

平成 13 年度知能システム科学専攻修士論文

分子間相互作用における分子の挙動解析

山口 裕也

The Analysis of Molecular Behavior on Ligand Binding  
Using Spacious Grid Method

Yuya Yamaguchi

提出年月日 平成 14 年 2 月 12 日 (火)

修正再提出年月日 平成 14 年 2 月 26 日 (火)

主査教官：山村 雅幸 助教授

審査教官：新田 克己 教授

審査教官：山田 誠二 助教授

# 分子間相互作用における分子の挙動解析

山口 裕也

## The Analysis of Molecular Behavior on Ligand Binding Using Spacious Grid Method

Yuya Yamaguchi

### Abstract

The process of intermolecular docking is central to biochemical phenomenon. Although it has studied using various techniques, most of these considered only static properties, such as potential stability or final bound state of the molecule. In this study, We proposed a new computational technique for analysis. We divide the configuration space into grids, and by using the grids, we calculate dynamic motions of each molecule. Our simulation result shows its effectiveness especially on the dynamic phase of the intermolecular docking.

## 1 はじめに

生物が、外部もしくは内部から刺激を受けると感覚器がそれを感知し、生命を維持する為に必要な生理反応を発動する。ほとんどの場合刺激とその反応と一対一の対応が存在する。このシグナルの特異性を実現している原理を分子レベルで解析すると、シグナルとして分泌された特定の生理活性物質がそれに対応した受容体を認識し結合するという現象が見られる。このように分子が特定の相手を認識する働きはシグナル伝達に関わらず、抗体が抗原を認識するときや細胞同士が接着する現象においても重要であることがわかっている。このように生体にとって普遍的かつ重要な役割りを果たすことから、生体分子間の相互作用は研究も活発に行われている。

特に、特定のレセプター(受容体。タンパク質分子)とリガンド(結合物質。主として小さな有機化合物)との間の相互作用は生体の生命維持に関わることも多く、合理的な新薬開発の為に手段として中心的な課題となっている。

しかし、生体を用いた実験により分子同士の認識機構を解明するのは非常に時間が掛かる(数ヶ月~)。また、分子を直接見ることはできないので実際の分子の動きは観察できない。そこで計算機を用いてこうした生体実験

を行う補助となる知見を得る研究が盛んになっている。生体実験の補助に留まらず、計算機は実際に肉眼では観察することはできない分子の様子を観察できる新たな“実験”道具として注目されている。

計算機化学の分野においてこの分子間相互作用を扱おう問題は“Docking problem”(ドッキング問題)と呼ばれている。

ドッキング問題を扱う過去の研究では分子の最終的な結合位置やエネルギー状態の様な静的な情報に注目したものが多く、分子の移動経路や挙動の様な動的な情報に関してはほとんど触れられていない。しかし、反応の容易性やその速度の見積もりなど、動的な性質をもとに議論や予測ができるようになる情報も多く存在している。

そこで、本研究では、計算機を用い従来の手法では難しかった広い空間(レセプターの外側から結合部位に至るまで)の解析を行うこと、その実現の為に新しい分子の解析方法を提案することに目的を設定する。そうすることで、従来は議論することのできなかつた分子の挙動を観察し、このような分子の動的情報を得ることで、未知の結合部位のより柔軟な予測や薬品開発等への応用が期待される。

本研究では以上のような解析を実現するために、解析空間を格子状に分割する。格子単位の解析をすることで

分子の挙動の粗視化を図り、従来の研究例の解析範囲よりも広い領域で解析を行う。そうすることで過去の研究では得られていなかった分子の動的な情報に着目し、計算機上でドッキングの様子を観察することを可能としている。

以下、第2章ではドッキング問題について詳細に触れ、本研究の着眼点を明らかにする。第3章では第2章での考察を元に解析手法を提案する。第4章では計算手法の実装と、本研究で解析対象とした分子である乳酸デヒドロゲナーゼとオギザロ酸のモデル化について述べる。そして第5章では実験の方法と結果を示し、考察を加える。第6章において本研究のまとめを行ない、本研究におけるシミュレーションの妥当性やその検証について議論し、今後の方針を述べる。

## 2 ドッキング問題

### 2.1 問題の概要

“ドッキング問題”とは、計算機を用いて生体分子同士の結合の様子を表現し、結合の強度や結合部位などを観察、もしくは予測する問題である。この問題の目的は、複雑な結合メカニズムの解明・類似結合物質の発見や予測による医薬品への応用など多岐にわたる。また、精度の良い予測が可能になれば類似物質のデータベース化などにより、実際に分子を用いて実験をする場合の作業時間や労力を大幅に少なくすることが可能になる。

一般に、計算機を用いて分子の系を研究する利点は、実在の系では観察することのできない分解能(フェムト秒・ピコメートル)で物質の性質を議論できることである。しかし、完全に系を再現しようとすると、困難が生じる。特に生体分子の場合は原子の数が多い為、これだけの自由度をもつ系を表す運動方程式は一般に解くことは不可能である。さらに、生体分子の関わる反応は一般に反応時間が長く、絶対的に現在の計算機では計算性能が足りない。そこで、解析対象としたい情報を絞り、それに合わせてモデルを構成し、適切な計算手法を選択して用いるべきである。この問題はドッキング問題にも同様にあてはまり、シミュレーション手法に関して本質的なブレークスルーとなる手法の提案や、得たい情報に関して標的を絞った計算方法の工夫など課題も多く残されているのが現状である。

