

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), 神坂 紀久子(1), 津田 和実(1), 村山 大輔(1), 小山 志勇(1), 加藤 幸一郎(1), 石田 純一(1), 谷村直樹(1), 大山達也(1), 原田 俊幸(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、主にCOVID-19 関連タンパク質の研究テーマについてHOKUSAIのリソースを用いてQM ベースのフラグメント分子軌道法による相互作用解析、及びデータのFMO データベースへの登録を行った。また、COVID-19 関連タンパク質以外にも、FMO DB データ蓄積のため、アポ構造のタンパク質を重点的に FMO 計算を実施した。また、これまでFMO DBに蓄積してきたデータを用いて、Inter-fragment interaction energy (IFIE)の統計解析を行った。

2. FMO DB の相互作用エネルギーの統計解析

これまでFMO DBに登録してきたFMO 計算結果を用いて、水素結合、XH/ π 相互作用における、Inter-fragment interaction energy (IFIE)の強度の距離依存性について統計解析を行った。(Takaya *et al.*, *J. Chem. Info. Model.*, 2021) 解析に使用したデータは、元構造がX線結晶構造に対してAuto-FMOプロトコルを用いて前処理した構造を用いたFMO データを用いた。また、dimer ES 近似適用外の純粋なQM 計算結果のフラグメントペアだけを解析に使用した。(図1)

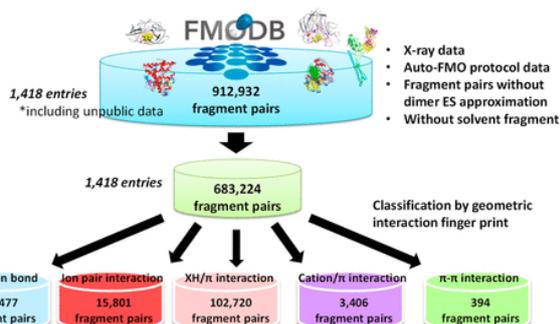


図1 FMO DBのフラグメントペアの構造ベースの相互作用フィンガープリントを利用した各種相互作用へ分類

また、相互作用エネルギーの強度を相互作用の種類ごと(水素結合、イオンペア、XH/ π 、Cation/ π 、 π - π)に分類するため、構造ベースの相互作用フィンガープリントを抽出し(図2)、各フラグメントに相互作用フィンガープリントを構成する原子をアサインすることで相互作用の種類を分類した(図1)。

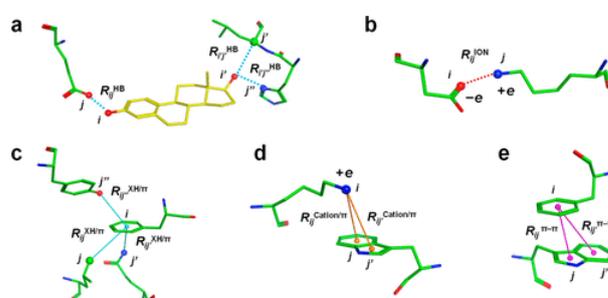


図2 構造ベースの相互作用フィンガープリント解析

水素結合相互作用、もしくはXH/ π 相互作用が1つだけ検出されたフラグメントペアに対して、IFIE の距離依存性を図3、4に示した。水素結合の場合、二つのエネルギーピーク(-13.7kcal/mol, -2.6kcal/mol)が確認された。一方で、XH/ π 相互作用では1つのエネルギーピーク(-1.9kcal/mol)が確認された。これらの値は、典型的な水素結合、及びXH/ π 相互作用の値とみなすことができる。

