

チュートリアル

MolDesk の基本操作

MolDesk Basic Ver. 1.1.46 を使用

株式会社バイオモデリングリサーチ

2018/05/28

本チュートリアルでは、タンパク質と低分子化合物とのドッキング計算を実行するために必要な MolDesk の基本操作について説明します。

目次

1.	はじめに	1
1.1.	目的	1
1.2.	本チュートリアル の概要	1
1.3.	myPresto と MolDesk について	2
1.4.	LigandBOX について	3
1.5.	外部サーバーを利用する場合のスクリーニング計算作業の流れ	4
2.	MolDesk 基本操作の練習	6
2.1.	MolDesk の起動	6
2.2.	MolDesk の操作画面における各部位の名称	7
2.3.	ライセンスのアクティベーション	7
2.4.	分子の読み込み	9
2.5.	不要分子の除去	11
2.6.	ドッキング計算用プローブ点の作成	15
2.7.	レセプタータンパク質の指定	17
2.8.	ドッキング用リガンドの処理	18
2.9.	ドッキングの実行	21
2.10.	PDB ファイルとトポロジーファイルの保存(外部サーバー利用の場合)	25
2.11.	プローブ点ファイルの保存(外部サーバー利用の場合)	26
3.	その他の便利な機能	27
3.1.	画面のリセット	27
3.2.	注目分子のセンターリング	28
4.	全自動ドッキング	29
4.1.	準備	29
4.2.	Auto Docking の開始	29
4.3.	レセプターの選択	30
4.4.	プローブ点の作成	31
4.5.	ドッキングさせるリガンドの指定	32
4.6.	ドッキング条件の指定	32

1. はじめに

1.1. 目的

本チュートリアル の 目的は、MolDesk の基本操作に慣れることです。

1.2. 本チュートリアル の概要

本チュートリアルでは、MolDesk Screening と MolDesk Basic で共通に実行できる基本操作について説明します。本チュートリアルを実行することにより、外部のサーバーで動作する myPresto を用いたインシリコ・スクリーニング計算を行う際に必要となるファイルの作成を行うこともできます。本チュートリアルでは、以下の内容を扱います。

- MolDesk の起動
- ライセンスのアクティベート
- 分子の読み込み
- 分子の表示方法の変更
- タンパク質と低分子化合物とのドッキング
- 外部サーバーでドッキングをする際に必要となるファイルの作成

1.3. myPresto と MolDesk について

myPresto は、経済産業省、NEDO 及び AMED からの委託プロジェクトの中で開発された医薬品開発支援の分子シミュレーションシステムで、無料で利用でき、国内 30 社以上で使われています。myPresto は、ドッキング・シミュレーション・プログラム (sievgene)、分子動力学シミュレーション・プログラム (cosgene) 等、多数のプログラムを含む創薬計算用プログラム群です。myPresto は、ウェブサイトからダウンロードできます。myPresto に含まれるプログラムは、基本的にはコマンドラインから実行します。

MolDesk は、株式会社情報数理バイオが開発した myPresto 用グラフィック・ユーザー・インターフェイス (GUI) で、GUI から myPresto のプログラムを実行することができます。MolDesk は有料のプログラムです。MolDesk には、MolDesk Basic と MolDesk Screening の 2 つのバージョンがあります。MolDesk Screening には、MolDesk Basic ではできない高度な機能が多数実装されています。例えば、MolDesk Screening は、外部のサーバーを使うことなく、MolDesk Screening がインストールされている PC で、200 万化合物を対象としたスクリーニング計算も可能です。

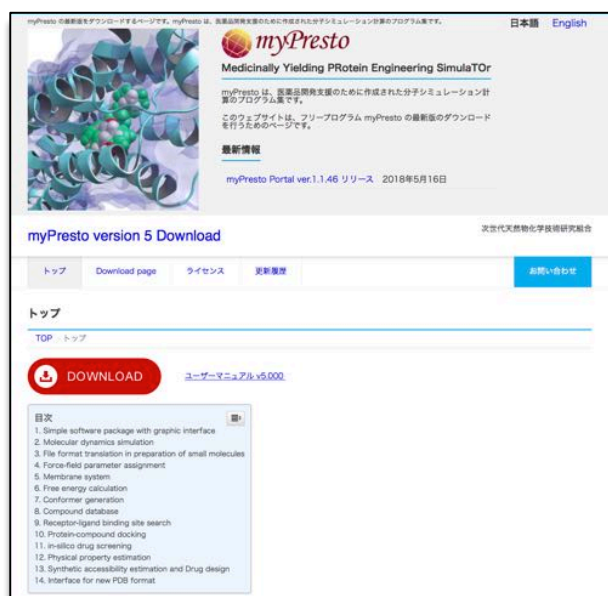


図 1 myPresto と MolDesk の web page

myPresto のダウンロードページ: <https://www.presto5.jp/>

MolDesk (株式会社情報数理バイオ): <http://www.moldesk.com>

1.4. LigandBOX について

sievgene でのドッキング・シミュレーションに使用する化合物ファイルは、水素原子情報、部分電荷情報を含む、立体構造情報となっていることが必要です。

一般に、化合物を販売している会社のカタログ情報は、SD ファイル（拡張子は.sdf）で提供されますが、そのカタログ情報には立体構造情報も水素原子情報も含まれていないことが多く、そのままでは sievgene のドッキングでは使えません。

LigandBOX、ZINC 等の化合物ライブラリの一部として提供されている化合物の mol2 ファイルは、ドッキング・シミュレーションにすぐに使えるようにあらかじめ用意されています。LigandBOX は、1 万化合物毎に 1 つの mol2 ファイルになっており、200 個の mol2 ファイルで 200 万化合物のデータセットとして提供されています。この LigandBOX は、次世代天然物化学研究組合にリクエストすると提供してもらえます(詳細は、myPresto のダウンロードサイトから入手できる screening_pack に含まれるチュートリアルを参照してください。)。現在は、大阪大学の web サイトからは提供されていません。この化合物セットに対しては、全ての化合物に対して 181 化合物とのドッキングスコアも提供されています。これを使うことによって、multiple target screening (MTS) 法や docking score index(DSI)法によるランキングリストを効率よく作成することができます。

スクリーニング用低分子化合物は複数の光学異性体を含むラセミ体で販売されていることも多いので、化合物ライブラリの中では別の ID で区別されていても、購入時のカタログ情報としては重複することがありますので、発注化合物リスト作成時には気をつける必要があります。

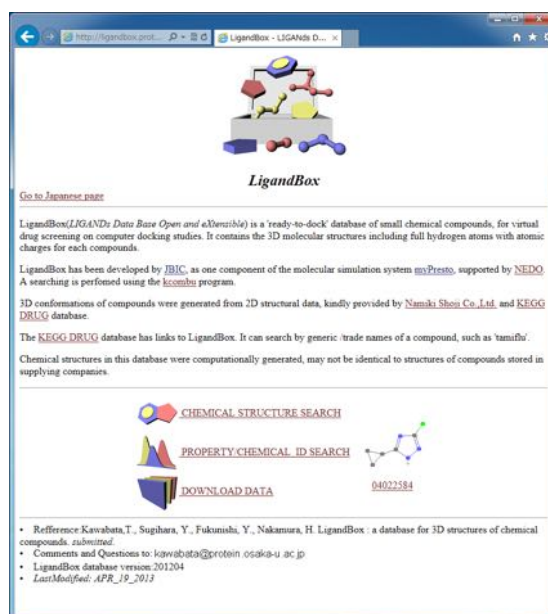


図 2 LigandBOX の web page

LigandBOX: <http://ligandbox.protein.osaka-u.ac.jp/ligandbox/>

1.5. 外部サーバーを利用する場合のスクリーニング計算作業の流れ

おおよその作業の流れは以下ようになります。括弧内は、作業場所、使用するソフトウェア等についての情報です。

1. タンパク質立体構造情報の内容確認 (ローカル PC, MolDesk)
2. 不要分子の削除 (ローカル PC, MolDesk)
3. テストドッキング (ローカル PC, MolDesk)
4. PDB ファイルの保存 (ローカル PC, MolDesk)
5. トポロジーファイルの作成 (ローカル PC, MolDesk)
6. 受容体ポケットデータファイルの保存 (ローカル PC, MolDesk)
7. PDB ファイル、トポロジーファイル、受容体ポケットデータファイルを計算サーバーに転送 (ローカル PC, 転送用ソフトウェア(WinSCP 等)を使用)
8. グリッドファイルの作成 (計算サーバー, sievgene & スクリプトプログラム)
9. ドッキング計算 (計算サーバー, sievgene & スクリプトプログラム)
10. ドッキング結果集計 (計算サーバー, スクリプトプログラム)
11. MTS 法によるランキング作成 (計算サーバー, スクリプトプログラム)
12. ドッキングポーズの取得 (計算サーバー, スクリプトプログラム)
13. ドッキングポーズの転送 (ローカル PC, 転送用ソフトウェア(WinSCP 等)を使用)
14. ドッキングポーズの観察 (ローカル PC, MolDesk)

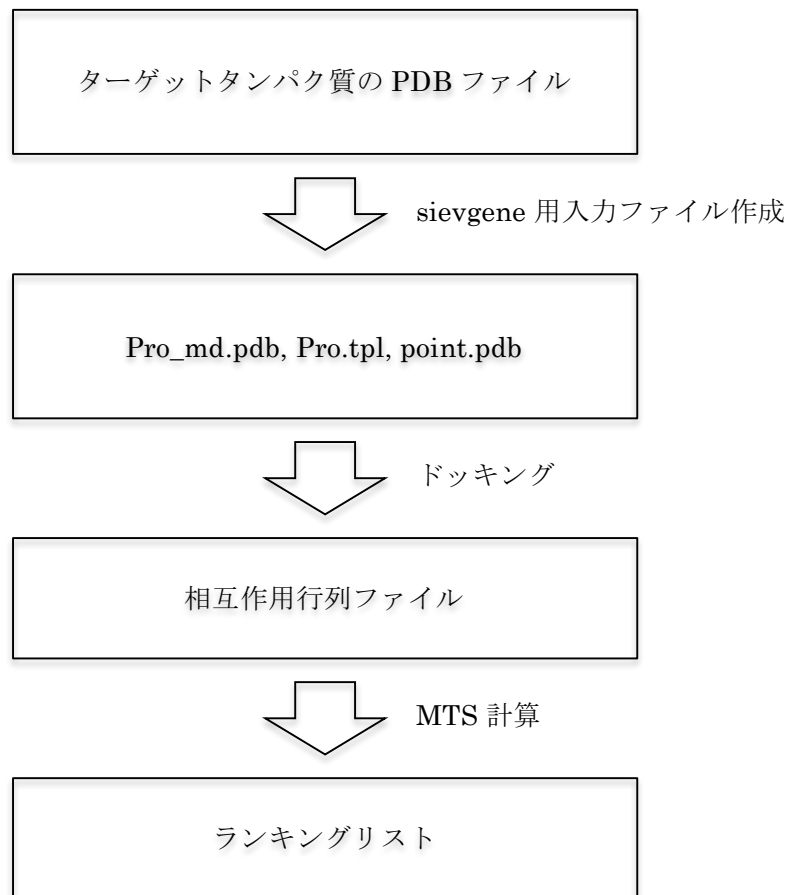


図 3 重要ファイルに注目した作業過程の概要(外部サーバー利用の場合)

2. MolDesk 基本操作の練習

本チュートリアルでは、ヒト・HMG-CoA 還元酵素をターゲットタンパク質したインシリコ・スクリーニング計算をすることを想定して、スクリーニング計算の前に実行する準備の作業を行います。ここでは、PDB コードが 2Q6B の PDB ファイルを使用します。

外部サーバーを使用する場合には、そこで必要となる 3 つのファイル(PDB ファイル、トポロジーファイル、プローブ点ファイル)を作成します。その 3 つのファイルをサーバーに転送して、コマンドで実行する myPresto のプログラムを使ったスクリーニング計算を実行します。

MolDesk Screening でスクリーニング計算を実行する場合には、これらの 3 つのファイルの出力は不要です。内部でこれらのファイルを使っていますが、ユーザーがそれらのファイルの存在を意識しなくてもスクリーニング計算を実行できる仕組みになっています。

2.1. MolDesk の起動

デスクトップにあるアイコンがある場合には、これをクリックして MolDesk を起動します (図 4)。デスクトップに MolDesk のアイコンが無い場合には、Windows のプログラム一覧の中から MolDesk Basic もしくは MolDesk Screening を探して実行してください。起動直後のレイアウト (図 5) は、前回終了時のレイアウトを引き継ぐため、レイアウトが図と異なる場合があります。