### 2.2 従来の研究手法

ドッキング問題を扱った既存の研究を見てみると、解析の対象は結合状態における分子の位置やエネルギー安定性といった静的な情報としているものがほとんどである。これは実際の分子を用いた実験でもある程度可能な情報(X線結晶解析)であり、その様な情報をもとに、例えば、あるレセプターに結合することがわかっているリガンドと似た構造を持つ分子をしらみつぶしにエネルギー評価して結合可能性を検討し、薬物活性をもつ物質を探すような試みがされている。しかし、実際の反応において重要となる、レセプター分子全体の立体構造や結合に至るまでのリガンド分子の動きまでは考慮できない。その為実際の分子系での分子の集団的な性質(反応速度など)に関しての手掛りは得られない。

遺伝的アルゴリズムを用いた方法[6]やシミュレートドアニメーションを用いた方法[2]はより効率よく構造を探索する為に用いられる。しかし、計算の手法の特性から実際の分子の動きを追跡することには向いておらず、静的な解析であることには変わりがない。

より柔軟に、動的な方法として分子動力学(以下MDと略)法を用いた手法が挙げられる。MDは分子シミュレーションに用いられる一般的な方法である。これは前節で述べた分子間に働く相互作用に基いて運動方程式を実際に解くことで、実際の分子の運動を計算機上に再現する手法である。しかし、このような分子シミュレーションは超並列スーパーコンピュータを用いても $1\mu\text{s}$ 程度[4]までしか実現できておらず、一般的にはfs~ps程度である。結果として実際にMDで行われているドッキング問題への取り組みも最終的な安定構造を議論するものとなっており、リガンド分子の動きに注目したものではない[8]。

以上のようにドッキング問題に関する従来のアプローチでは時間的にも空間的にも大きく制限を受ける為、リガンドとレセプターのドッキング過程を漏れなく表現することは現存の計算機的能力では現実的に不可能となっている。そのためにほとんどの研究がリガンドとレセプターの最終結合状態におけるエネルギーの評価に眼目を置いたものとなっている。この点に関しては一定の成果が得られているが、リガンドがレセプターに結合する時の経路やリガンド分子自体の動きを議論するには、分子の動的な情報を得ることに特化した新しい手法が必要である。

### 3 解析手法の検討

前章の考察を踏まえ、本研究でドッキング問題に取り組みにあたり重要な点を述べる。

**広範囲にわたる解析** 従来の手法では見ることはできなかった空間的な広さを解析の対象とする。レセプターの表面の分子間力がリガンドに対して特別な影響をおよぼさない程度に分子が離れた状態(10Å程度)から結合部位までの範囲で解析を行う。

**リガンド分子の挙動の追跡** MD法では古典的力学に則って運動方程式を解きながら分子の軌跡をなぞっていくために分子の挙動を再現するのに最適な方法である。しかし、実際にはごく短いタイムスパンでしか追跡できないため、前節の方針を満足するものではない。そこでここに新しい手法の導入が必要である。

このような視点での既存の研究には Singh ら [7] のものがある。ロボット工学のモーションプランニング手法を応用して分子の移動可能性を吟味するものである。この方法にしたがうと、ランダムに配置したリガンド分子の状態を追跡することになる。本研究では空間を格子状に分割してその上で分子を発生させる方法を採用した。そうすることで、視覚的に容易にリガンド分子の挙動を追跡し、同時に 2.2 にあるような手法よりも広い範囲を効率良く探索し、吟味することができる。

## 4 実装

### 4.1 実験に用いる分子

PDB データベース [1] の中からレセプターとして乳酸デヒドロゲナーゼ (PDB-code : 1LDM) を解析対象として選択する。リガンドはオギザル酸である。

乳酸デヒドロゲナーゼは生体内において 2 量体を形成している。基本的な代謝経路の一部である乳酸発酵を司る酵素で図 2 の様な反応を触媒する。本実験では単量体の状態にある乳酸デヒドロゲナーゼに反応阻害剤であるオギザル酸 (図 2 上) が結合する過程を解析する。図 1 にオギザル酸が結合した状態のスナップショットを示した。乳酸デヒドロゲナーゼの原子数は 2386 で、309 残基のアミノ酸で構成されている。オギザル酸を 4.3 節のモデルにあてはめると原子数は 6 となり 7 次元の座標で原子の状態を列挙できる。

