

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, 長谷川 亜樹,  
小松 輝久, 新保 雄大, 曾田 邦嗣, 山岸 純也, 泰地 真弘人, 末永 敦,  
藤田 茂雄, 笹倉 陽子, Dmitry Nerukh, Arturs Scukins, Sergey Karabasov,  
Anton Markesteijn

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)

(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、Nerukh)

(ウ) 生体高分子に対する構造・体積揺らぎの解析 (曾田、新保、Dmitry、Arturs、Sergey)

(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、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。

本年度は、標的タンパク質の動的な構造アンサンブルを用いて *in silico* スクリーニングを実施する。また溶媒と自由エネルギーを近似予測する Poisson Boltzmann (PB) 法で使われるパラメータを再探索し高精度化を図る。

分子動力学シミュレーションを用いて標的タンパク質の動的アンサンブルを作成する。得られた動的アンサンブルをひとつひとつ独立に用いて、*in silico* スクリーニングを実行する。また PB 法で使われるパラメータは、ランダムで発生させたパラメータを遺伝的アルゴリズムにより最適化する。

### タンパク質/核酸-制御分子間に働く相互作用の大規模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/核酸-制御分子複合体間の相互作用エネルギーの算出を行う。

### 蛋白質分子の動力学特性と水和効果(曾田、新保)

蛋白質の溶媒水の役割を調べるために、高压下での蛋白質および水和水の物性解析が盛んに研究されているが、その分子詳細は未解明の点が多い。本研究では、蛋白質の水和特性の圧力依存性

の分子詳細を明らかにすることを目標として、球状蛋白質水溶液の MD シミュレーションを幾つかの圧力下で行い、その結果を解析した。

### 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、Nerukh)

近年、計算機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は医薬品開発等においてその重要性を増している。しかしながら、構造サンプリングにおける大きな問題点として、反応座標の決定が困難であること、計算コストが大きいことがある。そこで、本研究では、反応座標を必要とせず、従来の拡張アンサンブル法に比べて低コストなサンプリング手法の開発を目指す。以下、混乱を避けるために一連の研究を 2 つに分けて記述する。

① 拡張アンサンブル法の中でも最もよく用いられている手法の一つがレプリカ交換法 (REM) である。この手法は反応座標を必要とせず、また状態の重み因子を決める必要もないため扱いやすい反面、大きな系に適用するには膨大な数のレプリカが必要となり計算コストが大きい。このレプリカ数の問題は系の自由度の大きさに起因しているが、系の自由度を増やす主要因の一つとして溶媒分子がある。そこで本研究では、陰的溶媒モデルを用いてまず粗いサンプリングを行い、ここで得られた構造でサンプリング空間をある程度決め、それらの周辺を陽的溶媒モデルを用いた系でサンプリングすることを試みた。これは、陰的溶媒モデルの利点である“溶媒自由度の削減”と陽的溶媒モデルの利点である“正確さ”を組み合わせた効率的な構造サンプリング手法といえる。本研究の利点は、反応座標を決めることなくサンプリング空間を小さくし、無駄な領域のサンプリングを減らすことにある。

② 前述の通り、レプリカ交換法 (REM) は近年最もよく用いられているサンプリング法の 1 つであり、そのサンプリング効率の向上は重要な課題であるといえる。REM はレプリカのマルコフ連鎖モンテカルロ (MCMC) になっており、レプリカ同士の交換確率は詳細つり合い条件を

満たすようにメトロポリス法を用いて計算するのが一般的である。しかしながら、「詳細つり合い条件」は定常分布へ収束するための十分条件であり、必要条件である「つり合い条件」に比べて制約が強いため、棄却率を最小化することができない。そこで、2010 年に諏訪・藤堂らは詳細つり合い条件を満たさない MCMC を提案し、つり合い条件のみを考えることで棄却率を常に最小化する手法の開発に成功した。本研究では、このアイデアを REM へと応用することで、その効率向上を目指した。

### 分子動力学計算の並列化と応用 (泰地、長谷川)

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 に関係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、平野)

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など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、Nerukh)

創薬ターゲットタンパク質 (G9a, Set7/9, Tankyrase,FLT3 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、タンパク構造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、構造サンプリングを実施した。本研究の結果、タンパク質-リガンド複合体構造について、生体内環境下の多様な構造を十分抽出することで、実験的構造よりも適切な創薬構造を選定することができることがわかってきた。

