



「計算生命科学の基礎V」

2018/11/14 神戸大学



フラグメント分子軌道法に基づく 構造生命科学

星薬科大学

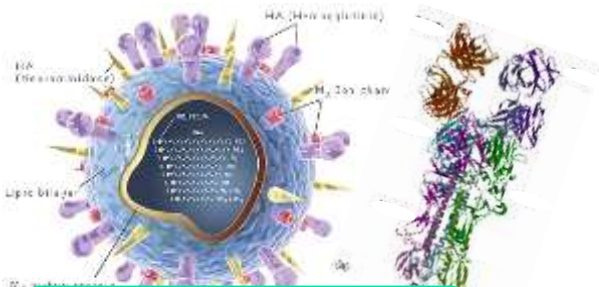
福澤薫

フラグメント分子軌道法に基づく構造生命科学

- ◆ FMO法と構造生命科学
- ◆ インシリコ創薬
- ◆ FMO法と構造データベース
- ◆ 核酸を含む系
- ◆ ドラッグ・デリバリー・システム

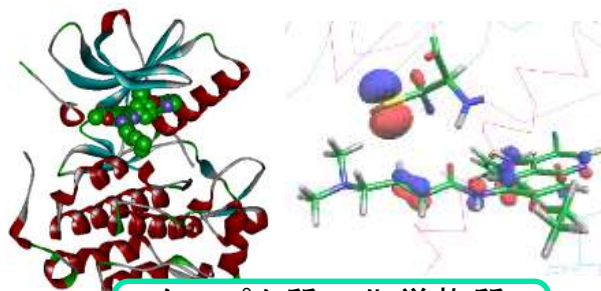
量子化学計算による次世代計算構造生物学

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



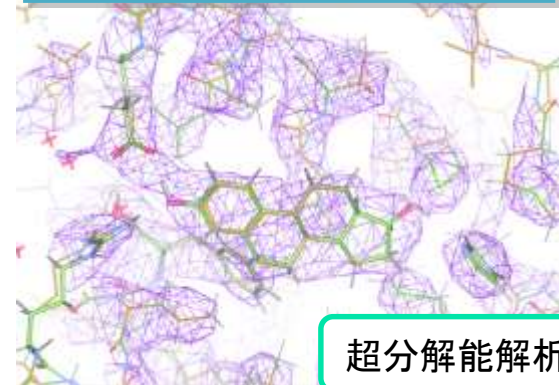
インフルエンザウイルス
感染・防御のメカニズム

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

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

フラグメント
分子軌道 (FMO) 法

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



タンパク質の立体構造データベース: Protein Data Bank

世界中で解析された情報が集約されており、誰でもアクセスできる。
2018.10.2 時点で 144,682 構造



Structure Summary | 3D View | Annotations | Sequence | Sequence Similarity | Structure Similarity | Experiment

Biological Assembly 1

3EYG ← 構造のID

Crystal structures of JAK1 and JAK2 inhibitor complexes
DOI: 10.2210/pdb3EYG/pdb
Classification: [TRANSFERASE](#)
Organism(s): [Homo sapiens](#)
Expression System: [Escherichia coli](#)

Deposited: 2008-10-20 Released: 2009-02-03
Deposition Author(s): [Williams, N.K.](#), [Bamert, R.S.](#), [Patel, O.](#), [Wang, C.](#), [Walden, P.M.](#), [Fantino, E.](#)

Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION
Resolution: 1.9 Å
R-Value Free: 0.214
R-Value Work: 0.169

wwPDB Validation

Metric	Percentile Ranks	Value
Rfree		0.216
Clashscore		6
Ramachandran outliers		0
Sidechain outliers		1.2%
RSRZ outliers		2.1%

3D View: Structure | Electron Density | Ligand Interaction

Standalone Viewers

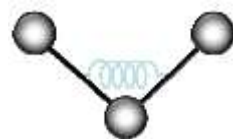


生体高分子の計算: 古典力学(MM)と量子力学(QM)

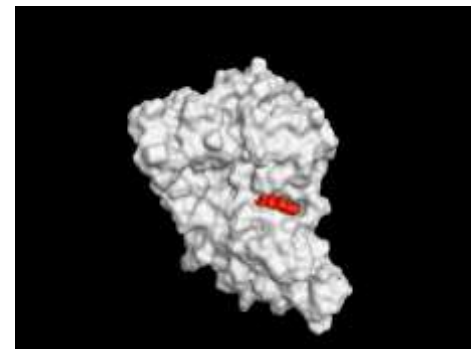
古典(経験的)力場計算: Molecular Mechanics (MM)

