

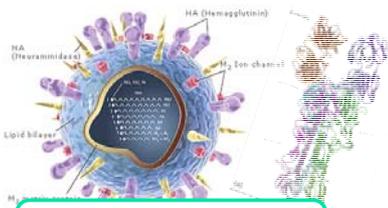
# フラグメント分子軌道法による タンパク質-リガンド相互作用の 高精度解析と創薬への応用

日本大学松戸歯学部  
福澤薫



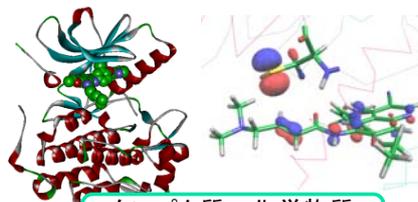
## 量子化学計算による次世代計算構造生物学

抗ウイルス薬およびワクチン開発  
ウイルス変異メカニズムの解明



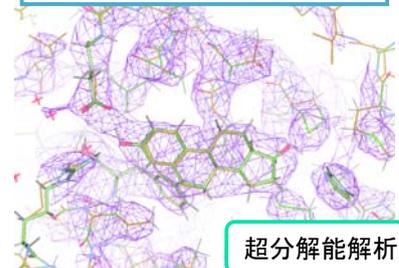
インフルエンザウイルス  
感染・防御のメカニズム

創薬分子設計  
酵素反応メカニズムの解明



タンパク質-化学物質  
の相互作用

X線結晶構造の精密化  
“超分解能解析”



超分解能解析

FMO計算によって超並列スパコンの能力をフル活用

ユーザーフレンドリーな  
FMO 計算環境の  
創薬現場への普及

統合  
可視化環境

インシリコ  
スクリーニングの  
速度・精度向上

医薬品候補  
物質の正確で  
効率的な探索

フラグメント  
分子軌道 (FMO) 法

インシリコ理論創薬  
の信頼性向上

計算高精度化と  
手法の拡張

超並列  
FMO 計算

超高速処理による  
統計的な議論

電子相関

動力学  
計算

物性値  
算定法



# 医薬品開発においてFMO量子化学計算が目指すもの

## 応用のイメージ: 医薬品の開発プロセスの短縮



### ◎リード探索

薬の種となる化合物(リード化合物)を探す。

### ◎リード最適化

リード化合物を元に、薬効, 安全性, 体内動態が最適となる化合物をトライ&エラーでデザインする。

一つの薬を出すのに約2万化合物の合成が必要

量子化学計算に基づく詳細な分子間相互作用情報を用いることで、より短時間でより高活性な医薬品候補化合物の分子設計を可能にする。

がん、感染症、神経疾患等の治療薬の開発へ

3

## 生体高分子の計算: 古典力学(MM)と量子力学(QM)

### 生体高分子相互作用の特徴:

強い相互作用: イオン結合、水素結合

弱い相互作用: vdW力、特にCH/ $\pi$  や  $\pi/\pi$ が多数存在

### 古典(経験的)力場計算: Molecular Mechanics (MM)

従来用いられてきた経験パラメタに基づく方法

- 計算コストが安価である。計算スピードが速い
- 露に取り込まない効果が入る
- × 精度はパラメタに依存、固定電荷利用※
- × 「ばねで繋がった集合体」以上の議論は難しい※  
※ これらの問題を回避するための力場も一部開発されている

安定構造の予測、動的挙動解析など

### 量子化学(第一原理)計算: Quantum Mechanics (QM)

量子論に基づき、分子の電子状態を得る

- × 計算量が膨大(HFで $N^4$ に比例)
- 精度良く分子間力の評価ができる  
静電力、ファンデルワールス力、電荷移動力...
- 結合の生成開裂(化学反応)、光励起、電子移動など電子の挙動を扱える  
対象は酵素反応、光合成、分子認識等、生体高分子で重要な問題ばかり<sup>4</sup>

マイクロ秒スケールの  
分子動力学計算も可能



分子動力学計算は  
せいぜいピコ秒



## 2013ノーベル化学賞～ Karplus, Levitt, Warshel

複合化学系のマルチスケールモデルの開発

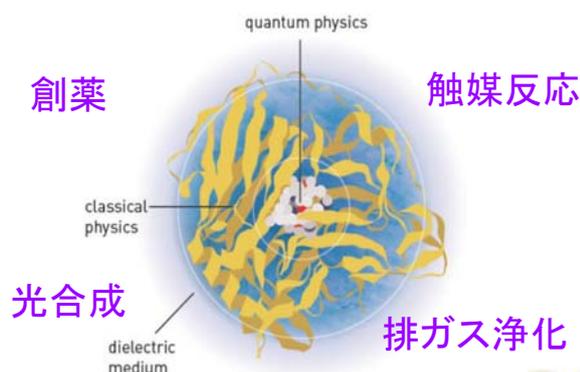


生体高分子の精密分子シミュレーション

✓重要な部分は精度良く(QM)

✓それ以外の部分は粗く(MM)

QM/MM法



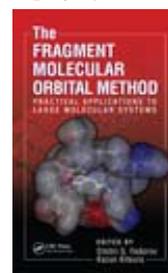
5

## フラグメント分子軌道(FMO)法

### FMO法とは？

- 1999年に北浦和夫教授(現神戸大学)により提案された **full QM手法**
- 巨大分子をフラグメントに分割し、部分エネルギーを集積することで、**系全体の高速電子状態計算**を実現
- 相互作用解析に適している

FMO本  
CRC press, 2009



### インシリコ創薬におけるFMO計算

- Structure Based Drug Design (SBDD)へ量子化学計算を適用し、タンパク質と化学物質の結合様式を理解し、その結合性を予測する
- タンパク質-リガンド系全体の量子化学(電子状態)計算を高速・高精度に実現 **演算量 $O(N^4) \rightarrow O(N^2) \sim O(N^1)$**
- エネルギー指標による、リガンド-残基間の相互作用の定量的評価
  - ⇒ イオン結合、水素結合、弱い分子間力(vdW, CH/ $\pi$ ,  $\pi/\pi$ など)
  - ⇒ 精密な評価には電荷移動(CT)や電子相関の考慮が重要
  - ⇒ 官能基単位、主鎖/側鎖ごとの評価が可能
- 電子密度解析や分子軌道(フロンティア軌道)解析も可能

6

# FMO法の主な実装系

- 産総研 Fedorov、神戸大 北浦ら ⇒ GAMESS/FMO
- 長崎大 石川ら ⇒ PAICS
- 国立衛研 中野、立教大 望月ら(東大生研CISS)
  - ⇒ **ABINIT-MP/BioStation** 純国産プログラム

## ABINIT-MP/BioStation

- ABINIT-MP: FMO計算専用エンジン
- BioStation Viewer: ABINIT-MP専用GUIプログラム

配布形態:

東大公開版ダウンロード(無償)

<http://www.ciss.iis.u-tokyo.ac.jp/riss/dl/download/index.php>

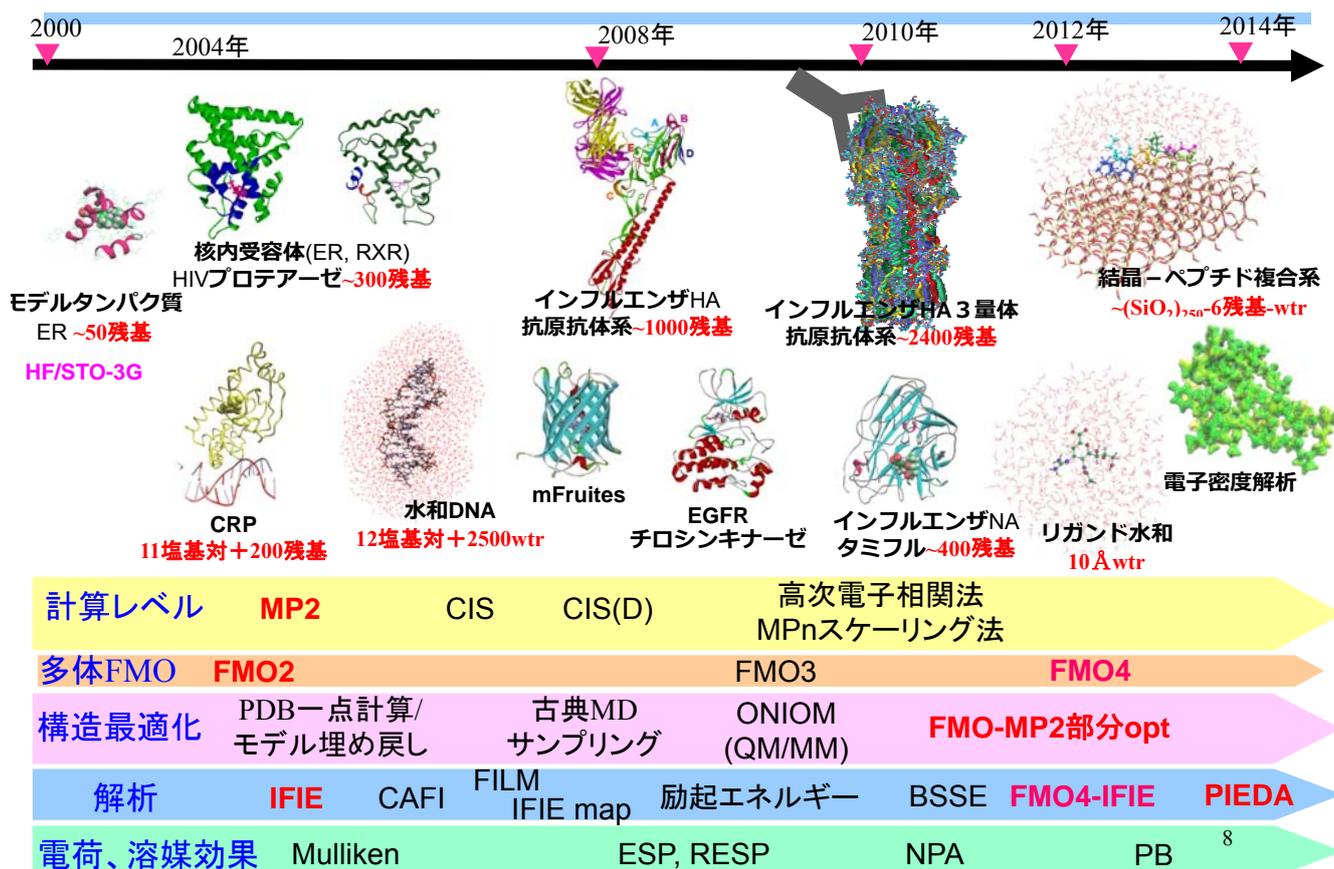
最新版は2014.7.25に公開済、  
現在はHPCIプログラム(分野4)で開発を継続中

みずほ版MIZUHO/BioStation (有償)

独自機能(PIEDA等)および技術サポートつき

7

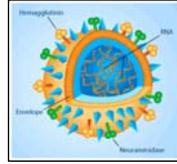
# ABINIT-MPの開発に伴う応用系の発展



# スパコンを駆使した超並列計算と分子設計(ABINIT-MP)

## ■ 2008年 地球シミュレータ

インフルエンザウイルスのHAタンパク質単量体(約1000アミノ酸残基)FMO-MP2計算が**53.4分**で完了!



## ■ 2010年 地球シミュレータ2

HA3量体のFMO-MP3計算  
NA-タミフル複合体のFMO-MP3計算

ウイルス変異予測とタミフル作用模擬計算

## ■ 2012年 地球シミュレータ2

創薬分子設計の新手法を発表(右記)

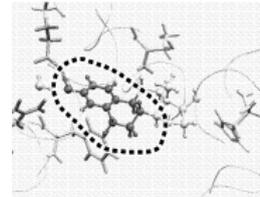
## ■ 2013年 FOCUSスパコン

ナノバイオ系への初の適用例  
インプラントの設計などに期待

## ■ 2014年 京コンピュータ

1万ノードを用いた計算  
インフルエンザNAのFMO4計算 1.2時間

2015年からは、FMO創薬コンソーシアムを母体として「京」産業利用課題を推進



主ホルモンを分割した場合の結合  
焦点領域内が分割した女性ホルモン、  
)濃さで引力や反発力がわかる)

### ずほ情報総研などソフト

**効果素早く  
開発期間を**  
神戸大学、国立医薬品  
食品衛生研究所との成  
果。研究グループは、新  
ソフトを近くネット上で  
無償公開する予定だ。に、ア  
新ソフトはたんばく質  
を構成するアミノ酸に

# スパコンで創薬設計

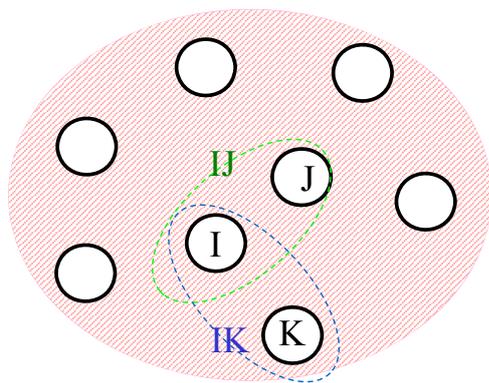
みずほ情報総研の福沢薫チーフコンサルタント、立教大学の望月祐志教授などの共同研究  
は、スーパーコンピュータを使った新薬候補物質の設計を精度高く実現できるソフト  
開発した。病気などに関係するたんばく質と新薬候補の化合物との相互関係を計算し、  
効果を素早く判断する。新薬の開発期間を縮め、コスト削減に役立つとみている。

PCクラスタ(128コア)でも約250残基の  
FMO2-MP2/6-31G\*計算が4時間程度

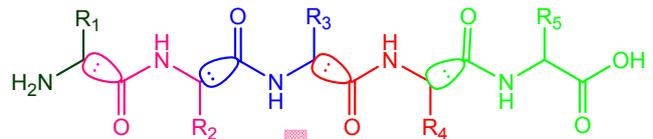
信程度ある  
膨大ななる  
では対応  
のたん  
として  
計算  
従来の時  
にえ新互化を  
(2011,日経産業)

# フラグメント分子軌道(FMO)法とエネルギー解析

◇北浦らが提案: *CPL* 313 (1999) 701



## 分子をフラグメントに分割



- フラグメントモノマー、ダイマー、トリマー…の電子状態から全体を構築
- 周辺のフラグメントからの影響は、環境静電ポテンシャルとして取り込む。
- 原子数NIにほぼ比例する計算量で、数 kcal/mol 以内の全エネルギー誤差で、生体高分子の電子状態や相互作用を計算

## 全エネルギー:

$$E_{total} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ} + \sum_{I>J>K} \Delta \tilde{E}_{IJK} + \sum_{I>J>K>L} \Delta \tilde{E}_{IJKL} + \dots$$

