

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(1), 幸 瞳(1), 佐藤 朋広(1), 高谷 大輔(1), 永瀬 駿平(1), 神坂 紀久子(1), 津田 和実(1), 村山 大輔(1), 沖山 佳生(1), 仙石 徹(1), 本間 光貴(1)

理研における所属研究室名:(1)生命機能科学研究センター 創薬分子設計基盤ユニット

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 MD シミュレーション、量子力学 (QM) 計算による静電ポテンシャル解析、QM ベースのフラグメント分子軌道法による電荷解析等を実施した。

2. 生体高分子の MD シミュレーション

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。

2. 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 TrpCage (PDB ID: 1L2Y)、Bromodomain (PDB ID: 5IBN)、グアニン 4 重鎖(G4)とテロメスタチン誘導体 L2H2-6M(2)OTD の複合体構造 (PDB ID:2MB3)、LysocinE(LE) 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、Amber16 を用いて MD 計算を行った。適用する系により異なるが概ね 10~100 ナノ秒程度のシミュレーションをおこなった。

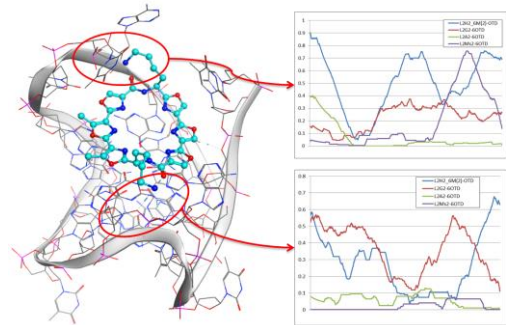
2. 2. 結果

【TrpCage, Bromodomain の構造サンプリング】

100ns の MD シミュレーションを実施中であり、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。これらのサンプリングした数千スナップショット構造を用いて 3 の FMO 計算による QM 電荷計算を実施し、AI による QM 電荷予測のための元データとして利用した。

【抗がん剤ターゲットとその阻害剤の結合様式予測】 induced-fit が起こりやすい、とある抗がん剤ターゲットとその阻害剤について、ドッキングによる複合体構造を初期構造として、複合体の MD シミュレーション (10 ナノ秒) を 10 本実施した。1 ピコ秒毎のスナップショットを取得して、相互作用パターンや結合自由エネルギーなどを解析中である。

【グアニン 4 重鎖テロメスタチン誘導体複合体構造の水素結合安定性評価】 グアニン 4 重鎖(G4)とテロメスタチン誘導体 L2H2-6M(2)OTD の複合体構造 (PDB ID:2MB3)、および 2MB3 を鑄型として作成した G4 と他のテロメスタチン誘導体 L2G2-6OTD、L2A2-6OTD、L2Ms2-6OTD との複合体構造に対して、100ns の MD シミュレーションを実施し、G4 に対して高い結合能を持つ L2H2-6M(2)OTD および L2G2-6OTD と、結合能の低い L2A2-6OTD、L2Ms2-6OTD との間で水素結合の安定性に差があることが示された。下図に 2MB3 の構造と、各複合体構造の 100ns のプロダクトランにおけるテロメスタチン誘導体と DA20(上段)、DA8, DG9(下段)間での水素結合の形成率を示す。



【LE の構造予測】東京大学との共同研究において LE をターゲットとした機能解析をおこなっている。LE は11残基の非天然アミノ酸を含む環状ペプチドであるが、現時点において実験的に三次元構造が決められていない。そこでシミュレーションによりコンフォメーション探索を実施する必要があった。初期三

次元構造を MOE により組み立てた後、三次元構造のサンプリングの予備計算を HOKUSI 上の AMBER16により実施した。特殊な構造をもつペプチド分子であることから、パラメータ設定などを含めて今後もさらに計算条件等をブラッシュアップしていきたい。

3. フラグメント分子軌道法による QM 電荷解析

量子化学計算に基づく力場構築を目標とした AI 開発用の量子化学計算データセットを作成した。始めにタンパク質複合体構造の量子化学計算による原子電荷 (QM 電荷) を用いて QM 電荷予測のための AI の開発を行った。2 の MD シミュレーションでサンプリングしたスナップショット構造に対して FMO 計算を実施した。

3. 1. 具体的な利用内容、計算方法

2 で実施した TrpCage, Bromodomain の MD スナップショットに対して 1000 構造の FMO 計算 (MP2/6-31G*) を実施した。

