

# 高精度全電子計算に基づくレクチン-糖鎖間相互作用解析

---

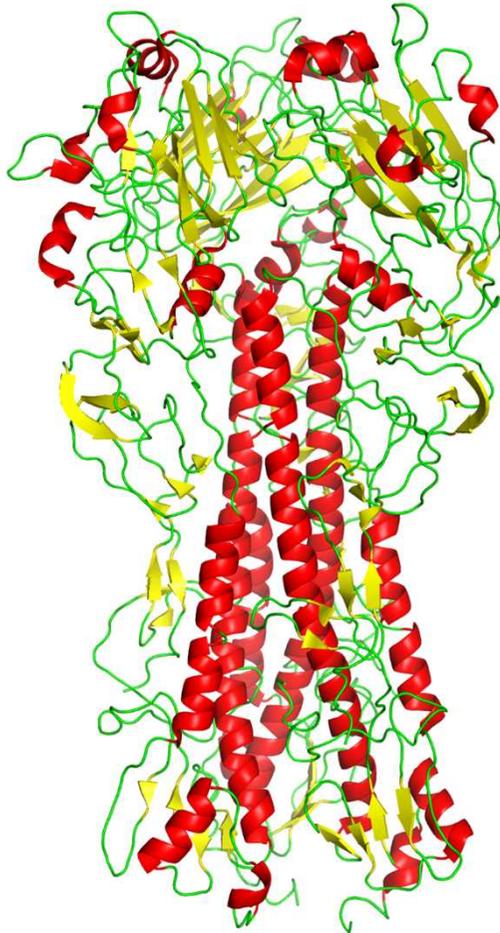
研究代表者: 中野 祥吾 (静岡県立大学・食品栄養科学部)

共同研究者: 常盤 恭樹 (東北大学大学院・理学研究科)

舘野 浩明 (産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門)

平林 淳 (産業技術総合研究所・創薬基盤研究部門)

## レクチンについて



H2 ヘマグルチニンの全体構造  
(PDB ID: 2WR0)



Galectin-3  
(PDB ID: 1A3K)

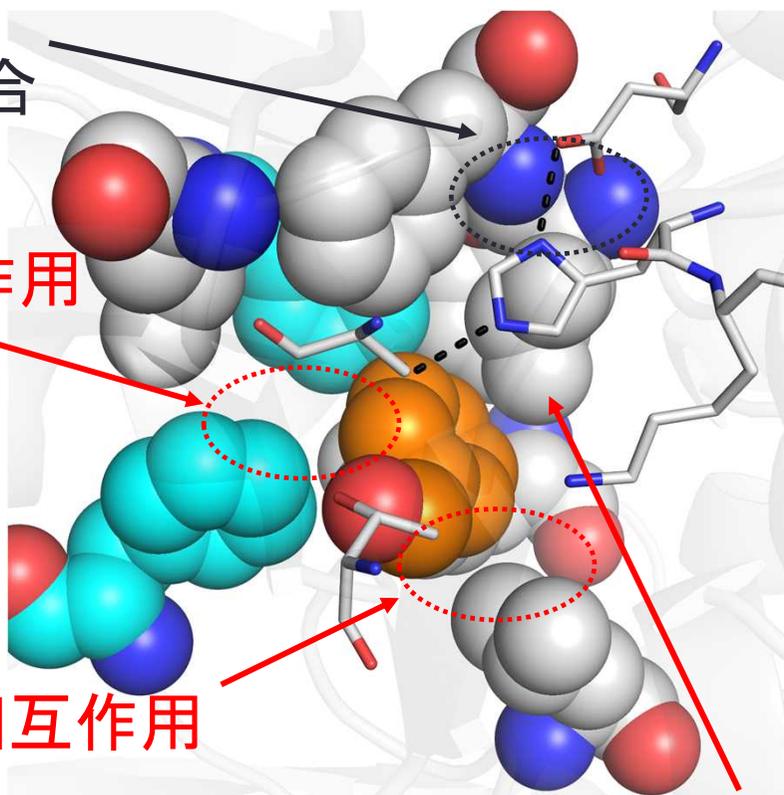
・レクチンはがんや動脈硬化、感染症など、様々な病気に関わっている。

## 生体分子間の相互作用解析にMO法が必要な理由

水素結合  
イオン結合

$\pi$ - $\pi$  相互作用

CH- $\pi$  相互作用



疎水性相互作用

タンパク質-リガンド間に存在する相互作用

分子力学法 (MM法)