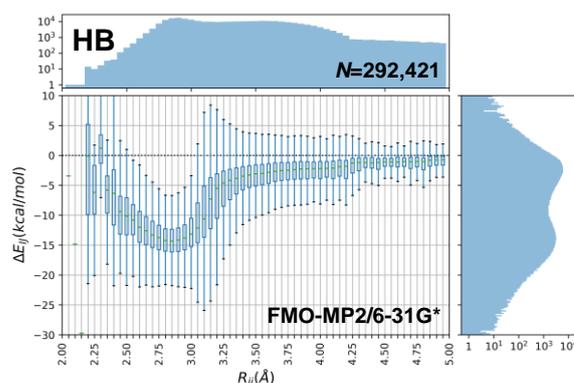


図3 水素結合相互作用に関与するフラグメントペアのIFIEの距離依存性

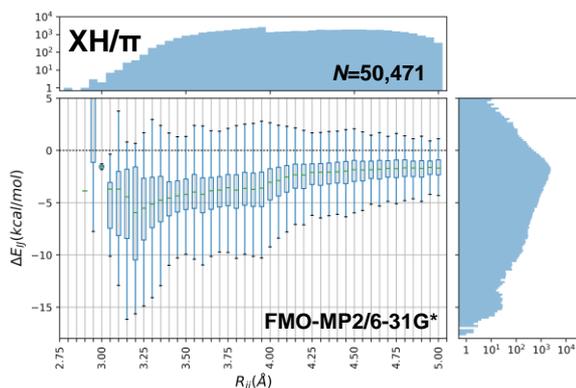


図 4 XH/ π 相互作用に關与するフラグメントペアの IFIE の距離依存性

3. 新型コロナウイルスによるパンデミックに対する FMODB の取り組み

PDBj の新型コロナウイルスの構造情報特集ページで毎週更新されているコロナ関連タンパク質の代表構造 (978 PDB entry, 2021 年 3 月 2 日時点) を中心に、優先度の高い順に構造を選出し (主に創薬ターゲットである Main protease, Papain-like protease, Spike protein)、分子機能を担うと考えられる構造単位に切り出し、Auto-FMO プロトコルを用いて構造の前処理、及び FMO 計算を随時実施した (図 5)。構造の前処理には、MOE を用いて水素付加、Amber10:EHT 力場による部分構造最適化を行った。また、一部のタンパク質では、手動でモデリングを行った。それらの構造を用いて ABINIT-MP プログラムによる FMO 計算 (MP2/6-31G*) を実施した。計算結果は FMODB (<https://drugdesign.riken.jp/FMODB/>) へ登録・公開した。加えて、アミノ酸残基のみで構成されるアポ構造について X 線結晶構造の分解能の良い順に計算を Auto-FMO プロトコルを用いて FMO 計算を実施した。

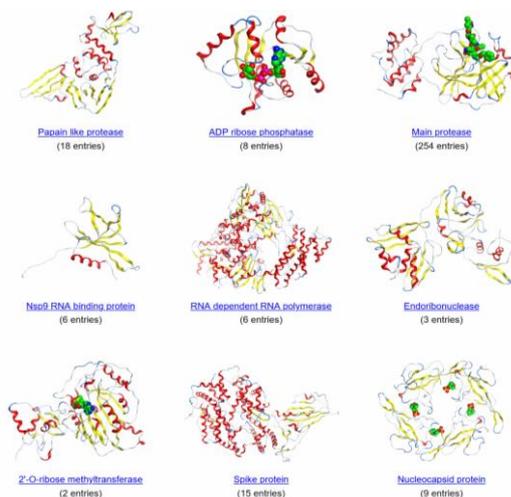


図 5 FMO data for COVID-19-related proteins

COVID-19 関連タンパク質の解析事例の一つとして、コロナウイルス表面に存在する S-protein を認識して細胞内へ侵入を誘発するヒト肺細胞上のアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) との分子認識機構について、フラグメント間相互作用 (IFIE) 解析を行った (図 6)。その結果、典型的な NH-O, OH-O 水素結合や塩橋だけではなく、CH-O 水素結合、CH/ π 相互作用等の弱い相互作用が絡み合った相互作用ネットワークを形成することが確認された。これらの弱い相互作用は、SARS-CoV-2 と SARS-CoV spike protein の ACE2 との分子認識の違いにも関与することが明らかとなった。(Watanabe *et al.*, *Chem. Sci.*, just accepted)