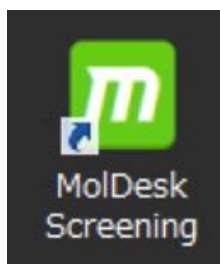


図 4 MolDesk のアイコン

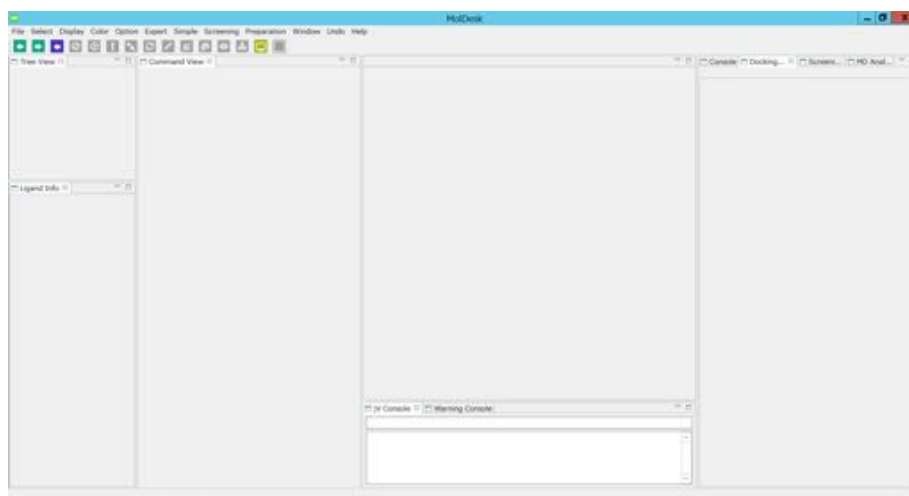


図 5 起動直後の MolDesk の画面

2.2. MolDesk の操作画面における各部位の名称

MolDesk 画面の各部位の名称を図 6 に示します。

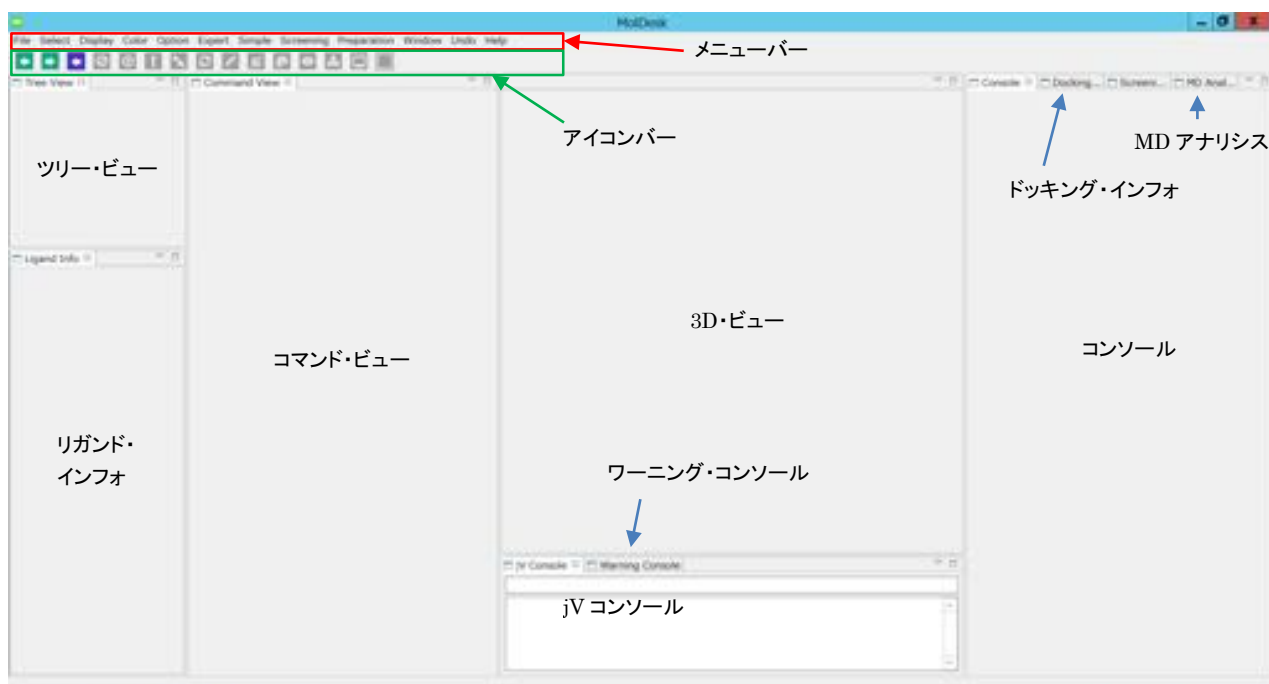


図 6 MolDesk の操作画面における各部の名称

2.3. ライセンスのアクティベーション

メニューバーの”File”をクリックすると、プルダウンメニューが現れます (図 7)。そのメニューにおいて、Quit 以外のメニューの文字が灰色になっている場合は、ライセンスのアクティベーションが行われていません。Quit 以外の文字も黒字になっている場合はライセンスのアクティベーションが完了していますので、この節は飛ばして、次の節 (2.4. 分子の読み込み) に進んでください。

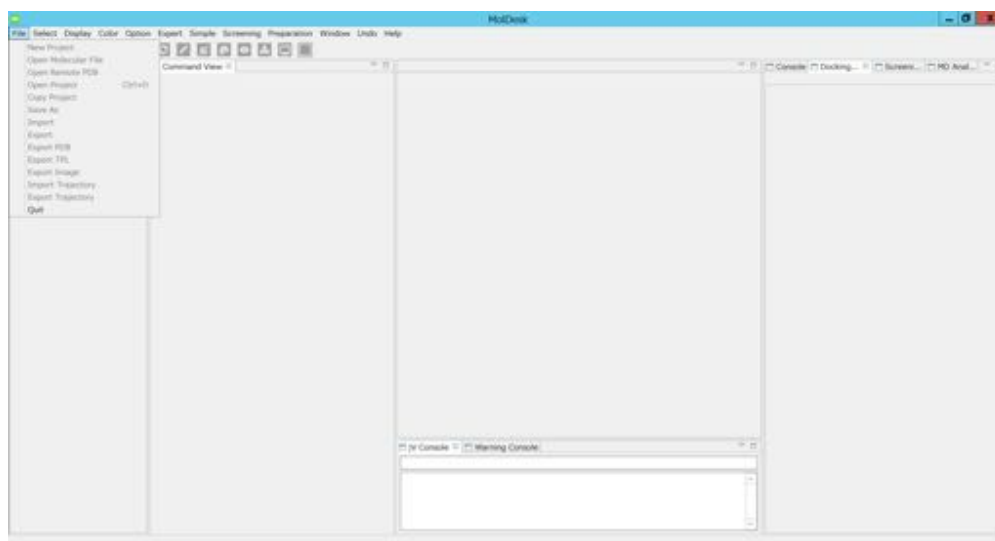


図 7 MolDesk の画面(ライセンス未設定の場合)

ライセンスファイルを設定するには、メニューバーの”Help”をクリックすると出てくるプルダウンメニューの中から”Activate License”をクリックします（図 8）。現れたダイアログの右下にある”Choose license file”をクリックして、ライセンスファイルを指定してください（図 9）。そうするとライセンスがアクティベート状態となります。ライセンスファイルを移動すると、アクティベート状態が解除されますので気をつけてください。ライセンスのアクティベートが解除された場合には、再度同じ手順でアクティベーションしてください。

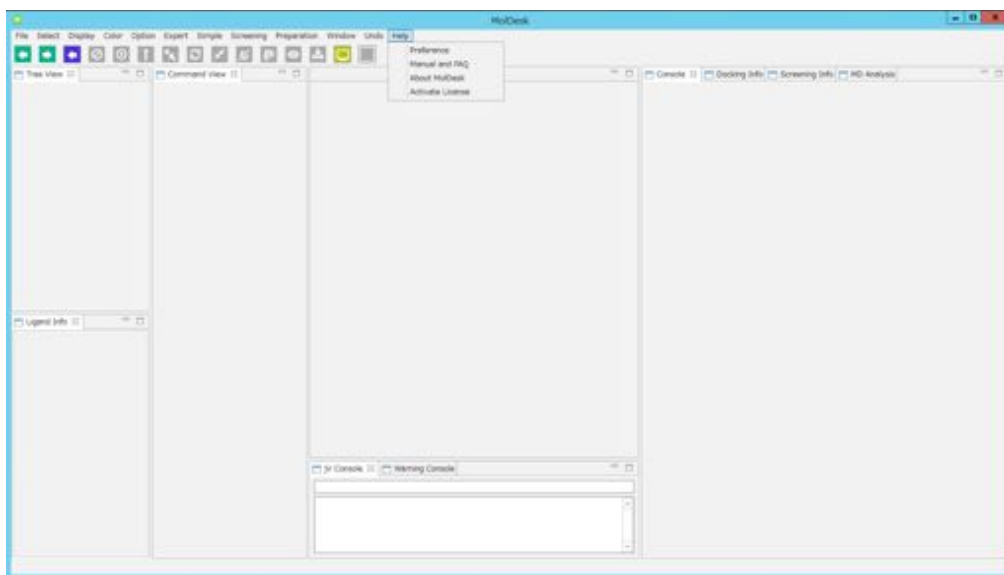


図 8 ライセンスファイルの設定 1

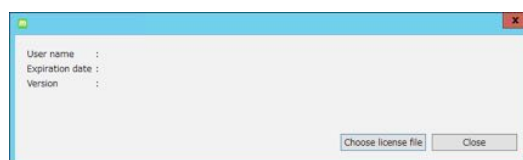


図 9 ライセンスファイルの設定 2

2.4. 分子の読み込み

分子の読み込みは、"File"→"Open Remote PDB"でダイアログから PDB ID を入力します (図 10)。インターネットに接続していない場合には、"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。



図 10 分子の読み込み 1

ここでは、2Q6B と入力してください (図 11)。



図 11 分子の読み込み 2

読み込まれた分子の構成は、ツリー・ビュー（図 12 の赤枠で示したウィンドウ）で確認できます。この例では、読み込んだファイルに、ペプチド鎖が 4 本（pro1～pro4）、リガンドが 8 個（lig5～lig12）、水分子が含まれていることがわかります。リガンドの情報は、リガンド・インフォ(Ligand Info)に表示されます。

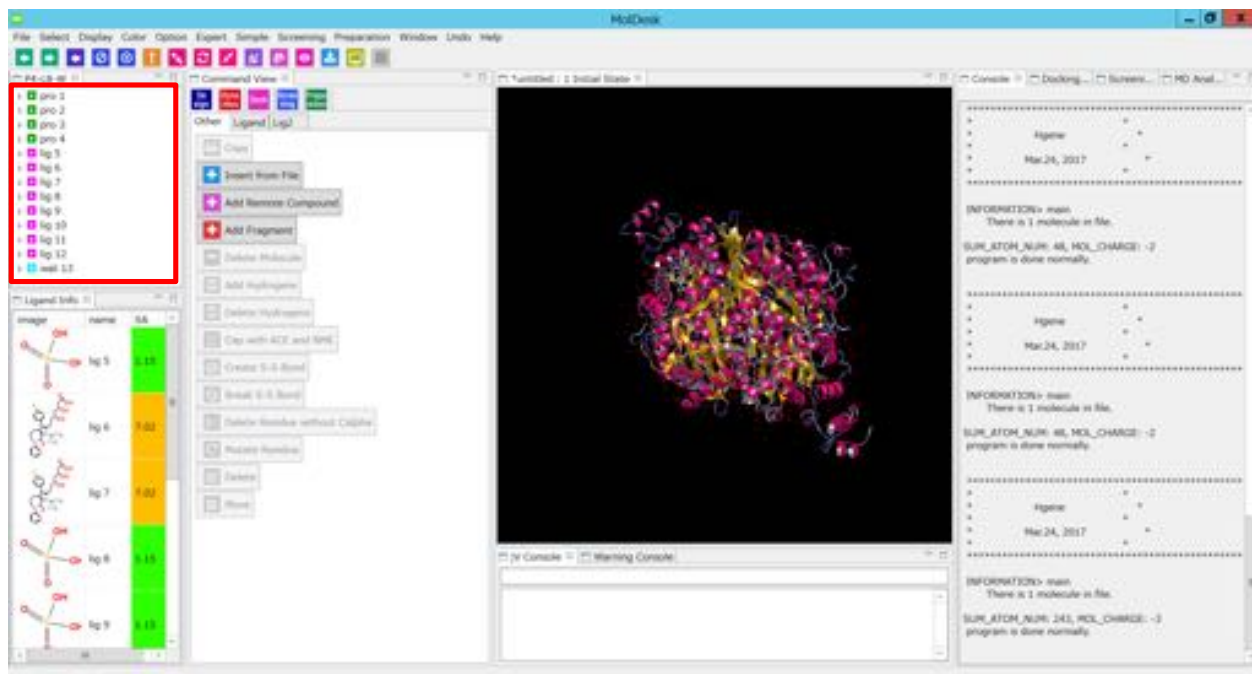


図 12 分子読み込み直後の画面

2.5. 不要分子の除去

HMG-CoA 還元酵素と阻害剤との複合体構造 (2Q6B) をよく観察すると、同じ鎖が 4 本あり、2 本ずつが組みとなっており、2 本の鎖の隙間に 2 つのポケットがあり、それぞれのポケットに同じ阻害剤が結合していることがわかります。今回は、2 つの鎖のみを残して、他の 2 つの鎖を削除し、ポケットの 1 つをターゲットサイトにすることにします。まず、pro3 と pro4 を削除します。複数の分子を選択する場合には、2 個目以降の分子を選択する際に、キーボードの Ctrl キー押しながらかlickします。もしくは、マウスで pro3 をクリックし、キーボードの Shift キーを押しながら、マウスで pro4 をクリックします。ツリー・ビューで、連続して並んでいる分子を一度に選択する場合には、最初の分子をクリックした後で、Shift キーを押しながら最後の分子をクリックすることにより複数の分子を選択できます。

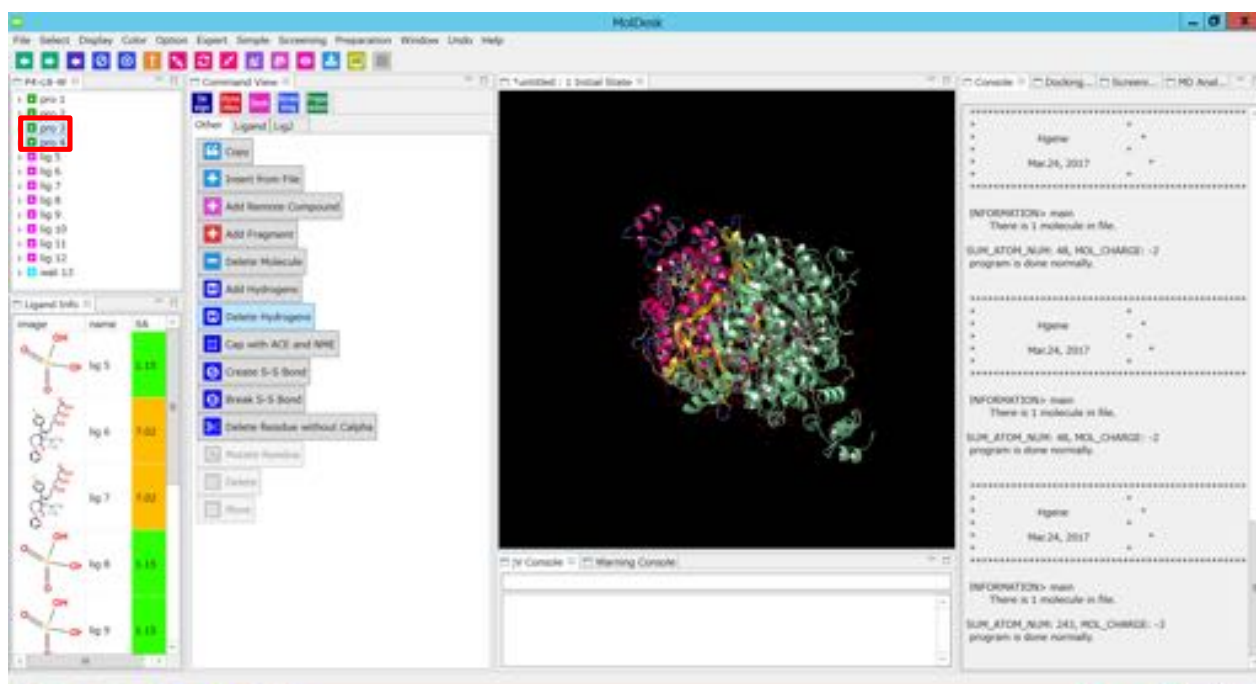


図 13 pro3 と pro4 を選択している画面

pro3 と pro4 の両方を選択したら、コマンド・ビューの中にある”Delete Molecule”のボタンをクリックします。”Delete Molecule”ボタンが無い場合には、タブを切り替えます。