- 水素結合やイオン結合は見積もれる。
- 弱い相互作用 (赤字) は見積もれない。

分子軌道法 (MO法)

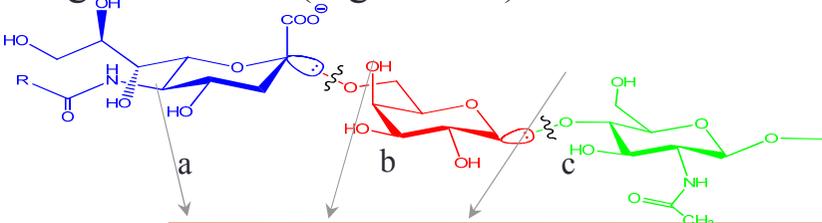
- 弱い相互作用 (赤字) を含め、相互作用を見積もれる。

・レクチン-糖鎖の相互作用を正しく見積もるには、MO法の一つであるフラグメント分子軌道法 (FMO法) が必要。

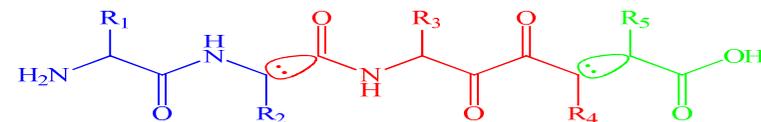
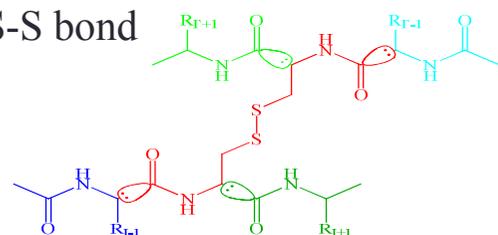
# フラグメント分子軌道法†

- ・分子集合体を数十原子程度の小さな**フラグメント**に分割
- ・各**フラグメント**を並列化計算で高速処理

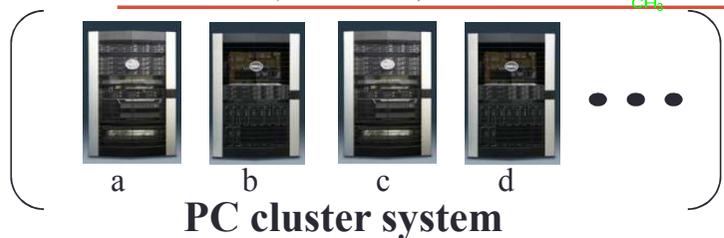
Oligosaccharide (sugar chain)



