

課題名 (タイトル) :

計算科学的手法を用いたタンパク質の機能理解と制御分子の研究

利用者氏名 : ○平野 秀典, 沖本 憲明, 森本 元太郎, 大塚 教雄, 近藤 寛子, 新保 雄大,
曾田 邦嗣, 井阪 悠太, 山岸 純也, ムハマドアブズルマウジウザヘド,
泰地 真弘人, 末永 敦, 藤田 茂雄, Dmitry Nerukh, 小堀 知輝所属 : 神戸研究所 生命システム研究センター 生命モデリングコア
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、

- (1) 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解
- (2) 標的分子を制御する分子の設計
- (3) 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張・性能向上

の3つの研究をすすめる。

- (1) 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。

- (ア) 拡張アンサンブルの手法を用いた構造サンプリング(沖本、平野、近藤、Dmitry)
 - (イ) 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明(大塚、藤田、Dmitry)
 - (ウ) 生体高分子に対する構造・体積揺らぎの解析(曾田、新保)
 - (エ) 生体高分子の回転運動やそれに伴う自由エネルギー変化(井阪、ムハマドアブズルマウジウザヘド、末永)
- (2) 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。
- (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(沖本、森本、藤田、末永)
 - (イ) 制御候補化合物の最適化手法の開発(森本、沖本、山岸、平野、大塚)
- (3) (1)と(2)の作業効率を向上するため、使用するソフトウェアの機能向上を行う必要がある。
- (ア) クラスタマシンを使用した Amber ソフトウェア等の拡張・性能向上(泰地)

それぞれの担当する研究の詳細は以下の通り。

タンパク質構造アンサンブルを使った分子ドッキング (沖本、森本、平野)

標的タンパクに結合する低分子化合物を探索するには、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少なくない。このようなタンパク質については、熱揺らぎの中で現れる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でそのスクリーニング性能の向上を図るものである。

GPGPUを用いた *in silico* ペプチドスクリーニング (山岸)

ペプチドは、ペプチド性医薬品や、タンパク質間相互作用ネットワークの制御因子として、もしくは低分子化合物設計の有用な情報源として注目を集めているが、標的タンパク質に強く結合するペプチドを合理的に設計する手法は未だ存在しない。ペプチドは分子内自由度が大きいいため、*in silico* 分子設計では高い計算処理能力を求められる。本研究では GPGPU を用いて配座探索を行うことによって、合理的なペプチド設計手法を確立する。

V1-ATPase の回転シミュレーション (ムハメドアブズルマウヅウザヘド、井阪)

V 型 ATPase の V1 ドメインの回転シミュレーションから回転機構を原子レベルで解明する。また、その際の自由エネルギーの算出を行う。

タンパク質-制御分子複合体間に働く相互作用の大規模系電子状態計算手法による検討 (大塚)

近年、大規模分子系を取り扱うための電子状態計算手法が開発・整備されつつあるが、簡易なテスト分子系での手法評価や positive results のみの発表に留まっている。本課題では、計算機支援による創薬研究といった応用に向けた、大規模系電子状態計算手法によるタンパク質-制御分子複合体間の相互作用エネルギーの算出を行う。

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果 (曾田)

蛋白分子の動力学的特性とそれに関わる溶媒水の効果を明らかにすることを目的とする。具体的には、水溶液中の 5 種の球状蛋白質について、蛋白質自身の構造揺らぎと共に、蛋白質分子内及び分子表面近傍の水和水が蛋白質の構造揺らぎに与える動力学的效果の分子機構を明らかにする。これによって、蛋白質の構造形成・物性・機能発現に果たす、蛋白質の動力学的特性と溶媒水の果たす役割に関する知見を得る。

蛋白質分子の動力学特性と水和効果 (新保)

タンパク質の構造揺らぎがその機能発現において重要であることは、多くの研究で明らかにされているが、その分子的詳細、特にマイクロ秒〜ミリ秒域の遅い構造揺らぎの実体は、殆ど解明されていない。このような揺らぎは、実験に因る検出や包括的な解析が非常に困難であるが、高速並列計算機の能力向上により、分子動力学法による解析が手の届くところに近づきつつある。本研究は、これに挑戦することにより、非晶質固体としてのタンパク質に特有の構造揺らぎに関する新たな描像の発見をめざすものである。

タンパク質構造における効率的な自由エネルギー地形解析法の開発 (近藤)

自由エネルギー地形計算はタンパク質の構造と機能の関係を知る上で重要であり、現在、構造変化のメカニズムの解析やタンパク質の安定構造の予測への応用を試みている。しかし、これらの計算では、構造のサンプリングのために膨大な計算が必要となる。

分子動力学計算の並列化と応用 (泰地)

分子動力学計算は、タンパク質等の生体高分子のシミュレーションのための重要な方法である。分子動力学計算パッケージ Amber では主に FFT に関して並列性能が十分でない。そこで、クラスターで動作する並列 FFT と Amber を組み合