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※



安定構造の予測、動的挙動解析など

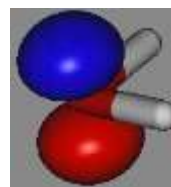


マイクロ秒スケールの分子動力学計算も可能

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

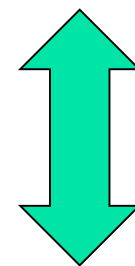
- × 計算量が膨大(HFで N^4 に比例)
- 精度良く分子間力の評価ができる



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



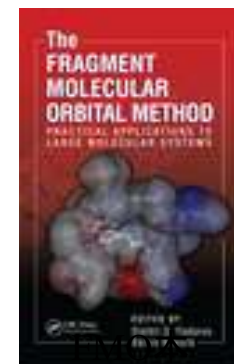
10^6 の格差

分子動力学計算はせいぜいピコ秒

フラグメント分子軌道法によるタンパク質の丸ごとQM計算

フラグメント分子軌道法(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



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、薬物設計に役立てる。

FMO計算用のプログラム

ABINIT-MP/BioStation 国立衛研 中野、立教大 望月ら

- 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: 無償で公開中

Open Ver.1 Rev. 10 (2018年2月公開)



http://www.cenav.org/abinit-mp-open_ver-1-rev-10/

ポスト「京」重点課題6の支援の下で望月らが開発中

レポート ニュース 解析事例データベース ライブラリ Q&A コミュニティー

ABINIT-MP Openシリーズ (Ver. 1 Rev. 10)

はじめに

ABINIT-MPは、フラグメント分子軌道 (FMO) 計算を高速に行えるソフトウェアです[1]。専用GUIのBioStation Viewerとの連携により、入力データの作成～計算結果の解析が容易に行えます。4体フラグメント展開 (FMO4) による2次摂動計算も可能です。また、部分構造最適化や分子動力学の機能もあります。FMOエネルギー計算では、小規模のサーバから超並列機の「京」まで対応しています (Flat MPIとOpenMP/MPI混成)。

[1]“Electron-correlated fragment-molecular-orbital calculations for biomolecular and nano systems”, S. Tanaka, Y. Mochizuki, Y. Komeiji, Y. Okiyama, K. Fukuzawa, Phys. Chem. Chem. Phys. 16 (2014) 10310-10344.

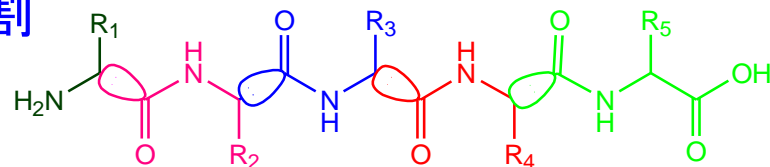
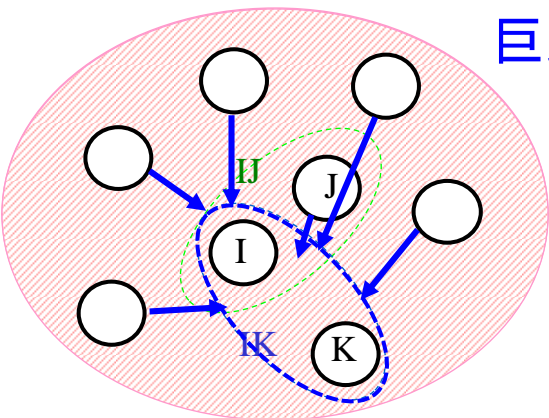
特徴

ABINIT-MPは使い易いFMOプログラムで、4体フラグメント展開までが可能です。研究室単位のLinux/Intel系サーバに標準搭載されているMPI環境で動作しますし、特別な設定も必要ありません。また、煩雑で注意深さを要するフラグメント分割を伴う入力データの作成は随伴GUIのBioStation Viewer (Windowsで動作) を使うなどすれば容易に作成出来ます。また、フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) などの計算結果は膨大となりプリントからの理解はしばしば困難ですが、Viewerを使うと可視的・直観的に対象系の相互作用の様態を把握出来ます。

フラグメント分子軌道(FMO)法と相互作用解析

北浦教授らが1999年に提案した日本発のfull QM手法

巨大分子をフラグメントに分割



- 部分の集積によって系全体の電子状態を構築
- 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

ほぼO(N)、数kcal/mol以内の全エネルギー誤差

全エネルギー:

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

二体のFMO(FMO2)法:

$$E_{\text{total}}^{\text{FMO2}} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ} \quad \text{IFIE解析の基本式}$$

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

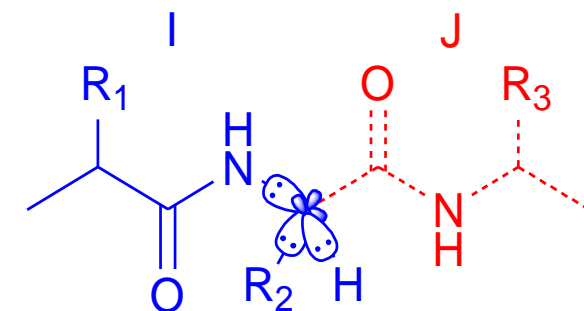
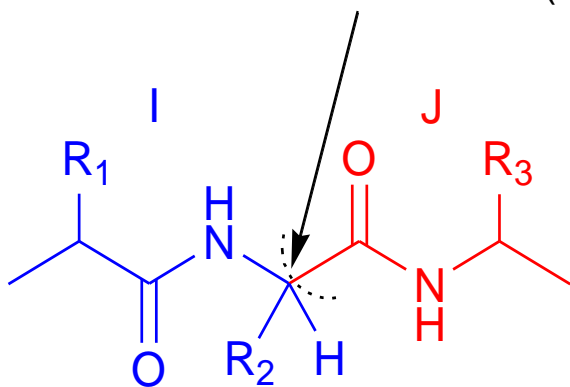
分子内・分子間の相互作用を定量的に解析

FMOでは電子的な挙動まで考慮した相互作用解析が可能 ⇒ 創薬への応用に期待

どうやって分子をフラグメントに分割するか？

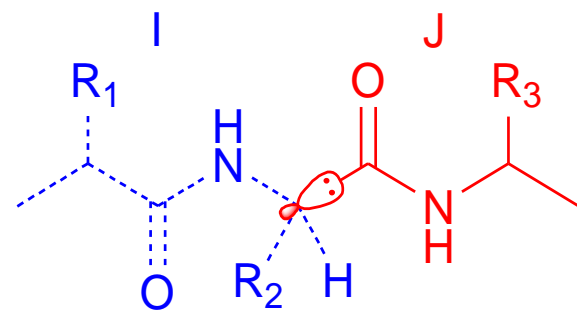
- C-H間の原子間距離を1.09Åに固定したメタン分子の局在化軌道(sp^3 混成軌道に相当)を使った射影演算子を用いて、フラグメントの分子軌道をフラグメント内に局在化する。
- sp^3 炭素でフラグメントに分割
- sp^2 炭素や sp^3 ケイ素で分割することも可能

Bond Detached Atom (BDA)