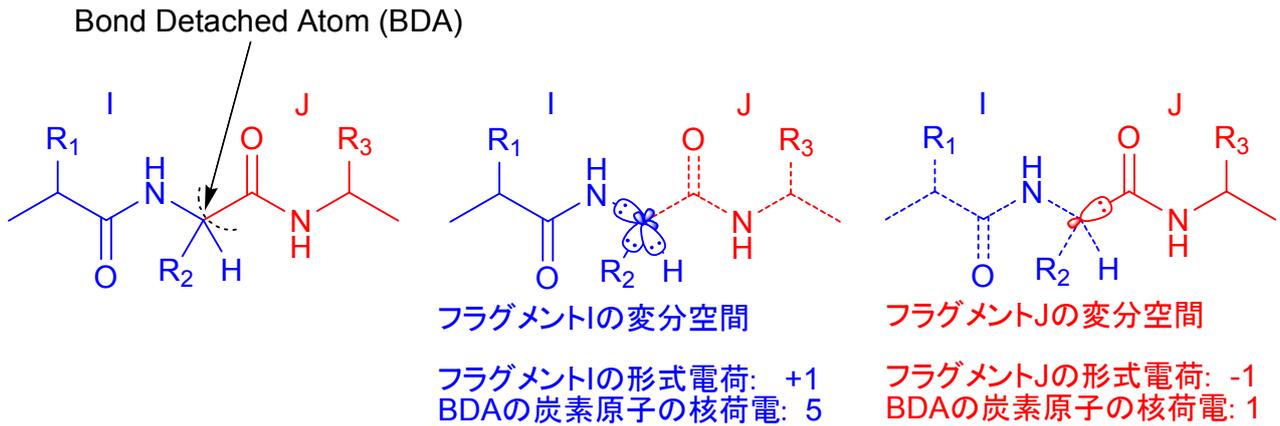
FMO2ではモノマーとダイマーのエネルギーから全エネルギーを算出

## フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE): $\Delta \tilde{E}_{IJ}$

モノマー間の相互作用エネルギー ➡ 分子内・分子間の相互作用を定量的に解析できる

# どうやって分子をフラグメントに分割するか？

- C-H間の原子間距離を1.09Åに固定したメタン分子の局在化軌道(sp<sup>3</sup>混成軌道に相当)を使った射影演算子を用いて、フラグメントの分子軌道をフラグメント内に局在化する。
- sp<sup>3</sup>炭素でフラグメントに分割
- sp<sup>2</sup>炭素やsp<sup>3</sup>ケイ素で分割することも可能



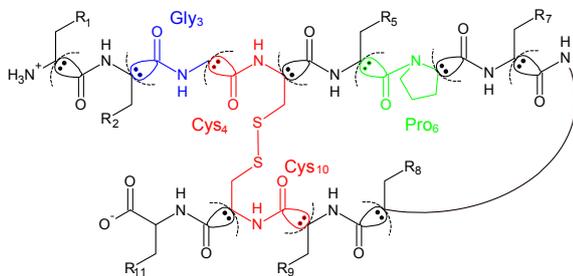
11

# タンパク質・DNAのフラグメント分割

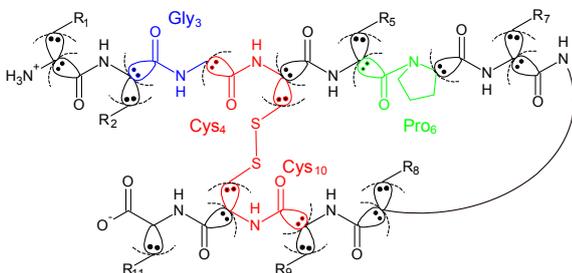
- アミノ酸を主鎖さらには側鎖に分割
- DNAをヌクレオチド、もしくは塩基を別に分割

## タンパク質分割モデル

(a) 主鎖分割

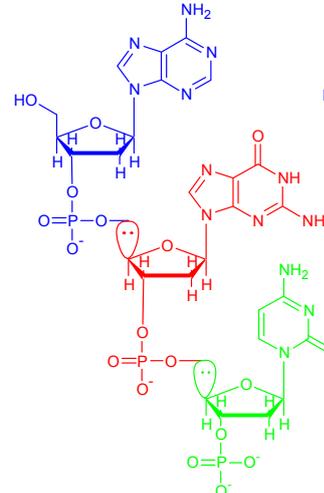


(b) 主鎖-側鎖分割

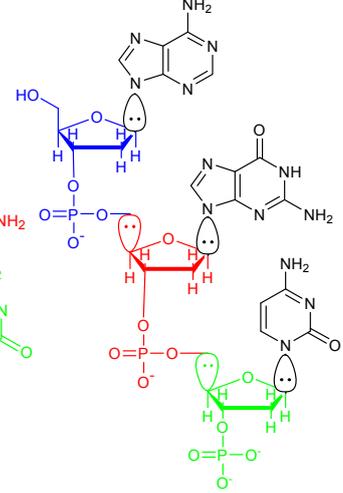


## DNA分割モデル

(a) ヌクレオチド単位



(b) 塩基別



化合物をsp<sup>3</sup>炭素で分割することも可  
(多体補正が必要)

12

## フラグメントのHartree-Fock-Roothaan方程式

$$\mathbf{F}^X \mathbf{C}^X = \mathbf{S}^X \mathbf{C}^X \boldsymbol{\varepsilon}^X$$

周囲のモノマーからの環境静電ポテンシャル

$$\mathbf{F}^X = \mathbf{H}^X + \mathbf{G}^X$$

$$H_{pq}^X = H_{pq}^{\text{core } X} + V_{pq}^X + \sum_k B_k \langle p | \theta_k \rangle \langle \theta_k | q \rangle,$$

$$V_{pq}^X = \sum_{L \neq X} (u_{pq}^L + v_{pq}^L)$$

$$u_{pq}^L = \sum_{A \in L} \langle p | (-Z_A / |\mathbf{r} - \mathbf{A}|) | q \rangle$$

$$v_{pq}^L = \sum_{rs \in L} P_{rs}^L(pq, rs)$$

$$G_{pq}^X = \sum_{rs} P_{rs}^X [(pq, rs) - \frac{1}{2}(ps, rq)]$$

MOをフラグメント内に局在化させるためのシフト演算子。  
 $B_k=10^6$ 。 $\theta_k$ にはメタン分子( $R_{C-H}=1.09\text{\AA}$ )の局在化分子軌道(LMO)を用いる。

13

## FMO2法による分子の全エネルギーおよび全電子密度

$$E_I = E_I^{\text{elec}} + \sum_{\substack{A>B \\ A,B \in I}} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{B} - \mathbf{A}|}$$

$$E_{IJ} = E_{IJ}^{\text{elec}} + \sum_{\substack{A>B \\ A,B \in IJ}} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{B} - \mathbf{A}|}$$

$$E \cong \sum_{I>J} E_{IJ} - (N_f - 2) \sum_I E_I$$

$$\rho(\mathbf{r}) \cong \sum_{I>J} \rho_{IJ}(\mathbf{r}) - (N_f - 2) \sum_I \rho_I(\mathbf{r})$$

14

# 高速化のための近似

- 環境静電ポテンシャル計算の高速化

esp-aoc近似 (Mulliken AO population)

2電子積分のMulliken近似

$$v_{pq}^L \cong \sum_{r \in L} (\mathbf{P}^L \mathbf{S}^L)_{rr} (pq, rr) \quad \text{for } R_{\min}(X, L) \geq L_{\text{aoc}}$$

esp-ptc近似 (Mulliken atomic charge)

点電荷近似

$$v_{pq}^L \cong \sum_{A \in L} \langle p | (Q_A / |\mathbf{r} - \mathbf{A}|) | q \rangle \quad \text{for } R_{\min}(X, L) \geq L_{\text{ptc}}$$

$$Q_A = \sum_{r \in A} (\mathbf{P}^L \mathbf{S}^L)_{rr}$$

- ダイマー計算の高速化 (dimer-es近似)

$$E'_{IJ} \cong E'_I + E'_J + \text{Tr}(\mathbf{P}^I \mathbf{u}^J) + \text{Tr}(\mathbf{P}^J \mathbf{u}^I) + \sum_{pq \in I} \sum_{rs \in J} \mathbf{P}_{pq}^I \mathbf{P}_{rs}^J (pq, rs)$$

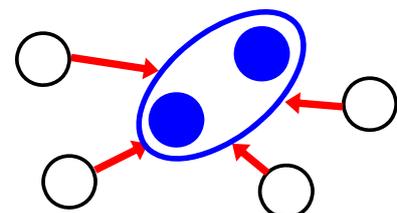
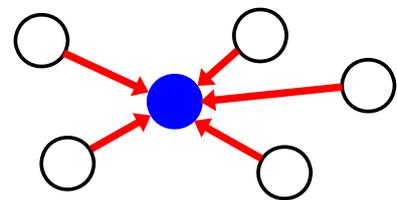
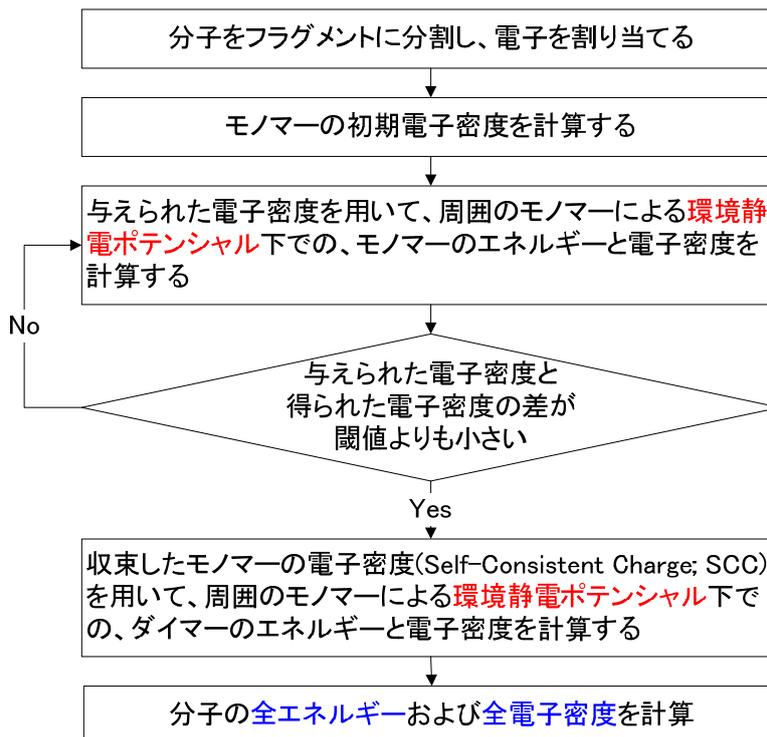
モノマー間の静電相互作用

演算量が $O(N^3)$ から $O(N^2)$ に減少

これらの近似を導入したエネルギー勾配も計算可能

15

# FMO法計算の流れ



16

# FMO法と相互作用解析

## フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)

### フラグメント単位の二体の相互作用解析

受容体-リガンド、DNA、タンパク-タンパク等の相互作用に広く利用

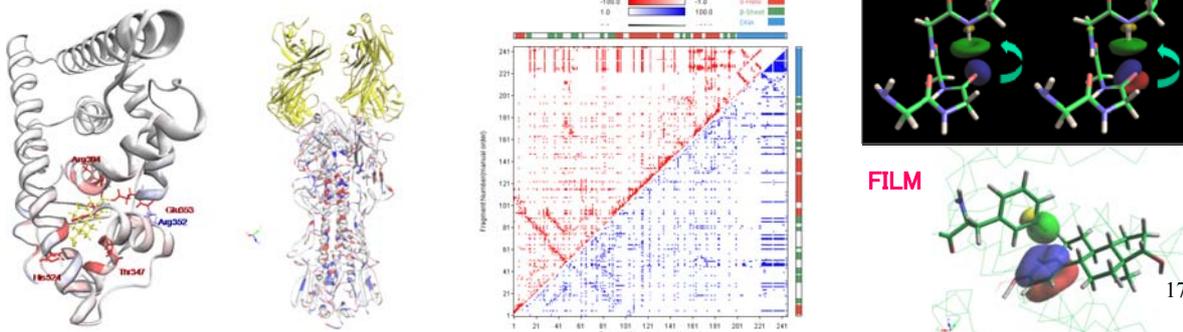
- ◆ 立体表示、2次元マップ(IFIE map)
- ◆ エネルギー成分分割法 PIEDA
- ◆ 多体IFIE解析

$$E^{\text{FMO}2} = \sum_{I>J} E_{IJ} - (N-2) \sum_I E_I = \sum_I E_I + \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ}$$

## 軌道相互作用解析

- ◆ CAFI(Configuration analysis for fragment interaction) ⇒ 電荷移動・分極相互作用
- ◆ FILM(Fragment Interaction based on Local MP2) ⇒ 分散相互作用(CH/π, π/π)

IFIEよりも詳細な、軌道レベルの相互作用解析



# FMO法によるタンパク質-リガンド結合性の評価と相互作用解析

## (1) リガンド結合エネルギー

$$\Delta E_{bind} = E_{complex} - (E_{receptor} + E_{ligand})$$



結合定数(実験値)と結合自由エネルギー(計算値)との関係

$$\Delta G_{bind} = -RT \ln K_d = -2.303RT \log K_d$$

$$K_d = \frac{[\text{タンパク質}][\text{リガンド}]}{[\text{タンパク質-リガンド複合体}]}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

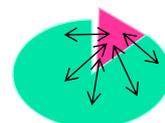
↑  
ΔEに相当

本来は溶媒和・脱溶媒和の考慮も必要

## (2) フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)解析

➤ 複合体の一点計算のみから、ER-リガンドの相互作用を解析

$$\Delta E_{bind} \approx \sum_{K=1}^N \Delta \tilde{E}_{IK} \quad I = \text{ligand}$$

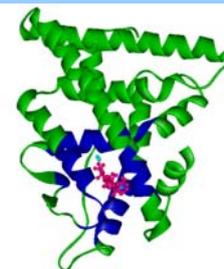


➤ 個別のIFIE値はリガンドと各アミノ酸残基との相互作用を表す  
⇒ 残基単位での相互作用解析が可能

※フラグメント分割はアミノ酸残基単位

# 事例1: エストロゲン受容体(ER)とリガンドの相互作用

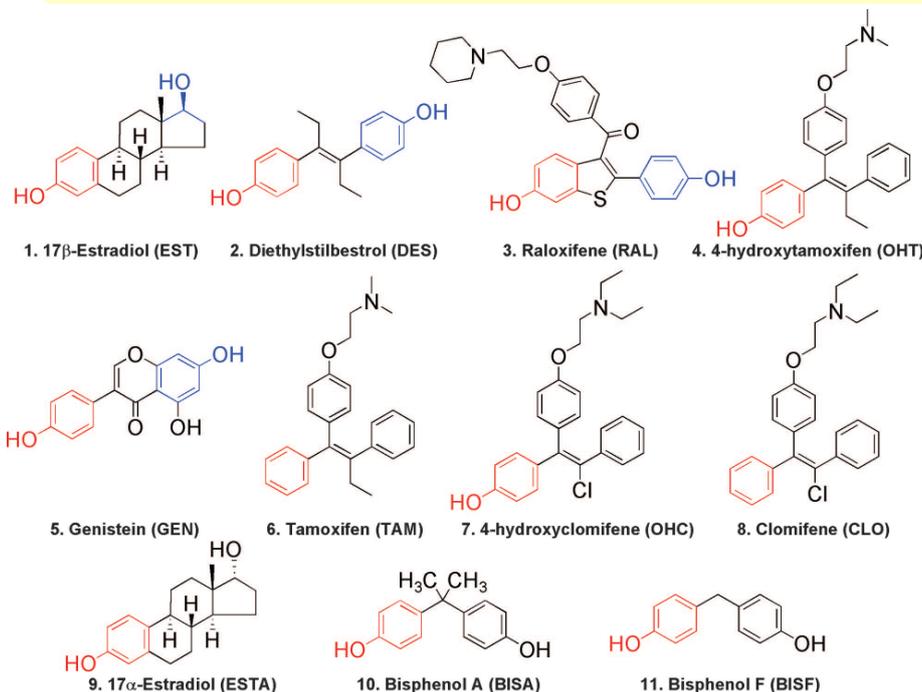
- エストロゲン様化合物と受容体との結合親和性予測
- リガンド-アミノ酸間相互作用の解析



