

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*

理研での所属研究室名 :

*QBiC 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

タンパク質に代表される生体高分子は、生命活動において非常に重要な役割を果たす分子であり、その機能は立体構造およびダイナミクスと密接な関連にあることが知られている。特に、生体高分子の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重要な技術である。更に、生体高分子に相互作用し機能を制御する分子 (薬やペプチド) の設計においても計算科学は必須のものとなっている。

これまでに当研究グループでは、分子動力学 (MD) 計算や量子力学 (QM) 計算を中心として、生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの研究や薬物分子設計の研究を実施してきている。HOKUSAI の利用により、本研究の継続と更なる発展を狙った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

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。この目的達成のために、以下の2つの項目に基づいて研究をすすめていく。

(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。具体的には以下の通り。

薬物代謝酵素シトクロム P450 (CYP) に対する薬物代謝に関する研究 (沖本、齋藤、大塚)

薬物代謝酵素 CYP は、その薬物結合ポケットの深部にヘム分子を含み、薬物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、薬物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、結合した薬物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物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、(I) 分子動力学計算による CYP のタンパクの構造ダイナミクスの調査、(II) 分子ドッキング計算を用いた薬物の活性部位 (ヘム) への結合ポーズの予測、(III) 量子化学計算を用いた CYP による薬物の代謝反応の調査、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、沖本)

創薬標的タンパク質-薬物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化合物 (薬物) に対する複数の X 線結晶構造をもとに分子動力学計算を行い、薬物結合ポケットの柔軟性、タンパク質-薬物間相互作用等を

調査する。また、これらの動的構造データを基に、その他の薬物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

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、分子動力学計算、量子化学計算を組み合わせた研究を行う。

分子動力学計算による結合親和性予測手法の開発(小松、大野)

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分子動力学計算を実行することで親和性評価手法の開発、性能評価、改善を目指す。

また、サブミリ秒オーダーの時間スケールでの生体高分子の挙動を分子動力学計算によって調べることを目指した、予備的な長時間計算を行う。

量子化学計算による結合親和性予測手法の開発と機能性分子の設計 (大塚)

結合親和性予測法の 1 技術として、電子状態計算によるタンパク質と薬物候補分子の構造最適化計算と結合エネルギー計算を実施する。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。

一方、機能性分子として、ナフタルイミド化合物の光特性に関する理論的解釈として量子化学計算を実行する。

3. 結果

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

本年度は CYP のメンバーである CYP3A4 についての薬物代謝に関する機能理解のための研

究を実施した。CYP3A4 は、その結合ポケットに様々な薬物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、CYP3A4 の分子動力学計算を実施した。10 μ s 程度の分子動力学計算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物が結合するのかを評価を行っている (図 1 参照)。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 2017 年大会・第 31 回分子シミュレーション討論会にて発表した。

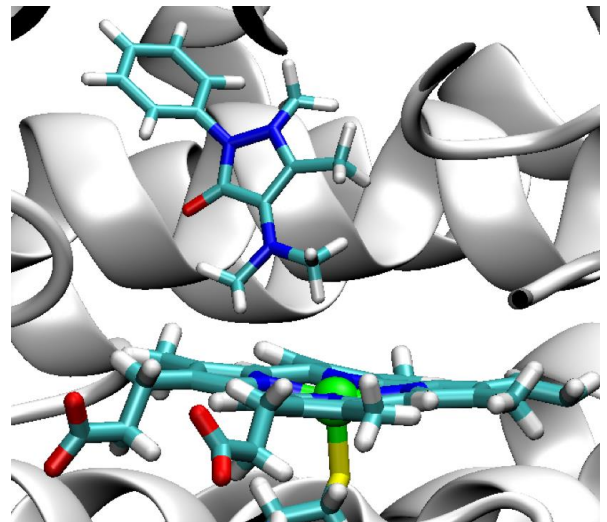


図 1. 分子ドッキングシミュレーションによって得られた CYP1A2 活性部位における薬物の結合ポーズ。

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、沖本)