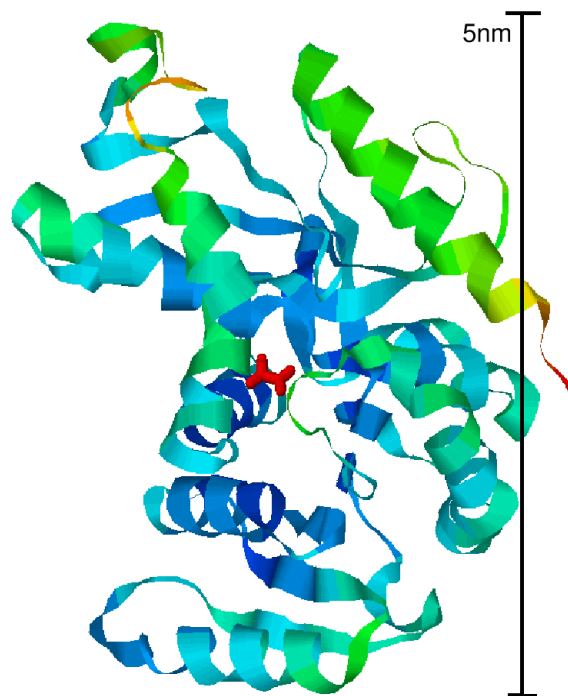


図 1: 乳酸デヒドロゲナーゼとオギザル酸。中心の赤く着色してある分子がオギザル酸である。

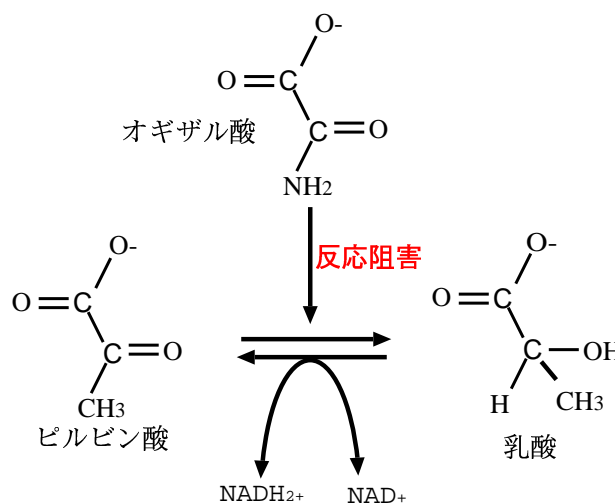


図 2: 乳酸デヒドロゲナーゼの触媒する反応

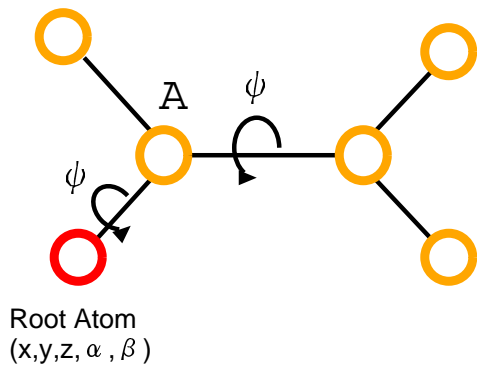


図 3: リガンド分子モデル

## 4.2 計算手順

1. 座標空間内にレセプター分子を配置する
2. 結合状態でのリガンド分子の重心の座標を求める
3. 2. の重心の座標を原点として空間を格子で区切る
4. for (任意範囲内の格子点)
  - 4.1. for (任意の回数)
    - 4.1.1 格子点と重心が一致するリガンドをランダムに発生
    - 4.1.2 相互作用エネルギーを計算
    - 4.1.3 エネルギーの平均値, 最小値を記録

手順 1 および 2 では、タンパク質の構造データベースである Protein Data Bank(PDB)[1] に登録されているレセプター=リガンド複合体の構造を用いる。3 で生成する格子の空間解像度は任意である。手順 4 において格子点上でリガンド分子を発生させる時には重心が格子点に一致するように発生させる。手順 4.1.2 でのエネルギー計算の詳細については 4.4 節で述べる。

格子に区切ることによって、リガンド分子は格子上を移動するものとして扱う。隣接した格子点間の距離が十分に短い場合には、格子点間を結ぶ経路がリガンド分子の経路の小断片になっていると考えられる。その為、格子間隔は、有機化合物における一般的な原子間結合距離より短い 1Å を上限とした。

## 4.3 分子モデル

リガンドの分子モデルは Singh[7] によるロボットアーム型モデルを採用した(図 3)。リガンド分子のうち末端の一つの分子を Root Atom として空間座標  $(x,y,z)$  及び

分子の向きとして Root atom から原子 A に向けた方向  $(\alpha,\beta)$  を与える。そして非末端原子に関して結合の捻れ角  $(\Psi)$  を与えたものである。図 3 のような 6 原子分子の場合は 7 次元の座標で分子の状態を列挙することができる。また、このモデルでは末端に結合している水素原子は独立のものとしては扱わず、結合先の原子の半径を大きく見積もることでそれに換える。

## 4.4 分子間相互作用モデル

レセプターとリガンドとの間のドッキングはそれぞれ相手に対して特異的なもので、分子は幾何学的および化学的の両面で適合性があることが必要となる。このプロセスを支配しているのは距離を置いた分子と分子との間に作用する力、すなわち分子間力である。ドッキング問題を扱う際にはこの分子間力の計算が必要不可欠である。

この分子間力の発生源は、分子の構成原子同士に発生する、静電気力やファンデルワールス力に代表される非結合性の力である。原子間には互いに引力もしくは反発力がはたらき、ポテンシャルが発生する。分子間相互作用は、分子を構成している原子の中でこれらのポテンシャル(力)を総計したものと表わされる。

分子間相互作用についての物理化学は十分に確立されたものとはいえ、個々の研究において独自に相互作用を表わす関数を定義し、モデルを構築しなくてはならない場合も多い。しかし、タンパク質や核酸など生体内に普遍的に存在する分子について汎用的に用いることを目的とした、amber[3, 9] や OPLS[5] と呼ばれる力場モデルが提唱されている。

本研究では分子間相互作用モデルとしてタンパク質・核酸用の汎用力場モデルである amber[3] を使用した。amber 力場では各原子に対して次のようなパラメータが与えられている。

- ファンデルワールス半径  $r$
- ファンデルワールスパラメータ  $\epsilon$
- 電荷

amber 力場では以下の式に上記のパラメータを代入して分子間相互作用ポテンシャルを計算する。

$$E_{\text{total}} = \sum_{i,j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + C \frac{q_i q_j}{R_{ij}} \right] \quad (1)$$