S-S bond



Protein

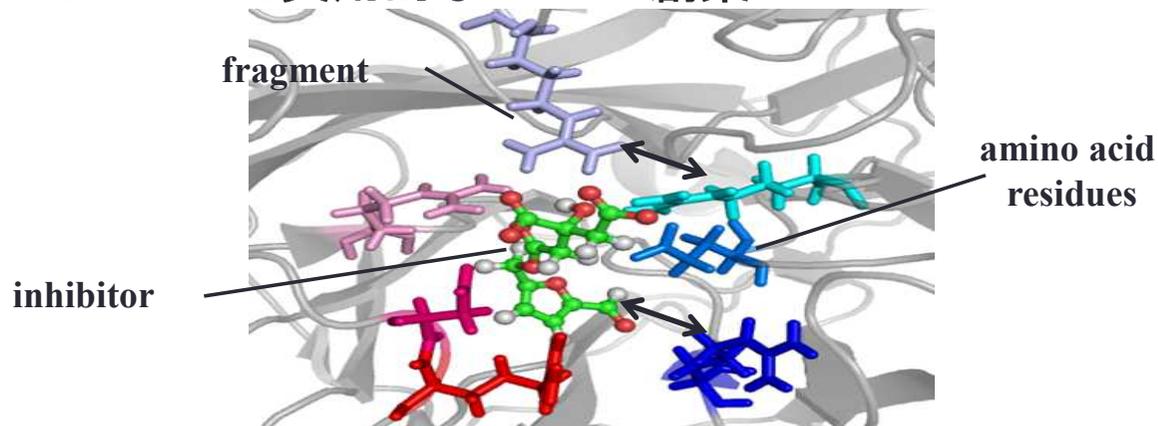


➤ 変異実験とリンクした解析

➤ **Laboレベル**のPCで実用的な*in silico*創薬

## FMO 計算プログラムPAICS‡

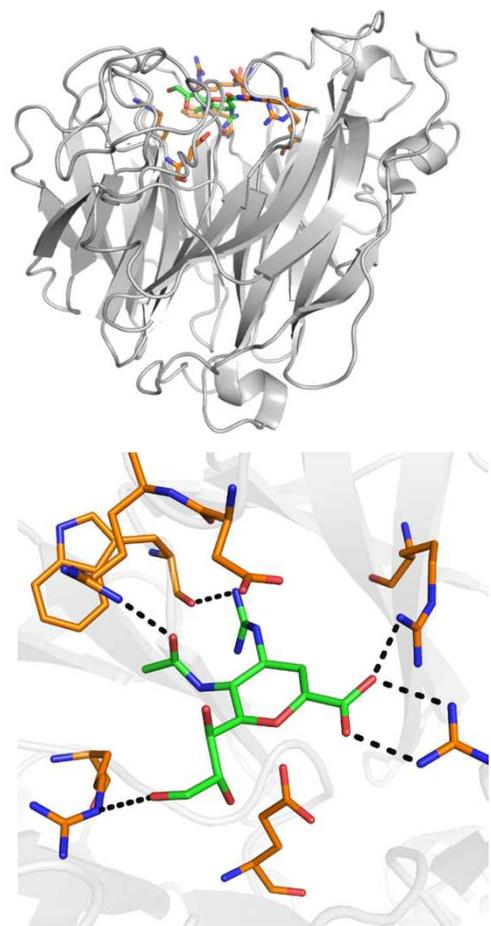
- フリーダウンロード
- pdbからの容易な入力作成
- 結果の自動処理(可視化)



† D.G. Fedorov and K.Kitaura Eds., "The Fragment Molecular Orbital Method: Practical Applications to Large Molecular Systems" CRC press (2009).

