

プロジェクト名(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(2), 神坂 紀久子(1), 津田 和実(1), 村山 大輔(1), 小山 志勇(1), 大山達也(1), 沖山 佳生(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、(2)制御分子設計研究チーム

1. 本プロジェクトの研究の背景、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、アポ構造のタンパク質を重点的に FMO DB データ蓄積のための FMO 計算を実施した。また、MTH1 タンパク質の活性中心の隣接する二つのアスパラギン酸のプロトン化状態の決定手法の開発を FMO 計算結果に基づき行った。

2. FMO DB データ蓄積の取り組み

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(813 PDB entry, 2022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 プロトコルを介して構造の前処理、及び FMO 計算を随時実施した。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 FMO DB (<https://drugdesign.riken.jp/FMODB/>)へ登録・公開した(2022年3月2日時点, 830 エントリー)。これらの計算結果については、タンパク質毎に代表構造を選抜して分子認識に関する相互作用解析を実施し(図1)、論文として成果発表を行った[雑誌に受理された論文 1,2]。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、FMO DB へのデータ登録(2022年3月2日時点, 2602 エントリー)を行った。これらのデータについては、現在、解析中で論文投稿を予定している。

また、FMO-AI 力場用のデータ収集も行っており、TrpCage の FMO 微分計算についても検討を開始している。

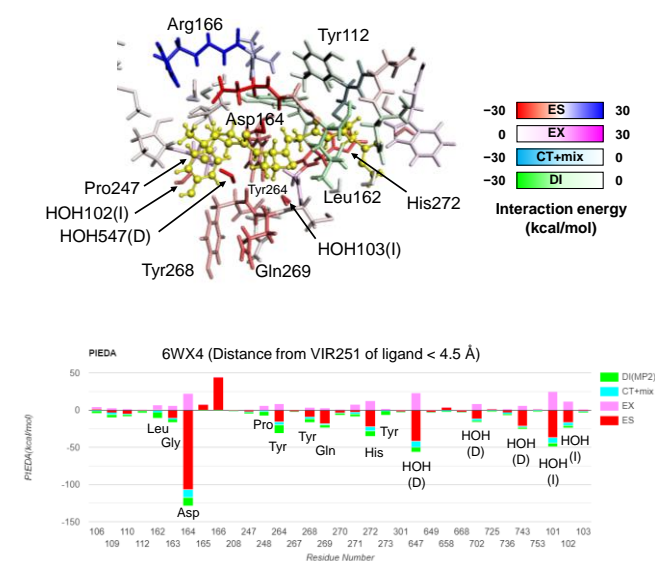


図1 Papain-like protease - VIR251 複合体の IFIE/PIEDA 解析 (PDB ID: 6WX4, FMO DB ID: YQG52).

3. リガンドポケット中の Asp のプロトン化状態

MTH1 タンパク質は、Nudix hydrolase(ヌクレオシド二リン酸類縁体加水分解酵素)ファミリーに属するプリン酸ヌクレオシドトリホスファターゼで、核・ミトコンドリア・細胞質に存在する。MTH1 は、DNA の酸化ヌクレオチドの蓄積によって引き起こされる癌に関連していると報告されており、創薬ターゲットとして注目されている。MTH1 はリガンドポケットの奥に二つ Asp が隣接しており、リガンド結合に重要であると考えられる。MTH1 と 8-oxo-dGMP 複合体の X 線結晶構造(PDB ID: 3ZR0)より、Asp119, Asp120 のカルボンの酸素原子とリガンド原子との距離、X 線電子密度解析より、Asp119 がプロトン化状態、Asp120 が脱プロトン化状態であることが示唆されている(図2)。しかしながら、水素原子の位置は中性子実験や高分解能の X 線結晶解析でなければ特定できず、MTH1 のこの Asp119 のプロトン

化状態は厳密には決まっていない。そこで、本研究では、Asp119 の5つのプロトン化状態の複合体構造に対して、FMO-MP2/6-31G*計算を実行し、リガンドとその周辺アミノ酸残基との相互作用解析を行うことで、妥当なプロトン化状態を検討した[雑誌に受理された論文 3]。

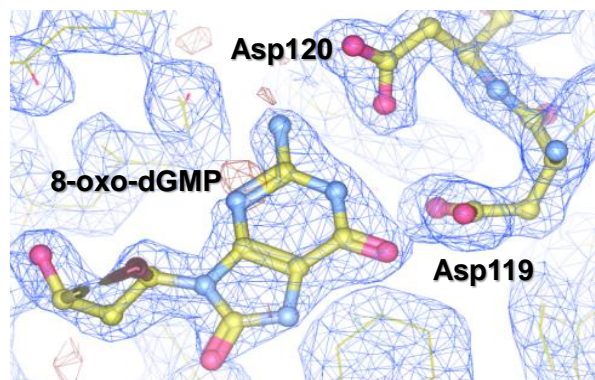


図 2 MTH1-8-oxo-dGMP 複合体の X 線電子密度解析 (PDB ID: 3ZR0)