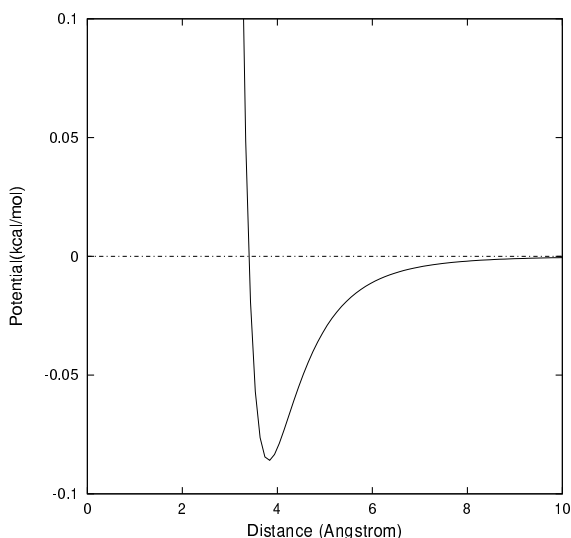


図 4: 炭素原子同士のレナード=ジョーンズポテンシャル

$$A_{ij} = \epsilon_{ij} R_{ij}^{*12} \quad (2)$$

$$B_{ij} = 2\epsilon_{ij} R_{ij}^{*6} \quad (3)$$

式中の  $i$  はリガンド中の原子、 $j$  はレセプター中の原子を表わしている。(1) 式右辺第 1 項と第 2 項は合わせてファンデルワールスポテンシャルを表わす式である。 $R_{ij}$  は  $i$  と  $j$  との間の距離、 $R_{ij}^*$  は amber 力場の定義によって与えられる対象原子間のファンデルワールス半径の和 ( $r_i + r_j$ ) である。式 (2),(3) 中の  $\epsilon_{ij}$  は原子  $i,j$  のファンデルワールスパラメータの幾何平均値 ( $\sqrt{\epsilon_i \epsilon_j}$ ) となっている。

ファンデルワールスポテンシャルは図 4 の様な概形をもっている。通常は後に述べるクーロンポテンシャルよりも 2 桁程度小さいポテンシャルを発生し、より近距離で作用するが、一定の距離 (原子種の組み合わせにより異なる) より原子が近接しようとするとき非常に強い反発力が発生する。これは、原子同士の衝突に対応したポテンシャル型である。(1) 式右辺第 3 項はクーロンポテンシャルを表わしたものである。 $i$  と  $j$  の電荷の組み合わせで正負が異なるが、負の場合が引力を発生する。

式 (1) 全体としてみると、原子間の距離が離れるとポテンシャルの影響は小さくなる。そこで原子間の距離が 10Å 以上の場合は計算をカットする。この近似は一般的に用いられる方法 [10] である。

## 5 実験結果と考察

分子をリガンドの結合部位を原点とする  $xyz$  空間で表す (それぞれ紙面に向かって右、下、手前方向が正方向)。本章以降断りの無い限り、測定結果は  $Z$  の値を固定した面上でのポテンシャル値を表したものである。また、結晶構造におけるリガンドの結合部位を“実結合部位”と呼ぶ。

### 5.1 実験 1: リガンド分子の存在可能な位置の探索

リガンド結合部位を中心とした空間にリガンド分子が存在できる場所がどの程度存在するのかを調べる。

- 計算範囲：結合部位を中心に一辺 40Å の立方体内
- 格子幅：1Å
- 評価回数：1 点につき 100 構造
- 評価値：最小値

このように計算した結果が図 5,6,7,8 である。この図中ではポテンシャルエネルギーの値が 0 以上の時、すなわちリガンドに対して反発力が働く領域は赤くなっている。

$Z=0$  の時 (図 5) を見てみると、実結合部位を含む周辺領域にリガンドが反発を受けない、安定存在可能領域が広がっているのが確認できる (図 5 中青い円内)。この領域から、リガンドが反発力を受けない領域を追って行くと、図 7 でレセプターの外部とほぼ同じエネルギー状態を持った領域と連結される様子が観察される。このことから、リガンド分子が各格子点上のポテンシャル最小構造をトレースして移動できると仮定すると、リガンド分子はレセプター外部から結合部位まで移動できるということが言える。

しかし、結晶構造におけるリガンド分子のポテンシャルエネルギーが -2.372 kcal/mol であるのに対して、よりポテンシャルの低い部分がレセプター内部に散在している様子も観察できる。

さらに、レセプター表面にもポテンシャルが低く、より安定した領域が存在している様子がリガンドが違った経路を移動してくる可能性や、レセプター表面のポテンシャル安定な領域に入ってしまう可能性も否定できない。



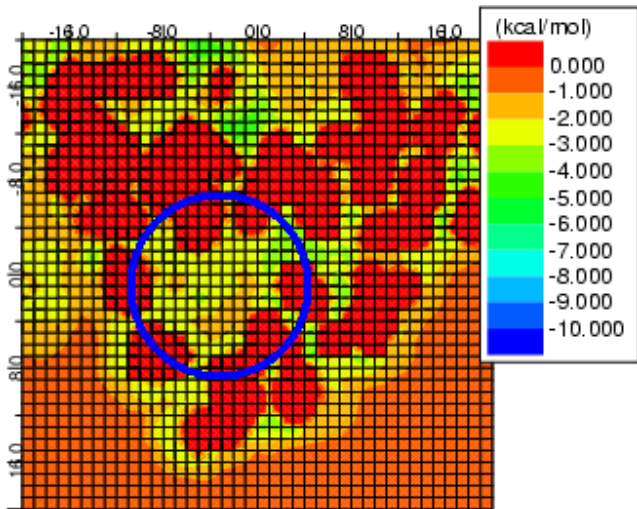


図 5:  $Z = 0$  における実験 1 の結果。各格子点におけるポテンシャル最小値ををプロットしたもの。図内の円で囲んだ領域は実結合部位を含み、かつ反発力を受けずにリガンド分子が存在できる領域である。