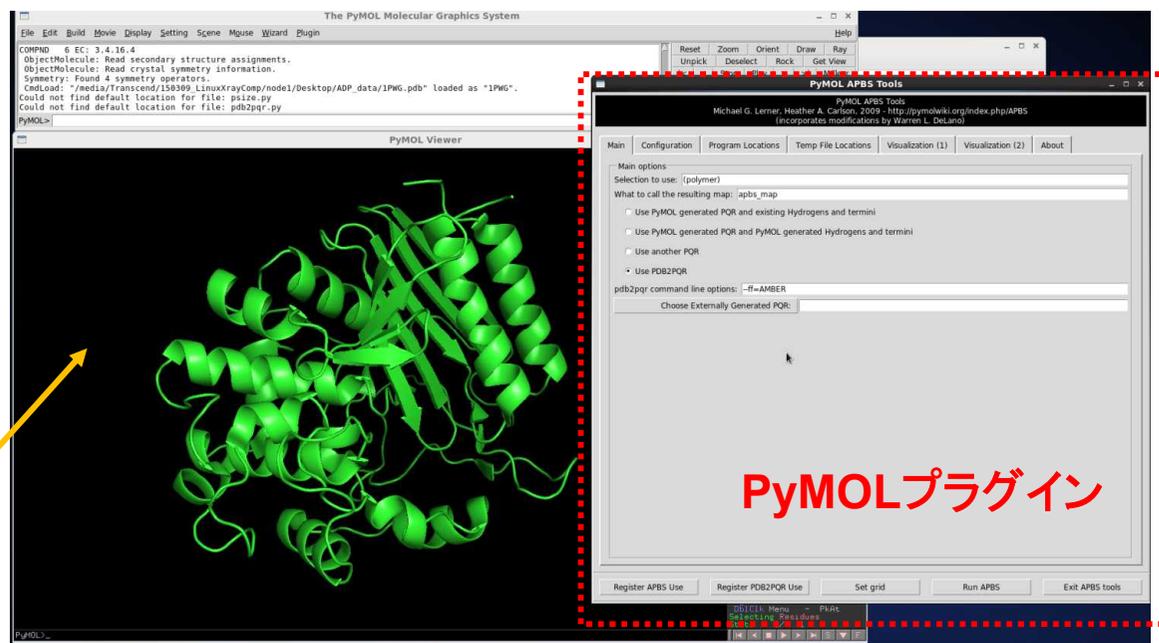
‡ <http://www.paics.net>

## 本研究で行うこと



ノイラミニダーゼの全体構造  
(A)及びザナミビル結合部位  
の構造(B)(PDB ID: 3TI5)

PyMOL



- ・生体分子構造は創薬分野で広く利用されている。
- ・FMO計算で得られたデータを、異分野の研究者が利用できるツール開発が必要。
- 分子viewerであるPyMOLのプラグインを開発する。

## 利用予定のデータベースとソフトウェア

### [利用予定のデータベース]

- ・糖鎖構造データベースおよびレクチンデータベース(LfDB)

### [利用予定のソフトウェア]

- ・PyMOL: 生体分子用の分子グラフィックスソフト。構造生物学分野で広く使われている (引用数11572, 2015/5/19現在)。  
→ 想定利用者はPyMOLを使う研究者。

# 研究開発の進め方

糖鎖構造データベース

PyMolプラグイン(開発言語:Python)  
担当: 研究代表者

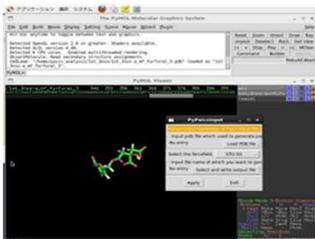
データ解析用Ruby script (開発言語:Ruby)  
担当: 共同研究者

PyMol上で構造を見ながらデータベースを変換(手動及び自動)。

データベースを直接変換(自動)