結合実験値

(Relative binding affinity; RBA)

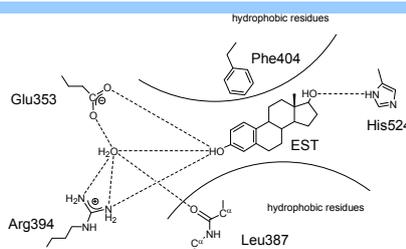
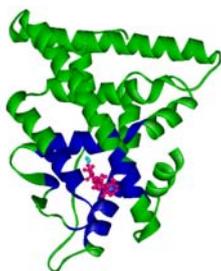
Ligand	RBA
17β-Estradiol	100*
17α-Estradiol	7
Diethylstilbestrol	236 *
Raloxifene	69 *
4-Hydroxytamoxifen	257*
Tamoxifen	4
Genistein	4
Coumestrol	20
Daidzein	0.1



量子化学計算により、ERとリガンド化合物の結合性を明らかにする

19

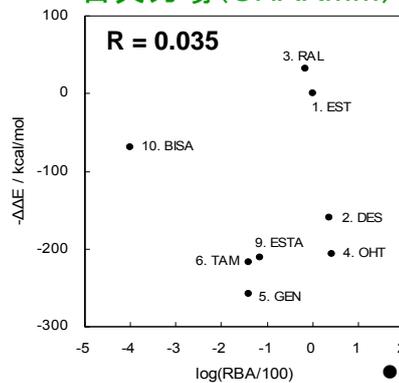
## エストロゲン受容体のリガンド結合予測



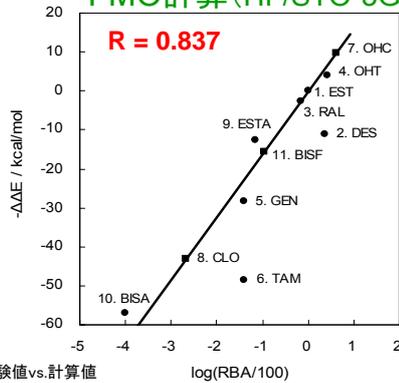
Fukuzawa et al.,  
Pure Appl. Chem. 75, 2405 (2003).  
J. Comput. Chem. 26, 1 (2005).

※ ERは50残基にモデル化

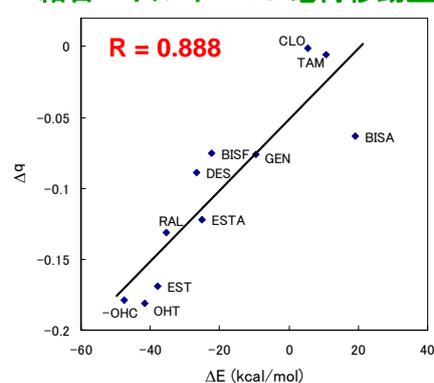
古典力場 (CHARMM)



FMO計算 (HF/STO-3G)



結合エネルギー vs 電荷移動量

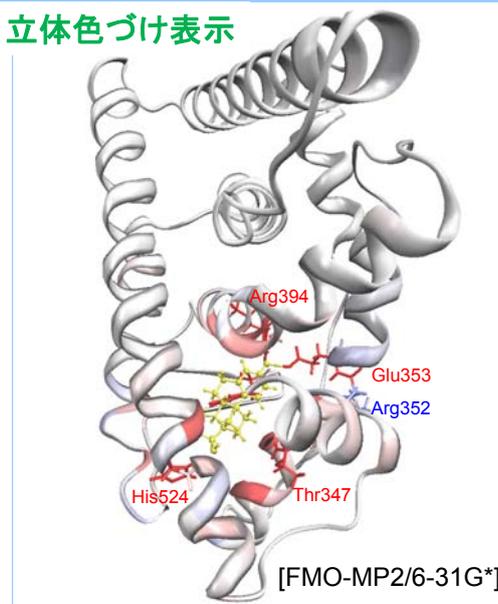


- ERからリガンドへの電荷移動が起こる(殆どはGlu353からの供給)
- 電荷移動量が大きいかほど結合エネルギーも大きい

20

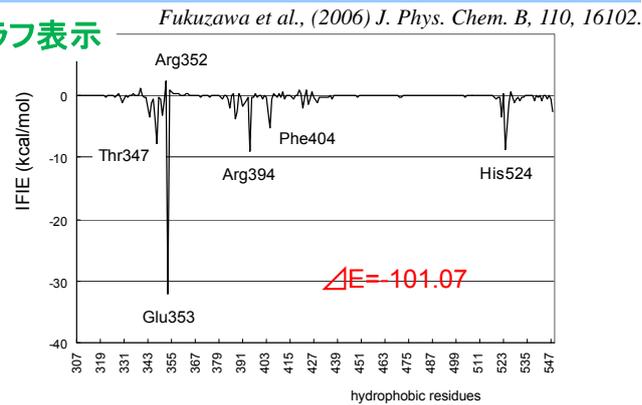
# 各アミノ酸残基とリガンドとの相互作用(IFIE)

## 立体色づけ表示

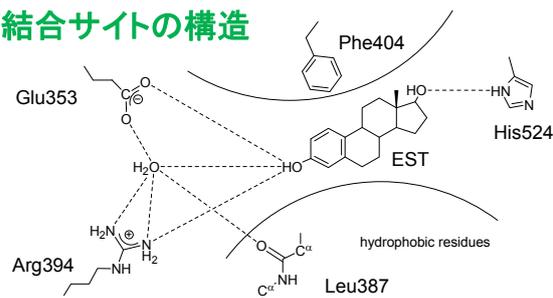


-5 +5kcal/mol  
黄色のリガンド分子に対して安定化・不安定化

## グラフ表示



## リガンド結合サイトの構造



- 水素結合ネットワークを形成する極性・荷電アミノ酸残基と強く相互作用する
- ER-ligand相互作用はリガンド周辺に局在化
- 全ての残基に対するIFIEを足し合わせるとリガンド結合エネルギー(ΔE)が計算できる<sup>21</sup>

# PIEDA による相互作用エネルギーの成分分割

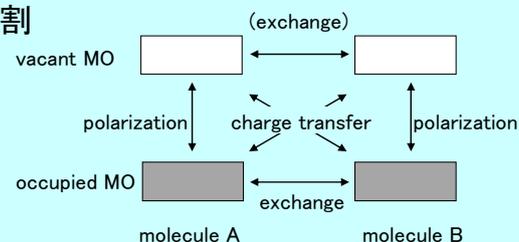
## ■ PIEDAとは (Pair Interaction Energy Decomposition Analysis)

- 北浦-諸熊のエネルギー分割法をFMOに適用し、相互作用を各成分(静電相互作用、交換反発、電荷移動、分散力)に分解して解析する手法

$$\Delta E \text{ (IFIE)} = \Delta E_{ES} + \Delta E_{EX} + \Delta E_{CT} + \Delta E_{DI}; \text{ IFIEを各エネルギー成分に分割}$$

### フラグメント間相互作用エネルギーΔE (IFIE) の分割

- ・ 静電相互作用エネルギー  $\Delta E_{ES}$
- ・ 交換反発エネルギー  $\Delta E_{EX}$
- ・ 電荷移動相互作用エネルギー  $\Delta E_{CT}$
- ・ 分散力(=相関エネルギーと仮定)  $\Delta E_{DI}$



- GAMESSプログラムでは利用可能(D.G.Fedorov, et al., JCC, 28 (2006) 222)
- 市原氏らによる創薬への適用事例 (O.Ichihara, et al., Mol. Inf., 30 (2011) 298)
- タンパク質と医薬品候補化合物との相互作用の「性質」を理解するのに有効  
⇒ 相互作用の理解から論理的な創薬、化合物のデザインに結びつける

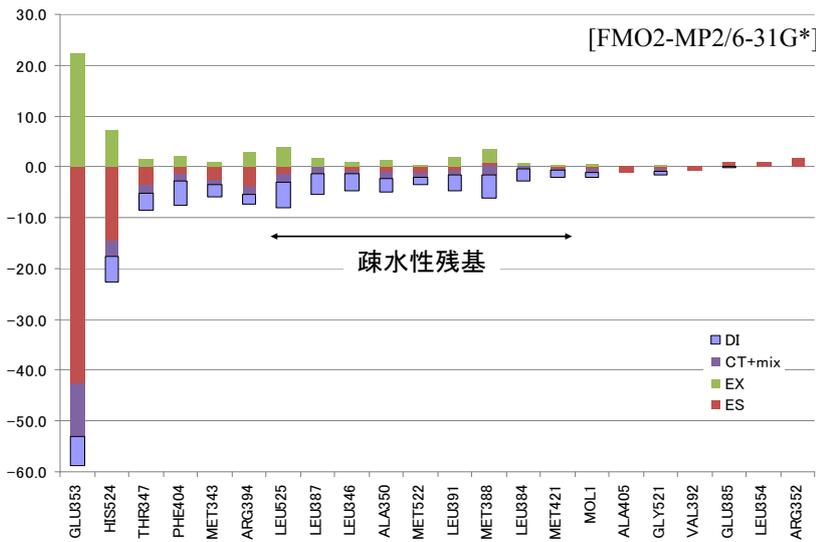
- ABINIT-MPでは、MIZUHO/BioStation に実装されている (T.Tsukamoto, et al., JCCJ, 14 (2015) 1)

# PIEDAによるER-リガンド相互作用の成分分割

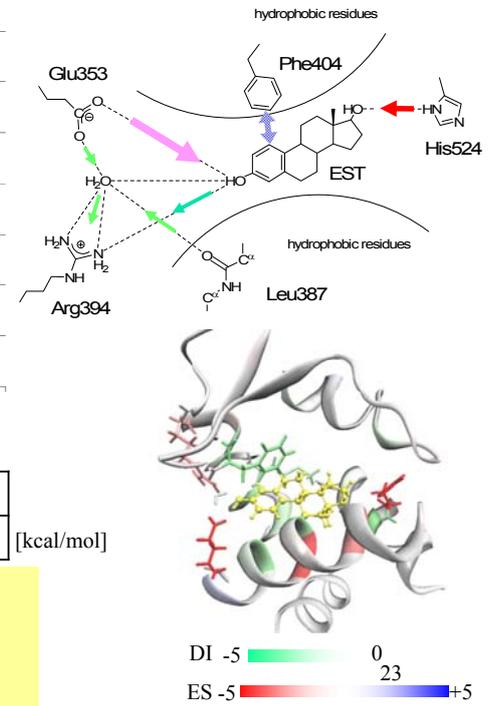
$\Delta E$  (IFIE) =  $\Delta E_{ES}$  +  $\Delta E_{EX}$  +  $\Delta E_{CT}$  +  $\Delta E_{DI}$ ; IFIEを各エネルギー成分に分割

T.Tsukamoto, et al., JCCJ, 14 (2015) 1

【みずほ版BioStationを利用】



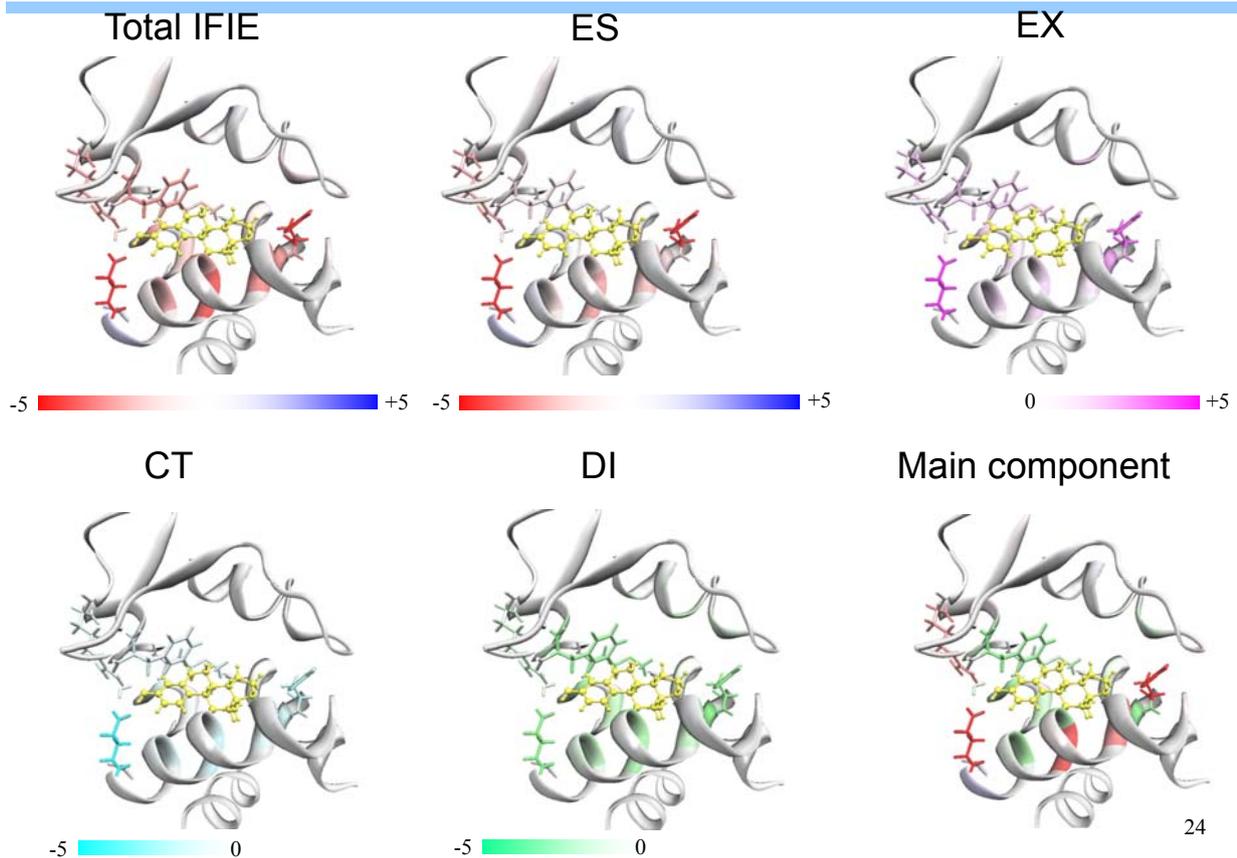
IFIE	ES	EX	CT+mix	DI	リガンド電荷
-107.74	-73.47	55.49	-29.61	-60.16	-0.13



ES項、DI項が同程度、CT項の寄与も大きい

⇒ 水素結合ネットワークは静電力(ES)+電荷移動力(CT)、  
疎水性コアは分散力(DI)