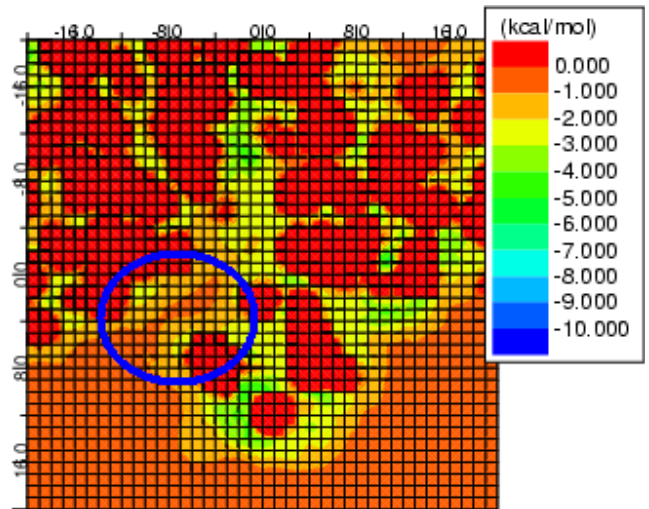


図 7:  $Z = 4$  の平面上のポテンシャル最低値。図内で青く囲まれた部位は、レセプター内部と外部との連結が示唆される部位である。

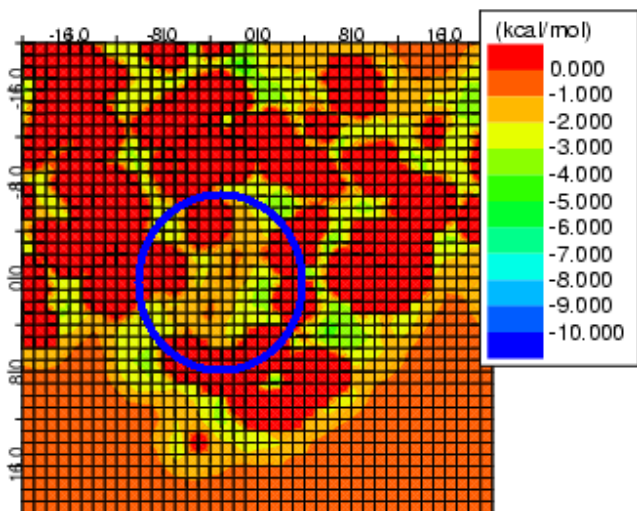


図 6:  $Z = 2$  の平面上のポテンシャル最低値

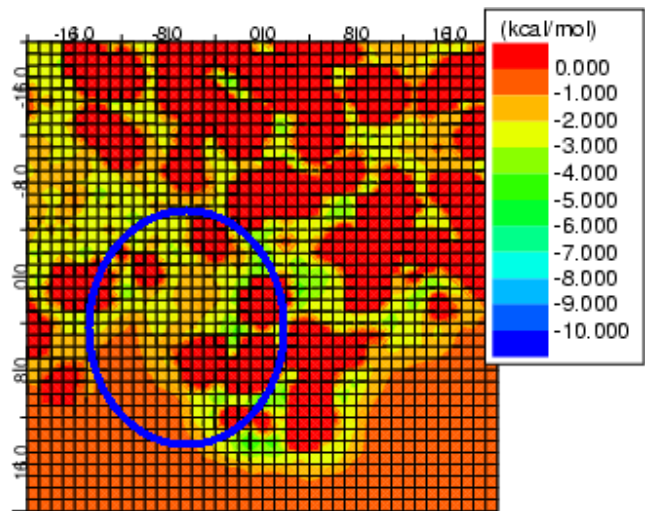


図 8:  $Z = 6$  の平面上のポテンシャル最低値。図 7 で見られた外部への接続領域はほぼ無くなっている。

## 5.2 実験 2：レセプター分子内のリガンド分子の可動領域の探索

実験 1 ではリガンド分子が安定して存在の許される領域をポテンシャルの安定性より考察したが、実結合部位の周囲を始め、レセプター分子の表面にもポテンシャル安定領域が確認できた。この結果は、リガンドがレセプターの実結合部位に対する特異性を持っている事実を支持するものではない。

タンパク質は、アミノ酸主鎖から一定の間隔で様々な種類の残基が張り出した構造をしている。その構造が折りたたまれたタンパク質になると、中身は完全な密構造ではなく、分子表面に見られる凹凸構造のように内部にも小さな分子が入るだけの疎な構造が発生していると考えられる。その部位は非常に狭いためリガンド分子の回転の自由度は著しく制限されることが予想される。(図 13B)。

つまり図のような配置以外ではリガンドの原子との衝突が起ってしまうことになる。したがってリガンドの取りうるポテンシャル最低値が低い場所でも平均値は高くなってしまふ。これは図 4 のような短かい原子間距離でのポテンシャルの発散から説明できる。

そこで実験 2 では、実験 1 と同じ条件の系で、同一格子点上で発生させたリガンドについてポテンシャルの平均値を測定した。図 9,10,11,12 に結果を示す。

- 計算範囲：結合部位を中心に一辺 40Å の立方体内
- 格子幅：1Å
- 評価回数：1 点につき 100 構造
- 評価値：平均値

このように平均値を計算した結果は、実験 1 において分子の移動経路であることが示唆されていた領域と良好な一致を得た。一致していることが確認された間隙に関してはいずれをとってもポテンシャル値が  $0.000 \pm 1.000$  の範囲に入っている。

このことから考察すると、分子は結合部位付近においても比較的大きな自由度をもっているということが示唆される。リガンド分子は一定のポテンシャル勾配を辿って結合部位に導かれているわけではなく、直径 4~5Å のトンネルの中を自由に運動できる。