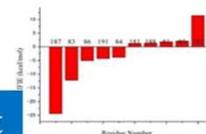
PaicsPy\_input

Ruby script



PAICS

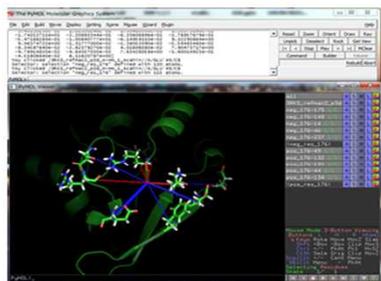
Ruby script



糖鎖の正確なエネルギーポテンシャル

PaicsPy\_output

計算結果(エネルギーポテンシャル)をPyMol上で可視化。



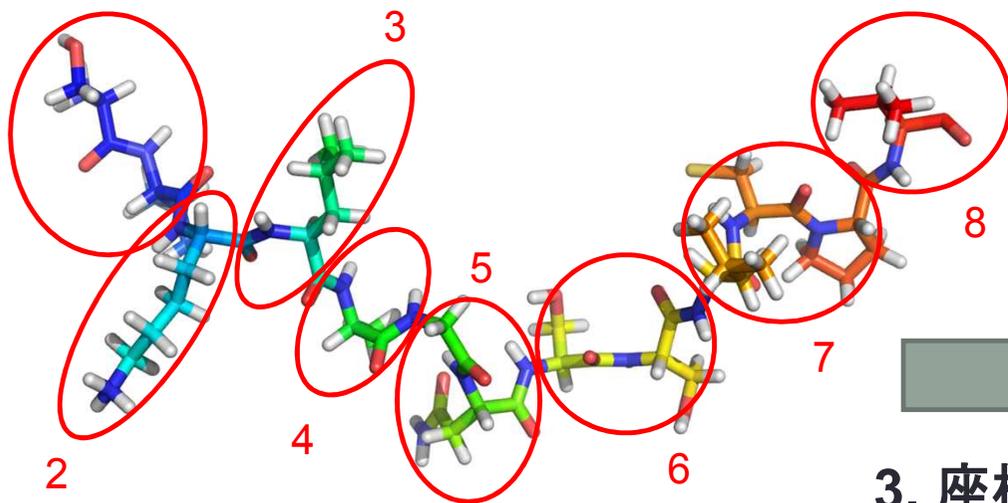
PyMolを介して糖鎖構造データベース利用を促進。

構造生物学の研究者

計算化学の研究者

# 研究課題1. PaicsPy\_inputの開発

fragment1



1. PyMOL上でタンパク質を表示
2. 自動でフラグメント化 (1~8)

3. 座標情報を  
PyMOLから抽出して

```
mpi_np 1
mem_mbyte 1792

ATOM
5748      1
  1  7  cc-pVDZso_007  44.433131  71.000787  66.108292
  2  6  cc-pVDZso_006  42.356321  70.112621  64.377302
  3  6  cc-pVDZso_006  39.931804  71.645183  64.804377
  4  8  cc-pVDZso_008  38.376559  70.921419  66.372853
  5  6  cc-pVDZso_006  41.813971  67.261019  64.753353
  6  6  cc-pVDZso_006  40.530846  66.057269  62.461120
  7  8  cc-pVDZso_008  44.092980  65.953333  65.225785
  8  1  cc-pVDZso_001  42.944027  70.384736  62.419540
  9  1  cc-pVDZso_001  40.604544  66.968114  66.399309

FRAGMENT
374
      ■
      ■
      ■
* ifragment=1
FRAG_ATOM  1  14  0
  1  2  5  6  7  8  9  10  11  12  13  14  15  16
* ifragment=2
FRAG_ATOM  0  16  1
 17 18 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 3  4
  2
* ifragment=3
FRAG_ATOM -1  15  1
 33 34 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 19 20
 18
* ifragment=4
FRAG_ATOM  1  22  1
 48 49 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66
 67 68 69 35 36
 34
```

4. PAICSの入力形式に変換。

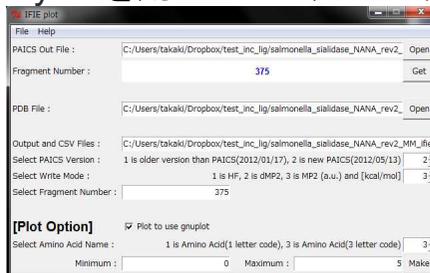
・入力ファイルと力場の指定だけでPAICSの入力ファイルを作るPyMOLプラグイン。

# 研究課題2. 相互作用解析用ruby scriptの開発

- PAICSの出力データ
- PDBデータ

1. 入力

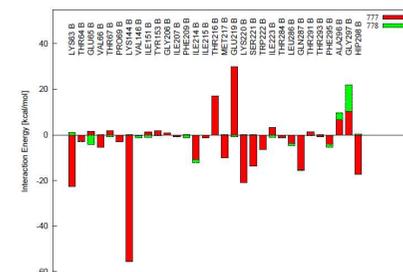
Ruby/Tkを用いたGUI処理スクリプト



2. 解析

コマンドラインからのCUI処理スクリプト (Ruby script)

リガンドから5Å以内のフラグメント間の相互作用エネルギー



フラグメント間相互作用エネルギーの出力データ(CSV, TXT形式)

```
File Name Path:
C:\Users\shinokaki\Wesktos\KUBE_a-f_2_b_p3d_an_20150214rev\KUBE_a-f_2_b_p3d_an_20150214rev2.out
Number of fragment = 1488
(Data)
-----
```