# PIEDAによるER-リガンド相互作用の可視化



## 事例2: インフルエンザNAとタミフルの相互作用

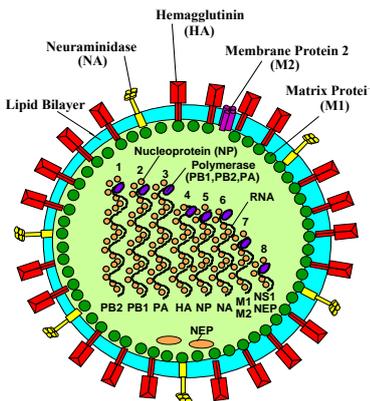
- 2種類の重要な膜表面タンパク質(HA, NA)
- ウイルス亜型はHA(H1-H16)とNA(N1-N9)の組で決まる
- HAはウイルスの感染過程で作用
- NAは増殖したウイルスが宿主細胞から脱出する過程で作用
- **タミフル**と**リレンザ**はNA阻害剤(SBDDにより開発)



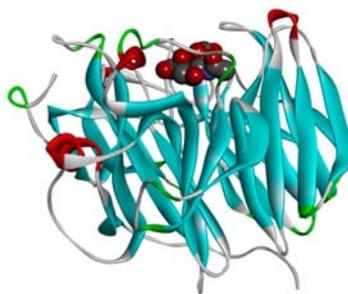
Nature News 2012/1/20より

SBDD: Structure Based Drug Design

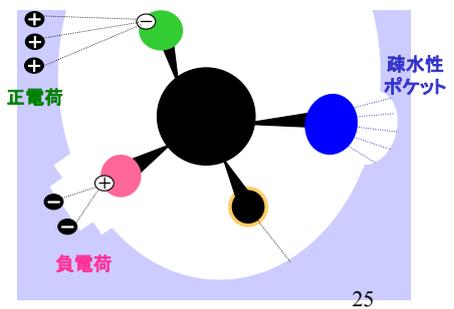
リガンドと標的タンパク質との立体構造および相互作用を考慮した論理的創薬手法



NA-シアル酸複合体構造



受容体タンパク質と化合物の相互作用



25

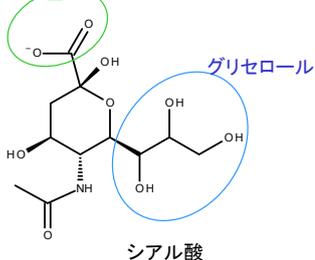
## 計算科学による抗インフルエンザ薬の設計

抗インフルエンザ薬であるタミフルやリレンザは、ノイラミニダーゼ(NA)をターゲットとしたSBDDによって開発された医薬品

SBDD: Structure Based Drug Design

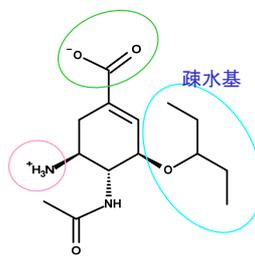
リガンドと標的タンパク質との立体構造および相互作用を考慮した論理的創薬手法

カルボキシル基



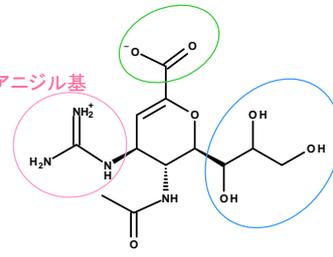
シアル酸

疎水基



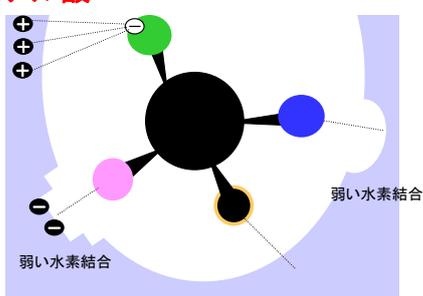
タミフル(活性体構造)

グアニジル基

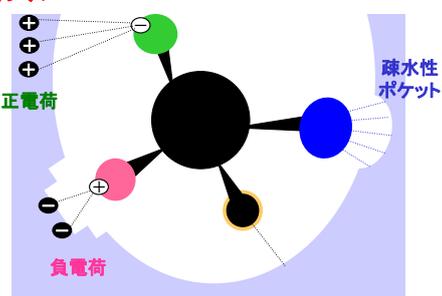


リレンザ

シアル酸



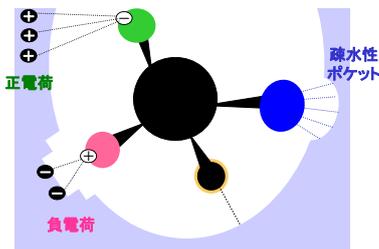
タミフル



26

# 阻害剤/基質と各アミノ酸残基間のIFIE・水素結合距離の比較

残基番号	FMO2-IFIE(kcal/mol), 距離(Å)					
	タミフル		リレンザ		シアル酸	
Arg118	-24.0	(1.66)	-29.5	(1.72)	-77.9	(1.63)
Glu119	-77.7	(1.68)	-35.2	(2.98)	41.5	(3.10)
Asp151	-59.0	(1.70)	-42.2	(1.71)	7.8	(2.07)
		-		(1.92)		(1.56)
Arg152	-20.3	(1.97)	-56.0	(1.83)	-48.9	(2.66)
Ser246	-2.0	-	-3.8	(3.72)	-17.2	(1.67)
Glu276	-9.7	(2.90)	-30.0	(2.30)	16.4	(1.74)
		(2.78)		(1.81)		
Arg292	-48.8	(1.81)	-46.0	(1.89)	-105.0	(1.77)
		(1.93)		(2.15)		(1.92)
Tyr347	-23.5	(1.59)	-13.7	(2.98)	-28.6	(1.63)
Arg371	-92.9	(1.75)	-91.7	(1.80)	-132.8	(1.77)
		(1.66)		(1.64)		(1.74)
IFIE-SUM	-362.0		-386.4		-291.5	



シアル酸: 極性基  
 タミフル、リレンザ: 正イオン基  
 シアル酸、リレンザ: 極性基  
 タミフル: 疎水基

\*K<sub>i</sub>(expt) 0.32(nM) 0.1(nM) \*P.J.Collins et. al, Nature, 453 (2008)1258.

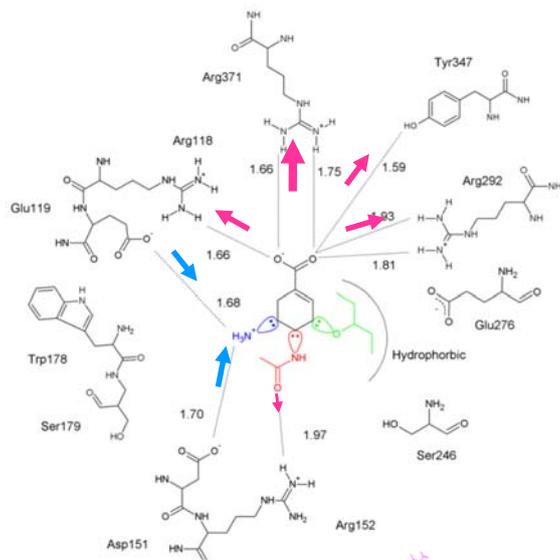
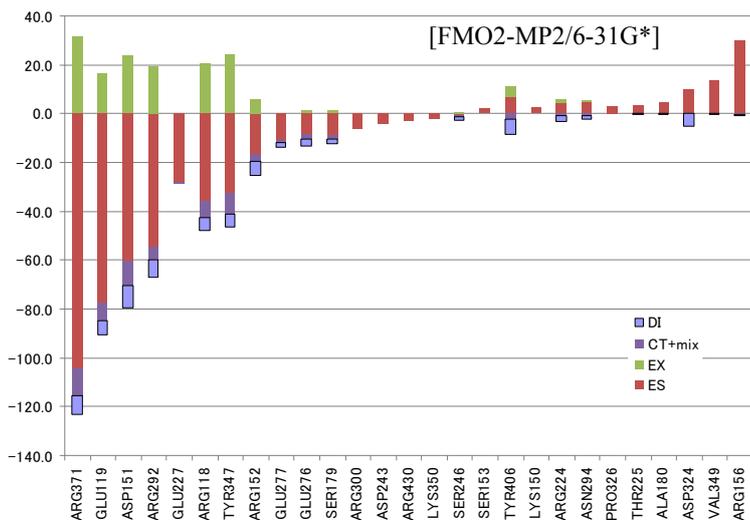
タミフル/リレンザ(両性イオン)-NAの相互作用⇒結合距離:短→安定化の寄与も大きい  
 シアル酸(負イオン)-NAの相互作用⇒電荷による静電的相互作用の寄与も大きい

大まかなファーマコフォアの描像が得られている  
 ➡ 詳細な解析には部分構造の評価が必要

27

# PIEDAによるNA-タミフル相互作用解析

T.Tsukamoto, et al., JCCJ, 14 (2015) 1



IFIE	ES	EX	CT+mix	DI	リガンド電荷
-350.18	-367.99	155.31	-62.27	-75.22	0.065

[kcal/mol]

殆どがES項 ⇒ 静電相互作用が支配的

28

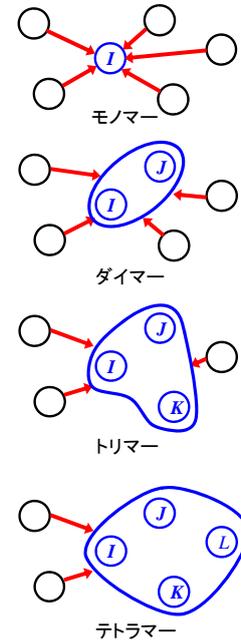
# 多体展開FMO法を用いた詳細解析

中野, 望月他, *Chem. Phys. Lett.* 523 (2012) 128-133.

従来のFMO2法を拡張し、3体項、4体項まで考慮したFMO3、FMO4法を適用

## 全エネルギー

$$E_{\text{total}} = \sum_I E'_I + \underbrace{\sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ}}_{\text{FMO2}} + \underbrace{\sum_{I>J>K} \Delta\tilde{E}_{IJK}}_{\text{FMO3}} + \underbrace{\sum_{I>J>K>L} \Delta\tilde{E}_{IJKL}}_{\text{FMO4}}$$



## フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE)

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO2}} = \Delta\tilde{E}_{IJ}$$

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO3}} = \Delta\tilde{E}_{IJ}^{\text{FMO2}} + \frac{1}{3} \sum_K \Delta\tilde{E}_{IJK}$$

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO4}} = \Delta\tilde{E}_{IJ}^{\text{FMO3}} + \frac{1}{6} \sum_{KL} \Delta\tilde{E}_{IJKL}$$

従来法(FMO2):

リガンドは1つのフラグメント、アミノ酸は残基単位に分割

新規手法(FMO4):

リガンドを複数のフラグメント、アミノ酸の主鎖・側鎖分割が可能

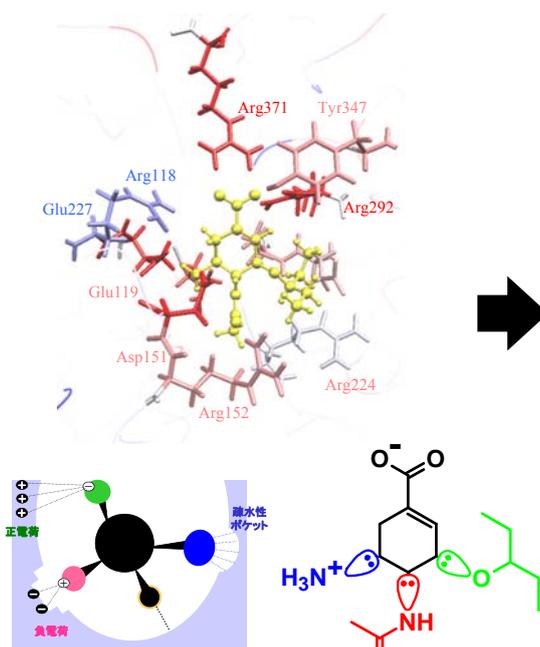
NA-タミフル相互作用解析には、PIEDAよりも多体IFIEの方が向いている <sup>29</sup>

## 官能基単位の相互作用解析 インフルエンザNAとタミフルのFMO4相互作用解析

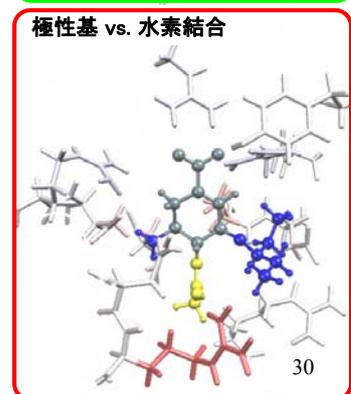
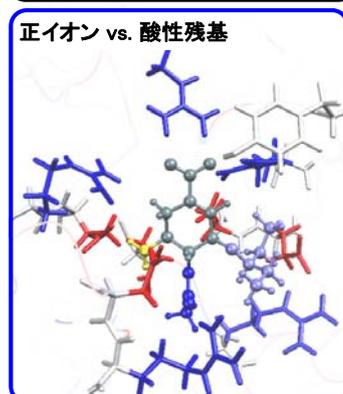
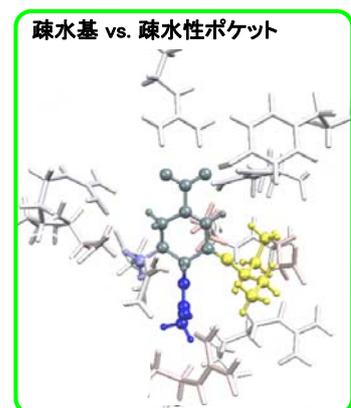
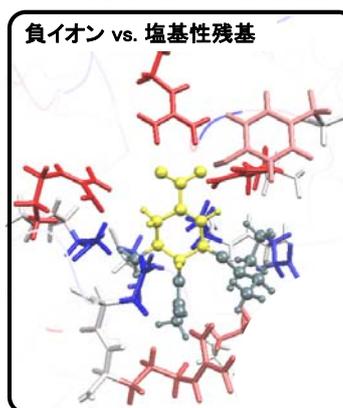
従来の分割法:

リガンド全体が均一化された描像

新規分割法: 官能基ごとの相互作用を可視化



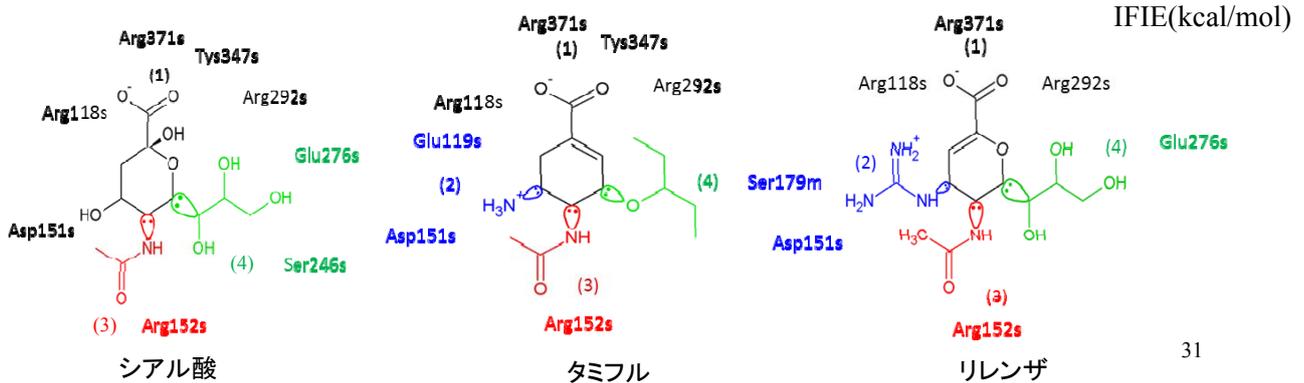
タミフルを4つの部分構造に分割



# 各リガンドにおける官能基ごとのIFIE評価

FMO4-CDAM-MP2/6-31G\*

	シアル酸				タミフル					リレンザ				
	(1)+(2)	(3)	(4)	all	(1)	(2)	(3)	(4)	all	(1)	(2)	(3)	(4)	all
GLU119s	52.2	-5.0	-4.2	43.1	43.7	-110.0	-4.2	-2.9	-73.4	46.1	-69.6	-3.4	-1.7	-28.6
ASP151s	15.2	1.2	-5.8	10.7	45.1	-108.1	2.3	0.5	-60.1	58.9	-89.3	-2.2	-4.0	-36.6
ARG152s	-25.0	-19.8	-4.3	-49.1	-25.9	45.1	-28.5	-4.6	-14.0	-29.8	46.3	-31.3	-9.3	-24.1
SER179m	4.3	-2.6	-0.7	1.0	2.9	-12.3	-3.3	-0.3	-13.0	2.6	-40.6	-0.5	-0.1	-38.6
GLU276s	44.9	-1.1	-24.1	19.7	39.6	-37.2	-2.8	-7.4	-7.9	41.5	-36.0	-2.7	-31.0	-28.3
ARG292s	-118.3	4.7	10.1	-103.5	-102.4	44.0	4.9	3.2	-50.3	-105.0	42.4	5.5	9.3	-47.8
IFIESUM(41)	-228.5	-24.8	-49.6	-302.9	-183.5	-98.6	-45.0	-23.5	-350.7	-164.9	-117.4	-41.8	-41.4	-365.5