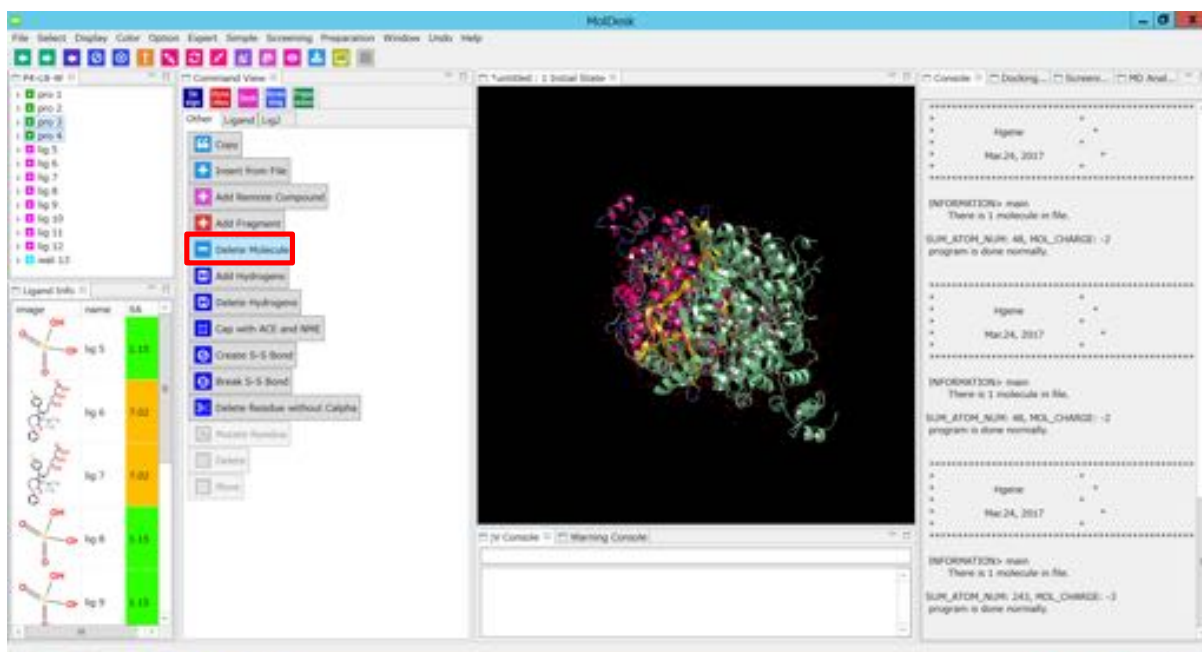


図 14 選択した分子の削除

pro3 と pro4 を削除しても、lig と wat の右側についていた番号は最初に割り振られた番号が保持されます (図 15)。この時の番号で lig6 と lig7 が阻害剤です。両者は同じ分子であり、対等な関係だと考えられるので、その一方である lig6 が結合しているサイトをターゲットサイトにすることにします。pro3 と pro4 を削除した操作と同様の操作で、ターゲットサイトに結合している lig6 以外のリガンドと水分子 (lig5、lig7~lig12、wat13) を削除します。

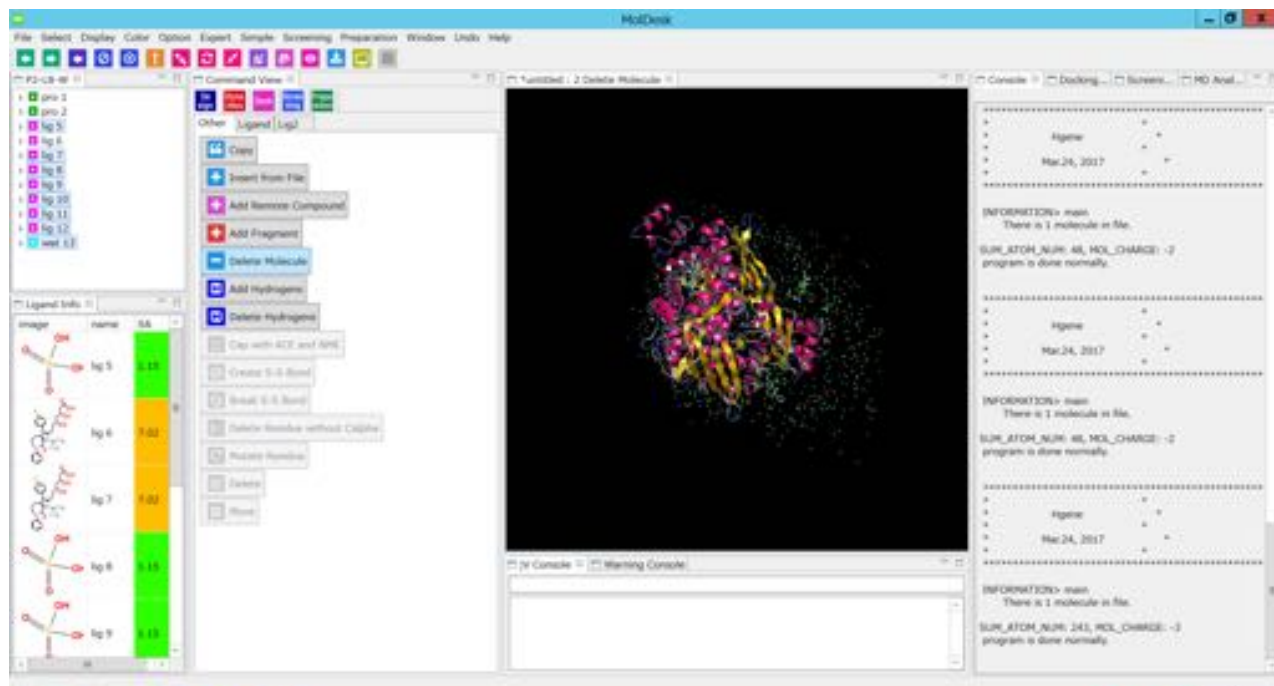


図 15 pro3 と pro4 を削除した直後の画面

図 16 は、不要分子除去後の画面です。

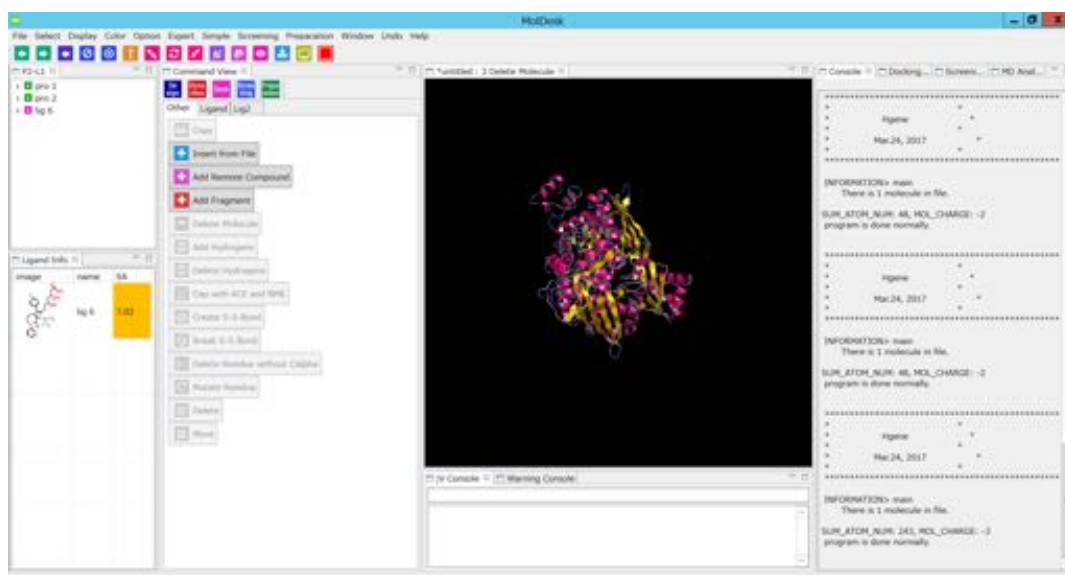


図 16 不要な分子を削除した後の画面

分子が見えにくい場合には、space filling 表示にすると見やすくなります。図 17 は、阻害剤を space filling 表示 (lig6 を選択して”Display”→”Space Filling”→”Only”をクリック) にした画面です。

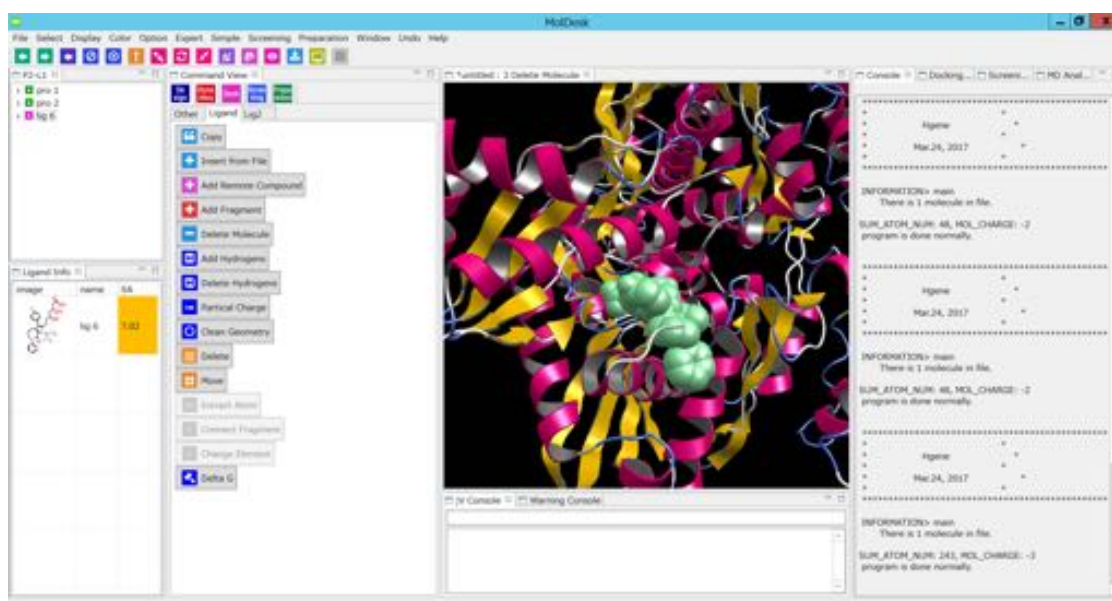


図 17 リガンドを space filling 表示にした画面

jV コンソールのコマンド入力フォーム（図 18 の赤線の四角で囲った部分）にコマンドを入力すると、マウス操作でできない細かい設定をすることもできます。例えば、以下のコマンドを順番に入力することによって、図 18 のように各分子に色をつけることができます。

```
select *A
color red
select [HR2]
color yellow
select *B
color blue
```

jV コンソールに入力できるコマンドは、jV の web ページを参照してください。

jV の web ページ:

https://pdj.org/jv/index_j.html

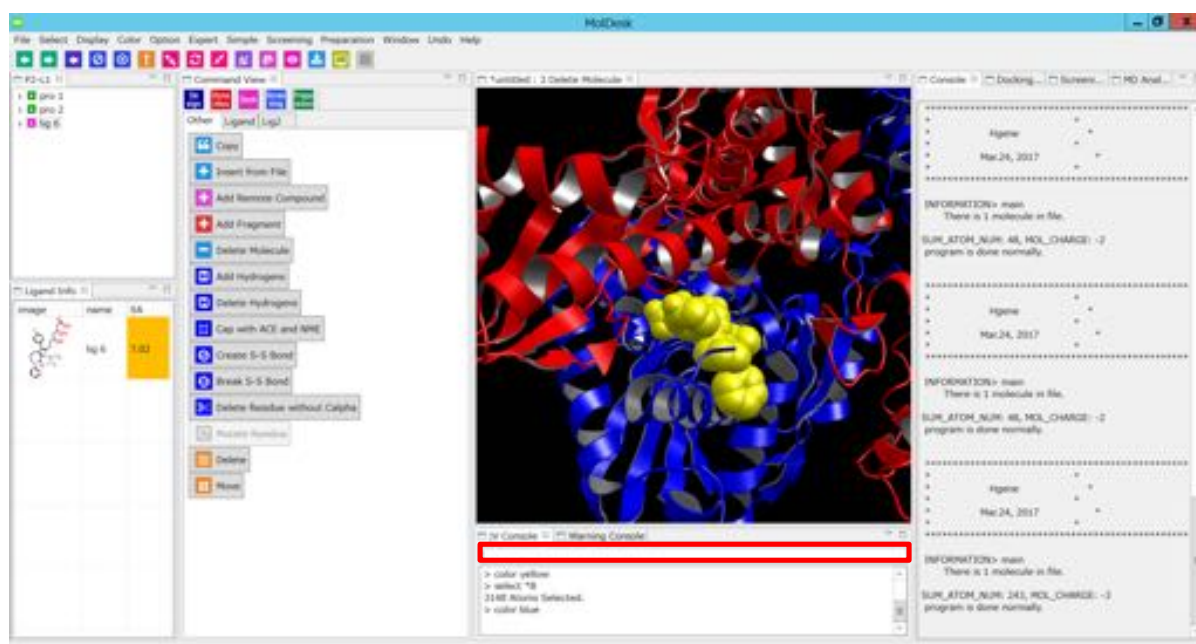


図 18 阻害剤と 2 つの鎖の関係を見やすくした図

2.6. ドッキング計算用プローブ点の作成

ここでは、スクリーニング計算の前に実行するテストドッキングについて説明します。ドッキング計算を行うためには、まず、ターゲットサイトを指定するためのプローブ点を作成する必要があります。プローブ点作成は、コマンド・ビューの”Dock”タブ もしくは、”Screening”タブにある”Make Pocket”をクリックします。ここでは既存の分子の座標をプローブ点とする方法について説明します。ツリー・ビューにおいて、プローブ点として座標を利用する分子を選択します。ここでは、lig6 をクリックします。その後に”Make Pocket”をクリックします。