i	j	Amino Acid i	Amino Acid j(PDB)	Chain	Residue Number	i-j bond	Distance	E(i)HF	E(i)MP2	kcal/Åol
1	1488	TYR	ASP	A	11		108.8116	0.000000	0.000000	0.0000
2	1488	THR	THR	A	12		105.2601	0.000007	0.000007	-0.0044
3	1488	LEU	LEU	A	13		96.5982	0.000010	0.000010	0.0083
4	1488	CYS	CYS	A	14		97.3271	0.000003	0.000003	0.0019
5	1488	ILE	ILE	A	15		83.0253	0.000020	0.000020	0.0126
6	1488	GLY	GLY	A	16		82.7136	-0.000017	-0.000017	-0.0107
7	1488	TYR	TYR	A	17		87.0511	0.000006	0.000006	-0.0414
8	1488	HIS	HIS	A	18		84.7678	0.000020	0.000020	0.0128
9	1488	ALA	ALA	A	19		87.4680	0.000042	0.000042	-0.0284
10	1488	ASN	ASN	A	20		83.1110	-0.000035	-0.000035	-0.0220
11	1488	ASN	ASN	A	21		84.8859	-0.000015	-0.000015	-0.0084
12	1488	SER	SER	A	22		91.1374	0.000033	0.000033	0.0207
13	1488	THR	THR	A	23		81.8592	-0.000030	-0.000030	-0.0188
14	1488	ASP	ASP	A	24		76.7623	0.000557	0.000000	4.1146
15	1488	THR	THR	A	25		76.8653	0.000008	0.000008	0.0050
16	1488	VAL	VAL	A	26		74.8987	0.000115	0.000000	0.0722
17	1488	ASP	ASP	A	27		72.5582	0.000708	0.000000	4.2288
18	1488	THR	THR	A	28		72.7643	0.000082	0.000000	0.0577
18	1488	VAL	VAL	A	28		71.7833	-0.000000	0.000000	0.0000
20	1488	LEU	LEU	A	30		75.4714	0.000032	0.000000	0.0291

3. 解析データ(CSV)からPyMOLを用いて3次元的に可視化

非経験的分子軌道計算でタンパク質のような大きな分子を全電子計算

出力計算結果(PAICSの出力)は膨大

Ruby scriptを使って自動化処理

## 研究課題3. PaicsPy\_outputの開発1

残基B

	1	2	3	4	5	6	7	8
1		1	0	0	0	0	0	0
2		2	-9447.28	0	0	0	0	0
3		3	-5.67457	-9427.73	0	0	0	0
4		4	0.026355	-3.90499	-9456.58	0	0	0
5		5	0.16127	-0.07907	-5.33007	-9425.67	0	0
6		6	0.014433	0.039533	-0.55346	-3.23167	-9490.6	0
7		7	0.057103	0.112324	-0.16503	-0.08785	-3.93888	-9464.7
8		8	-0.01318	-0.05459	-0.02698	0.024473	-1.74699	-4.31664

残基間相互作用エネルギーの表。

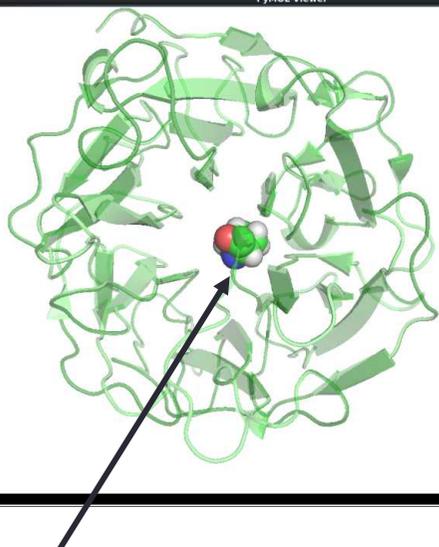
- ・データ量として、(目的タンパク質のアミノ酸残基数)<sup>2</sup> 個のエネルギー値が存在。
- ・数値だと、相互作用の大きさを把握しにくい。  
→ タンパク質相互作用の大きさをPyMOL上で可視化。

残基A

## 研究課題3. PaicsPy\_outputの開発2

```
The PyMOL Molecular Graphics System
Setting Scene Mouse Wizard Plugin

cy=0
cy set to 0.00000.
cy=0
cy set to 0.00000.
PRO 198/CA
defined with 14 atoms.
```