31

## リガンドの水和状態の検討

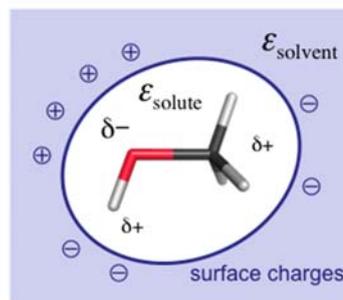
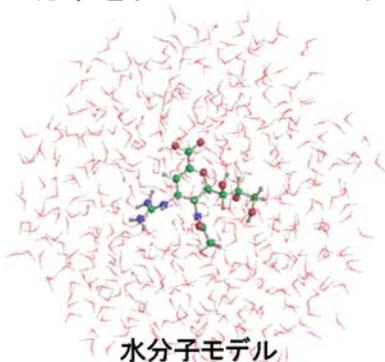
### 1. リガンド水和構造の再検討

従来法: リガンドに水を配置→古典MDシミュレーションでサンプリング

- 古典MD計算による構造はFMO計算には不向き  
⇒ 量子化学計算により、精密なリガンドの水和構造を求める

### 2. リガンド水和エネルギーの検討

- 官能基ごとのリガンド水和エネルギーをFMO4計算により求める  
⇒ 官能基単位で、リガンドの水和・脱水和を評価できる
- 真空中のタンパク質-リガンド相互作用エネルギーと組み合わせる  
⇒ 脱水和効果を含めたタンパク質-リガンド結合エネルギーを評価



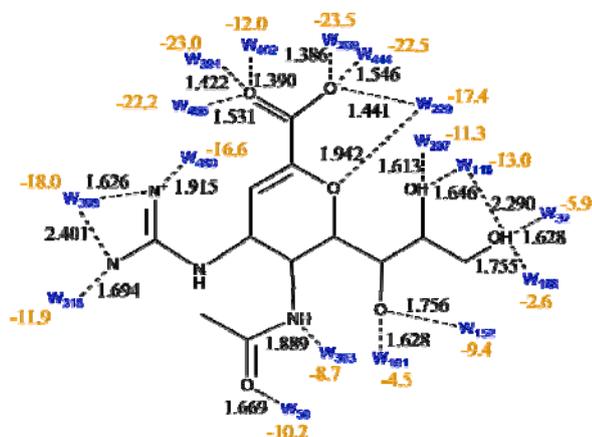
連続溶媒モデル (PB法)

(Okiyama et al., to be published)

32

# 水和構造と相互作用～リレンザの例

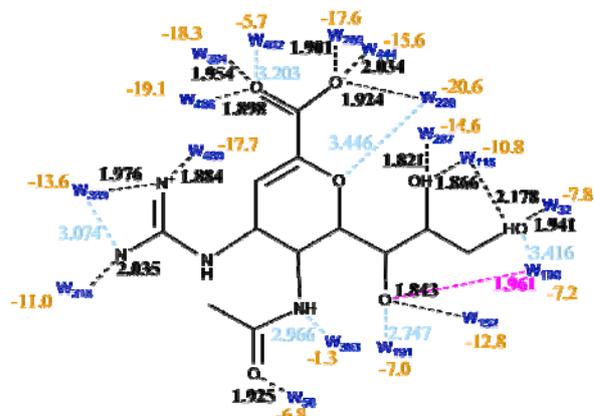
## 古典力場 最適化構造 (Amber99)



水和IFIE:  $-417.2$  kcal/mol  
NPA電荷:  $+0.39$

## QM最適化構造 (HF/6-31G\*:Amber)

QM:リレンザ+水17分子 MM:その他の水507分子(10 Å)



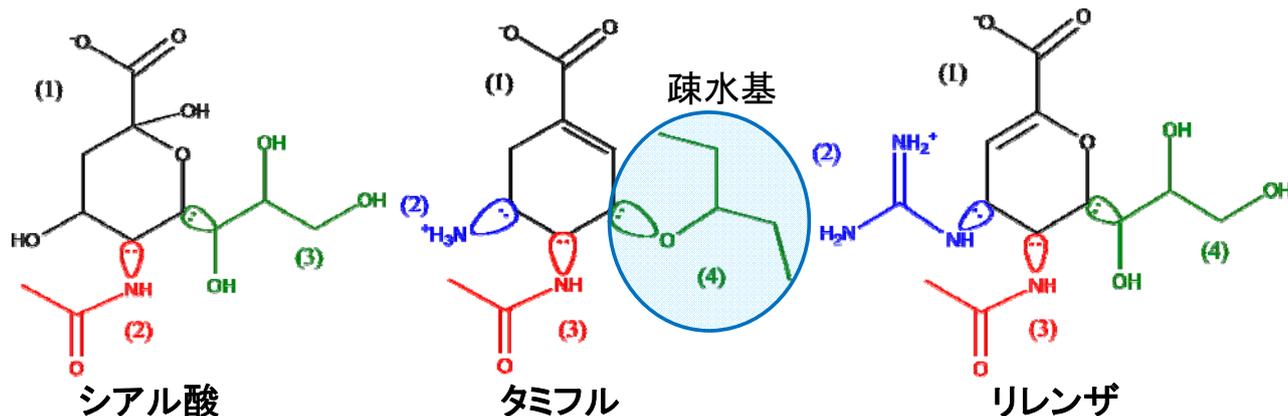
水和IFIE:  $-249.0$  kcal/mol  
NPA電荷:  $-0.04$

水素結合距離[Å]  
水分子:  $W_{No.}$  33  
FMO2-HF-IFIE[kcal/mol]

## 官能基ごとのリガンド水和エネルギーの比較

官能基ごとのIFIE[kcal/mol]

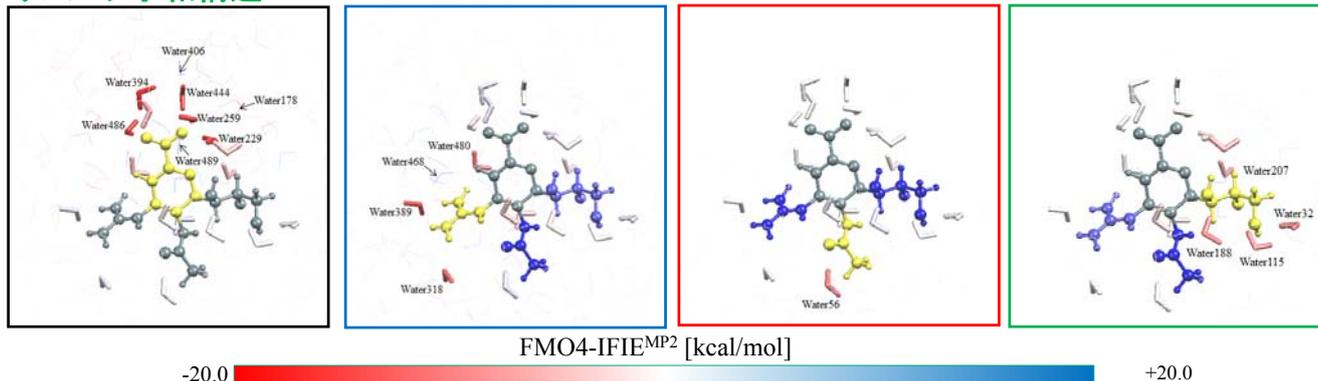
	(1)	(2)	(3)	(4)	Total
シアル酸	-132.95		-22.90	-44.82	-200.66
タミフル	-83.75	-35.15	-25.81	-28.25	-172.96
リレンザ	-109.30	-55.89	-24.84	-57.18	-247.22



# 水和状態とタンパク質結合状態の比較

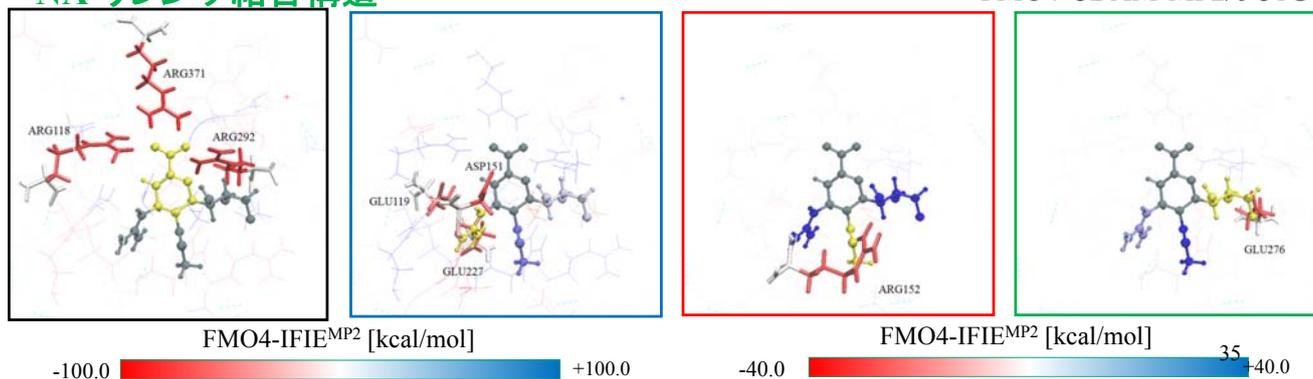
## リレンザ水和構造

FMO4-MP2/6-31G\*



## NA-リレンザ結合構造

FMO4-CDAM-MP2/6-31G\*

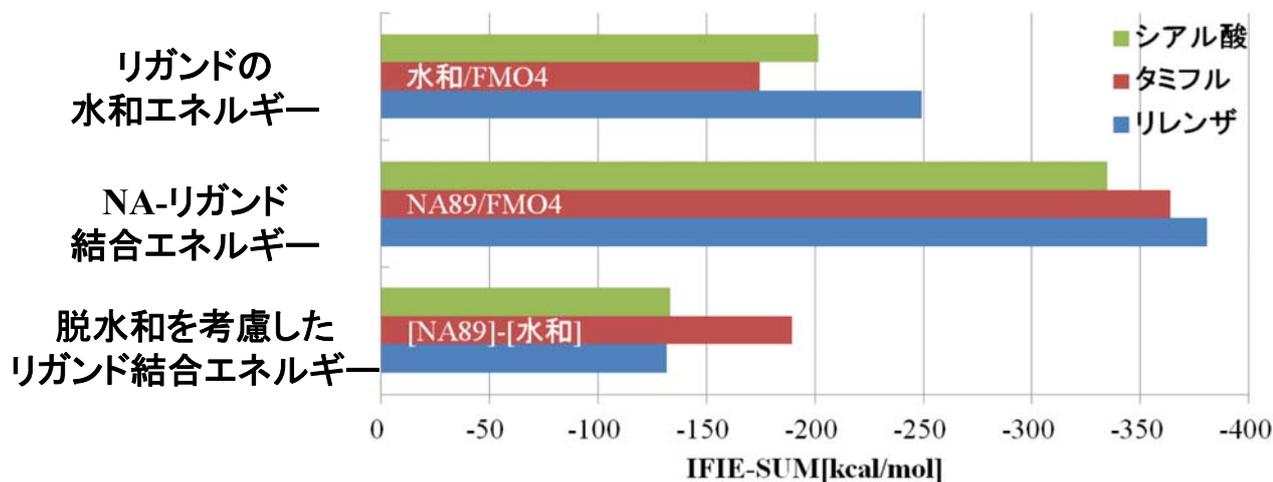


# リガンド結合エネルギーへの脱水和の考慮

(to be submitted)

IFIE-SUM	水和/FMO4	NA89/FMO4 <sup>[2]</sup>	[NA89]-[水和]
シアル酸	-201.40	-334.78	-133.38
タミフル	-174.62	-363.91	-189.29
リレンザ	-248.98	-380.89	-131.91

FMO4-MP2/6-31G\* [kcal/mol]



リガンドの  
水和エネルギー  
(PB)

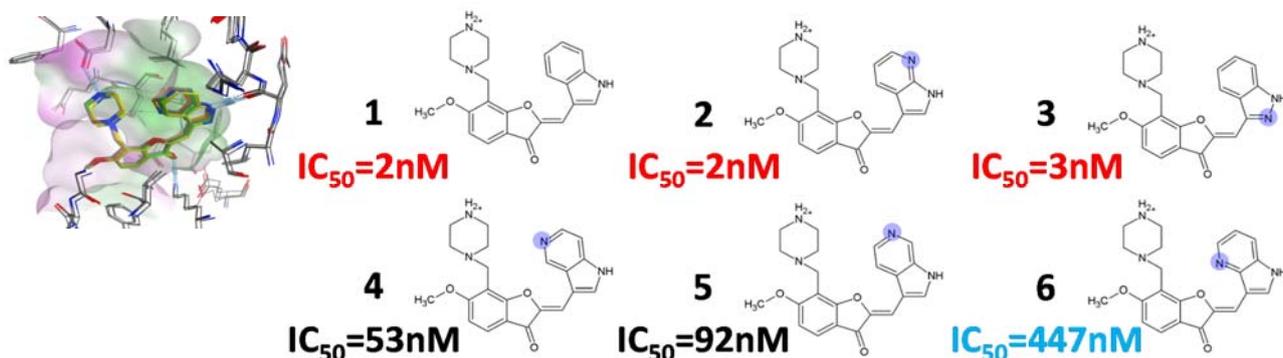


FMO2-PB

# 事例3: セリン・スレオニンキナーゼPim1の阻害活性予測

## Inhibitors of the serine/threonine kinase Pim1

(Nakano, H., et al., J Med Chem., 55:5151-64, 2012.)