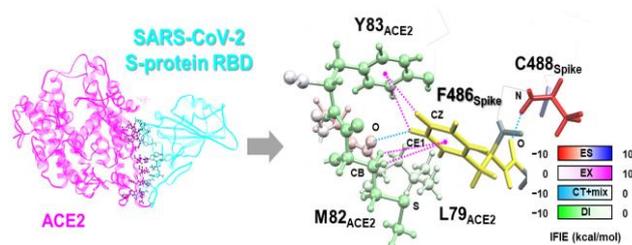


図 6 Spike-protein と ACE2 間の相互作用解析

4. その他

また以前に実行した CaMKK2 の阻害剤結合サイトを対象とした Gaussian を用いた ONIOM 法による QM/MM 最適化構造データを使用した論文が受理された。(Takaya *et al.*, *J. Mol. Graph. & Model.*, 2020.)

4. まとめ

これまで蓄積してきた FMODB データを用いた IFIE の統計解析を行った。その結果、典型的な水素結合、及び XH/ π 相互作用のエネルギー強度を見積もることが出来た。これらの値は、今後 IFIE 解析する際に、水素結合、XH/ π 相互作用しているかどうか判定する基準となるエネルギー値として役に立つと考えられる。FMO 計算を利用した COVID-19 関連タンパク質の相互作用解析、及び FMODB データ蓄積を行った。

5. 今後の計画・展望

次年度以降も、各メンバーが担当する創薬ターゲットタンパク質に対して、状況や課題に応じて MD シミュレーション、QM 計算などを実施する予定である。また、FMODB のデータ蓄積のため引き続き、PDB に記載されている構造に対して FMO 計算を実施していく予定である。

2020 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

1. Daisuke Takaya, Hideaki Niwa, Junko Mikuni, Kana Nakamura, Noriko Handa, Akiko Tanaka, Shigeyuki Yokoyama, Teruki Honma Protein ligand interaction analysis against new CaMKK2 inhibitors by use of X-ray crystallography and the fragment molecular orbital (FMO) method, *Journal of Molecular Graphics and Modeling*, 99, 107599, 2020.
2. Daisuke Takaya, Chiduru Watanabe, Shunpei Nagase, Kikuko Kamisaka, Yoshio Okiyama, Hiroto Moriawaki, Hitomi Yuki, Tomohiro Sato, Noriyuki Kurita, Yoichiro Yagi, Tatsuya Takagi, Norihito Kawashita, Kenichiro Takaba, Tomonaga Ozawa, Midori Takimoto-Kamimura, Shigenori Tanaka, Kaori Fukuzawa, and Teruki Honma, FMO DB: The World's First Database of Quantum Mechanical Calculations for Biomacromolecules Based on the Fragment Molecular Orbital Method, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61, 2, 777–794, 2021.

【口頭発表】

1. 高谷大輔、神坂紀久子、第 22 回 FMO 研究会「FMO データベースの紹介と解析チュートリアル」FMO DB の開発および相互作用データ解析」、CBI 学会 2020 年大会、2020 年 10 月 29 日、オンライン開催
2. 渡邊千鶴、神坂紀久子、大山達也、高谷大輔、加藤幸一郎、川嶋裕介、半田佑磨、山本亜美、渡邊一樹、福澤薫、本間光貴、新型コロナウイルスによるパンデミックに対する FMO DB の取り組み、第 48 回構造活性相関シンポジウム (2020 年 12 月 10 日(木)・11 日(金)、オンライン開催)

【ポスター発表】

1. Daisuke Takaya Development of FMO DB and analysis of the inter- and intramolecular interaction data of biomolecules; RIKEN BDR Symposium 2021, 1 Mar 2021, オンライン開催.
2. Chiduru Watanabe, Teruki Honma, Development of drug discovery support technology: inter- and intramolecular interaction analysis by fragment molecular orbital (FMO) calculation, RIKEN BDR Symposium 2021, 1 Mar 2021, オンライン開催.

【その他(著書、プレスリリースなど)】

1. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の治療薬設計に役立つウイルスタンパク質と治療薬候補化合物の相互作用データを公開, 2020 年 4 月 17 日, (URL https://www.riken.jp/pr/news/2020/20200417_1/index.html)