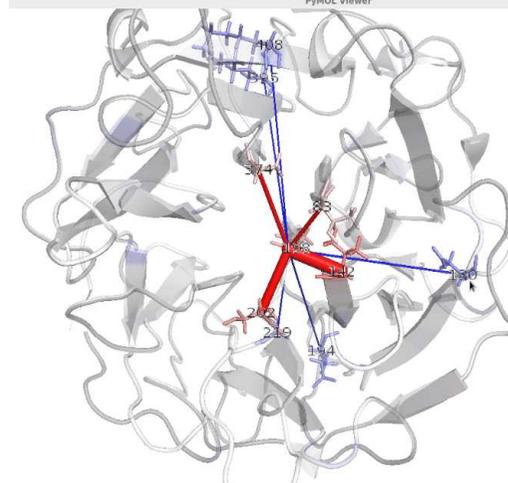
1. 相互作用を調べたい残基をPyMOL上で選択。

残基間相互作用エネルギー。

	1	2	3	4	5	6	7	8
1		1	0	0	0	0	0	0
2		2	-9447.28	0	0	0	0	0
3		3	-5.67457	-9427.73	0	0	0	0
4		4	0.026355	-3.90499	-9456.58	0	0	0
5		5	0.16127	-0.07907	-5.33007	-9425.67	0	0
6		6	0.014433	0.039533	-0.55346	-3.23167	-9490.6	0
7		7	0.057103	0.112324	-0.16503	-0.08785	-3.93888	-9464.7
8		8	-0.01318	-0.05459	-0.02608	0.024473	-1.74699	-4.31664

2. 選択した残基周辺で安定化及び不安定化に寄与する残基を自動抽出。

```
The PyMOL Molecular Graphics System
File Display Setting Scene Mouse Wizard Plugin
I/python2.6/site-packages/pymol/parser.py", line 464, in parse
124"%" % (self.pymol_names, self.pymol_names)
, line 1
: mite
: l:is syntax
ite
```



3. 相互作用の大きさを色分けして表示。

・入力ファイルと残基の指定だけで以上の操作を行えるPyMOLプラグイン。

## 課題と対策

- ・PyMOLプラグインの開発事例が少ない。  
→ 12件ヒット (pubmed, 2015/5/21)

The screenshot shows a PubMed search results page for the query 'PyMOL plug-in'. The search bar at the top contains the text 'PyMOL plug-in' and a search button. Below the search bar, there are options for 'RSS', 'Save search', and 'Advanced'. The results section is titled 'Results: 12' and lists four items:

1. [VisualCNA: a GUI for interactive constraint network analysis and protein engineering for improving thermostability.](#)  
Rathi PC, Mulnaes D, Gohike H.  
Bioinformatics. 2015 Mar 12. pii: btv139. [Epub ahead of print]  
PMID: 25770091  
[Related citations](#)
2. [PyWATER: a PyMOL plug-in to find conserved water molecules in proteins by clustering.](#)  
Patel H, Grüning BA, Günther S, Merfort I.  
Bioinformatics. 2014 Oct 15;30(20):2978-80. doi: 10.1093/bioinformatics/btu424. Epub 2014 Jul 1.  
PMID: 24990608  
[Related citations](#)
3. [GTKDynamo: a PyMOL plug-in for QC/MM hybrid potential simulations.](#)  
Bachega JF, Timmers LF, Assirati L, Bachega LR, Field MJ, Wymore T.  
J Comput Chem. 2013 Sep 30;34(25):2190-6.  
PMID: 24137667 Free PMC Article  
[Related citations](#)
4. [Conscript: RasMol to PyMOL script converter.](#)  
Mottarella SE, Rosa M, Bangura A, Bernstein HJ, Craig PA.  
Biochem Mol Biol Educ. 2010 Nov;38(6):419-22. doi: 10.1002/bmb.20450.  
PMID: 21567873 Free PMC Article  
[Related citations](#)

On the right side of the page, there are several sections: 'New feature' with a link to 'Try the new Display Settings option - Sort by Relevance', '6 free full-text articles in PubMed Central' with a link to 'GTKDynamo: a PyMOL plug-in for QC/MM hybrid potential simulation', 'Conscript: RasMol to PyMOL script converter', and 'VASCo: computation and visualization of annotated protein suri'. There is also a 'Find related data' section with a 'Database: Select' dropdown and a 'Find items' button. At the bottom, there is a 'Search details' section showing the search query: 'PyMOL[All Fields] AND plug-in [All Fields]'.

