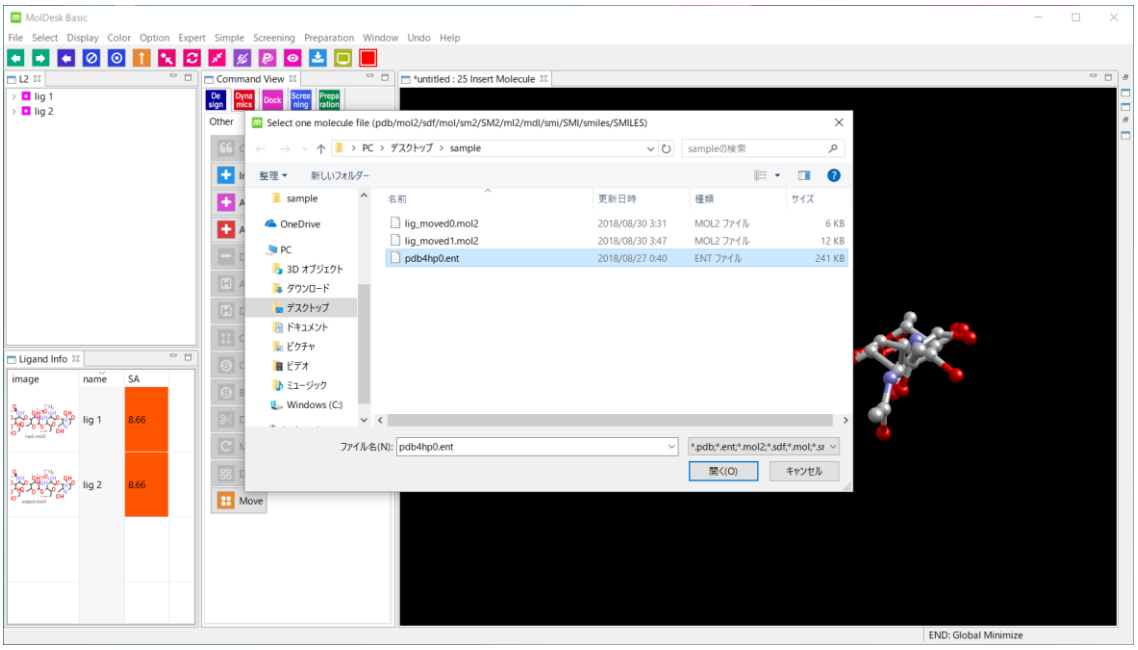

図 41　挿入する分子の指定

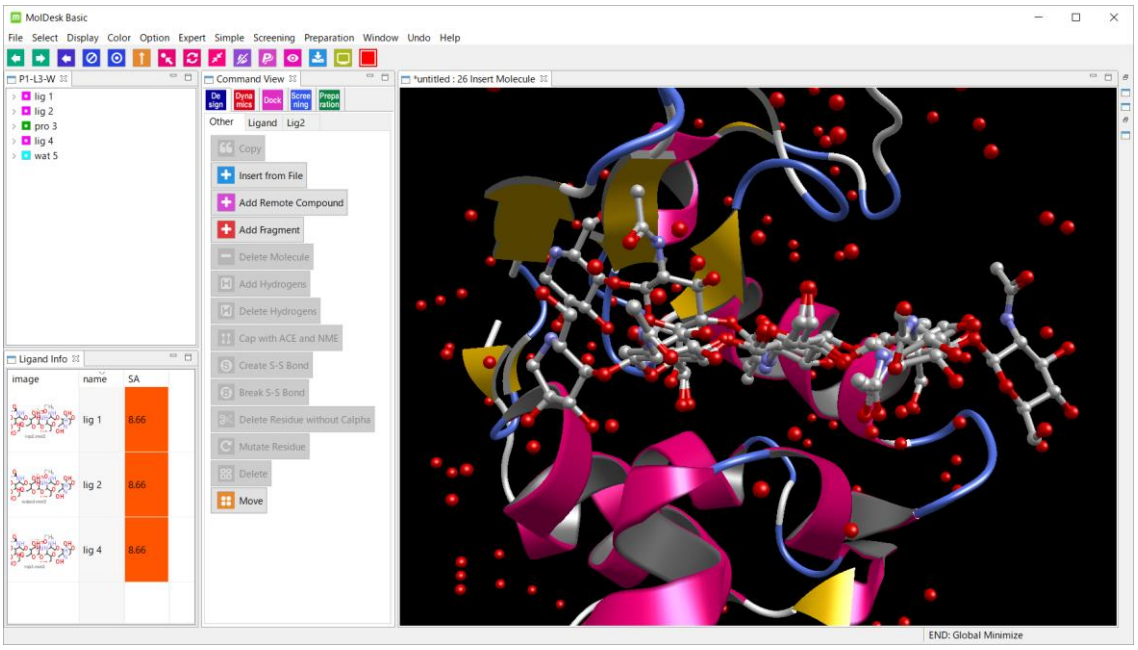

図 42　分子挿入後の画面

水分子を削除し、各リガンドに色を付けてみましょう。Tree View の wat5 を選択し、Command View の Delete Molecule をクリックします。図 43 では、X 線結晶構造(赤色)、移動後でエネルギー極小化計算前(緑色)、移動後でエネルギー極小化計算後(黄色)を比較しています。