A typical example of “activity cliff”

### 目的

1. FMO計算による相互作用エネルギーとMM計算による脱溶媒和を組み合わせることで、計算コストを抑えて活性値予測を行う手法の開拓！
2. 活性値予測のためにどのような構造を用意するのが良いか検討！
  - ① X線結晶構造
  - ② 鑄型モデルをMM最適化構造
  - ③ 鑄型モデルをQM/MM最適化構造

37

# タンパク質-リガンド複合体の相互作用解析プロトコル

**IFIE**  
**FMO3/4-IFIE**

重要な相互作用を網羅的に探索

$$E^{\text{FMO2}} = \sum_{I>J} E_{IJ} - (N-2) \sum_I E_I = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ}$$

**PIEDA**

成分ごとの詳細解析

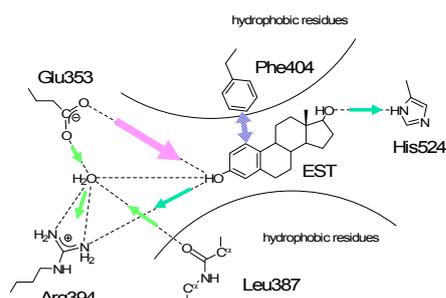
IFIEを各エネルギー成分に分解する。  
⇒ 相互作用の性質がわかる

$$\Delta E_{IJ}^{\text{int}} = \Delta E_{IJ}^{\text{ES}} + \Delta E_{IJ}^{\text{EX}} + \Delta E_{IJ}^{\text{CT+mix}} + \Delta E_{IJ}^{\text{DI}}$$

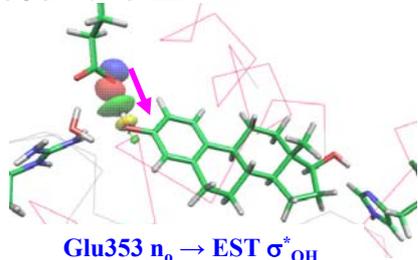
**CAFI, FILM**

軌道レベルの相互作用解析

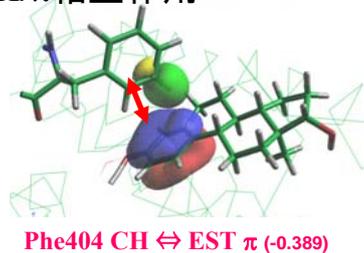
どの官能基とどの官能基がどのような相互作用をしているかがわかる。



電荷移動相互作用



CH/ $\pi$ 相互作用



精密計算のためには  
構造最適化が必須

38

# 中規模～大規模データへ VISCANA:タンパク質-リガンド相互作用の可視化クラスター解析

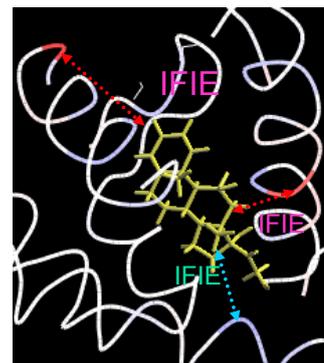
S. Amari, et al., *J. Chem. Inf. Model.* 2006, 46, 221-230; 甘利ら, CBI学会誌 2014, 2, 17-25.

## IFIEの値に基づいたクラスター解析

- IFIEを複数のタンパク質-化合物について計算
- 化合物IJ間の非類似度  $d_{IJ}$  を, リガンド分子-アミノ酸残基間のIFIEの差から計算

$$d_{IJ} = \sum_{K=1}^N (\Delta \tilde{E}_{IK} - \Delta \tilde{E}_{JK})^2$$

- IFIEから計算された非類似度を用いて, **相互作用パターンの階層的クラスター解析**を行う。

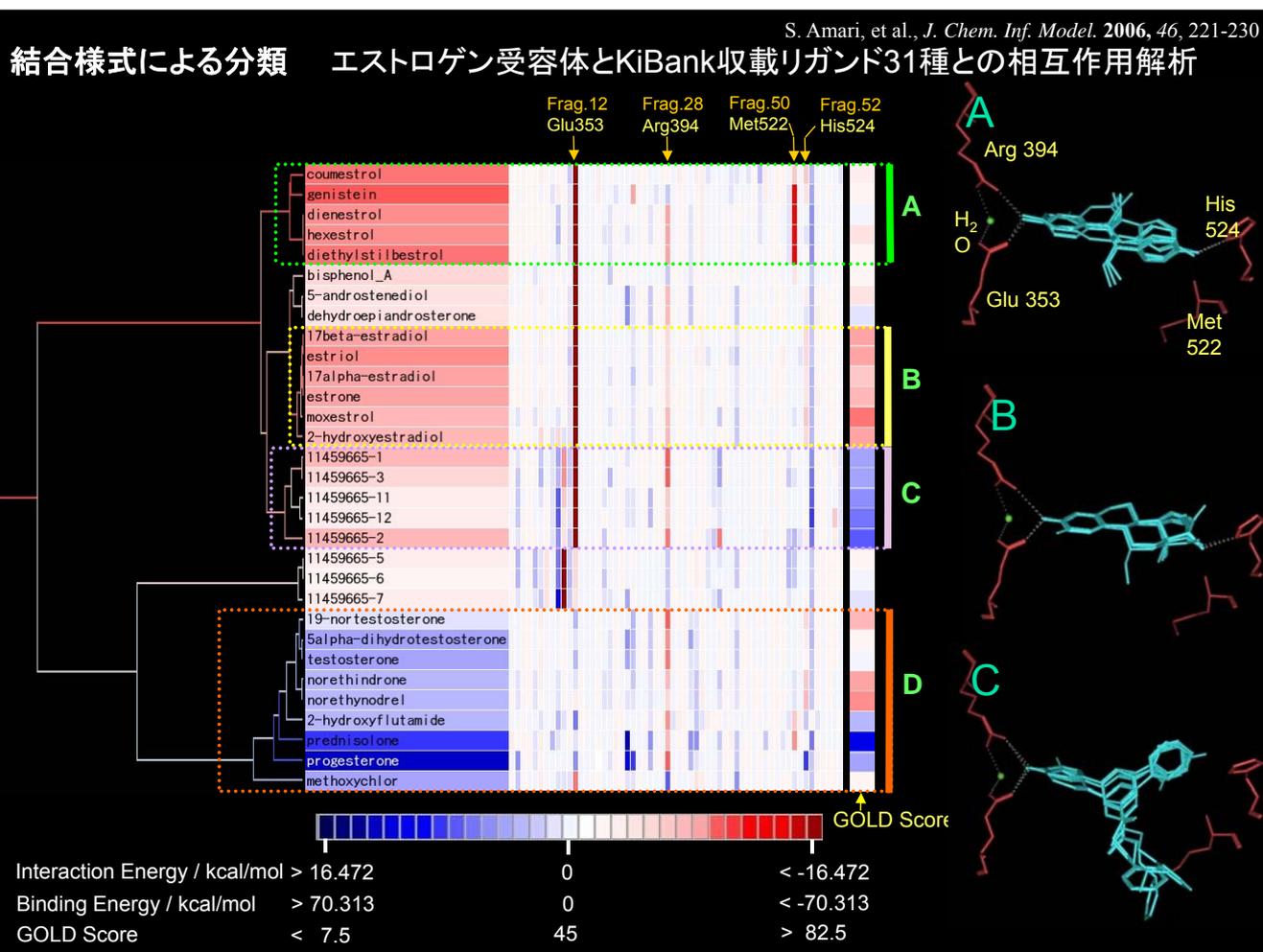


## VISCANAの特徴

- 相互作用パターンからリガンド候補化合物を絞り込むことができる。
- 形状が類似していても重要な相互作用をしない化合物を分離できる。
- 複数のドッキングコンフォメーションの比較も可能。

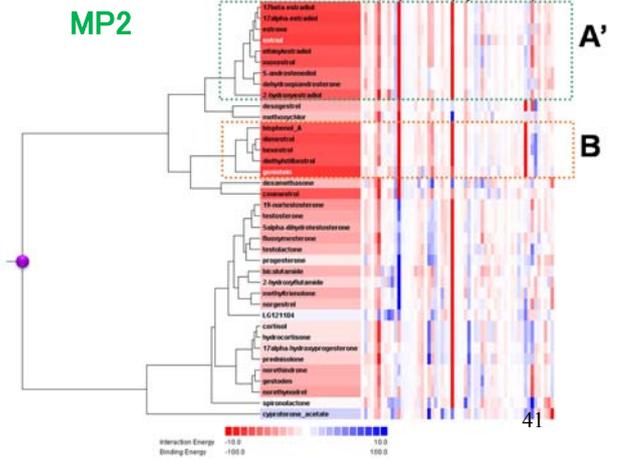
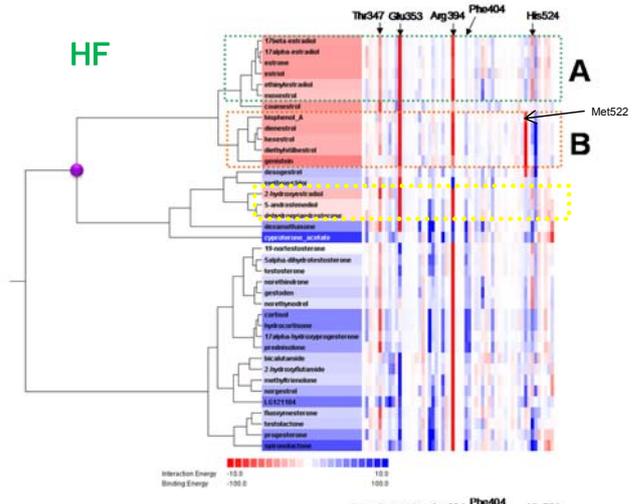
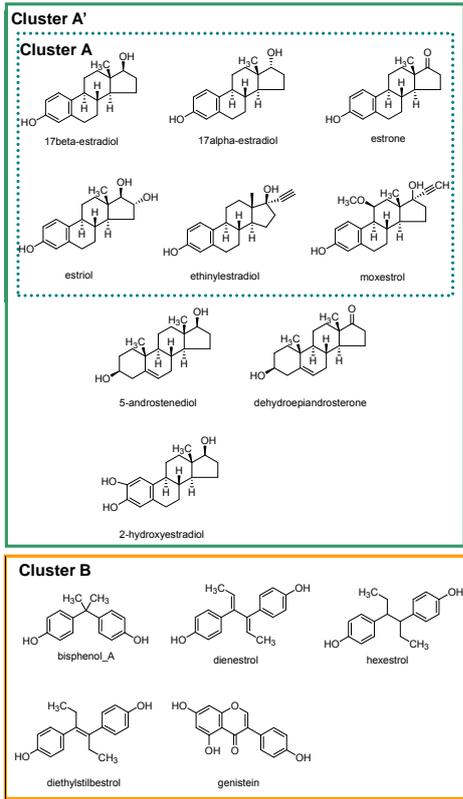
## 事例

- ① エストロゲン受容体(ER)-リガンド結合: 31化合物 57残基モデル使用
- ② エストロゲン受容体(ER)-リガンド結合: 38化合物 57残基モデル使用  
アンドロゲン受容体(AR)-リガンド結合: 38化合物 100残基モデル使用



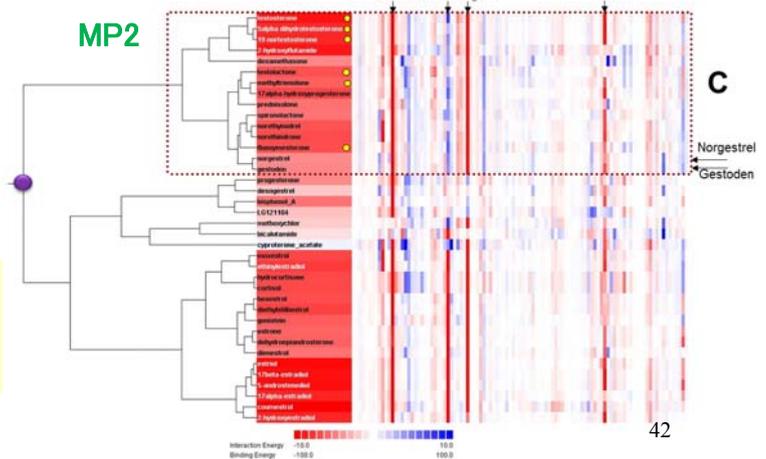
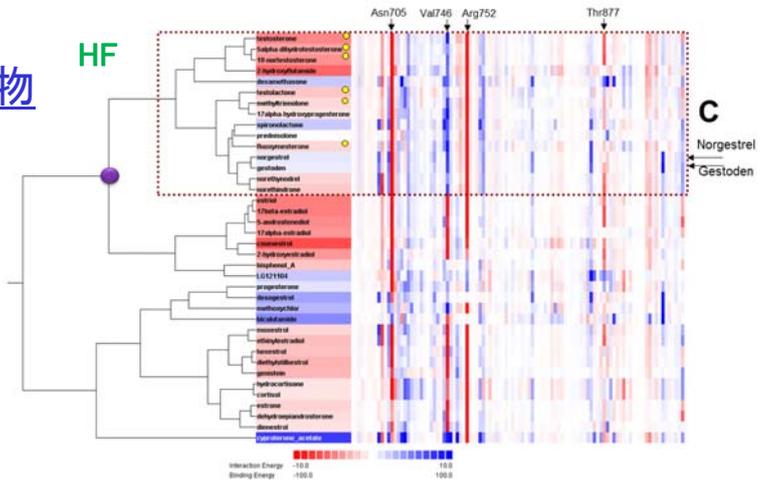
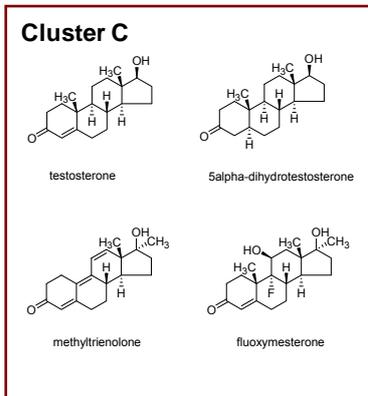
# エストロゲン受容体と38化合物

HFとMP2の違い(6-31G基底関数)



# アンドロゲン受容体と38化合物

HFとMP2の違い(6-31G基底関数)

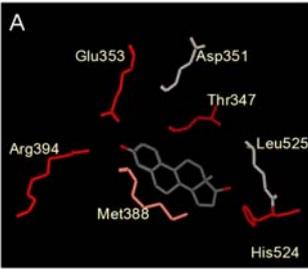


MP2では、ER, ARともに活性をもつ既知化合物とそれ以外との分離がより明らかに！

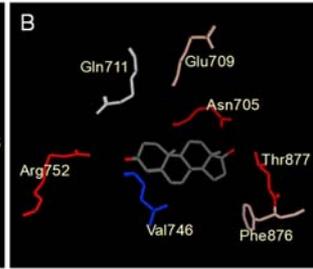
# 38化合物との相互作用の比較

甘利ら, CBI学会誌 2014, 2, 17-25.