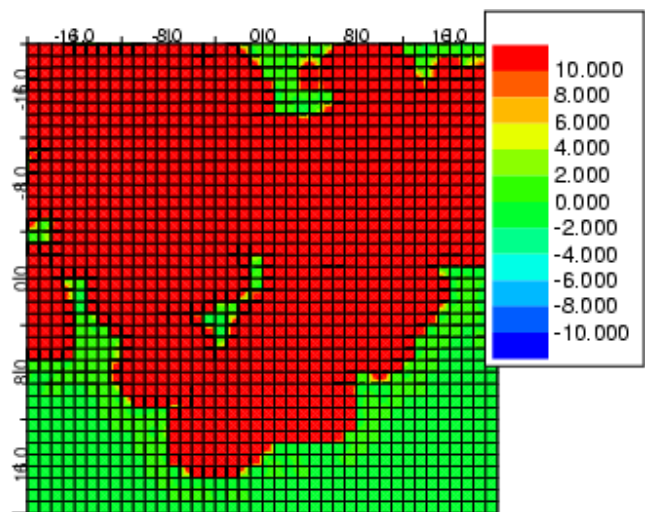


図 9:  $Z = 0$  における実験 2 の結果。各格子点におけるポテンシャル平均値をプロットしたもの。測定された領域は図 5 と対応している。

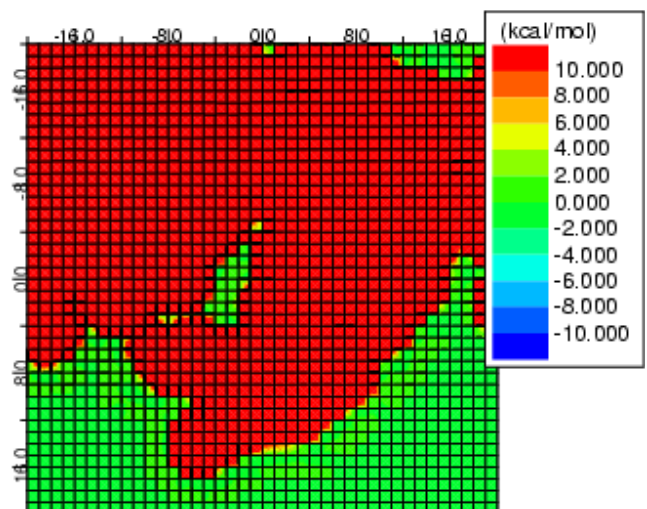


図 10:  $Z = 2$  における平均値。図 6 と対応している。



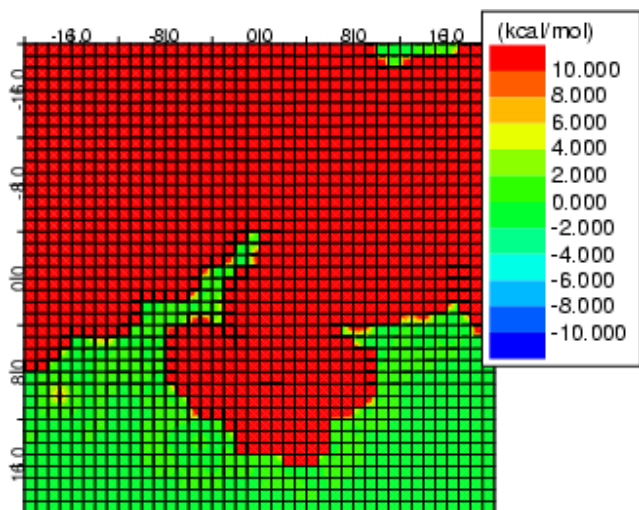


図 11:  $Z = 4$  における平均値, 図 7 と対応している。図 7 と同様にレセプター内部から外部へ向けた明らかな接続領域が確認できる。

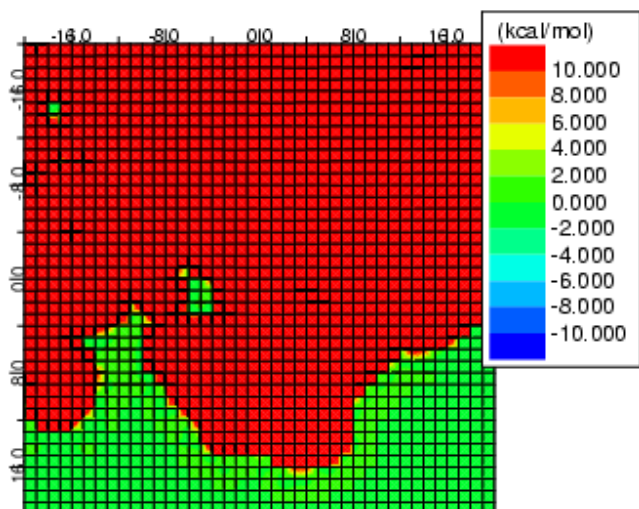


図 12:  $Z = 6$  における平均値, 図 8 と対応している。

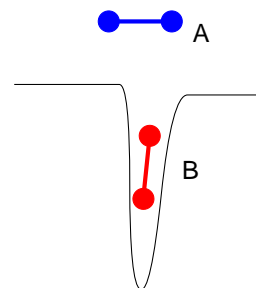


図 13: 自由度が高いリガンド分子 (A) と自由度の低いリガンド分子 (B)