フラグメントIの変分空間

フラグメントIの形式電荷: +1
BDAの炭素原子の核荷電: 5



フラグメントJの変分空間

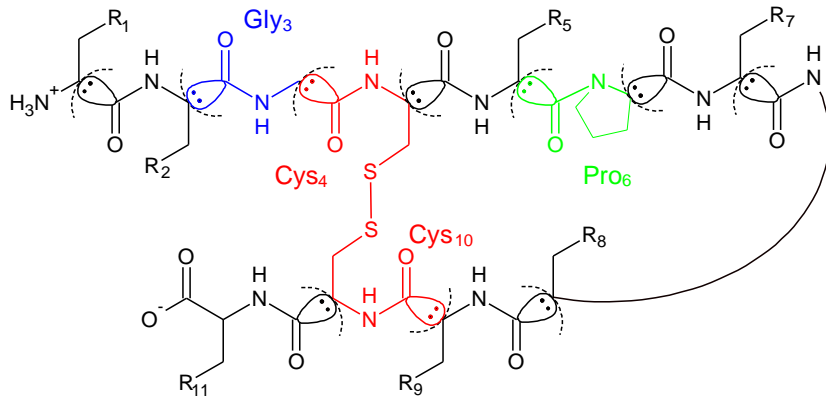
フラグメントJの形式電荷: -1
BDAの炭素原子の核荷電: 1

タンパク質・DNAのフラグメント分割

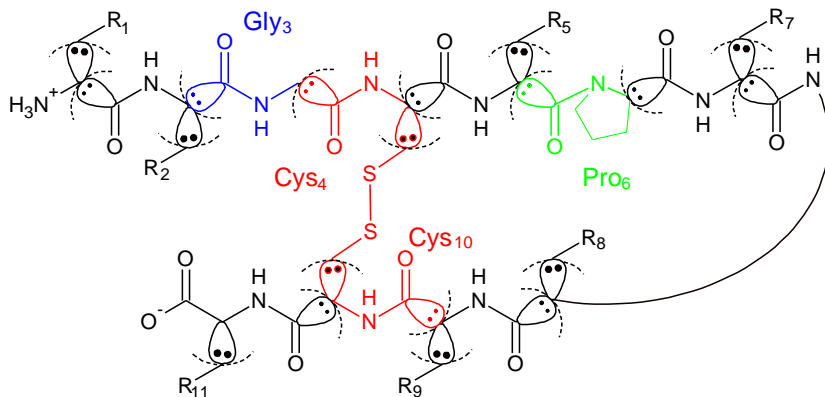
- アミノ酸を主鎖さらには側鎖に分割
- DNAをヌクレオチド、もしくは塩基を別に分割

タンパク質分割モデル

(a) 主鎖分割

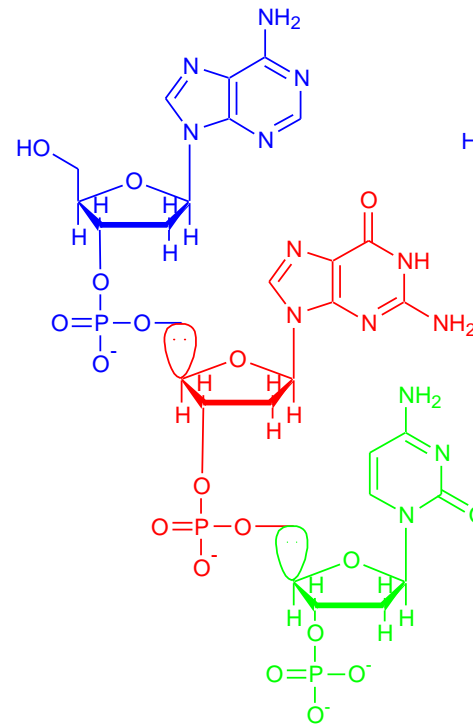


(b) 主鎖-側鎖分割

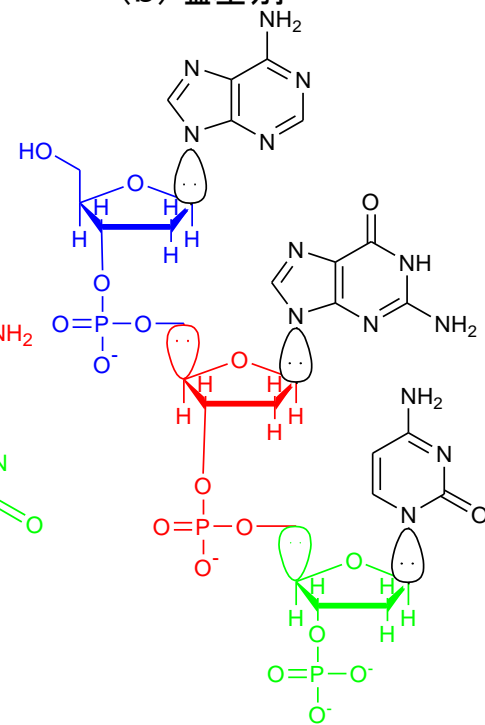


DNA分割モデル

(a) ヌクレオチド単位



(b) 塩基別

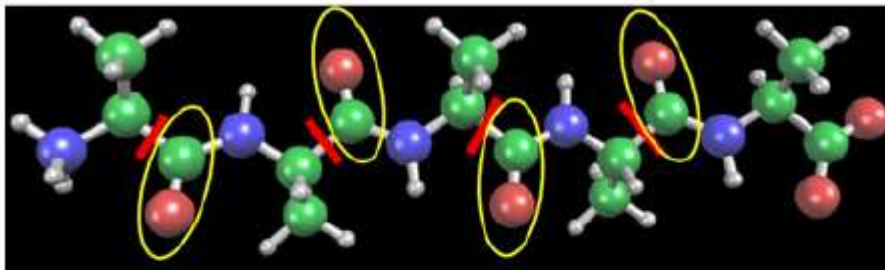


化合物をsp³炭素で分割することも可
(多体補正が必要)

