

課題名 (タイトル) :

計算化学的手法によるタンパク質の機能理解と制御分子に関する研究

利用者氏名 :

○平野 秀典\*  
沖本 憲明\*  
大塚 教雄\*  
小松 輝久\*  
齋藤 大明\*  
大野 洋介\*

所属 :

\*計算分子設計研究グループ

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

近年の構造生物学の進歩により、膨大な生体高分子の立体構造が解明されてきている。これらの生体高分子の機能・構造・ダイナミクスをより深く理解するためには、計算機シミュレーションは必須である。特に、分子シミュレーション (分子動力学(MD)計算や量子力学 (QM) 計算) は、この研究において非常に効果的である。これまで、当研究チームでは、MD 計算や QM 計算を使って、生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの研究を行ってきた。本申請では、昨年度に引き続き、生体高分子機能を制御する分子を設計する研究を行う。

2. 具体的な利用内容、計算方法

上記で示したように、本研究の目的は、“生体高分子機能を制御する分子の設計”である。このため、以下の2つの研究をすすめる。

(1) 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明  
制御分子の設計には、対象となる標的生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの関係性の理解をする必要がある。特に、対象分子の柔軟性を理解することは非常に重要なことであり、様々な分子シミュレーション技法を使ってその特徴を抽出することを試みる。

(2) 標的分子を制御する分子の設計

標的分子の特徴抽出後、これらのデータを基に機

能制御分子の設計を行う。これには、分子ドッキング、MD 計算、QM 計算を組み合わせる必要がある。

(2)-(ア) 化合物スクリーニングのための分子ドッキング技法の開発

(2)-(イ) 制御候補化合物の設計手法の開発

それぞれの担当する研究の詳細は以下の通り。

(1) 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明  
薬剤代謝酵素チトクロム P450 (CYP) に対する薬剤代謝に関する研究 (沖本、大塚、齋藤)

薬剤代謝酵素 CYP は、その薬剤結合ポケットの深部にヘム分子を含み、薬剤がこのポケット内に侵入後、代謝反応を引き起こす。これら CYP のポケット構造は柔軟性を有することから、薬剤結合にはタンパク質構造変化を適切に考慮する必要がある。更に、結合した薬剤がヘム分子と相互作用を開始し、共有結合の形成および切断を伴う化学反応により薬剤代謝が生じることから、その電子状態を考慮した反応性を検討することが重要である。これらを理解するため、(1) 分子動力学計算による CYP のタンパク質の構造ダイナミクスの調査、と(2)量子化学計算を用いた CYP による薬剤の代謝反応の調査、を実施する。

創薬ターゲットタンパク質の基質認識機構および構造変化の解明 (平野)

創薬標的タンパク質-薬剤間の相互作用を解明するために、分子動力学計算が有効な手法である。そこで、

実験的に得られているタンパク質と低分子阻害剤に対する複数の X 線結晶構造を基に分子動力学計算を行い、薬剤結合ポケットの柔軟性、タンパク質-阻害剤相互作用等を調査する。また、これらの動的構造データを基に、その他の薬剤の結合状態なども予測し、標的タンパク質の阻害剤開発において重要な相互作用点を検討する。

## (2) 標的分子を制御する分子の設計

(2)-(ア) 化合物スクリーニングのための分子ドッキング技法の開発

### 化合物スクリーニングのための分子ドッキング技法の開発(平野)

創薬標的タンパク質に結合する低分子化合物を高速に探索するには、分子ドッキングが非常に効果を発揮する。しかし、タンパク質の中には、そのポケット構造が柔軟で、その周辺構造が大きく変化するものも少なくない。このようなタンパク質については、複数のタンパク質構造を考慮した分子ドッキングによりスクリーニング性能が向上すると考えられる。本研究では、分子動力学シミュレーションにより効率的に構造サンプリングを行い、その後ドッキングを行うという方法を用いて分子スクリーニング性能の向上を図る。

(2)-(イ) 制御候補化合物の設計手法の開発

### 分子動力学計算による結合親和性予測手法の開発(小松、沖本)

タンパクリガンド複合系における結合親和性計算をより精密に行うための指針を得る目的で、FKBP、CDK2 等のベンチマークとなるタンパクリガンド複合系を用いた長時間分子動力学計算を行う。特に、タンパク質の遅い時間スケールでの運動の影響を吟味するために、これまでよりも長時間のシミュレーションを行って親和性評価手法の開発、性能評価、改善を目指す。

### タンパク-薬剤間の結合親和性予測手法の開発(大塚)

結合親和性予測法の 1 技術として、QM/MM 法を用いた電子状態計算による薬剤とポケット構造の構造緩和計算を実施する。具体的な系は特許等の問題があり詳細には述べられないが、系全体として 3300~3500 原子系を考えている。