4. まとめ

これまで蓄積してきた FMO DB の COVID-19 関連タンパク質の中から代表構造について IFIE/PIEDA 解析を行った。その結果、分子認識に重要なアミノ酸残基とその相互作用を特定した。また、リガンドポケット中の Asp に対して、そのプロトン化状態を決定するための手法の開発を FMO 計算に基づいて行い、妥当なプロトン化状態の決定を IFIE/PIEDA による検討を行った。本プロトン化状態決定手法については、開発途中であるため引き続き検討を行う。

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。タンパク質のプロトン化状態を決定するための開発については、引き続き検討を行い、解析事例を今後増やすことで手法の確立を目指す。また、FMO DB のデータ蓄積のため引き続き PDB に収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。加えて、FMO-AI 力場構築に向けた、創薬モダリティにおける柔軟で新規な医薬品候補分子に対する FMO 微分計算についても本格的に実施する予定である。

2021 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

1. Chiduru Watanabe, Yoshio Okiyama, Shigenori Tanaka, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, Molecular recognition of SARS-CoV-2 spike glycoprotein: quantum chemical hot spot and epitope analyses, *Chem. Sci.*, 12, 4722–4739, 2021.
2. Kaori Fukuzawa, Koichiro Kato, Chiduru Watanabe, Yusuke Kawashima, Yuma Handa, Ami Yamamoto, Kazuki Watanabe, Tatsuya Ohyama, Kikuko Kamisaka, Daisuke Takaya, Teruki Honma, Special Features of COVID-19 in the FMO DB: Fragment Molecular Orbital Calculations and Interaction Energy Analysis of SARS-CoV-2-Related Proteins, *J. Chem. Inf. Model.*, 61, 9, 4594–4612, 2021.
3. 渡邊千鶴、タンパク質-リガンド間相互作用解析における水素原子構造の重要性 ～量子化学計算データに基づく精緻な論理創薬へ向けた取り組み～、*日本中性子科学誌「波紋」*、32、29–32、2022.

【口頭発表】

1. 渡邊千鶴、高谷大輔、神坂紀久子、沖山佳生、田中成典、福澤薫、本間光貴、“FMO 法による大規模タンパク質複合体の分子間相互作用解析とデータベース化による統計的解釈”、量子生命科学会第三回大会 講演番号 O1C-2, 2021 年 10 月 16 日(木)(オンライン)
2. 高谷 大輔、「FMO DB の最新の開発状況と機能の紹介」、口頭発表、第24回 FMO 研究会 「FMO データベースの最新機能紹介と実践チュートリアル -COVID-19 関連タンパク質の分子認識機構解析-」・(CBI 学会 2021 大会、フォーカストセッション TS-01), 2021 年 10 月 25 日(月)(オンライン)
3. 渡邊千鶴、「FMO DB の進捗と今後の課題」、口頭発表、第24回 FMO 研究会 「FMO データベースの最新機能紹介と実践チュートリアル -COVID-19 関連タンパク質の分子認識機構解析-」・(CBI 学会 2021 大会、フォーカストセッション TS-01), 2021 年 10 月 25 日(月)(オンライン)
4. Chiduru Watanabe, Yoshio Okiyama, Shigenori Tanaka, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, “FMO-based Intermolecular Interaction Energy Analysis between SARS-CoV-2 Spike Protein and Its Drug Candidate Molecules” ・(CBI 学会 2021 大会、口頭発表1、『計算化学(分子計算)/計算化学(分子認識)/構造生命科学/新型コロナウイルス対策と感染症対策』), 2021 年 10 月 26 日(火)(オンライン)

渡邊千鶴、「量子化学計算が導く高分解能X線結晶構造データの討究」、口頭発表、25 回 FMO 研究会(第 2 回量子構造生命科学研究所シンポジウム)「金属タンパク質解析における構造生物学と量子化学計算の融合」・(CBI 学会 2021 大会、フォーカストセッション FS-05), 2021 年 10 月 27 日(水)(オンライン)

5. Daisuke Takaya, Recent progress in the development of FMO DB: database of QM-based interaction data of biomolecules, BDR Young Researchers Forum, 2021 年 11 月 12 日(金)(オンライン)

【ポスター発表】

1. Daisuke Takaya, Chiduru Watanabe, Kikuko Kamisaka, Yuma Handa, Kazuki Watanabe, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma, Development of FMO DB and recent updates, CBI 2021 年大会, 2021 年 10 月 26 日(火)(オンライン)
2. 大山達也、渡邊千鶴、神坂紀久子、高谷大輔、福澤薫、本間光貴“VISCANA による SARS-CoV-2 main protease とリガンドの網羅的相互作用 解析”、第 49 回構造活性相関シンポジウム, ポスター番号 KP-28, 2021 年 11 月 19 日(金)(オンライン)