### 5.3 実験 3: 結合部位周辺での分子の挙動

実験 2 までの結果ではファンデルワールス力によるエネルギーの発散の効果が大きかった為、実結合部位に関して、近傍の空間との明確な相違は観察できなかった。

そこで近接したファンデルワールス力の影響による全相互作用ポテンシャルの発散の影響を軽減しさらに柔軟な測定をする為にポテンシャルに上の閾値を定め、閾値以下のものを採択し、採択された値の平均値をとる。

- 計算範囲: 結合部位を中心に一辺  $10\text{\AA}$  の立方体内
- 格子幅:  $0.5\text{\AA}$
- 評価回数: 1 点につき 200 構造
- 評価値: 平均値

結果を以下、図 14,15,16,17 に結果を示す。

図 14,15,16,17 を見ると、 $z$  が負の方向 (紙面奥) へ向かって、急激に分子の可動領域が狭くなっている様子が観察できる。さらに、 $z = 0.5$  付近から、 $x$  負方向 (紙面左) からの原子のせり出しによる立体障害が表われる。この効果によって実結合部位へ向かっていく経路に“くびれ”ができ、リガンド分子が脱出しにくくなるのではなることが予想される。

## 6 まとめ

本研究では、リガンド=レセプター間の分子間相互作用の解析 (ドッキング問題) の為に空間を格子状に区切る手法を実装し、その効果を確かめた。

実際の計算機実験ではレセプターとして乳酸デヒドロゲナーゼ、リガンドとしてオギザロ酸の分子ペアを対象

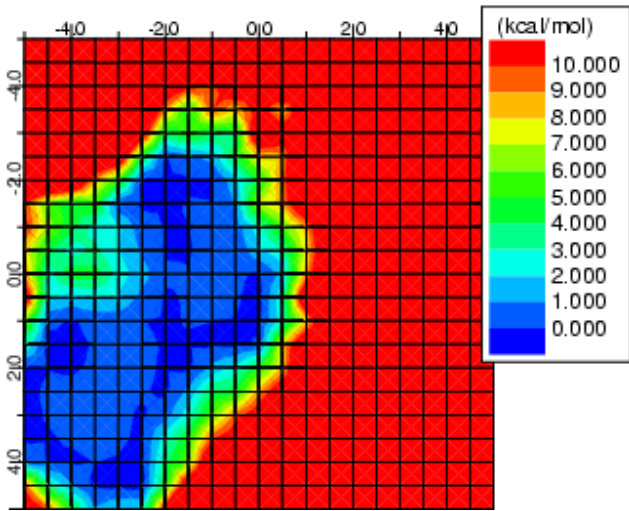


図 14:  $Z = 1$  における実験 3 の結果。

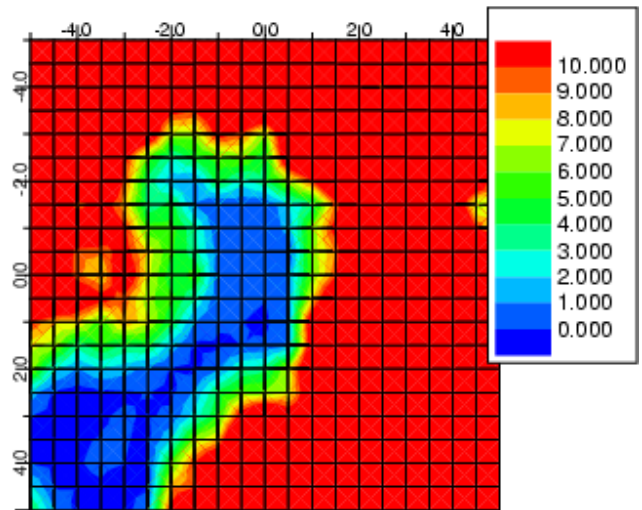


図 16:  $Z = 0$  における実験 3 の結果。x の負の方向からの立体障害が急激に大きくなり、実結合部位近辺への経路が狭くなっている。

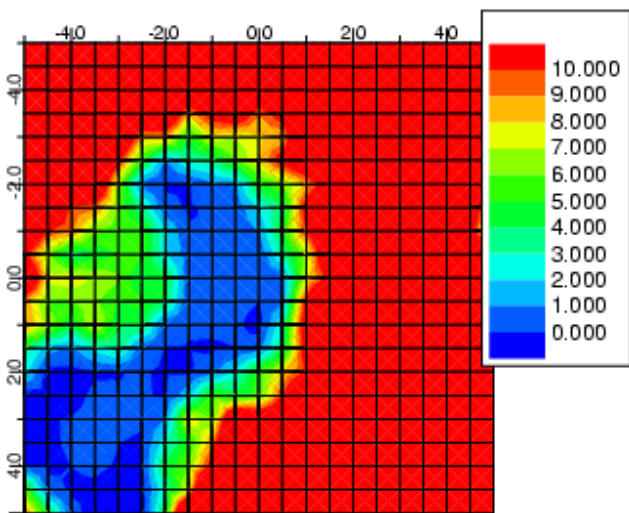


図 15:  $Z = 0.5$  における実験 3 の結果。

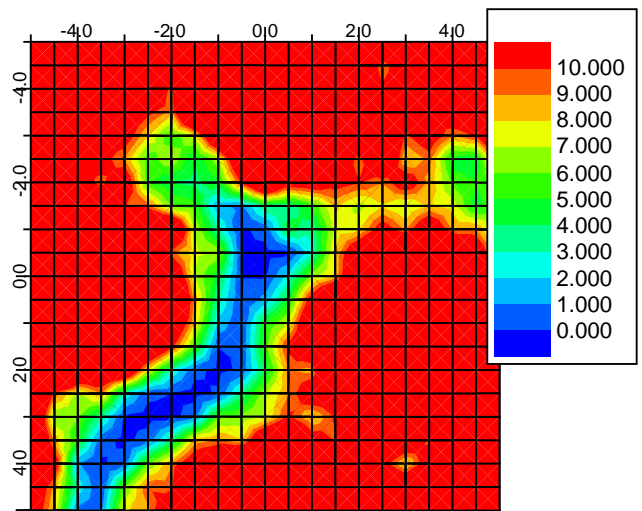


図 17:  $Z = -1$  における実験 3 の結果。さらに z の負の方向に向かって急激にポテンシャル安定の空間が狭くなっている。

として。従来用いられていた、分子シミュレーションによる方法 (MD 法) による方法や、確率的探索手法を用いる手段よりも空間的に広い範囲で分子の挙動を追跡することに成功し、レセプターの外部から結晶解析における実結合部位までに至る経路について知見を得ることができた。

通路内においてはオギザロ酸は比較的自由に運動できることが解り、結合に至るまでに特別のポテンシャル勾配を辿るわけではなく、積極的に引き寄せられるような状態は観測されなかった。

しかし、本研究で用いた分子ペアのうち、特にリガンドとなるオギザロ酸は比較的小さくいものであった。もっと空間的に変化のある分子を用いると、さらに考慮しなくてはならない要因が増えると予想される。

本研究におけるシミュレーションは生体分子の挙動を表現する為に行ったものである為、シミュレーション結果の妥当性は実際に生体分子を用いた実験で検証するのが適当である。実験方法としては以下のようなものが考えられる。いずれの実験も実際に図 2 の反応を理想的な状態で行ったものとの比較実験である。

1. 実験 1,2 で見たリガンド分子の通路の壁面を構成しているアミノ酸を立体的に見て大きいものに変異させたレセプター分子を作成する。そうすると、図 2 のような反応は起こらなくなる。この現象を観測したならば本研究の実験 1,2 の結果について検証することが可能である。
2. 実験 3 において提案した仮説 (通路のくびれによるリガンド分子の脱出困難) を検証するには、見られた結合部位付近の立体障害を取り除いた変異レセプターを作成する。この分子を用いて図 2 の様な反応を行わせると、反応効率が悪くなること、反応速度の低下などが予想される。リガンド分子が実結合部位付近に留まる可能性が低くなるのが原因であると考えられる。

以上の様な実験の下に、本研究で行った実験の結果および考察についての検証が可能になるが、変異レセプターの作成の段階で困難が生じる。タンパク質に変異を導入すると立体構造が崩れ、本研究で用いたような骨格構造が保持できない可能性も考えられる。そこで実際には幾通りかの変異を考慮して変異を導入する必要があると予想される。これは非常に時間の必要となる作業である。しかし、今後シミュレーションを適用する分子ペアを増

やし、それぞれでこのような検証をしてシミュレーションの妥当性を確保できれば、シミュレーションの結果を予測として用いることで、実際の分子開発や結合部位の確認実験の時間と労力を大幅に削減できるようになる。