本年度は、細胞ストレス応答に関与する IRE1 α の RNase 活性の機能理解を目的とし、分子動力学計算を実施した。そこで、RNase 活性をもつと考えられる IRE1 α のダイマー構造 (back-to-back 型) を準備し、水溶液中に配置した (図 2)。この際、実験的に RNase 活性に重要であると知られているアミノ酸のプロトン化状態を考慮した複数の初期構造を用意した。

これらの各系について、約 200ns の分子動力学計算を実行した結果、比較的安定な構造状態にあることを確認した (図 3 参照)。現在、詳細な解析を実施しているところである。

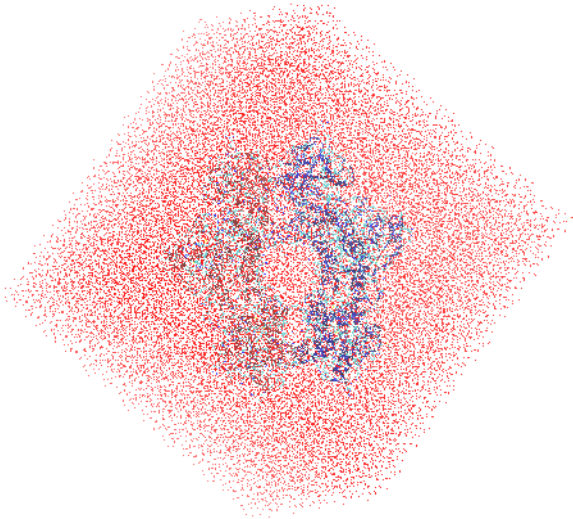


図 2. 分子動力学計算に適用した IRE1 α ダイマー構造 (Back-to-back 型)。モデル系の全原子数は約 14 万原子 (内訳: 804 アミノ酸 約 1.3 万原子、約 4.3 万水分子 約 13 万原子)。

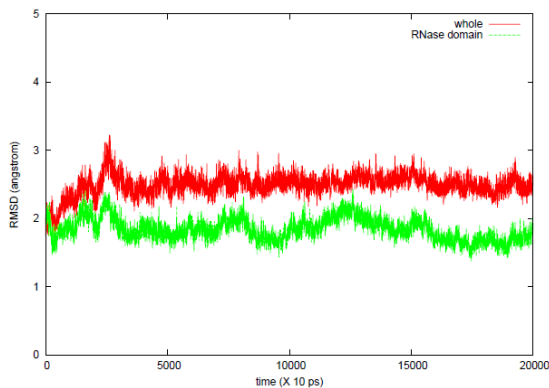


図 3. IRE1 α の MD simulation 中の初期構造からの構造全体と RNase domain の RMSD。

分子動力学計算による結合親和性予測手法の開発 (小松、大野)

タンパク質と薬剤間の結合親和性予測のためには、水溶液中の薬物-タンパク質複合体の長時間分子動力学計算を実現し、結合状態の探索や自由エネルギー評価に役立てることが重要である。このため、テスト系を設定し、予備的計算を行った。GW-MPC では、gromacs 本体の開発が止まっているため、十分な性能が出せず、gromacs のハイブリッド並列が FX100 で利用出来ないことが GW-MPC のコア数を十分に活用できない原因となっている。次年度以降、BW-MPC でのハイブリッド並列を用いた計算に移行し検証を行う予定である。

また、512 コア規模の並列計算において、長距離相互作用を効率よく計算するための手法検討を行い、CPPMD 等のコードを用いた予備的計算を行った。

量子化学計算による結合親和性予測手法の開発と機能性分子の設計 (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の構造緩和計算を実施した。QM 領域として、小領域 (薬物分子と最近接する 2~3 アミノ酸) と中領域 (薬物分子と隣接する数アミノ酸) と設定した場合の最適化構造の比較とその構造に基づいて、相互作用エネルギーの算出を行った。得られた計算結果の一部は論文投稿中である。これまでの結果の一部を学会誌に解説として発表した。また、機能性分子であるナフタルイミド化合物の光機能に関する理論的解析結果として、論文発表を行った。

