

課題名 (タイトル) :

## 高精度生体分子シミュレーションとインシリコスクリーニングへの応用

利用者氏名 : ○渡邊 千鶴, 仙石 徹\*, 高谷 大輔, 沖山 佳生, 幸 瞳, 佐藤 朋広, 永瀬 駿平, 神坂 紀久子, 津田 和実, 中村 卓, 本間 光貴  
 理研での所属研究室名 : 横浜研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 構造・合成生物学部門 創薬分子設計基盤ユニット, \*横浜研究所 横山構造生物学研究室

## 報告内容

## 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

本研究室では、疾患に関連したタンパク質に対して、ドッキングや分子動力学 (MD) シミュレーション等を用いて、それらの機能を制御する低分子化合物や、ペプチドや核酸等の高分子をデザインする研究を行う。本年度は、三つの研究テーマについて HOKUSAI のリソースを用いて量子力学/分子力学 (QM/MM) 構造最適化、量子力学 (QM) 計算による静電ポテンシャル解析、MD シミュレーション等を実施した。

## 2. 生体高分子の QM/MM 構造精密化

本研究室では、フラグメント (FMO) 分子軌道法に基づくタンパク質-リガンド間相互作用解析を簡便に実施するため、半自動で FMO 計算用構造のモデリング、FMO 計算の実施、相互作用解析を実施するためのプロトコルを開発している。高精度な相互作用解析を実施するため、QM/MM 構造最適化により、リガンド周辺構造の精密化を行った。

## 2.1. 具体的な利用内容、計算方法

創薬ターゲットであるエストロゲン受容体や CAMKK2 等のタンパク質とリガンド複合体構造について、本研究室で前年度報告済みの方法で最適化及び QM/MM 計算を実施した。具体的にはモデリングソフト MOE を使用し、水素や欠損原子等を構造補完し、補完した原子のみ力場ベース (Amber10:EHT 力場) の構造最適化を実施した。得られた MM 最適化構造を初期構造として、リガンドとリガンドポケットを QM 領域、それ以外の構造を MM 領域として Gaussian09 を用いて QM/MM 構造最適化 (HF/6-31G\*:Amber) を実施した。

## 2.2. 結果

複数の条件を検討し、そのうちリガンド分子に近く相互作用の可能性のある 5 残基を QM 領域に

した条件において QM/MM 計算が指定された時間内に正常に終了する条件を確認できた。

## 3. 静電ポテンシャルグリッドを用いた置換基変換プログラム開発

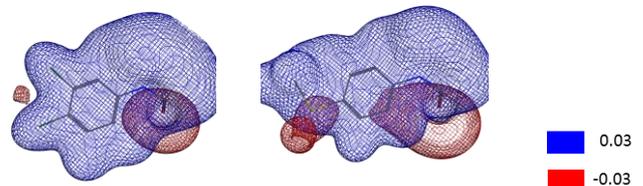
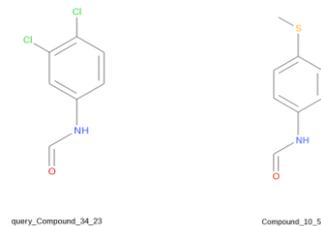
リード化合物の合成展開において、活性向上もしくは物性改善を目的としたベース化合物の置換基変換を試みる事は多々ある。ベース化合物と変換後化合物の静電ポテンシャルの変化に注目する事とした。

## 3.1. 具体的な利用内容、計算方法

リード化合物と置換基変換後の化合物の三次元構造を omega で複数コンフォメーション発生させた後、ROCS を用いて構造を重ね合わせた。もっとも重なりの良いコンフォメーションについて共通構造と異なる構造を識別し、異なる部分をフラグメント分子にする。本フラグメント分子について Gaussian09 を用いて分子軌道計算 (HF/6-31G) を実行後、静電ポテンシャルを計算し比較した。

## 3.2. 結果

文献既知の化合物に 2 つについて静電ポテンシャルを比較した。下図に異なる部分構造フラグメントとその等静電ポテンシャル面を表示した。



ジクロロベンゼンの中間部分とメチルスルフォニ基の硫黄原子部分で特にポテンシャル形状が異なることが観察できた。今後置換基変換による等静電ポテンシャル面の変化が活性にどのように影響を及ぼすか等、より深い検討を重ねていきたい。

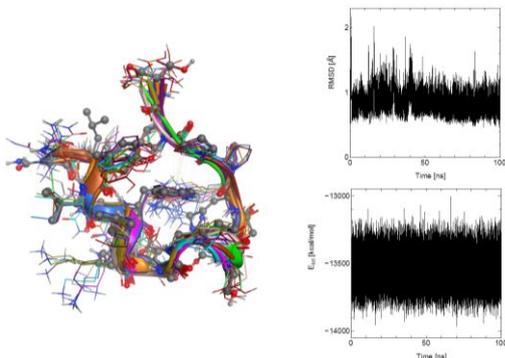
4. 生体高分子の MD シミュレーションサンプリング  
本研究室では、ドッキングに用いる際のタンパク質の妥当な鑄型構造の準備や、構造揺らぎに基づくタンパク質の原子電荷の揺らぎ等を検討するため、MD シミュレーションによる構造サンプリングを実施した。