わせることにより性能向上を図り、十分に性能を達成後特に周期境界条件が必要な系に対し応用していく。

タンパク質-リガンド結合自由エネルギー計算 (末永)

タンパク質と低分子化合物 (リガンド) との結合親和性を計算機シミュレーションによって予測する。

MM/MD/QMの創薬への応用 (藤田)

MM (Molecular Mechanics)、MD (Molecular Dynamics) および QM (Quantum Mechanics) の各種プログラムを利用し、in silico screenin、創薬化学合成支援等を行う計算プロトコルを準備し、創薬・医療技術基盤プログラムが実施しているテーマを進める。HPC の利用 (高速・大規模計算実施) を前提に計算プロトコルの作成・整備を行う。

3. 結果

タンパク質構造アンサンブルを使った分子ドッキング (沖本、森本、平野、Dmitry)

創薬ターゲットタンパク質 (G9a, Set7/9, Tankyrase 等) 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のタンパク構造のサンプリングを行うため、各タンパク質に対して分子動力学シミュレーション (拡張アンサンブル法も含む) を実施した。結果、生体内環境下での多様な構造が抽出でき、構造解析の結果から創薬研究の為に適切な構造を選定することができつつある。これらの構造を利用し、今度は分子ドッキングによる薬剤探索を実行する予定である。(沖本、平野、森本)

GPGPUを用いた in silico ペプチドスクリーニング (山岸)

RICC ではシグナル伝達に関与するタンパク質に結合するペプチド分子の配座探索や結合親和性の評価を行った。ペプチド分子の設計では、標的タンパク質との複合体の配座を予測するだけでなく、タンパク質に結合していない状態、つまり水中で単独に存在する状態

での配座探索を行うことがエネルギー評価において有用であることがわかった。

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果および蛋白質分子の動力学特性と水和効果(曾田、新保)

MDS データを用いて、蛋白質と水の水の熱的な構造揺らぎを陽に考慮して、水和サイトを同定・分類する手法を開発した。更に「架橋水素結合図」を作成し、水和サイトの動的構造を記述する手法を考案した。加圧水溶液中のリゾチームに対して MDS を実行し、得られた時系列データに上の手法を適用して、蛋白質と水の水の動的特性の圧力依存性を解析した。その結果、加圧により水和サイトの再編が起こることを見出した。(曾田・新保)

タンパク質構造における効率的な自由エネルギー地形解析法の開発 (近藤)

構造変化のメカニズムの解析やタンパク質の安定構造の予測の為に自由エネルギー地形計算をおこなった。現在結果の解析中である。

V1-ATPaseの回転シミュレーション(ムハマドアブズルマウヅウザヘッド、井阪)

We have obtained nucleotide (ATP and ADP) binding data for A subunit (responsible for ATP/ADP nucleotide binding) by changing AMP_PNP from original structure to ATP or ADP by softcore potential of thermodynamic integration method. The partial data we recently obtained shows near agreement with experimental data. The work is still in progress. We need to optimize few steps in protocol to get better agreement.

Table 1: Nucleotide binding to NtpA subunit.

Nucleotide	Subunit	Calculated data kcal/mol (2ns Equilibrated)	Experi-mental value kcal/mol
ATP	NtpA _{TP}	-10.09	-7.56
	~NtpA _{TP}	-7.11	
	Homology modeled NtpA	-9.01	
ADP	NtpA _{TP}	-10.13	-7.11
	~NtpA _{TP}	-6.10	
	Homology modeled NtpA	-6.88	

分子動力学計算の並列化と応用 (泰地)

クラスタで動作する並列 FFT と Amber を組み合わせることにより性能向上を図り、十分に性能を達成後特に周期境界条件が必要な系に対し応用している。

タンパク質-リガンド結合自由エネルギー計算 (末永)

タンパク質と低分子化合物 (リガンド) との結合親和性を計算機シミュレーションによって計算を行った。結果は現在解析中である。

タンパク質-制御分子複合体間に働く相互作用の大規模系電子状態計算手法による検討 (大塚)

これまでにリガンド分子とタンパク質分割法の指針、基底関数の依存性、MP2 による電子相関計算による精度検証から、FM02-MP2/6-31G(d) の計算レベルを用いる事で実験値との相関が強く得られる事を報告している。

今年度は、今後の FMO 計算のより効率性を重要視して、GAMESS 特有の並列計算法である GDDI の RICC 上での運用テストを実施した。

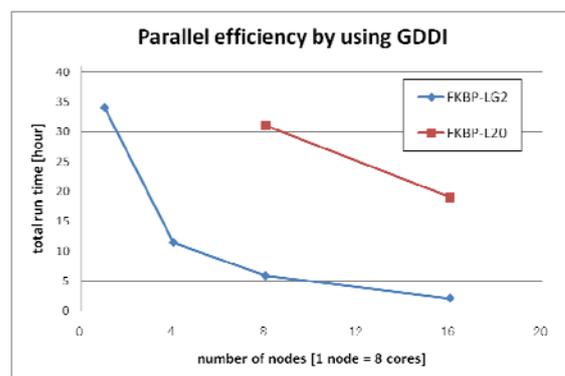


図 1. FKBP-ligands 系の GDDI 並列計算における使用ノード数とその計算時間

図 1 は、FKBP-ligands 系の GDDI 並列計算における使用ノード数とその計算時間を示している。使用した計算レベルは FM02-MP2/6-31G(d) 法であり、系として、ligand サイズが小さい LG2 (46 原子系) と L20 (126 原子系) の結果を示している。LG2 の計算時間は、1 ノード計算 (すなわち、フラグメントの逐次計算) に比べ、16 ノード使用時では、11 倍程度加速している事が分かる。