## ER - 17β-estradiol



## AR - testosterone



- 類似したファーマコフォア
- 異なる相互作用

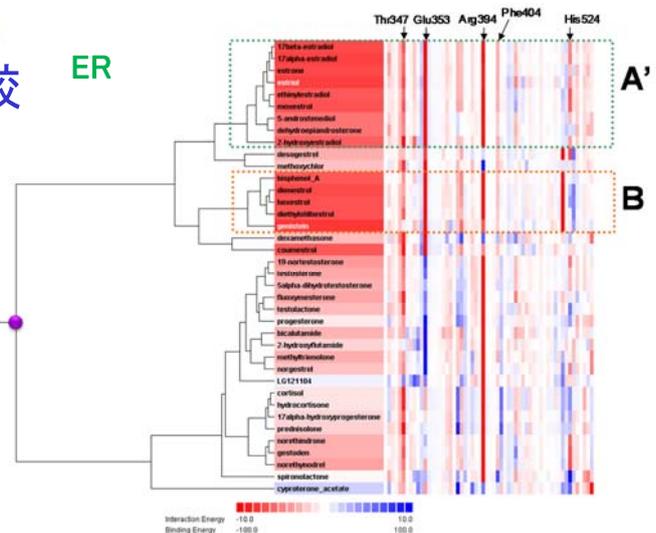


ターゲット特異性の評価へ

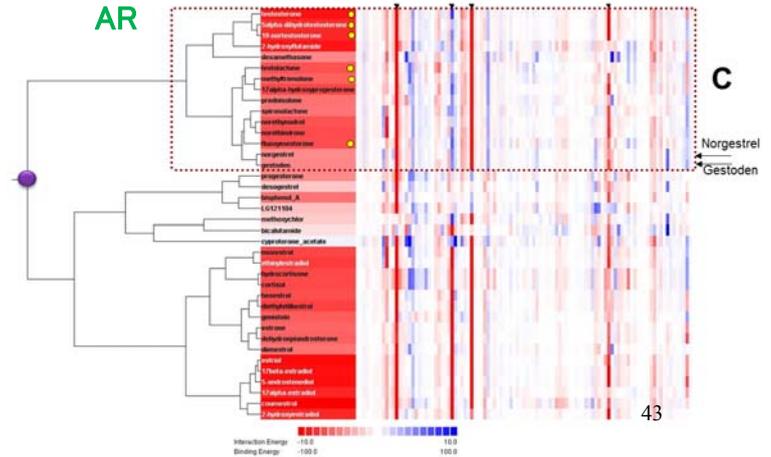
### VISCANAの拡張(今後)

- 複数タンパク質に拡張
- アライメント機能も必要

ER



AR



## FMO創薬コンソーシアムとは

### FMO Drug Design Consortium (FMODD)

FMO法に基づくインシリコ創薬手法を、実用的な技術として発展させるための集まり



#### 第1期活動期間:

- 2014年11月1日～2017年3月31日

#### 活動内容:

- 年に数回のミーティング
- FMO法利用ノウハウの共有
- 新規研究テーマの検討
- ユーザーインターフェイスの開発
- HPCI(High Performance Computing Infrastructure)の利用
- データベースの共有

#### 参加について:

- 参加費:無料
- 参加資格:製薬企業、情報系企業、大学、研究所等、創薬研究に携わる研究者のどなたでも参加できます。

代表:福澤薫(日大)

副代表:田中成典(神戸大)

本間光貴(理研)

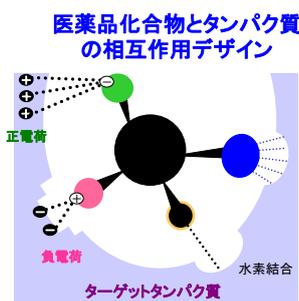
# FMO創薬コンソーシアムと「京」コンピュータの利用

「HPCIを活用したFMO創薬プラットフォームの構築」(課題番号hp150160)

産学官連携で実用的なFMO創薬技術を開発する



「京」などのHPCI設備  
超並列FMO計算



計算プログラムの提供  
成果のフィードバック



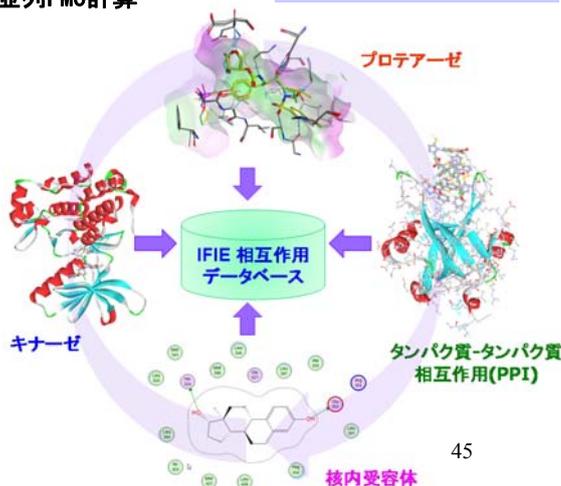
評価指導

【ABINIT-MP開発機関】

東京大学生産技術研究所  
東京大学・立教大学  
ABINIT-MPの開発・公開  
HPCI利用に関するアドバイス

【アドバイス機関】

国立医薬品食品衛生研究所  
大阪大学・熊本大学  
化合物・安全性評価、化合物ライブラリー  
量子化学計算データベース



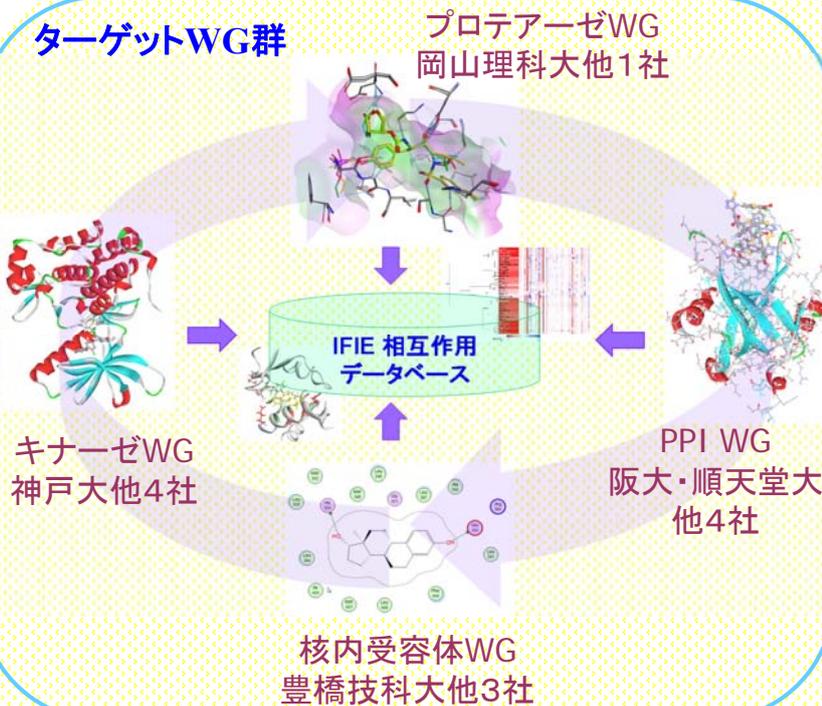
45

- HPCI活用による大量データの生成と解析(1年間で複合体500個を計算予定)
- 幅広い創薬ターゲットに対するデータの収集・解析 ⇒ 汎用的な技術を作り上げる
- FMOに基づく新規スクリーニング手法の開発
- IFIEデータベースの作成

## FMODD: WGによる活動



ターゲットWG群



先行事例WG  
日大・神戸大・理研  
計算・解析手法の試行錯誤

開発WG  
理研・熊本大・日大他1社  
研究基盤の構築

アクティブメンバー:  
50名以上

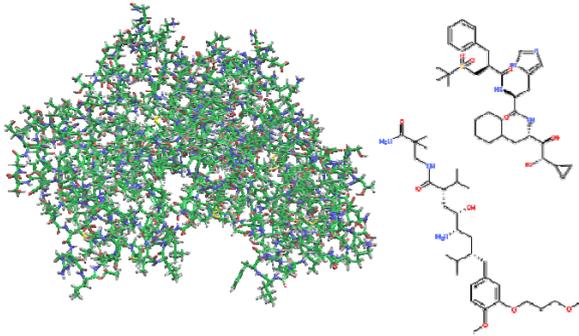
- 幅広い創薬ターゲットへの適用
- 大量データの生成と解析



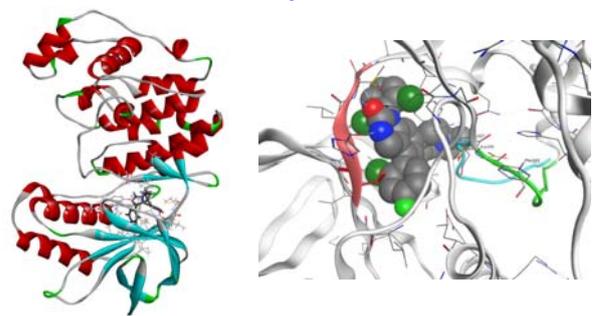
汎用的な技術を作り上げる

46

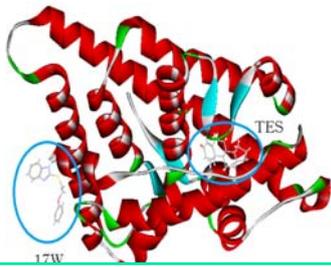
## プロテアーゼWG: レニン16複合体



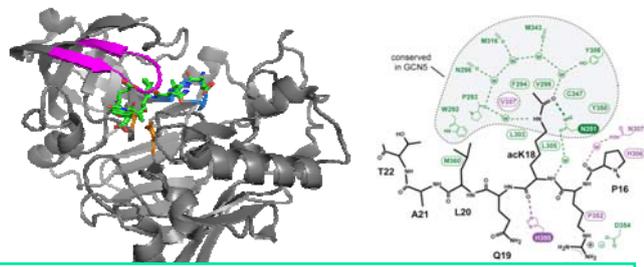
## キナーゼWG: p38 51複合体



## 核内受容体WG: AR 36複合体 先行事例: ER 24複合体



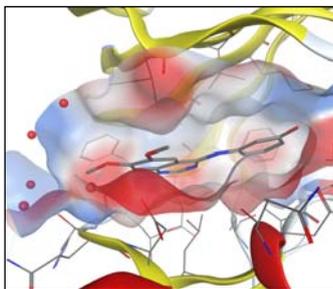
## PPI WG: 54複合体 ブロモドメイン、BACE1, FimH, PPI



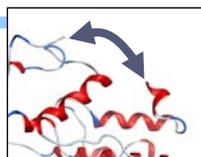
181複合体構造終了: 水の効果などを考慮しながら検討している段階 47-668

開発WG  
(理研本間G)

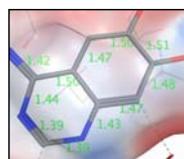
## プロトコール全体の流れ



複合体構造はユーザーが  
X線構造 or ドッキングで用意



- 欠損部位を補う



- 力場上不適切な構造の修正
- その他FMO計算時エラーになる構造の修正

```

ACNTL
Title: CDK2
Enclator: 11
Method: MP2, LJ
Memory: 2000
ReadName: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/processor.pdf
WriteName: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/abn160.rpf

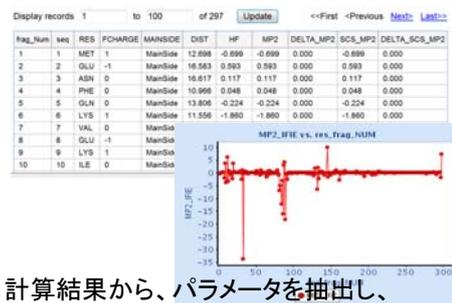
FMOCNTL
FMO: ON
AutoFrags: ON
Fragsize: Residue1
Nfrags: 1
Write_SDC: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/monomer_SDC
Write_dimer_MP2: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/monomer_MP2
Write_dimer_rpf: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/dimer.rpf
Dimer_dir: /home/ataraba/fo_pipeline/CDK2
From hm fixed main side /1, 2nev.c47.abn160/dimer
LigandCharge: 0
    
```

FMO入力ファイルの作成



並列・分散計算の実行

前処理



計算結果から、パラメータを抽出し、  
整理して解析結果を出力する

# エストロゲン受容体 $\alpha$ (ER $\alpha$ ) の構造

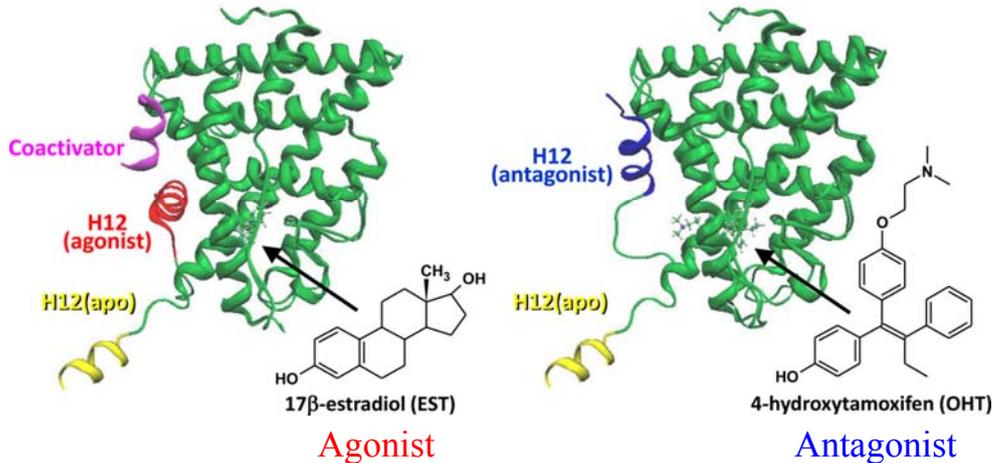
## エストロゲン受容体 $\alpha$ (ER $\alpha$ )

- 転写制御因子
- 女性ホルモンがナチュラルリガンド
- 乳がんなどの創薬ターゲット



- ER $\alpha$ に結合する化合物の種類によって転写を亢進・抑制するため、リガンド結合様式、活性値予測をFMO計算でしたい。
- これまでFMO計算で良く取り扱われてきたタンパク質なので先行事例として取り扱う。

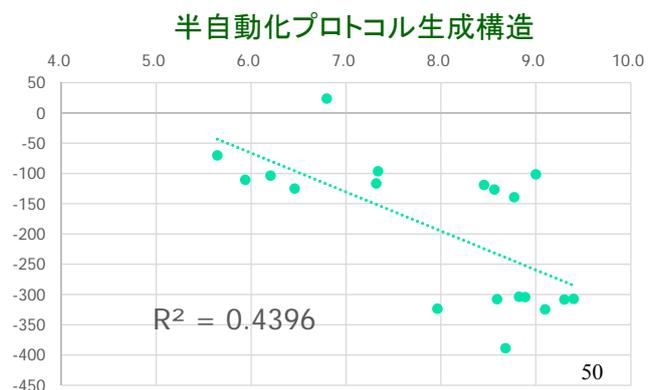
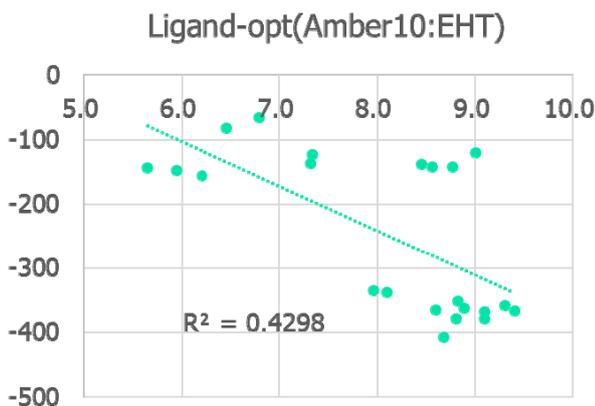
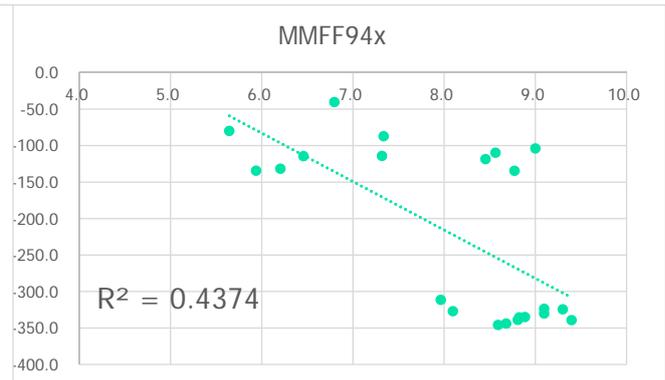
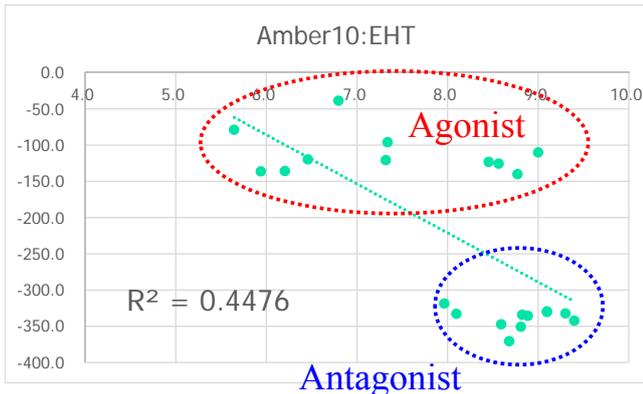
## Data sets of Estrogen receptor alpha with IC50 values [22pdb files/38data]