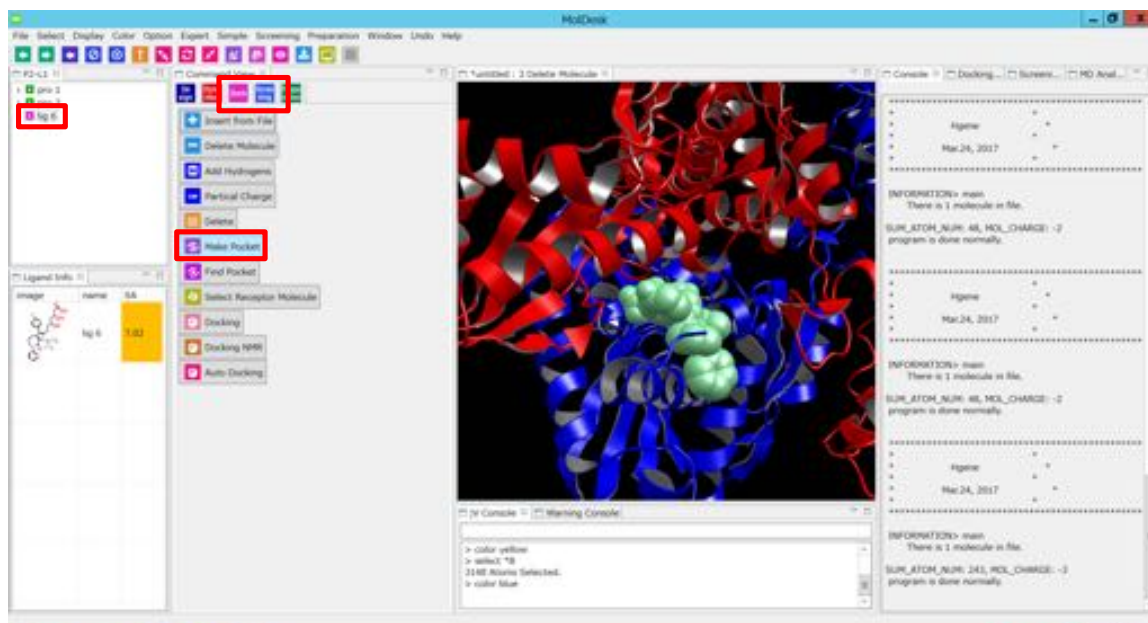


図 19 ドッキング用プローブ点の作成

ツリー・ビューに新しく point7 が現れています (図 20)。

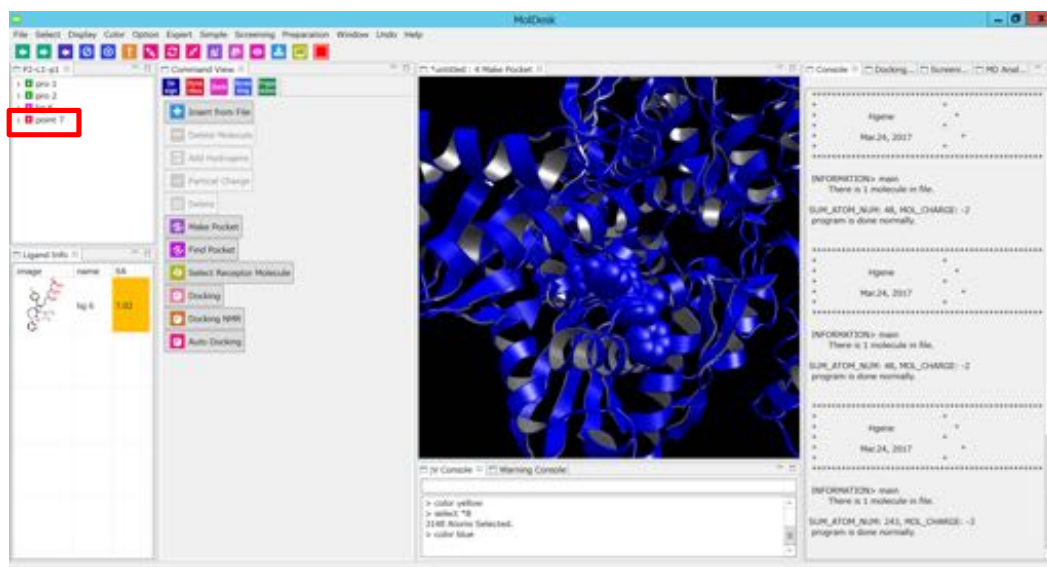


図 20 プローブ点作成直後の画面

作成されたプローブ点を確認するために、lig6 を非表示にしてみましょう。ツリー・ビューの lig6 を右クリックすると現れるプルダウンメニューの中から”Hide Atom”を選択します。

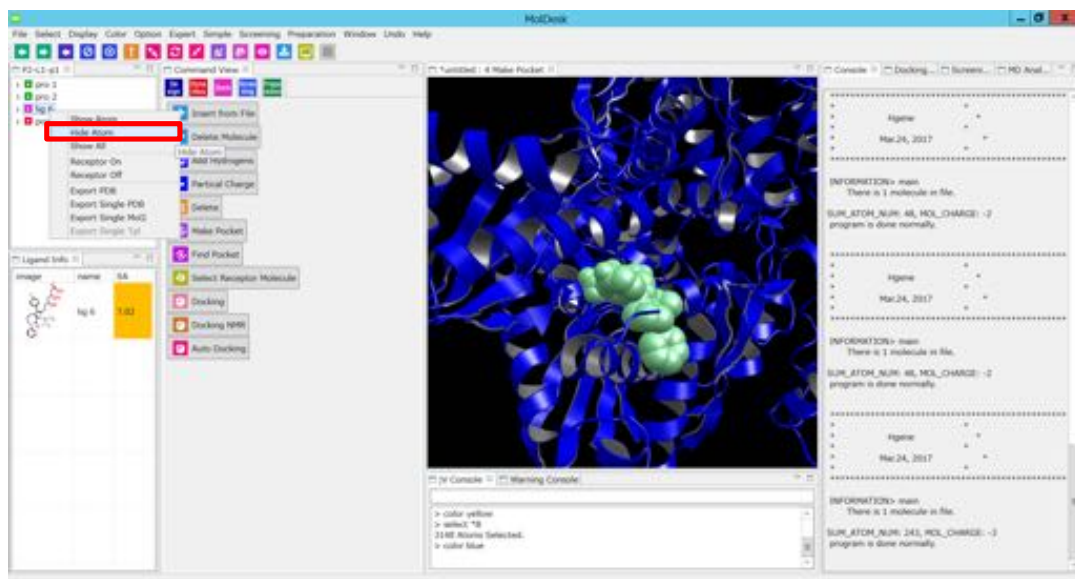


図 21 分子の非表示操作

lig6 を非表示にするとプローブ点を確認できます (図 22)。

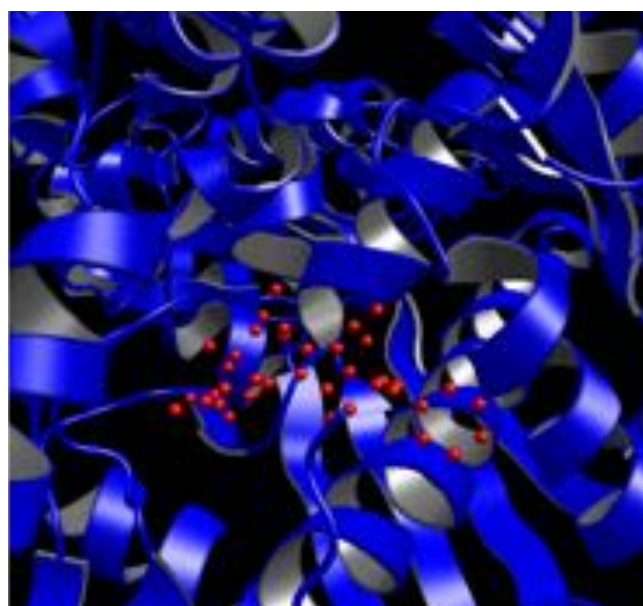


図 22 作成したプローブ点

2.7. レセプタータンパク質の指定

次に、レセプタータンパク質の指定を行います。ここでは、pro1 と pro2 の両方をレセプタータンパク質として使用します。pro1 と pro2 を選択後（shift キー/Ctrl キーを押して複数選択）、コマンド・ビューの”Select Receptor Molecule”を選択します。

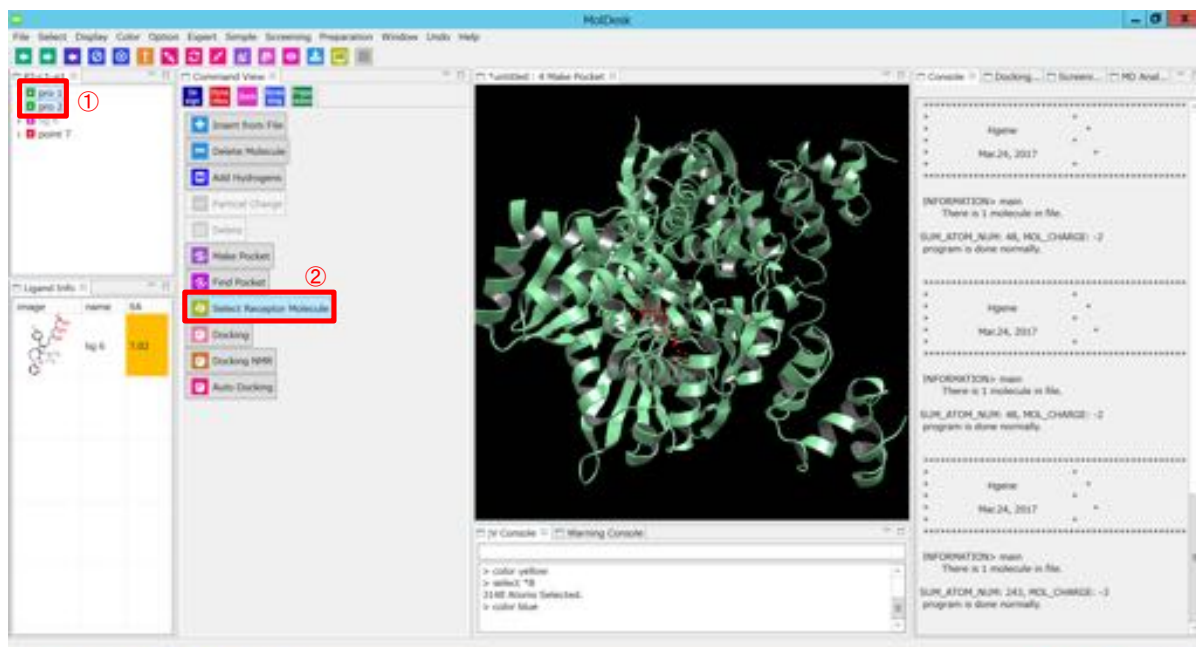


図 23 レセプタータンパク質選択直後の画面

2.8. ドッキング用リガンドの処理

次に、ドッキング用リガンドの準備をします。ドッキングに使用するリガンドは、(1) 水素原子付加、(2) 部分電荷付加、(3) 3D 化を行う必要があります。ここでは X 線結晶構造に含まれているリガンドを用いていますので、(3)の 3D 化は不要です。

Tree View の lig6 を右クリック→”Show Atom”で、非表示にしていた lig6 を再表示します。水素付加の様子を観察するには、space filling 表示よりもスティック表示の方がいいでしょう。Tree View の lig6 を選択後に、メニューバーの Display → Stick → Only を選択します。

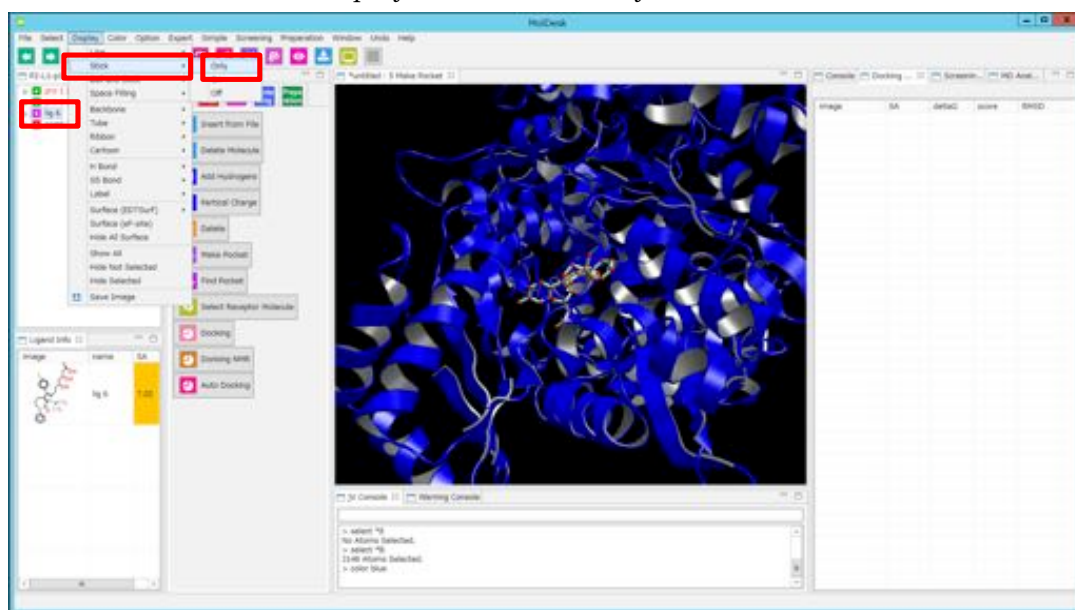


図 24 リガンドをスティック表示にした画面

水素原子を付加するには、Tree View で lig6 を選択後に、Command View の”Add Hydrogens”をクリックします。

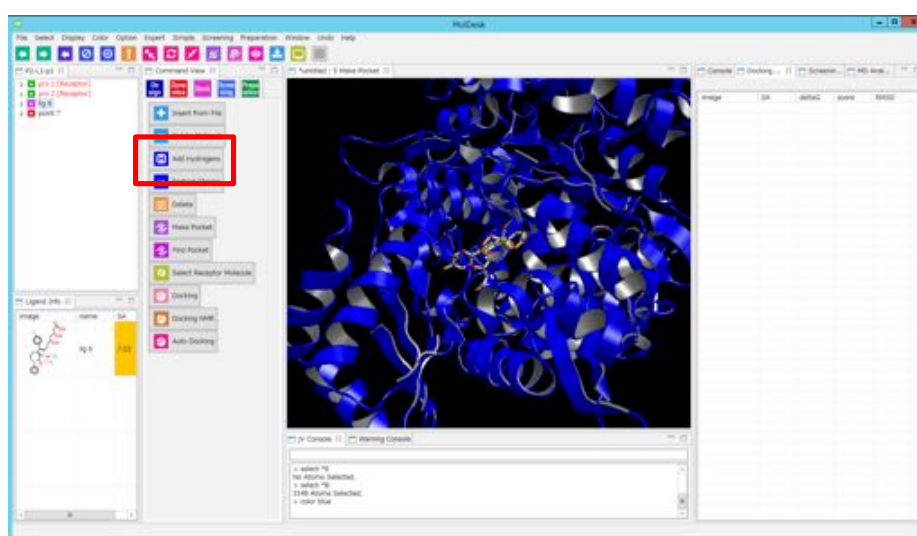


図 25 Add Hydrogens 実行画面

“Add hydrogens”を実行するとリガンドの色が変わってしまう場合があります。見やすくするために lig6 の色を変えてみましょう。lig6 を選択後に、メニューバーの”Color”→”Atoms” →”Cpk”を選択します。