GDDI 運用には、/data 領域での必要なファイルの保存、適切なリスタート計算設定、リスタート後の GDDI 並列計算終了時の最終結果の入手、等いくつか設定を行う必要がある事が分かった。

MM/MD/QMの創薬への応用 (藤田)

MM (Molecular Mechanics)、MD (Molecular Dynamics) および QM (Quantum Mechanics) の各種プログラムを利用し、in silico screenin、創薬化学合成支援等を行う計算プロトコルを準備し、創薬・医療技術基盤プログラムが実施しているテーマを進めている。

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
- 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張・性能向上

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. RICC の継続利用を希望の場合は、これまで利用した状況（どの程度研究が進んだか、研究においてどこまで計算出来て、何が出来ていないか）や、継続して利用する際に行う具体的な内容

本研究テーマで遂行してきた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。しかし、本年度の研究成果はその一部が達成できたに過ぎない。そこで、システムバイオロジーの分野において大きく貢献することを目標に、次年度も継続した研究を行う。

平成 23 年度 RICC 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) Kunitsugu Soda, Yudai Shimbo, Yasutaka Seki and Makoto Taiji, “Structural characteristics of hydration sites in lysozyme”, *Biophys. Chem.*, **256**, 31-42 (2011).
- (2) Yasutaka Seki, Yudai Shimbo, Takamasa Nonaka and Kunitsugu Soda, “A New Efficient Method for Generating Conformations of Unfolded Proteins with Diverse Main-Chain Dihedral-Angle Distributions”, *J. Chem. Theory and Comput.*, **7**, 2126-2136 (2011).

【国際会議などの予稿集、proceeding】

- 1) Kunitsugu Soda, Yudai Shimbo and Makoto Taiji, “Dynamic Properties of Hydration Waters of a Globular Protein, Lysozyme”, 6-th International Meeting on Biomolecules under Pressure, (December 15, 2011, Otsu, Japan)

【国際会議、学会などでの口頭発表】

- 1) 関安孝, 新保雄大, 野中孝昌, 曾田邦嗣: 「アミノ酸配列依存性を考慮した解鎖蛋白質の新しい生成法」, 第 11 回日本蛋白質科学会年会, (2011 年 6 月 7-9 日, 大阪)
- 2) 新保雄大, 関安孝, 泰地真弘人, 曾田邦嗣: 「リゾチームの水和水数の揺らぎの物理機構」, 第 11 回日本蛋白質科学会年会, (2011 年 6 月 7-9 日, 大阪)
- 3) Kunitsugu Soda, Yudai Shimbo, Yasutaka Seki and Makoto Taiji, “Physical Properties of Protein Hydration. III. Dynamic Characteristics of Internal Hydration Water”, 第 49 回日本生物物理学会年会, (2011 年 9 月 16-18 日, 姫路)
- 4) 沖本 憲明, 平野 秀典, 大塚 教雄, 森本 元太郎, 藤田 茂雄, 泰地 真弘人 「Computational analysis of G9a-inhibitor interactions」 情報計算化学生物(CBI)学会、東京、2011 年 11 月
- 5) 沖本 憲明, 平野 秀典, 大塚 教雄, 森本 元太郎, 藤田 茂雄, 泰地 真弘人 「Computational analysis of G9a-inhibitor interactions」 第 25 回分子シミュレーション討論会 東京、2011 年 12 月
- 6) 沖本 憲明, 山岸 淳也, 末永 敦, 星野 忠治, 泰地 真弘人 「計算機支援による合理的ペプチド設計手法の開発」 日本薬学第 131 年会 静岡、2011 年 3 月
- 7) 大塚教雄, “大規模電子状態計算による タンパク質-薬物候補分子間の相互作用評価”, Nano-System Computational Science (NSCS) Group Seminar, つくば, 2011 年 6 月, (依頼講演)
- 8) Takao Otsuka, “Development of computational drug discovery by order-N first principles calculations”, CONQUEST Discussion Meeting, London, 2011 年 9 月, (口頭発表)

【その他】

- 1) T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, T. Miyazaki, D. R. Bowler, and M. J. Gillan, “Binding energy calculations of FKBP complexes using linear-scaling DFT code CONQUEST”, Quantum Systems for Chemistry and Physics (QSCP16), Kanazawa, 2011 年 9 月 (ポスター発表)