- リガンドサイズが小さい
- 中性のリガンド
- 転写を亢進

- リガンドサイズが大きい
- 荷電性リガンドが多い
- 転写を抑制

# pIC<sub>50</sub>との相関の評価～構造の違い～



$$\Delta E_{bind} = \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ}$$

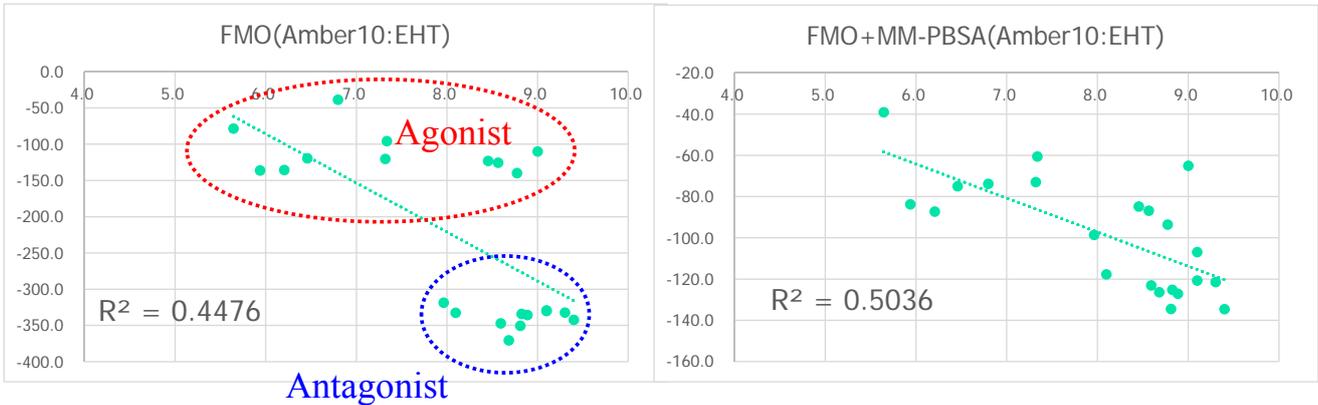
結合エネルギー: IFIE和

$$\Delta G_{Solv} = G_{Solv}^{Complex} - G_{Solv}^{Protein} - G_{Solv}^{Ligand}$$

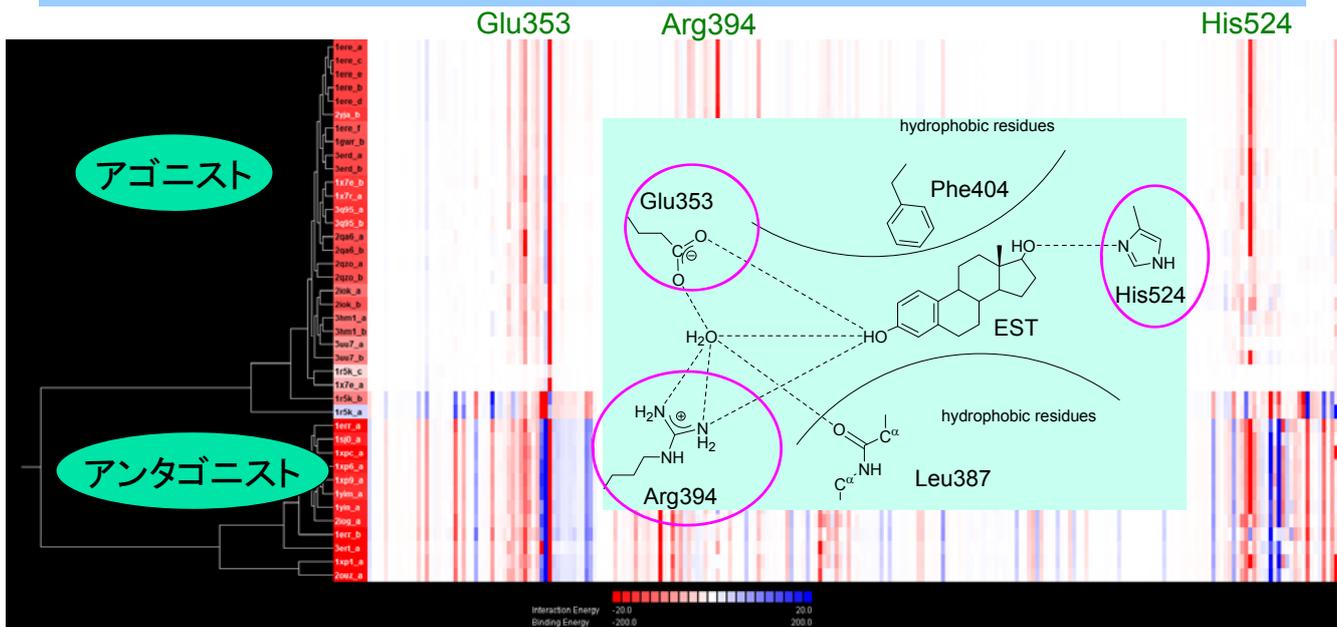
溶媒和自由エネルギー: MM-PBSAの超分子モデル

$$\Delta G_{Bind} = \Delta E_{bind} + \Delta G_{Solv}$$

FMO+MM-PBSA結合自由エネルギー

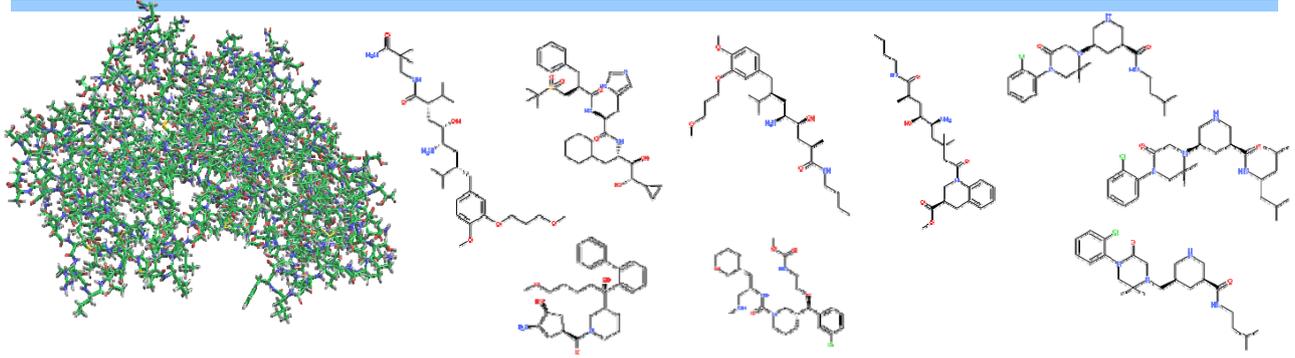


- 溶媒効果によってアゴニスト・アンタゴニストの過剰な分離が解消
- 相関は多少良くなる
- 相互作用解析に期待



- 同一PDB内の別chainは最小クラスタに配置
- アゴニスト・アンタゴニストの分離は明確  
(アゴニスト: 中性、アンタゴニスト: 基本的に+1、1R5Kのみ -1)
- IFIEに遮蔽効果を取り込んだSCIFIEにより、第2層以遠の荷電アミノ酸残基からの過剰な相互作用を消去

# プロテアーゼWG: レニン16複合体



Total IFIE (kcal/mol)

結晶水なし

結晶水あり: 9複合体

pIC<sub>50</sub>

pIC<sub>50</sub>

53

# PPI WG: Bromodomain 阻害剤

## ペプチドリガンド

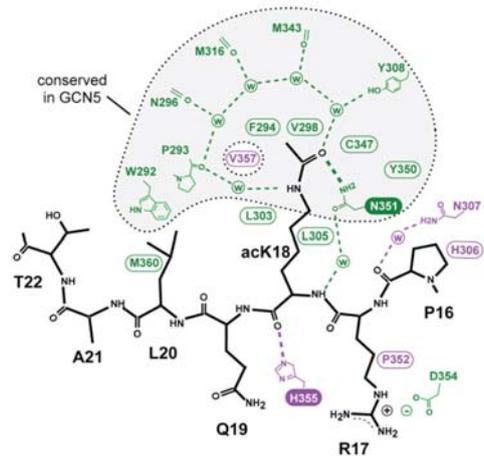
Ser1 - Gly2 - Arg3 - Gly4 - **Aly5** - Gly6 -  
Gly7 - **Aly8** - Gly9 - Leu10 - Gly11 - Ala12

Aly ⇒ アセチル化Lys

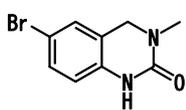
IFIE解析では、Aly5, 8の寄与が大きい

## フラグメント化合物 (Pfizer社)

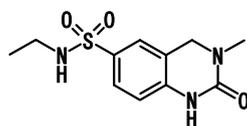
J. Med. Chem 2012, 55, 9831



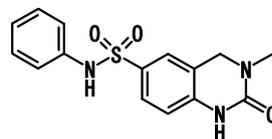
Nature 2009, 461, 664-668



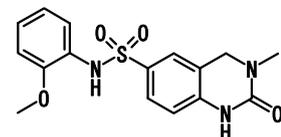
8 23uM



12 4.8uM



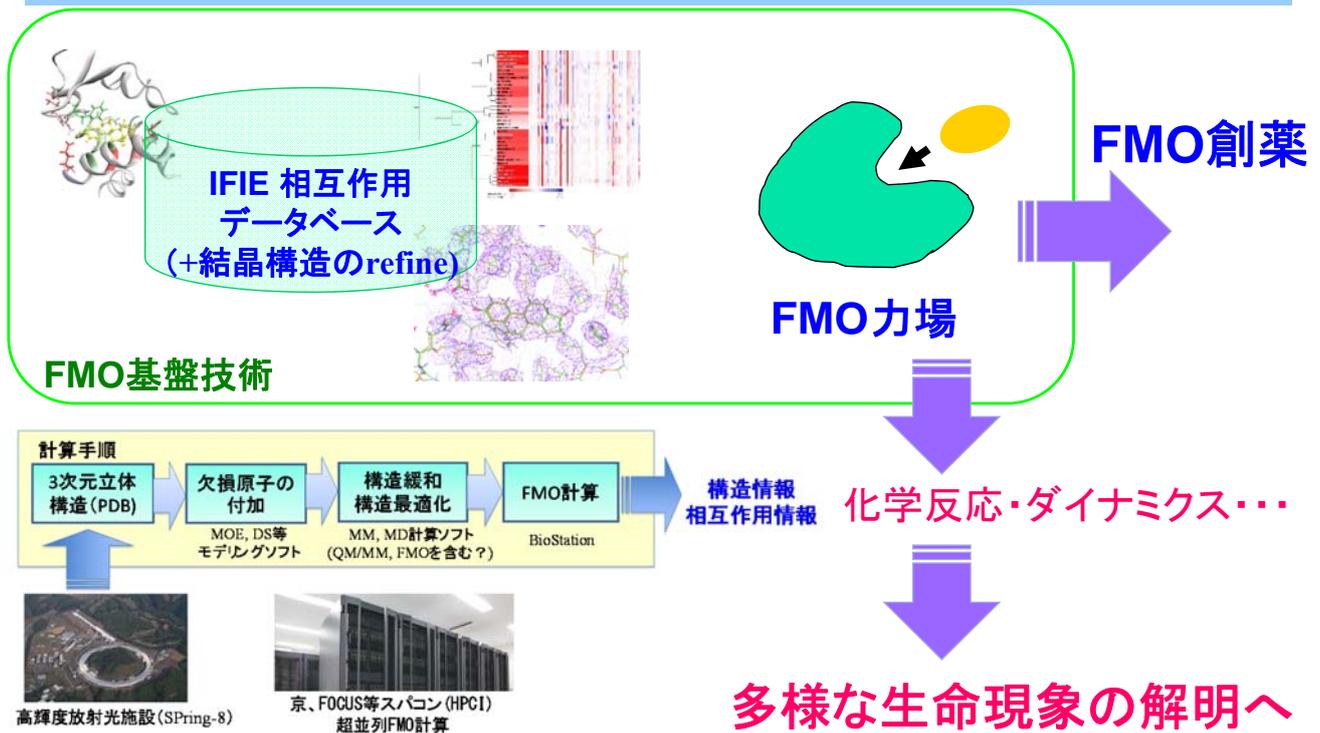
14 4.4uM



17 0.22uM

54

# FMOの挑戦～放射光・スパコンから創薬・生命現象の解明へ



構造が取れたらまずFMO計算をやってみる

55

## 謝辞

### ABINIT-MP/BioStationの開発

望月祐志、坂口正貴(立教大) / 中野達也(国立衛研)  
塚本貴志、加藤昭史、渡辺尚貴、加藤幸一郎、谷村直樹(みずほ情報総研)  
坂倉耕太、山本純一(NEC) / 古明地勇人(産総研)

### FMO創薬コンソーシアム(FMODD)

本間光貴、渡邊千鶴、沖山佳生、仙石徹(理研)  
田中成典、渡邊博文、安崎聡、鶴田宏樹、森一郎(神戸大)  
栗田典之(豊橋技科大) / 矢城陽一郎、直島好伸(岡山理科大)  
高木達也、川下理日人(阪大)  
FMODD参加企業・大学・アドバイザーの皆様

### ファンド・計算機

文部科学省「HPCI戦略プログラム」分野4 次世代ものづくり  
平成27年度「京」産業利用枠「HPCIを活用したFMO創薬プラットフォームの構築」(課題番号hp150160)  
科研費基盤研究C「量子化学計算に基づく生体高分子の超分解能構造解析技術の開発と創薬への応用」  
資生堂女性研究者サイエンスグラント「フラグメント分子軌道法による核内受容体のサブタイプ特異的薬剤の $\pi$ σ<sub>g</sub>デザイン」