3. 2. 結果

得られた TrpCage, Bromodomain の FMO 計算結果から RESP 電荷を原子単位で抽出し、電荷予測 AI 用のデータセットとして利用した。概ね予測に成功していたが、ずれの大きい構造について RMSD のクラスタリング等を検討した結果、稀な立体構造に対しては、AI による予測値のずれが大きいことが分かった。今後は、データセットの数を増やしてさらなる検証を行う予定である。

4. 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

昨年度に引き続きリード化合物の合成展開における、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静電ポテンシャルの類似性を用いて評価するプログラムの開発を行った。

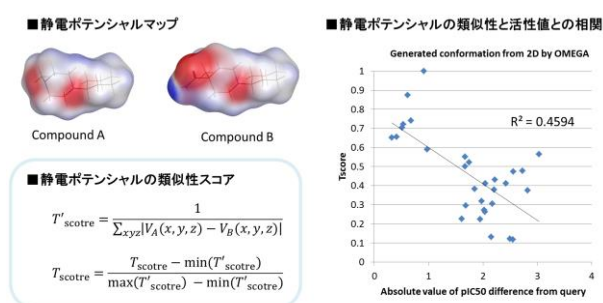
4. 1. 具体的な利用内容、計算方法

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。もっとも重なる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。

4. 3. 結果

文献既知の化合物、及び理研内部で活性値を測った化合物について静電ポテンシャルを比較し、類似度と活性値との相関を調べた。下図に異なる部分構造の等電子面に静電ポテンシャルマップを表示した。クエリ化合物との静電ポテンシャルの類似性評価関数として T_{score} を計算したところ、活性値と相関があることが確認出来た。



5. 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、各ターゲットタンパク質において初期検討となるデータが得られたと考えられる。QM 電荷解析に関しては、引き続き FMO 計算を実施してレア構造のサンプルを増やすことでより高精度の電荷予測の実現が期待される。静電ポテンシャル解析に関しては、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。また、現在 1 つのターゲットタンパク質に関して検討しているが、事例を増やすことが望ましいと考えられる。

6. 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と、そのスナップショット構造を用いた FMO 計算を行った。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構造安定性評価、FMO 計算による電荷解析・相互作用解析、QM 計算による静電ポテンシャル解析を実施する予定である。また、開発中の FMO プロトコルを用いて生体高分子の QM/MM 構造最適化のデータの蓄積を行う予定である。

平成 30 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

1. Toru Sengoku, Takehiro Suzuki, Naoshi Dohmae, Chiduru Watanabe, Teruki Honma, Yasushi Hikida, Yoshiki Yamaguchi, Hideyuki Takahashi, Shigeyuki Yokoyama, and Tatsuo Yanagisawa, “Structural basis of protein arginine rhamnosylation by glycosyltransferase EarP”, *Nature Chemical Biology* 14, 368–374, 2018.

【会議の予稿集】

特に無し。

【口頭発表】

1. Chiduru Watanabe, “Development of drug design technology based on fragment molecular orbital (FMO) calculation”, International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University 2018 (口頭発表)
2. Chiduru Watanabe, Daisuke Takaya, Shunpei Nagase, Kikuko Kamisaka, Yoshio Okiyama, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, “Statistical analysis of inter- and intramolecular interactions for drug design based on FMO database”, CBI 学会 2018 年大会 「インシリコ創薬」分野 口頭発表 (FS-07), 2018/10/9, タワーホール船堀

【ポスター発表】

1. Application of FMO to drug design and development of FMO database Daisuke Takaya, et al. 11th China-Japan Symposium on Molecular Drug Design and Development 22-25 Jun 2018, Shaoxing International Hotel.
2. Shunpei Nagase, Daisuke Takaya, Chiduru Watanabe, Hitomi Yuki, Yoshio Okiyama, and Teruki Honma, “Bioisosteric conversion based on electrostatic potential”, CBI 学会 2018 年大会 ポスター発表 (P2-20), 2018/10/9-10/11, タワーホール船堀
3. Chiduru Watanabe, Daisuke Takaya, Shunpei Nagase, Kikuko Kamisaka, Yoshio Okiyama, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, “Statistical analysis of inter- and intramolecular interactions for drug design based on FMO database”, CBI 学会 2018 年大会 ポスター発表 (P2-16), 2018/10/9-10/11, タワーホール船堀

【その他(著書、プレスリリースなど)】

特に無し。