したがって今後の展望としては、さらに違った分子で実験をして効果を検討すること、さらに精度の良い解析の為に近年計算化学への適用がすすんでいる水素結合力や疎水的相互作用などの分子間相互作用もモデルに組みこんでいくということが考えられる。

## 7 謝辞

本研究を行うにあたり、多大なる御指導を頂きました山村 雅幸先生に深く感謝します。そして常に相談に乗っていただいた山村研究室の先輩や仲間達にも深くお礼を申し上げます。そしてあたたかく見守ってくれる両親・兄弟へ

## 参考文献

- [1] F. Bernstein and M. Tasumi. The protein data bank: a computer based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.*, 112:535–542., 1977.
- [2] B. Penke C. Hetényi, T. Körtvélyesi. Computational studies on the binding of  $\beta$ -sheet breaker(BSB) peptides on amyloid  $\beta$ A(1-42). *J Comp Chem*, 19:1639–1662., 1998.
- [3] W. Cornell, P. Cieplak, C. Bayly, L. Gould, K. Merz, D. Ferguson, D. Spellmeyer, T. Fox, J. Caldwell, and P. Kollman. A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 117:5179–5197, 1995.
- [4] Yong Duan and Peter A. Kollman. Pathways to a Protein Folding Intermediate Observed in a 1-Microsecond Simulation in Aqueous Solution. *Science*, 282:740–744, 1998.
- [5] William L. Jorgensen and Julian Tirado-Rives. The opls potential functions for proteins. energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Am. Chem. Soc.*, 110(6):1657–1666, 1988.

- [6] G. Morris, D. Goodsell, R. Halliday, R. Huey, W. Hart, R. Belew, and A. Olson. Automated Docking using a Lamarckian Genetic Algorithm and Empirical Binding Free Energy Function. *J Comp Chem*, 19:1639–1662., 1998.
- [7] A. Singh, J. Latombe, and D. Brutlag. A Motion Planning Approach to Flexible Ligand Binding. In *In 7th Int. Conf. on Intelligent Systems for Molecular Biology (ISMB)*, pages 252–261, 1999.
- [8] Michal Vieth, Jonathan D. Hirst, Brian N. Dominy, Heidi Daigler, and Charles L. Brooks III. Assessing search strategies for flexible docking. *J Comp Chem*, 19(14):1623–1631, 1998.
- [9] S. Weiner, P. Kollman, D. Case, U. Singh, C. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, and P. Weiner. A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins j. *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 1984.
- [10] 古明地 勇人, 上林 正巳, and 長嶋 雲兵. 生体分子の分子動力学シミュレーション. *J. Chem. Software*, 6(1):1–36, 2000.