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

インシリコスクリーニングに用いる構造によりスクリーニング性能に差が出るということが分かった。その中でも高性能を示した構造を、次年度のスクリーニングに用いた。

現在論文投稿に向けて結果を整理している。

### 蛋白質分子の動力学特性と水和効果(曾田、新保、Scukins、Karabasov)

複数の圧力下でリゾチーム水溶液中の MDS を実行し、蛋白質分子および水和水の構造時系列データを得た。それに基づいて、蛋白質の水和水数および水素結合数の圧力依存性を評価した。その分子機構を明らかにするために、幾つかの代表的な部位・水素結合サイトについて、水素結合状態の圧力依存性を測定し、水素結合数の変化量に対して水和水数の変化量が大きいことを見いだした。

### 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)

本手法では、陰的溶媒を用いた系 (Implicit 系) のシミュレーションから得られた構造をガイドとして陽的溶媒モデルを用いた系 (Explicit 系) のサンプリング領域を広げることを目指す。そのため、Explicit 系の溶質には、一方的に Implicit 系の溶質の構造に近づくように調和ポテンシャルをかけた。効率的なサンプリングを行

うために Implicit 系には REM を適用し、Explicit 系における調和ポテンシャルの効果は多次元レプリカ交換法 (MREM) を用いることで除いた。

本手法を Chignolin (10 残基のタンパク質) の系に適用したところ、陽的溶媒モデルを用いた通常の温度 REM とほぼ同様の結果が、6 分の 1 のレプリカ数で得られた。

なお、本研究の MREM では、効率向上のために新たに開発したレプリカ交換アルゴリズムを用いている。この手法の概要は②に示す。

② 従来の REM では、それぞれのレプリカペアの交換確率を独立に計算するのが一般的であるが、本研究では複数のレプリカペアを同時に考慮し、動的モンテカルロにより交換を行う。遷移先を増やすことで諏訪・藤堂らのアイデアを REM に適用することができるためである。このアルゴリズムの利点は、前述の通り棄却率を最小化できることにある。

本手法を Alanine dipeptide の系に適用したところ、従来の REM と同様の結果が得られることが示された。また、Chignolin の系では、従来法と比較して分布の収束が速く、サンプリング効率の上昇が示唆された。レプリカの交換率は、どちらの系でも従来法に比べて上昇していた。本手法の効率を理論的に見積もった結果、レプリカ数が増えるほど効率が上がることから、大きい系に適用した場合にレプリカ同士の温度幅を広げられる可能性があり、計算コストの削減が期待される。

また、この手法は複数のレプリカペアを同時に考慮するため、従来の隣接レプリカ交換法はもちろん、all-pairs exchange 法 (APE) にも適用可能であり、“隣接レプリカ”を特定することが難しい場合にも効果的であることが分かった。

#### 分子動力学計算の並列化と応用 (泰地、長谷川)

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/核酸-制御分子間に働く相互作用の大規模電子状態計算手法による検討 (大塚)

本研究はこれまでに大規模系電子状態計算手法として量子化学計算であるフラグメント分子軌道 (FMO) 法の性能評価を行ってきた。FMO 法において、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、RICC 上での GAMESS 特有の並列計算法である GDDI の運用テスト等を実施してきた。今年度より、大規模系電子状態計算手法として、量子化学計算の分割統治 (DC) 法とオーダー N 法第一原理密度汎関数計算である CONQUEST の性能評価を開始したが、特に超高並列計算の問題点のあぶり出しと環境を整えるテスト計算を行った。

#### MM/MD/QM の創薬への応用 (平野、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。

平成 25 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】

【国際会議などの予稿集、proceeding】

【国際会議、学会などでの口頭発表】

近藤 寛子「エンハンスドサンプリング手法を用いたタンパク質の構造サンプリング」、シミュレーション科学と統計科学の間，統計数理研究所，立川，2013年3月

【その他】

1. Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, David R. Bowler, Tsuyoshi Miyazaki, "Structure relaxation and binding energy calculations of FKBP complexes using linear-scaling DFT code CONQUEST", Theory and Applications of Computational Chemistry (TACC-2012), Pavia, Italy, 2012年9月, (ポスター発表)
2. Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, David R. Bowler, Tsuyoshi Miyazaki, "Structure relaxation and binding energy calculations of FK506 binding protein complexes using order-N DFT code CONQUEST ", Conference on Computational Physics (CCP2012), Kobe, Japan, 2012年10月, (ポスター発表)
3. Noriaki Okimoto, Atsushi Suenaga, Yoshinori Hirano, Makoto Taiji. "Prediction of Protein-ligand Binding Affinities Using Molecular Simulations" 3rd International Conference on Molecular Simulation", Kobe, November, 2013.
4. Yoshinori Hirano, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji, "Computational study of protein-ligand interactions: Molecular screening for therapeutic drugs" , 3rd International Conference on Molecular Simulation", Kobe, November, 2013.
5. 沖本憲明、平野秀典、末永敦、泰地真弘人 「Prediction of Protein-ligand Binding Affinities Using Molecular Simulations」 CBI学会2013年大会、東京、2013年10月