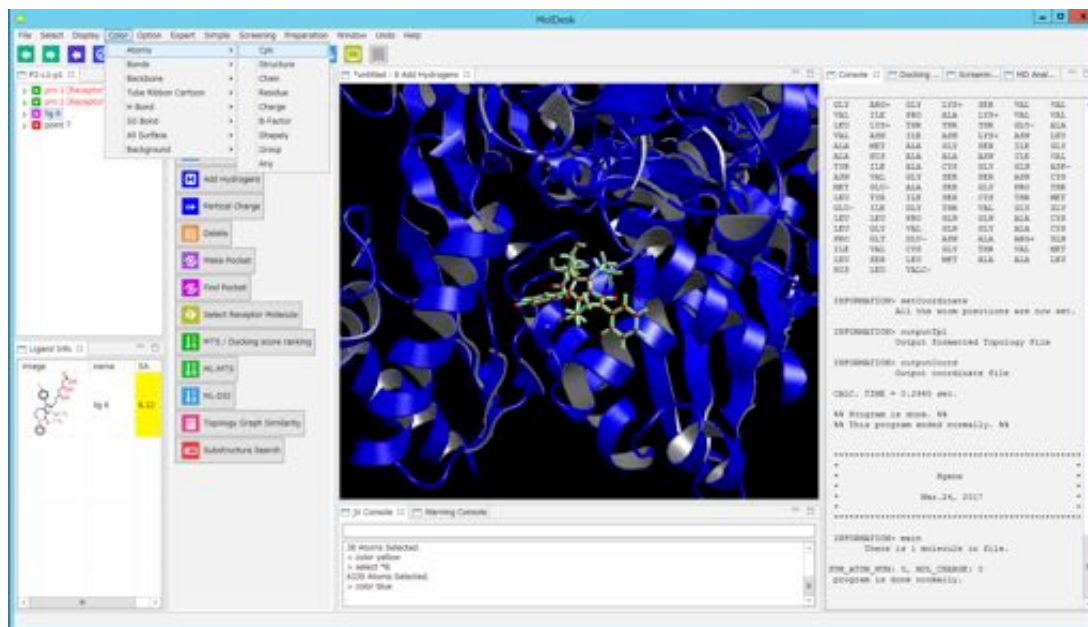


図 26 化合物の色を変える操作の画面

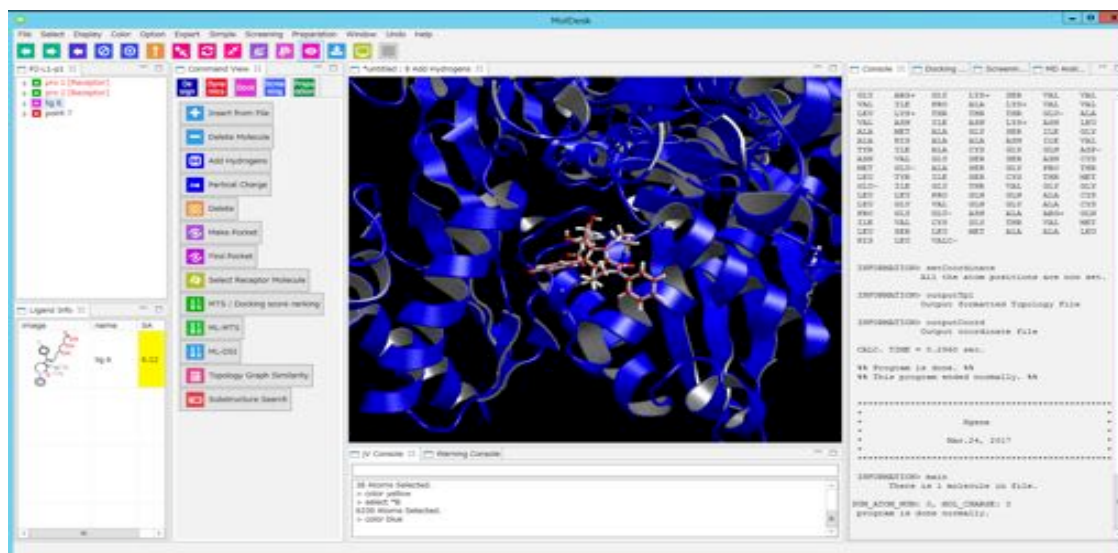
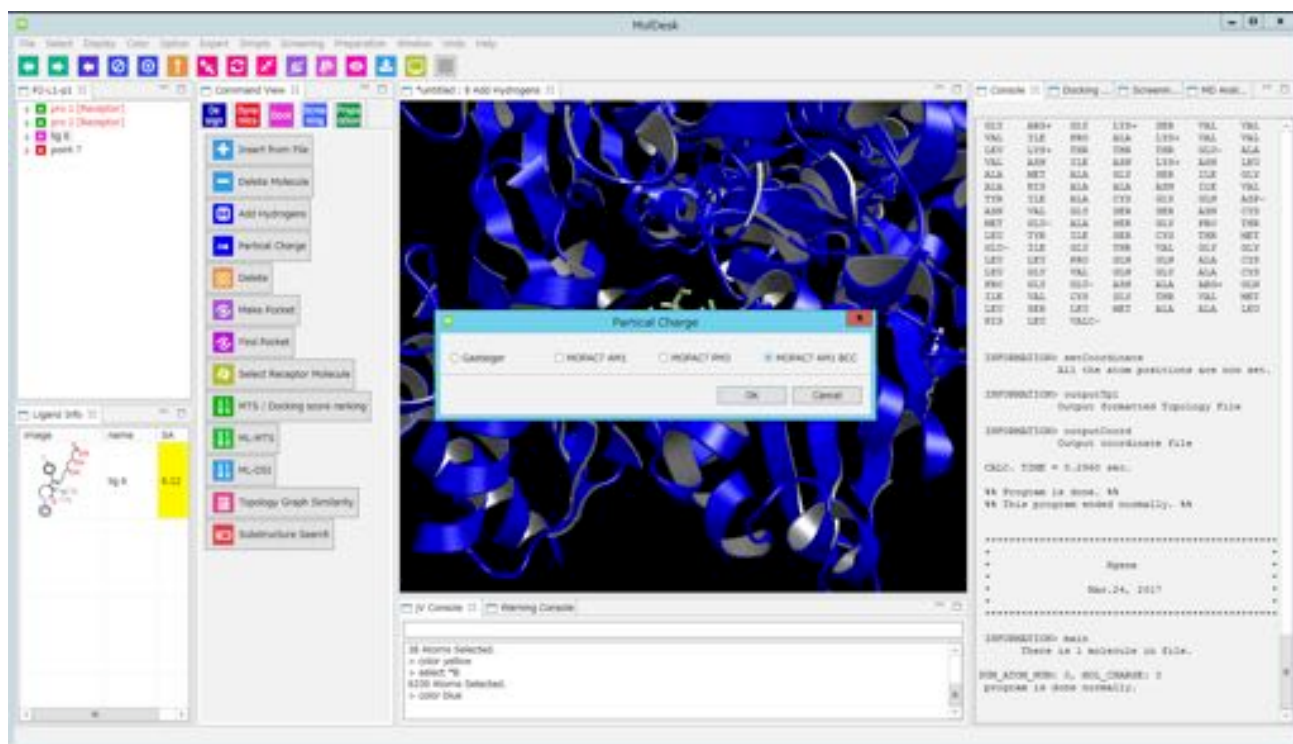


図 27 化合物の色変更後の画面

次に、lig6 に部分電荷を付加します。Tree View で lig6 を選択し、”Partial Charge”をクリックします。出てきたダイアログで、”MOPAC7 AM1 BCC”を選択して、OK をクリックします。



2.9. ドッキングの実行

化合物の準備が終わったら”Docking”ボタンをクリックしてドッキングを開始します。”Docking”をクリックするとドッキングさせるリガンドを選択するダイアログが出ます。

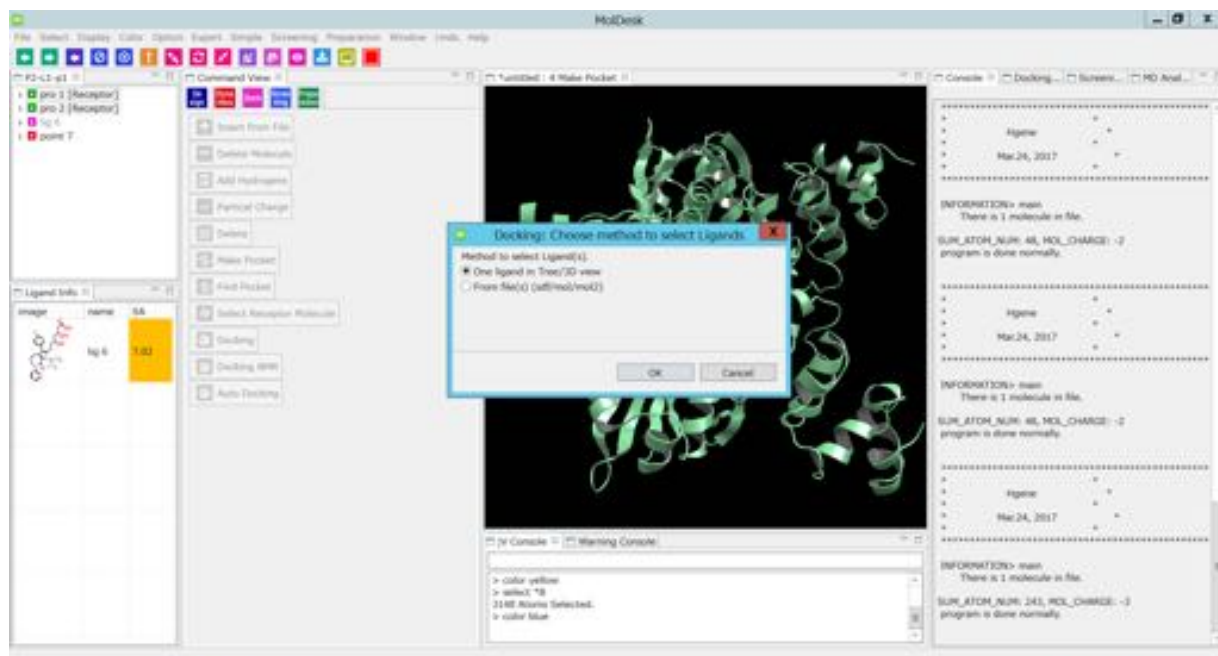


図 29 ドッキングをさせるリガンド選択ダイアログ

ここでは、”One ligand in Tree/3D view”のラジオボタンを選択し、OK ボタンを押します。更に”Docking : Select Ligand”のダイアログが出るので、lig6 を選択後に、OK ボタンを押します。

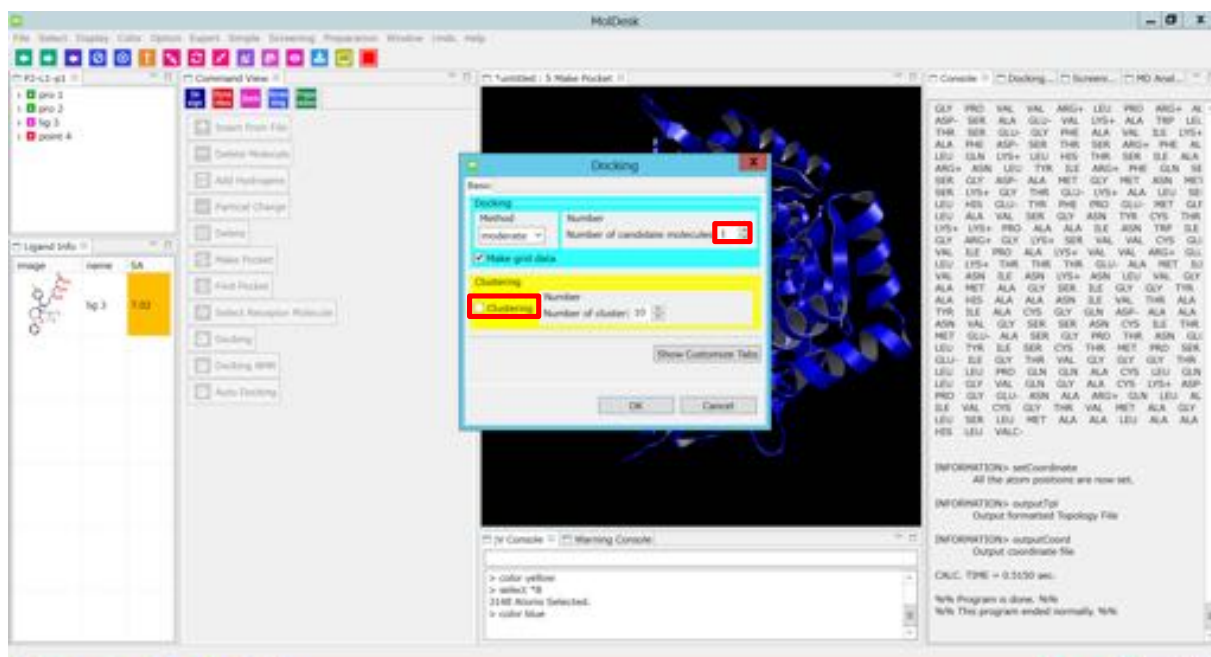


図 30 ドッキングの設定ダイアログ

ここでは、”Number of candidate molecule”を 1 にし、Clustering をオフに変更して、OK を押します。ドッキングを開始します。(この時点で、lig6、point7 は、lig3、point4 となります。)