分子に指定した色を付けるには、Tree View の該当分子を選択後に、メニューバーの Color→Atoms→Any の操作で出てきたダイアログで色を選択して OK をクリックします。

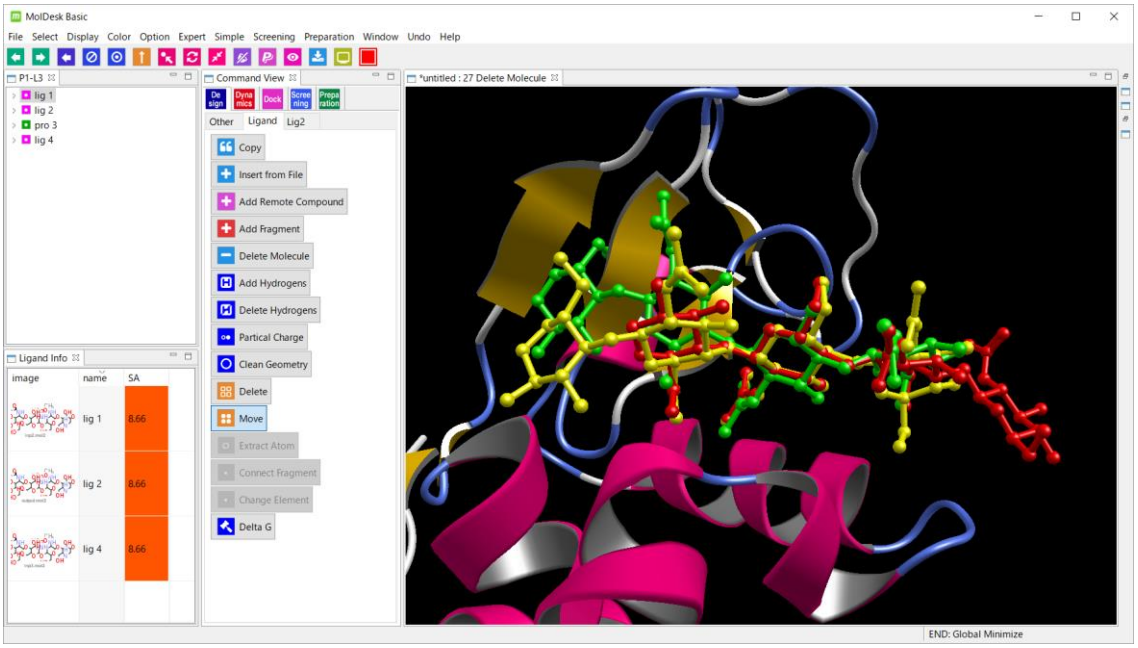

図 43　リガンド原子座標の比較

図 44 は、図 43 のタンパク質原子を Space filling 表示にしたもの。Space filling 表示にするには、Tree View で該当分子を選択後に、メニューバーの Display → Space filling → Only を選択します。マニュアル操作で移動後のものは、タンパク質分子の原子と重なっているが、エネルギー極小化計算後には、それが解消されている。