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

今年度は GW-ACSG について 520,804 コア時間申請していたが、数%の利用となっている。また、GW-ACSL についても 30%程度の利用にとどまっている。これは年度途中より BW-MPC の利用が可能となり、GW-ACSG および GW-ACSL で予定していた計算を BW-MPC で実行したためである。

平成 29 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. 大塚教雄, 沖本憲明, “多階層 FMO 法を使用したタンパク質-薬物間相互作用エネルギーに関する研究”, 分子シミュレーション研究会会誌「アンサンブル」, p.238-243, Vol. 19, (2017).
2. Takao Otsuka, Masato Sumita, Hironori Izawa, Kenji Morihashi, “Theoretical study on photo-induced processes of 1-methyl-3-(N-(1,8-naphthalimidyl)ethyl)imidazolium halide species: an application of constrained density functional theory”, Phys. Chem. Chem. Phys., 2018, DOI: 10.1039/C7CP07877C.
3. Noriaki Okimoto, Atsushi Suenaga, Makoto Taiji, “Evaluation of protein-ligand affinity prediction using steered molecular dynamics simulations” Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2017 Vol. 35, No. 15, 3221-3231

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 齋藤大明, 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シトクロム P450(CYP) に対する薬物代謝部位予測”, 第 31 回分子シミュレーション討論会, 12 月 1 日, 2017 年, 金沢商工会議所 (口頭発表)

【その他 (プレスリリース、学術会議以外の一般向けの講演など)】

1. Hiroaki Saito, Taku Mizukami, Yoshinori Hirano, Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, “Development of a pharmacokinetics prediction system using multiscale integrated modeling: 5. Prediction of sites of drug metabolism by cytochrome P450 by molecular simulation”, CBI 学会 2017 年大会, 10 月 3 日-5 日. 2017 年, タワーホール船堀 (ポスター発表)
2. Takao Otsuka, Hiroaki Saito, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, “Development of a pharmacokinetics prediction system using multiscale integrated modeling: 6. Assessment of quantum chemical reaction indices using Fukui function”, CBI 学会 2017 年大会, 10 月 3 日-5 日. 2017 年, タワーホール船堀 (ポスター発表)
3. Teruhisa Komatsu, Makoto Taiji, “A soft-core potential suitable to a special purpose computer for molecular dynamics”, CBI 学会 2017 年大会, 10 月 3 日-5 日. 2017 年, タワーホール船堀 (ポスター発表)
4. Noriaki Okimoto, Yoshinori Hirano, Shigeo Fujita, Makoto Taiji, “Evaluation of incorporation of protein flexibility for computational structure-based drug design”, CBI 学会 2017 年大会, 10 月 3 日-5 日. 2017 年, タワーホール船堀 (ポスター発表)
5. Yoshinori Hirano, Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, “A QM/MM study on binding affinity computation of tankyrase 2-ligand system”, CBI 学会 2017 年大会, 10 月 3 日-5 日. 2017 年, タワーホール船堀 (ポスター発表)
6. 齋藤大明, 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シトクロム P450(CYP) に対する薬物代謝部位予測”, 第 31 回分子シミュレーション討論会, 12 月 1 日, 2017 年, 金沢商工会議所 (ポスター発表)
7. 大塚教雄, 隅田真人, 井澤浩則, 守橋健二, “ナフタルイミド化合物-ハロゲン系の光誘起過程に関する理論的研究”, 第 31 回分子シミュレーション討論会, 11 月 29 日, 2017 年, 金沢商工会議所 (ポスター発表)
8. 沖本憲明, 平野秀典, 藤田茂雄, 泰地真弘人, “計算創薬研究における薬物結合ポケットの柔軟性に関する研究”, 第 31 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 11 月 29 日, 2017 年, 金沢商工会議所 (ポスター発表)
9. 平野秀典, 大塚教雄, 沖本憲明, 泰地真弘人, “分子力場および量子化学計算を用いた tankyrase2-リガンドの結合親和性予測”, 第 31 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 11 月 29 日, 2017 年, 金沢商工会議所 (ポスター発表)