#### 4.1. 具体的な利用内容、計算方法

MD シミュレーションに使用するエストロゲン受容体 (PDBID: 1GWR) や hERG (PDBID: 5VA2)、TrpCage (PDBID: 1L2Y)、Bromodomain (PDBID: 5IBN) 等のパラメータファイルを、Gaussian09 と Amber16 を用いて作成した。得られたパラメータファイルを使い、複合体の MD シミュレーション (100 ナノ秒) を、Amber16 を用いて行った。

#### 4.2. 結果

アポ構造やタンパク質とリガンドの複合体構造の 100ns の MD シミュレーションを実施し、安定なコンフォメーションを得ることができ、十分な構造サンプリングを行うことが出来た。下図に TrpCage の 10ns ごとのスナップショット構造と、100ns のプロダクトランにおける RMSD[Å] と Total energy[kcal/mol]の推移を示す。



#### 5. ハロ酸デハロゲナーゼの変異構造予測

ハロ酸デハロゲナーゼ (Pseudomonas sp. YL 由来) 野生型、野生型よりも活性部位をコンパクトにすると期待される変異体酵素 4 種類の MD シミュレーションによるサンプリングを行った。

#### 5.1. 具体的な利用内容、計算方法

1 つの酵素につき、20 ns の計算を独立して 3 回 (結果の再現性を見るため) 行った。5 種類の酵素なので、全部で 60 ns × (5 種類) = 300 ns の MD シミュレーションを Amber16 で実施した。

#### 5.2. 結果

活性部位付近で相互作用するループ部分に水素結合を増やすような変異を導入して、活性部位とループとの相互作用の安定化を図り、活性部位を野生型よりも小さなものにして、小さな基質に対する活性を向上させようと試みた。

しかし、計算上で目的の水素結合は 3 回の計算で再現されず、実験結果 (活性測定の結果) でも目的の小さな基質に対する活性の向上も認められなかった。

#### 6. まとめ

生体高分子の MD シミュレーションサンプリングにおいては、今回得られたサンプリング構造を利用して、ドッキングや構造揺らぎを伴う原子の電荷解析を実施する予定である。生体高分子の QM/MM 構造最適化については、タンパク質とリガンド複合体のリガンドの水素結合部位の QM/MM 構造最適化計算が実施できた。今後も様々な条件下において最適化を検討していきたい。

#### 7. 今後の計画・展望

本年度は、主に MD シミュレーションによるタンパク質の構造サンプリングを行った。次年度以降も引き続き MD シミュレーションによる構造サンプリングや変異構造予測等を実施する予定である。加えて、昨年度実装した QM/MM 構造最適化については、次年度以降は水素結合以外にも分散力 (CH/π 相互作用等) が重要な領域を QM 領域に含めた最適化条件を検討する。また、様々なタンパク質について QM/MM 構造最適化を実施し、QM/MM 計算に基づく精密構造を基にした FMO 法によるタンパク質-リガンド間相互作用エネルギーと阻害活性値との相関を調べることで、精密な活性相関予測を目指す。

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. Watanabe C, Watanabe H, Fukuzawa K, Parker L J., Okiyama Y, Yuki H, Yokoyama S, Nakano H, Tanaka S, and Honma T "Theoretical analysis of activity cliffs among benzofuranone class Pim1 inhibitors using the fragment molecular orbital with molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area (FMO+MM-PBSA) method" J. Chem. Inf. Model, 57(12), 2996-3010, (2017)

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

1. Chiduru Watanabe, "Construction of FMO IFIE-database", CBI Annual meeting 2017, FS-06 「インシリコ創薬」分野 口頭発表 (P2-07) , 2017/10/3, タワーホール船堀

**【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. Chiduru Watanabe, Yoshio Okiyama, Daisuke Takaya, Shunpei Nagase, Kikuko Kamisaka, Hirofumi Watanabe, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, "Construction of IFIE-database with semi-automated FMO calculation protocol", WATOC 2017, ポスター発表 (PO3-87) , 2017/8/27-9/1, ドイツ (ミュンヘン)
2. Hitomi Yuki, Tomohiro Sato, Keiji Ogura, Teruki Honma, "Development of an informatics system for predicting cardiotoxicity: 1. Exploring binding modes of hERG inhibitors based on docking simulation and the validation with site-directed mutagenesis data", CBI 学会 2017 年大会 ポスター発表 (P4-09), 2017/10/3-10/5, タワーホール船堀
3. Chiduru Watanabe, Daisuke Takaya, Shunpei Nagase, Kikuko Kamisaka, Yoshio Okiyama, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, "Construction of FMO IFIE-database", CBI 学会 2017 年大会 ポスター発表 (P2-07) , 2017/10/3-10/5, タワーホール船堀
4. 幸 瞳, 佐藤 朋広, 小倉 圭司, 本間 光貴, "ドッキングシミュレーションと部位特異的変異導入結果を用いた hERG 阻害剤ファーマコフォアと結合に関与するアミノ酸残基の解析", 第 45 回構造活性相関シンポジウム ポスター発表 (P-11) , 2017/11/29-30, 茨城県県南生涯学習センター