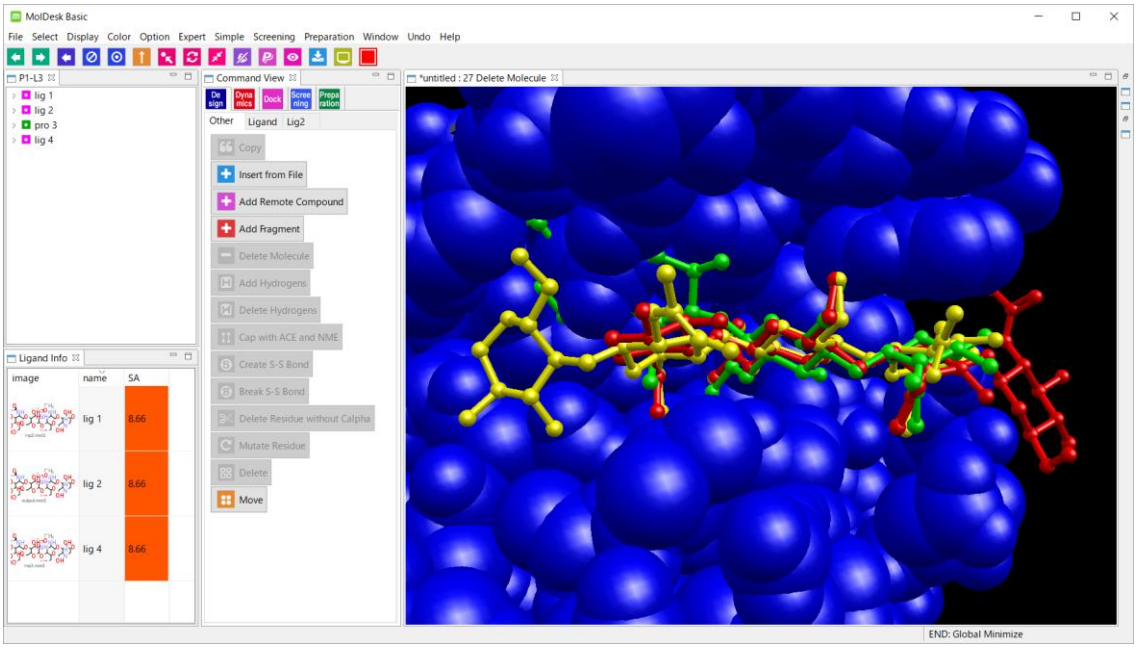

図 44　リガンド原子座標の比較 2

エネルギー極小化後でも、１つ分ずれた状態で環の位置が重なっており、この状態も比較的安定な構造である可能性がある。

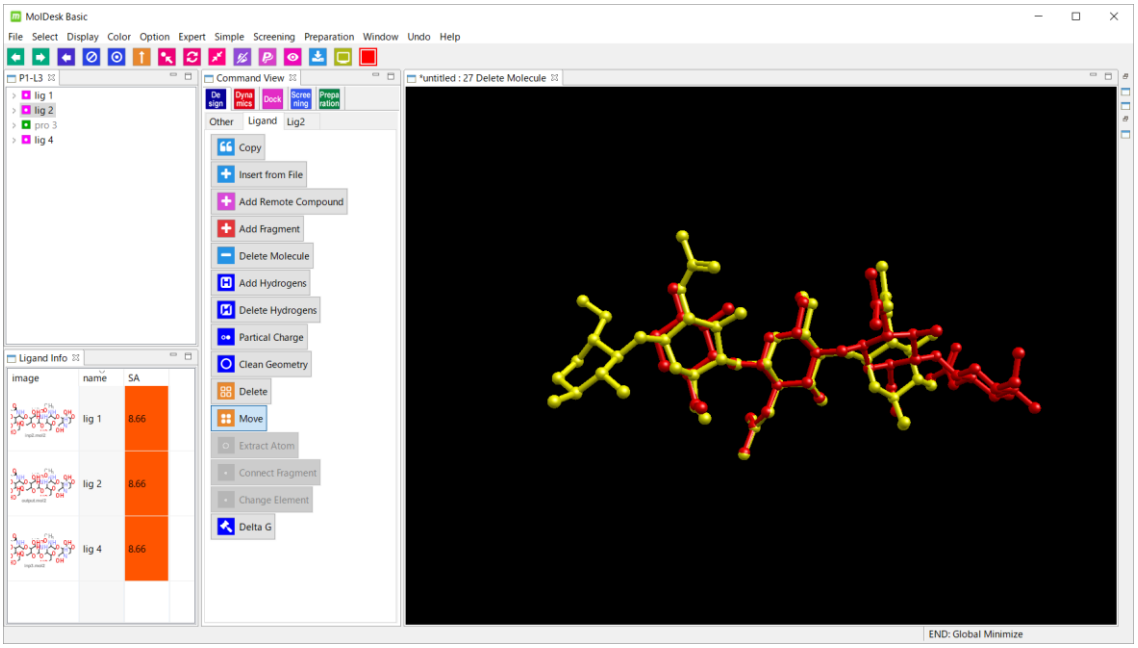