### [対策]

- ・PyMOLに独自設定されているpythonモジュール (cmd) の情報を集める。
- ・既存のPyMOL plug-inのソースコード (CAVERなど) を参考にする。

・うまくいかない場合: PyMOLのコマンドラインから、PaicsPy\_inputとPaicsPy\_outputの操作を行えるようにする。

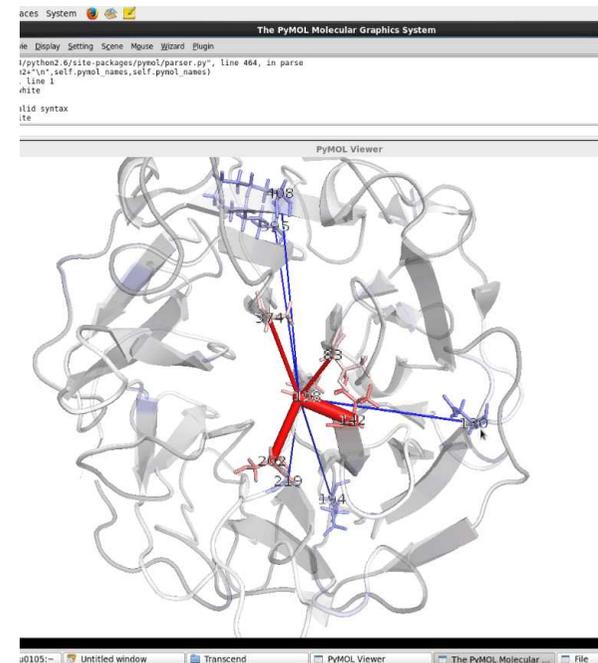
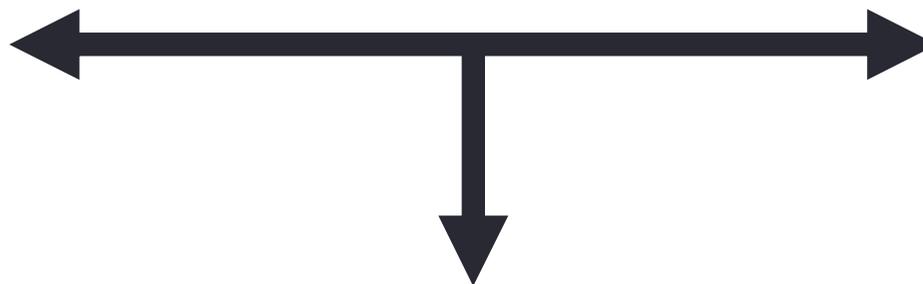
## 開発計画

研究開発項目	平成27年			平成28年
	5~6月	7~9月	10~12月	1~3月
1. PaicsPy_inputの開発 (研究代表者)				
2. PaicsPy_outputの開発 (研究代表者)				
3. 相互作用解析用 ruby scriptの開発 (共同研究者)				
4. 開発したツールの公開 (研究代表者及び共同研究者)				

・レクチン-糖鎖への計算適用は、ツール開発に合わせて随時行う。



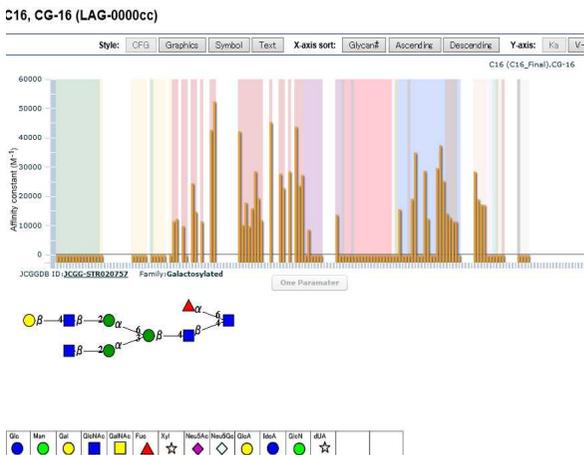
# 期待される成果と将来展望



・レクチン-糖鎖間の相互作用エネルギーをデータベース化。

・エネルギー値と結合定数から、レクチンと結合する糖鎖を高精度で予測。

PaicsPyとスクリプトによるエネルギー解析。



LfDB内の生化学データ