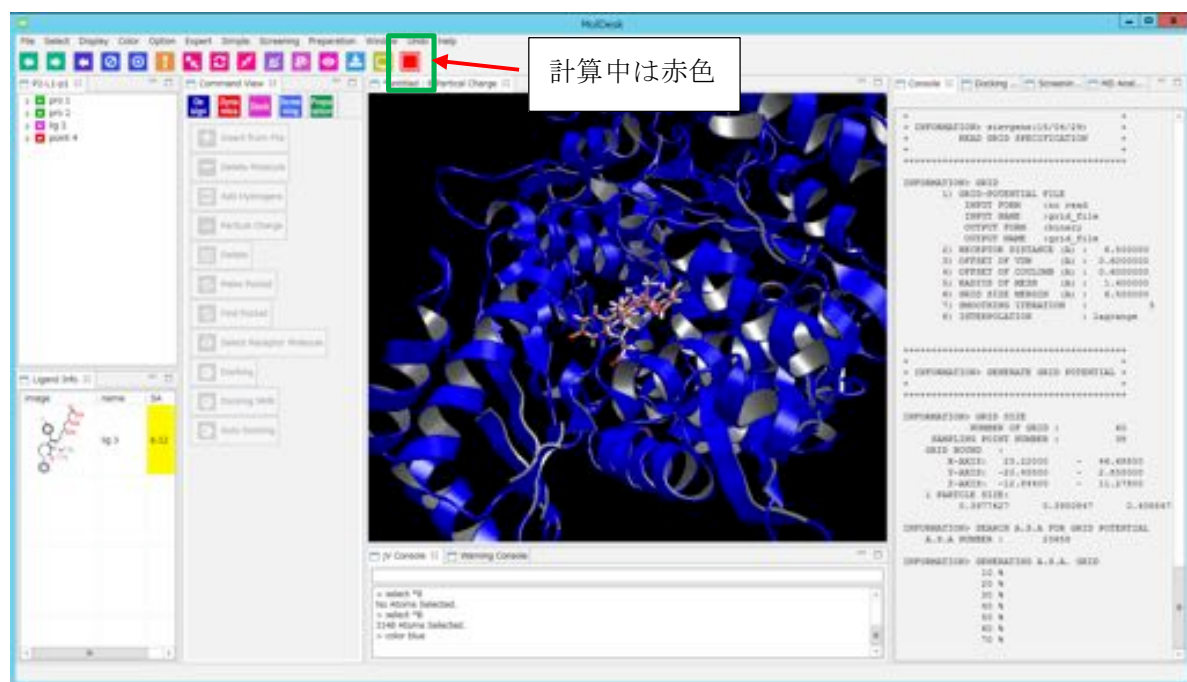


図 31 ドッキング計算中の画面

ドッキング計算中は、アイコンバーにある四角いマークのアイコン（アイコンの並びの右端、図 31・図 32 青枠）が赤色になります。計算の進捗状況は、コンソール画面からも確認できます。（表示されていない場合は Window → console）ドッキング計算が終了すると、赤色だったアイコンが灰色になり、ドッキング・インフォにドッキングポーズが現れます。3次元構造は、ドッキング・インフォ内のドッキングポーズを右クリックし、”Add Selected Docking Result”をクリックすることで、画面に表示されます。そのとき、左のウィンドウに lig5 が追加されています。

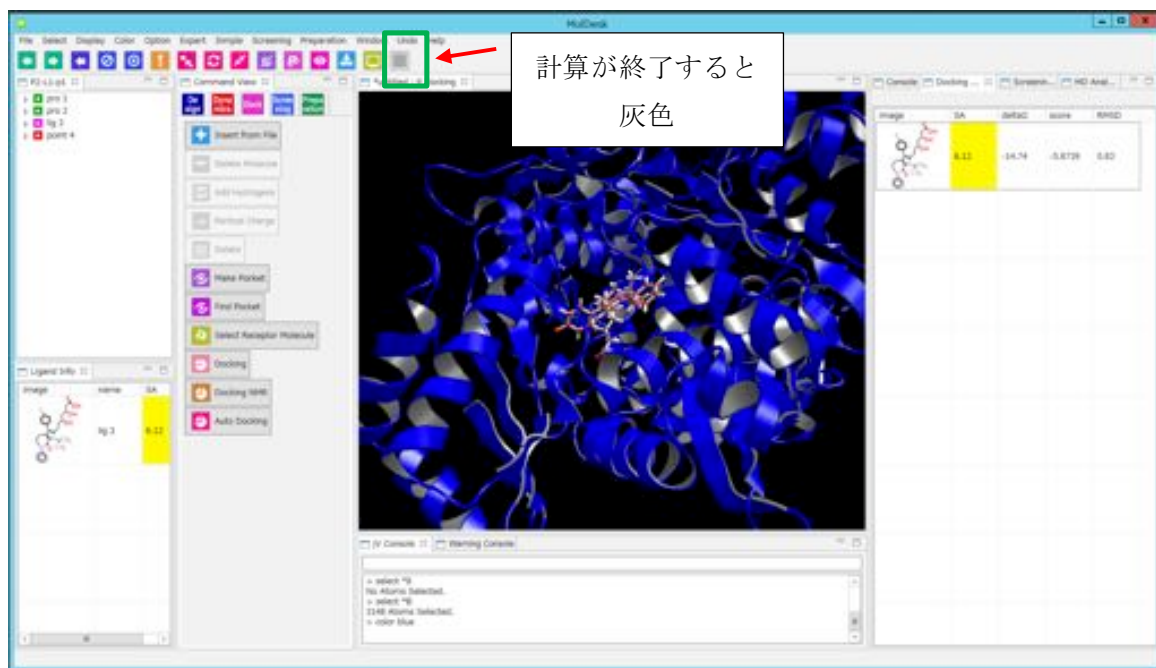


図 32 ドッキング計算終了後の画面

ここで、ドッキングの結果を見やすくするために、タンパク質を非表示にしてみます。pro1 と pro2 を選択して、右クリックをすると現れるメニューから”Hide Atom”を選択してください。

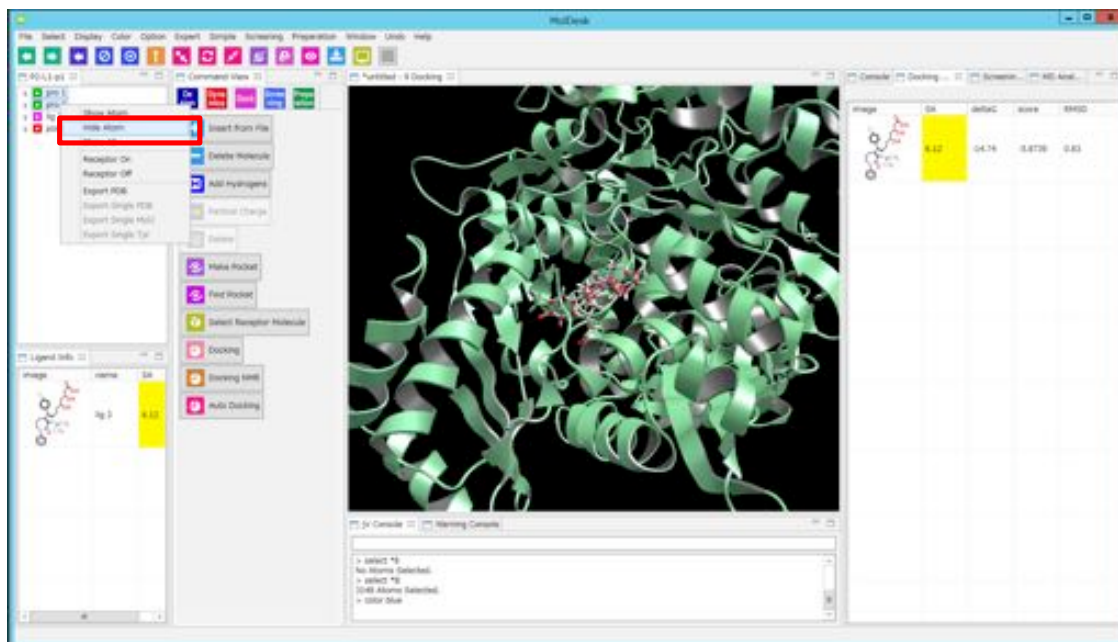


図 33 タンパク質の表示をオフにする方法

さらに同様の方法でプローブ点を非表示にしてみましょう。Tree View の point 4 を右クリックして、”Hide Atom”を選択してください。

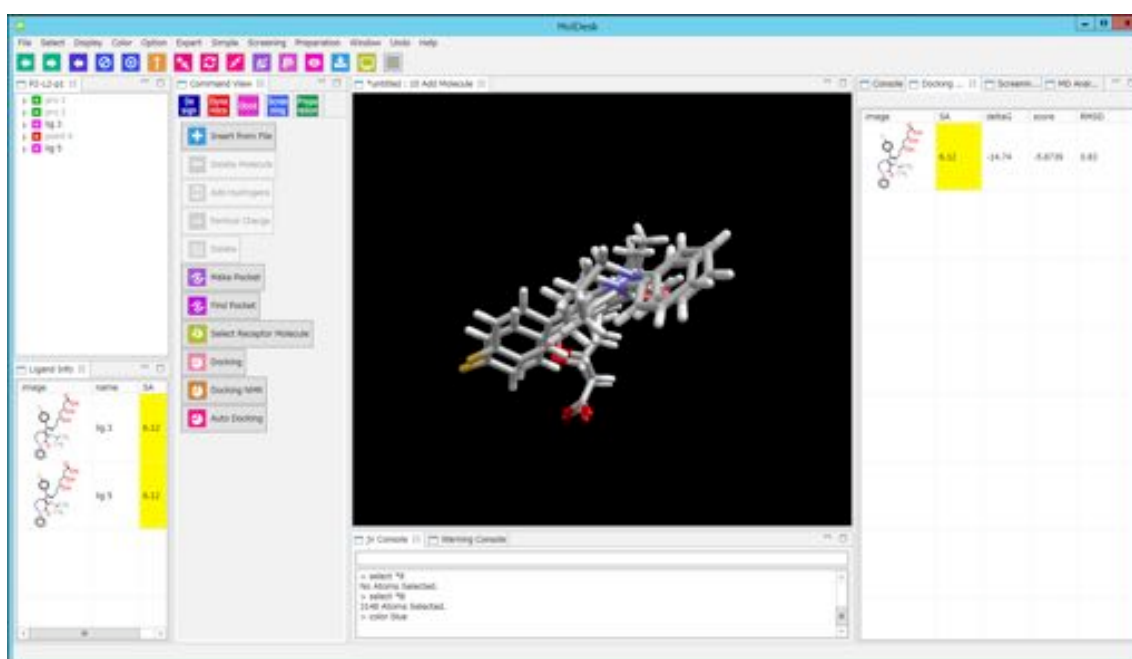


図 34 結晶構造とリドッキング構造の比較

2.10. PDB ファイルとトポロジーファイルの保存(外部サーバー利用の場合)

ドッキング計算の際に、ドッキングに適した PDB ファイルと、トポロジー情報ファイル(TPL ファイル)が自動的に作成されており、GUI から保存可能な状態になっています。”File” →”Export PDB”で、ドッキング計算用に処理された PDB ファイルを、デスクトップに”2q6b”というフォルダを作成して、”Pro_md.pdb”という名前で保存してください。同様に、”File”→”Export TPL”を選択して、”Pro.tpl”という名前でトポロジー情報ファイルを、同じフォルダに保存してください。

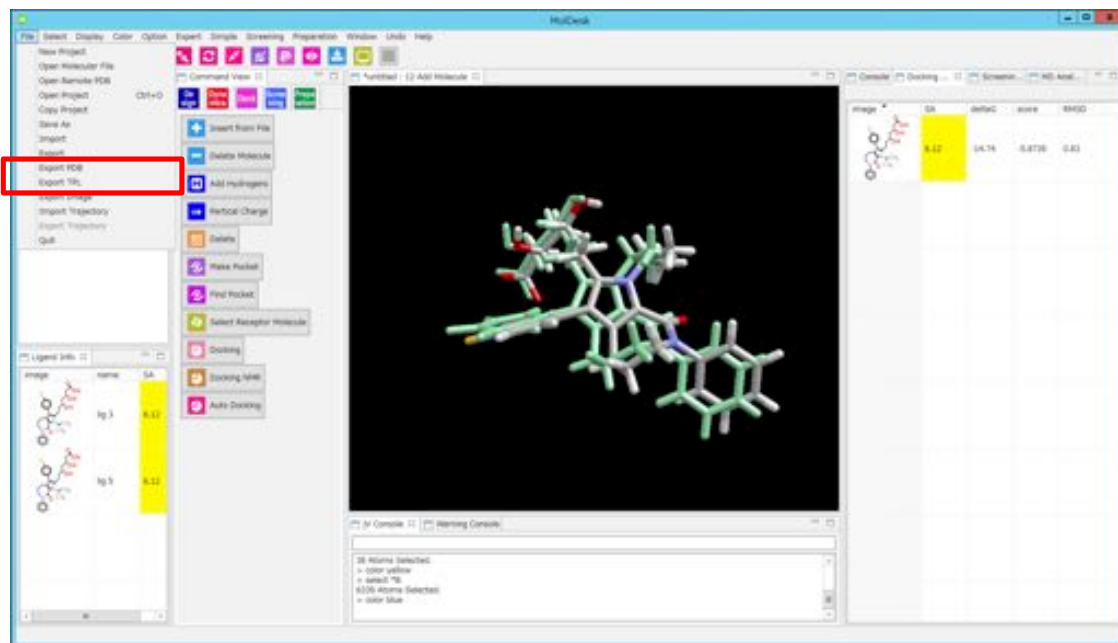


図 35 sievgene 入力ファイル (Pro_md.pdb, Pro.tpl) の出力

2.11. プローブ点ファイルの保存(外部サーバー利用の場合)