図 45　X 線結晶構造との比較

マニュアル操作でのリガンド移動と、エネルギー極小化計算を組み合わせることによって、比較的安定な複合体構造として、図 46 の構造が得られた。

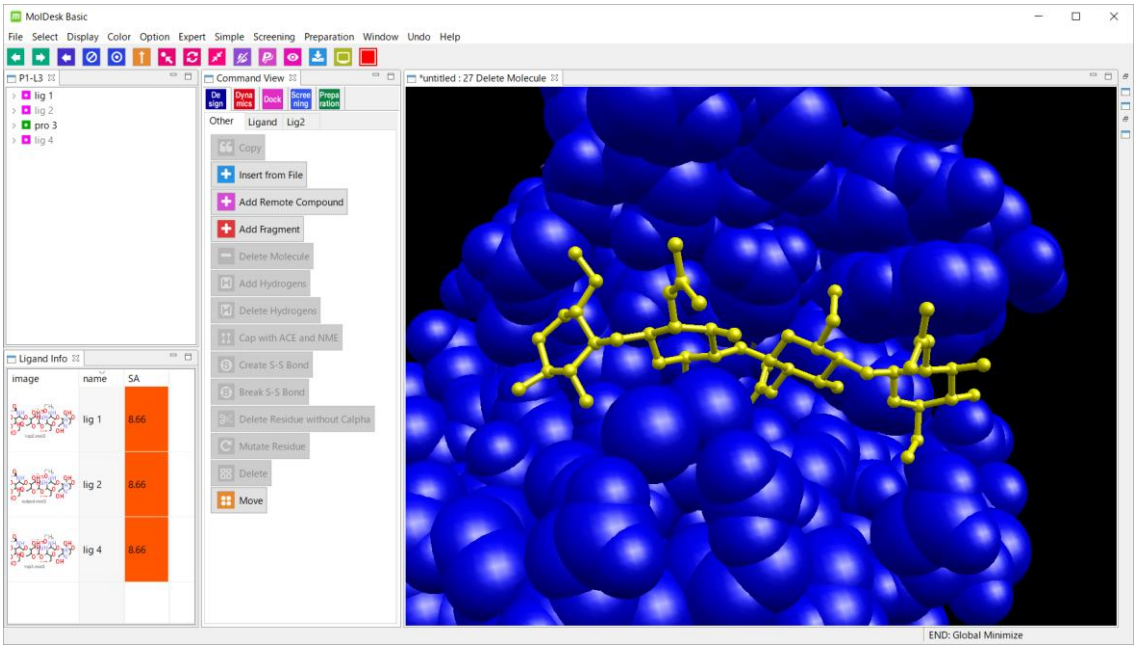

図 46　新しく作成した複合体構造モデル