## 3. 結果

### 薬剤代謝酵素チトクロム P450 (CYP) に対する薬剤代謝に関する研究(沖本、大塚、齋藤)

本年度は CYP のメンバーである CYP1A2 についての薬剤代謝に関する機能理解のための研究を実施した。CYP1A2 は、その結合ポケットに様々な薬剤を収納し反応を引き起こす。そこで、これらのポケット構造の柔軟性を評価するため、CYP1A2 の分子動力学シミュレーションを実施した。2 マイクロ秒程度のシミュレーションの結果から結合ポケットの形状が変化していく様子を観察することができた。ここで得られた構造を使ってどのような薬剤が結合するのかを評価を行っている。また、量子化学計算を用いて、反応性を評価するいくつかの方法の調査を行った。調査した手法によって代謝反応を受ける部位の予測性能を検討した。これらの研究結果は CBI 学会 2016 年会大会のインシリコ創薬分野にて発表した。

### 創薬ターゲットタンパク質の基質認識機構および構造変化の解明および化合物スクリーニングのための分子ドッキング技法の開発(平野)

本年度は、創薬ターゲットタンパク質に対して、分子ドッキングによる薬剤探索の前処理として、タンパク構造に対して分子動力学シミュレーションを実施し、構造サンプリングを実施した。本研究の結果、タンパク質-リガンド複合体構造について、生体内環境下の多様な構造を十分抽出することで、実験的構造よりも適切な創薬構造を選定することができる例があることが分かった。現在、他のタンパク質でも検討中である。

### 分子動力学計算による結合親和性予測手法の開発(小松、沖本、大野)

タンパク質と薬剤間の結合親和性予測のため、水溶液中の薬剤-タンパク質複合体に外力を導入して分子動力学シミュレーションを実施する方法の評価を行った。この方法では、外力によってタンパク質-薬剤間を解離させ、その際の仕事量から結合親和性の予測を行う。本研究では、解離の反応座標、変化させる速度などを評価して、適切な計算条件を調査した。調査結果については、論文発表を行った。

gwmpe 上の gromacs の最適化については開発チームによる活動がなく独自に最適化を試みたが性能向上は達成できず進展がなかったが、RICC の利用が延長されたため、主に RICC 上で、長時間の自由エネルギー計算ジョブを実行した。結果については、解析の途中であり、さらにデータを蓄積する必要がある。

gwmpe においては、512, 2048, 4096 並列での大規模計算 MD(gromacs で)の動作テストも兼ねた計算を行った。

システムは約 180 万原子で、24 時間もしくは 72 時間の実行途中で、Node down が生じることがあった。(暫定的には)おおよそ、7 万コア時間につき一回程度のエラーが生じてジョブが途中で終了しており、大規模シミュレーションとしては無視できない頻度での Node down が発生してしまった。Node down では、バイナリの異常終了ではなく、システム側が実行バイナリに TERM シグナルを送信してジョブを終了させているため、ユーザーの側からは、Nodedown の理由は不明である。さらに大きな並列度でどうなるのかは未実行なので不明であり、並列度と Node down に直接の関係があるのか不明であるが、大規模ジョブの実行には注意を要するかもしれない。本実行に際して、大きなファイル入出力は 15 分毎に 130MB 程度のファイル作成であり、ファイルシステムに過度の負担は生じさせていないと判断している。

#### タンパク-薬剤間の結合親和性予測手法の開発 (大塚)

結合親和性予測法の 1 技術として、QM/MM 法の 1 手法である ONIOM 法を用いて、標的タンパクのポケット部位に結合した薬物分子とその周辺アミノ酸 (総計 71 化合物分) の構造緩和計算を実施した。得られた計算結果の 1 部は、招待講演で発表した。

#### 4. まとめ

本研究は「生体高分子機能を制御する分子の設計」を目標に、

- 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解
- 標的分子を制御する分子の設計

について研究を行い、それぞれの成果について学術誌、国内外の会議等で発表を行ってきた。現在解析中

の結果も含め、継続した研究を行う予定である。

#### 5. 今後の計画・展望

タンパク質の機能解析や制御分子の設計は、生物や医薬の分野において大きな影響を与える。制御分子設計では、効率的な構造サンプリング法と精密な結合自由エネルギー計算法の開発を目指す研究を行った。ここで開発された技術は実際の創薬現場の作業効率を大幅に改善すると考えられる。また、前述の技術は、タンパク質-タンパク質間の相互作用にも応用できることから、システムバイオロジーの分野においても大きく貢献することが期待される。

#### 6. 利用がなかった場合の理由

申請時に高精度量子化学計算の実行予定としていた ACSL の利用がなかった。これは、ONIOM 法の条件設定 (境界領域と計算条件) を詳細に調べ、現段階では、mpc 利用で十分な計算ができる事が判明したためである。

平成 28 年度 利用研究成果リスト

**【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】**

1. Okimoto N, Suenaga A, Taiji M., “Evaluation of protein-ligand affinity prediction using steered molecular dynamics simulations”, J Biomol Struct Dyn. in press.

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

1. 大塚 教雄, “創薬における大規模電子状態計算法の技術化”, 筑波大学守橋研究室量子化学セミナー, 2016 年 7 月, 筑波大学 (つくば) (招待講演)
2. 齋藤 大明, 水上 卓, 平野 秀典, 大塚 教雄, 沖本 憲明, 泰地 真弘人, “分子シミュレーションを用いた CYP1A2 に対する薬剤代謝部位予測”, CBI 学会 2016 年大会 (フォーカスセッション「インシリコ創薬」分野, 口頭発表)