上の操作で発生させたプローブ点を探索用に用いることもできますが、阻害剤との複合体構造がある場合には阻害剤の原子座標をプローブ点として用いることができます。ここでは、阻害剤の座標を point.pdb として保存して、後で使用します。lig3(ドッキング前は lig6) を選択後に右クリックして、出てきたメニューの中から”Export Single PDB”をクリックして、上述の PDB ファイルとトポロジーファイルと同じフォルダに point.pdb という名前で保存してください。

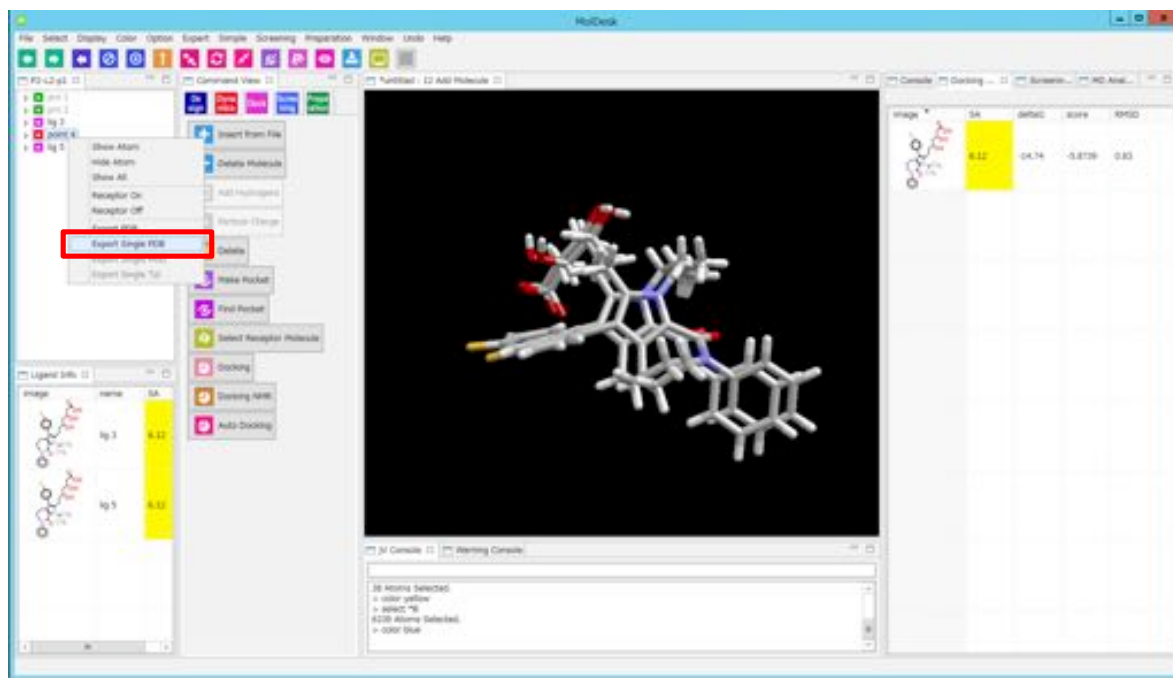


図 36 探索初期領域のプローブ点データ (point.pdb) の出力

本チュートリアルでは、Pro_md.pdb、Pro.tpl、point.pdb を作成しました。これらを使うと、screening_pack を使用したスクリーニング計算をスパコン等で、実行することができます。

3. その他の便利な機能

3.1. 画面のリセット

赤い四角で囲ったボタンをクリックするとツリー・ビューに含まれる分子が画面に収まるように、画面がリセットされます。

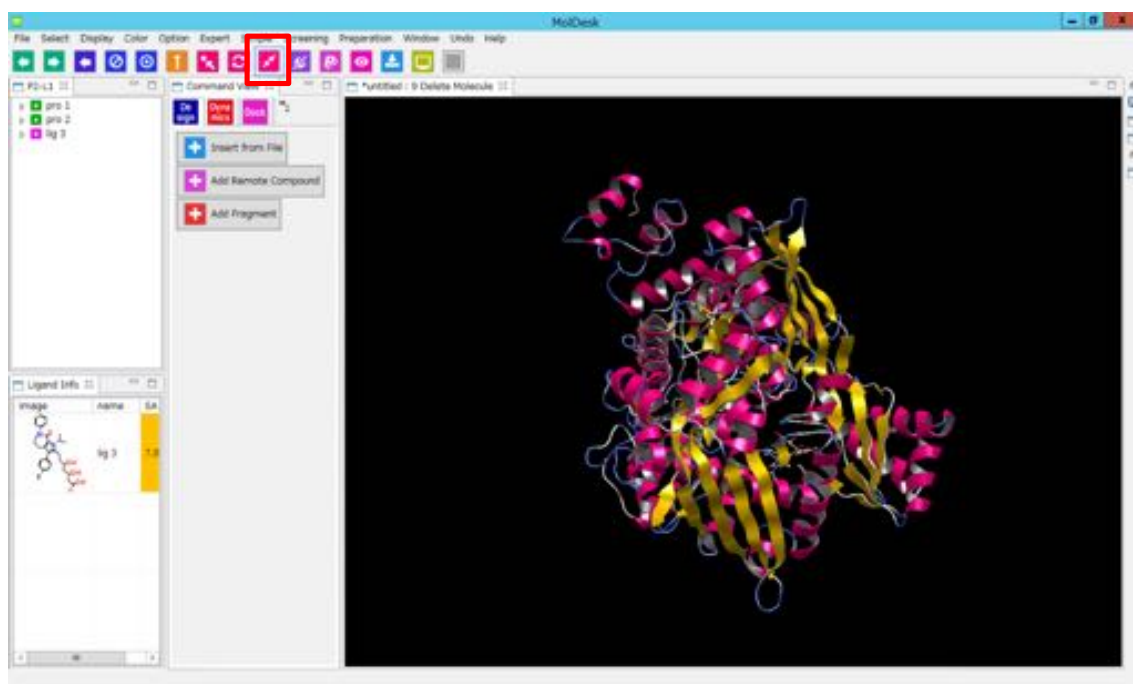


図 37 分子を中央に表示させた画面

3.2. 注目分子のセンターリング

Tree view で分子を選択した後に、“Center” (赤枠で囲った部分)のボタンをクリックすると、その分子を画面中央に拡大して表示できます。

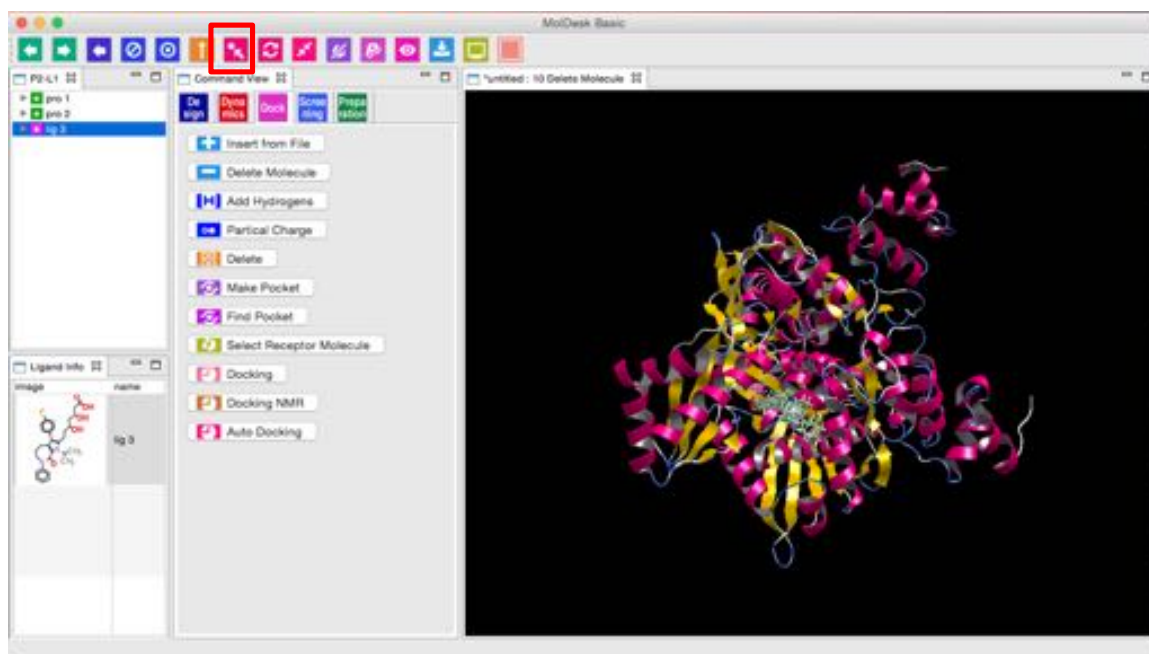


図 38 選択分子の拡大（分子の選択と Center ボタンのクリック）

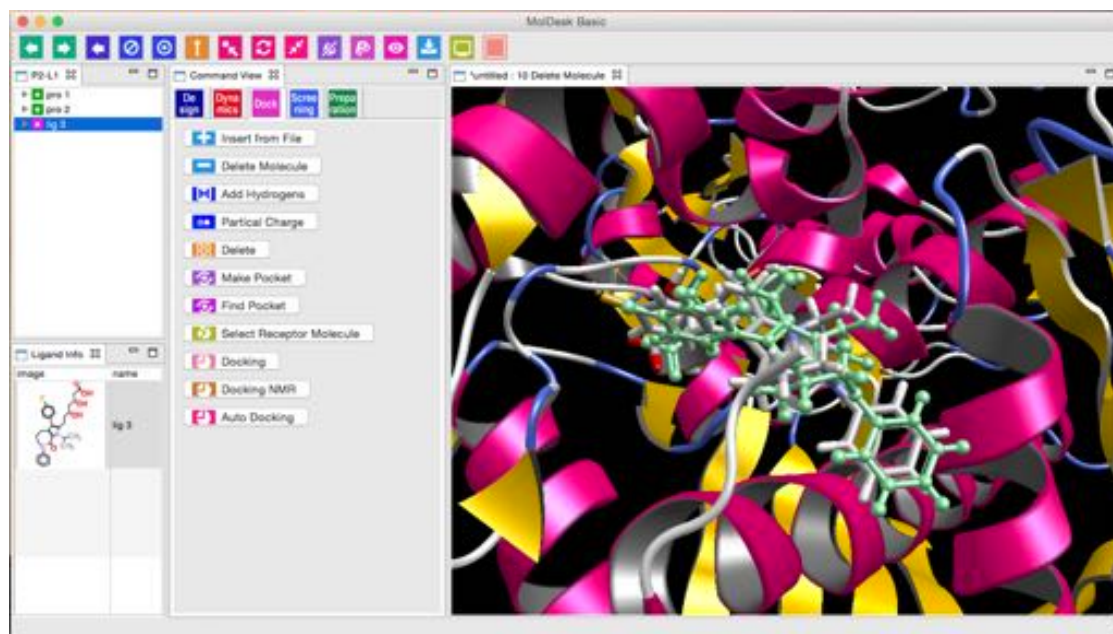


図 39 選択分子の拡大（拡大後の画面）

4. 全自動ドッキング

4.1. 準備

この章では、Docking タブの中の”Auto Docking”を使ったドッキング方法について説明します。まず、不要分子を除去します。以下では、上述と同じ 2q6b を使います。まず、不要分子を削除します。

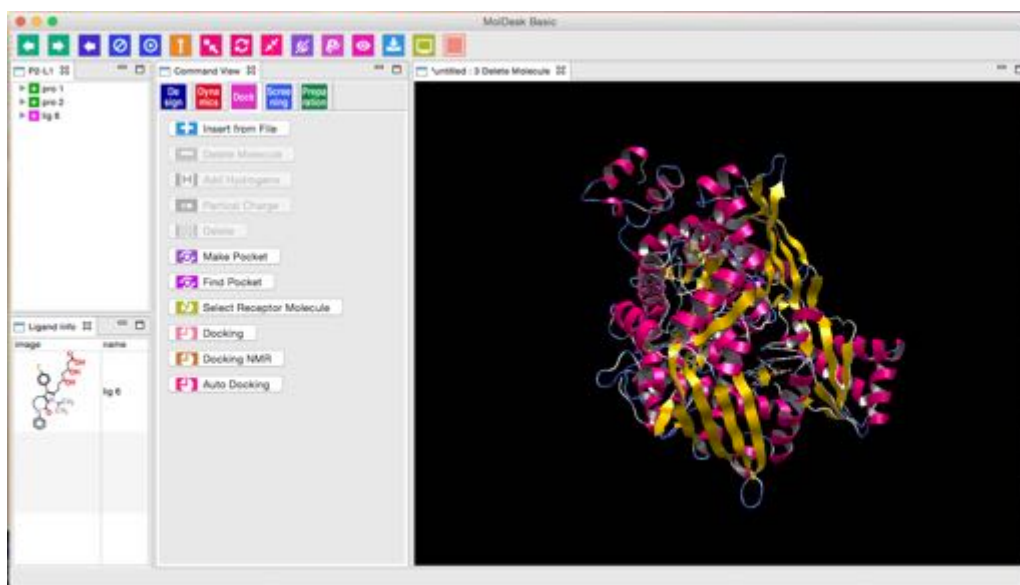


図 40 不要分子除去後の画面

4.2. Auto Docking の開始

不要分子の削除が終わったら、Docking タブから”Auto Docking”を選択してクリックします。

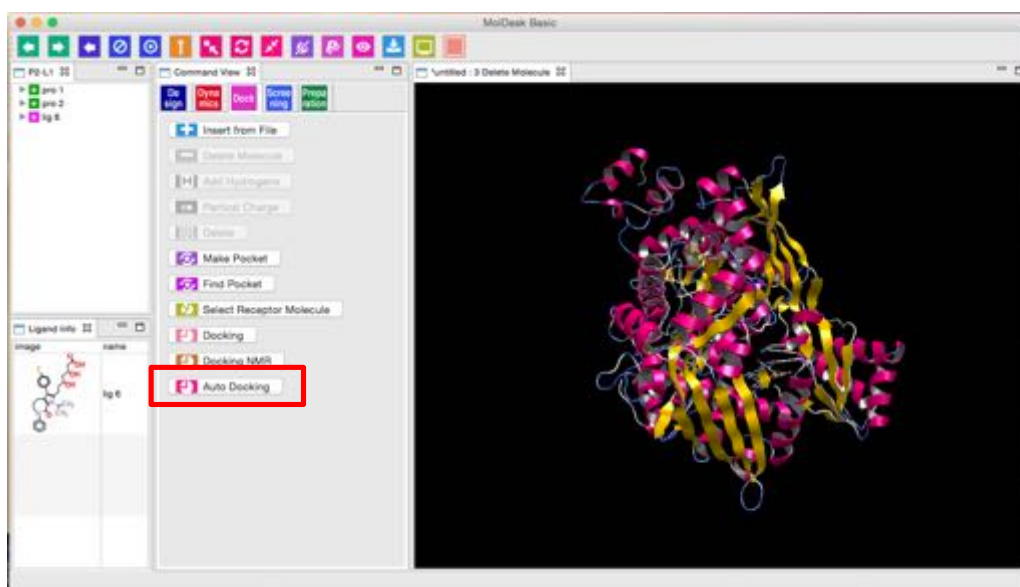


図 41 "Auto Docking"の開始

4.3. レセプターの選択

“Auto Docking”のボタンをクリックすると、まず、ドッキングに使用するレセプタータンパク質の選択が求められますので、レセプタータンパク質を選択してから、その後に、ダイアログの”OK”ボタンをクリックします。ここでは、pro1 と pro2 の両方をレセプタータンパク質として指定します。

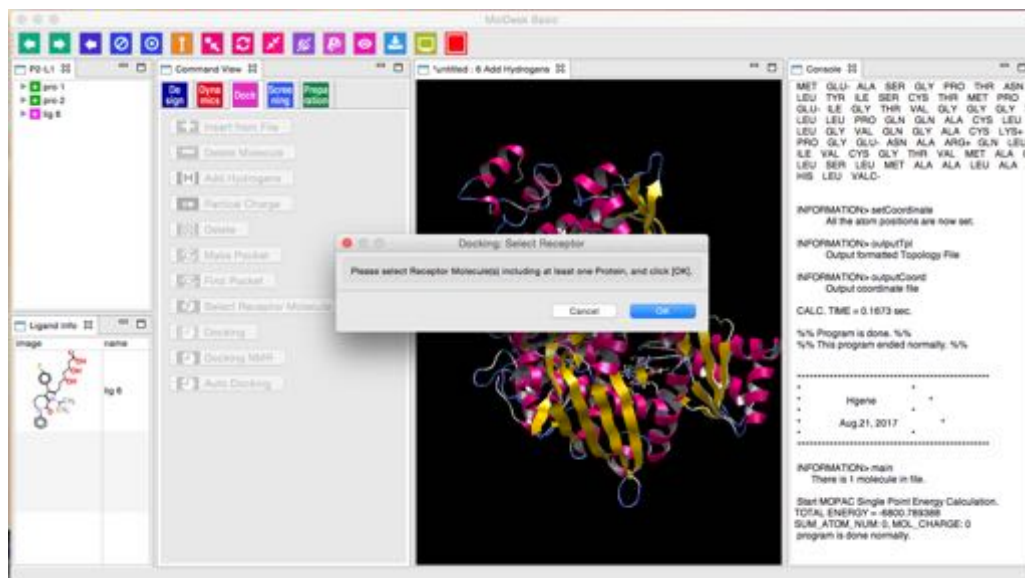


図 42 レセプター分子の選択

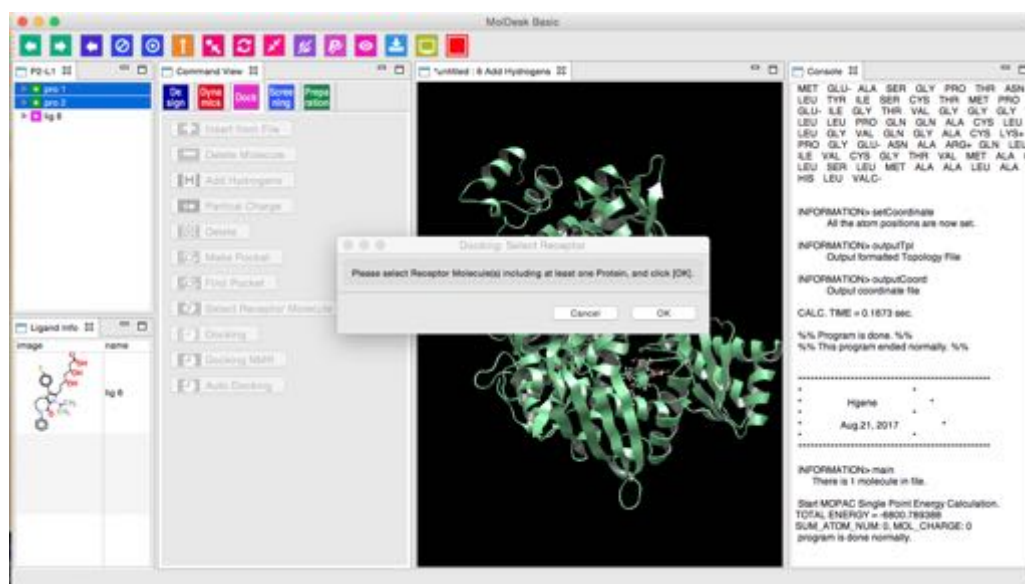


図 43 レセプタータンパク質を選択した画面

ここで、OK を押すと、Tree View の pro1 と pro2 に横に[Receptor]と表示されます。

4.4. プローブ点の作成

ドッキングのサイト（ポケット）を指定するプローブ点（実際にはドッキングの初期配置を指定するための点群）を作成します。プローブ点を作成する方法はいくつかありますが、ここでは、X線結晶構造のリガンド分子の座標をプローブ点として使用します。出てきたダイアログの中から、”Coordinates of the ligand”を選択してOKを押します。

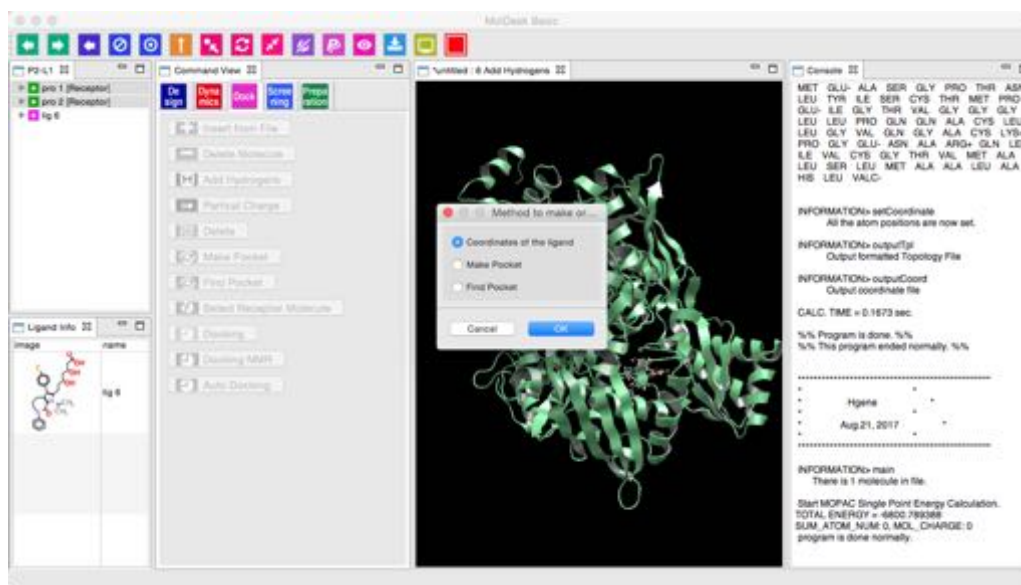


図 44 プローブ点の作成

ここで、原子座標をプローブ点群として使用する分子を選択してOKを押します。ここでは、lig6を選択します。OKをクリック後に、Tree Viewに point7 が現れます。

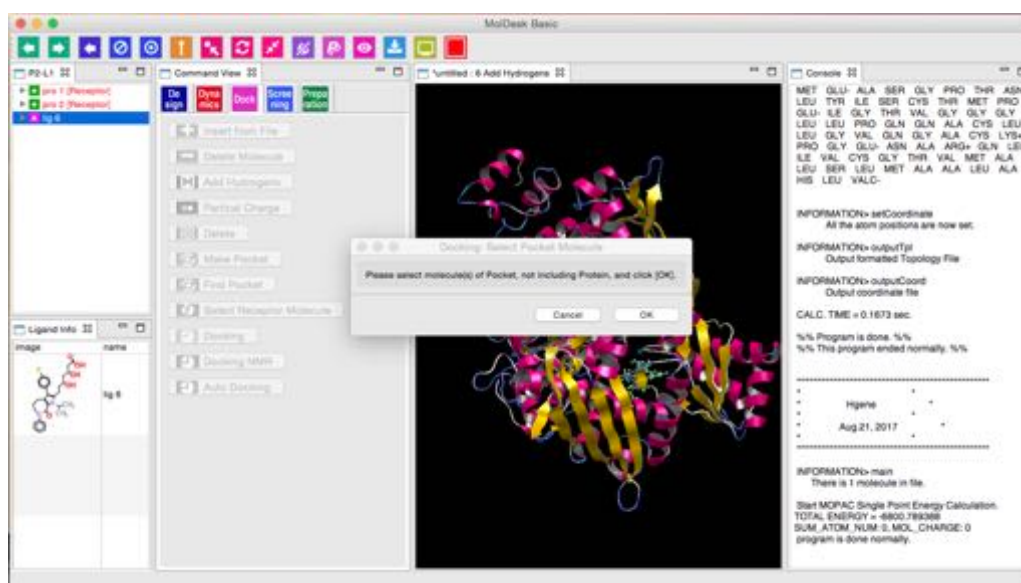


図 45 プローブ点に使用する分子の選択要求画面

4.5. ドッキングさせるリガンドの指定

次に、ドッキングさせる低分子化合物を指定します。ここでは、lig6 を選択して OK を押します。

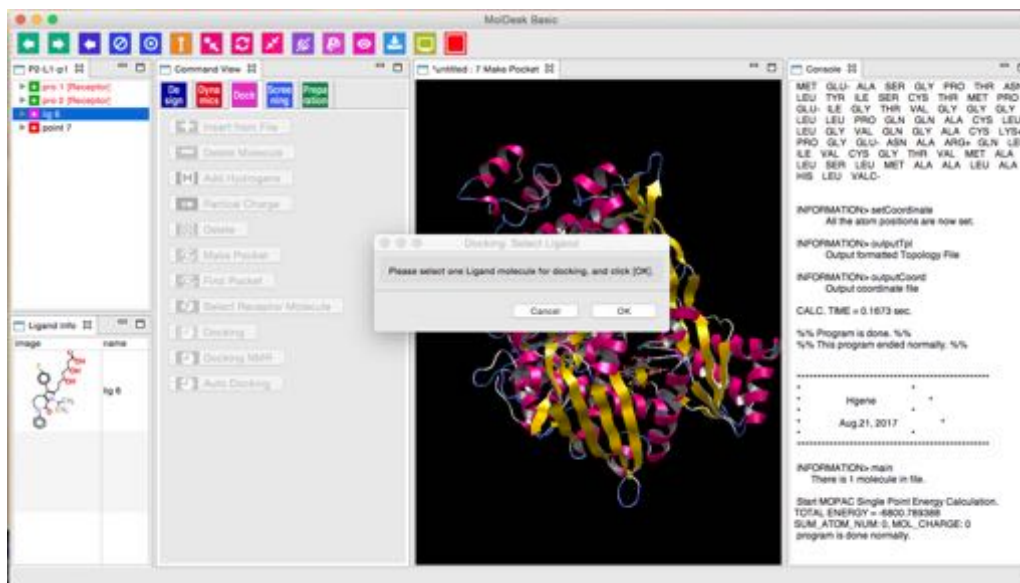


図 46 ドッキングさせる分子の指定

4.6. ドッキング条件の指定

最後に、ドッキング条件を入力して、OK をクリックするとドッキング計算が始まります。ここでは、Number of candidate molecules を 1 にして、Clustering のチェックをオフにしています。

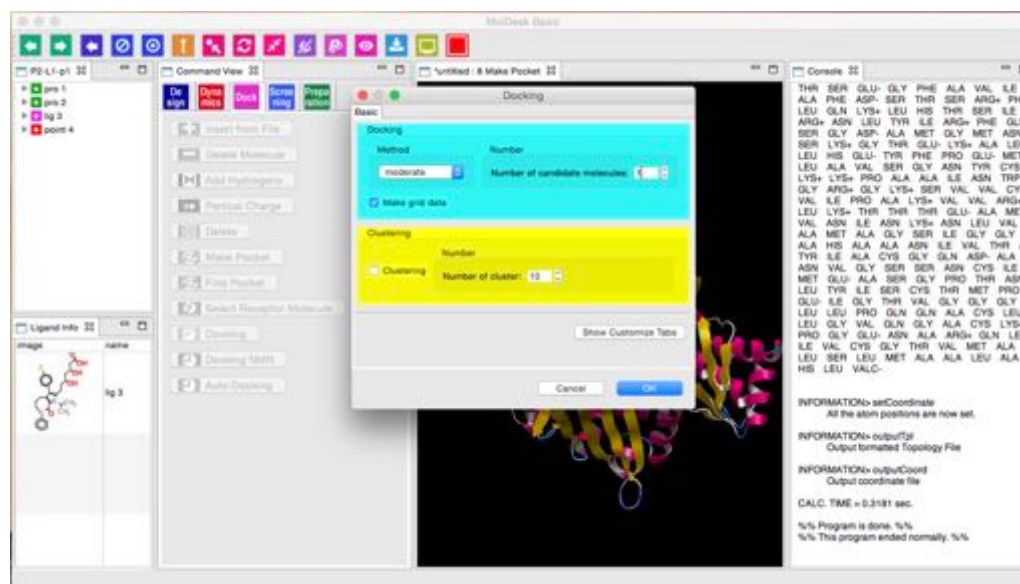


図 47 ドッキング条件の指定