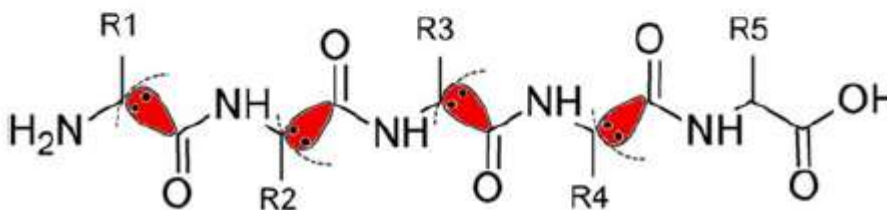
アミノ酸の切れ目とフラグメントの切れ目

フラグメント

(a)

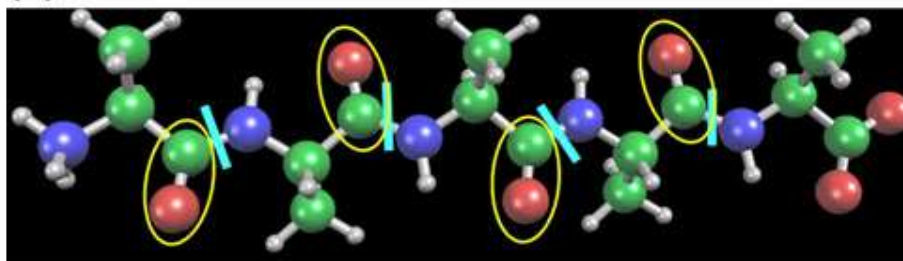


C—C 単結合
で切れる

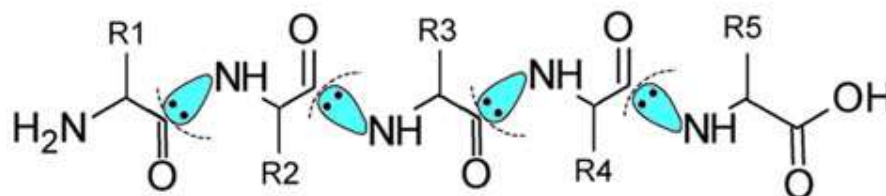


アミノ酸

(b)



C—N アミド結合
で切れる



FMO法の計算レベル

表記法

FMO2-MP2/6-31G*

FMO計算の近似レベル

FMO2

FMO3

FMO4

⋮

量子化学計算の近似レベル

HF

電子相関なし

MP2

MP3

⋮

CIS

CIS(D)

⋮

CCSD(T)

電子相関あり

基底関数

STO-3G

3-21G

6-31G

6-31G*

6-31G**

cc-pVDZ

⋮

FMO法に基づく相互作用解析法

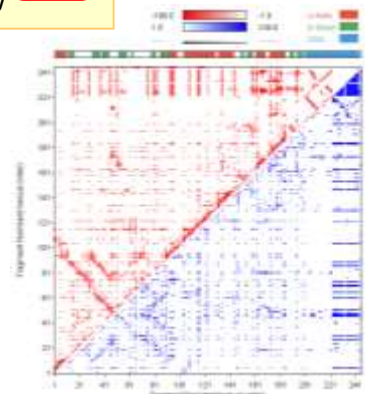
フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE)

フラグメント単位の二体の相互作用解析

受容体ーリガンド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

$$E^{\text{FMO2}} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ}$$

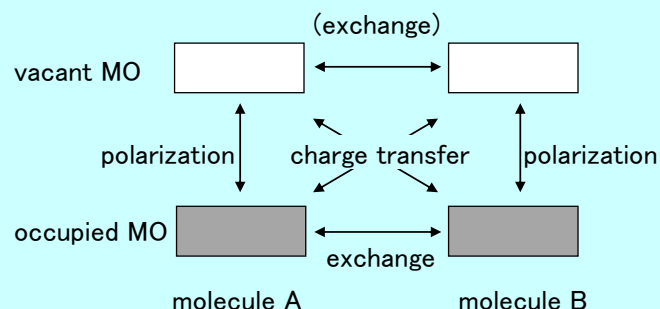


エネルギー成分解析 (PIEDA)

$$\Delta E (\text{IFIE}) = \Delta E_{\text{ES}} + \Delta E_{\text{EX}} + \Delta E_{\text{CT}} + \Delta E_{\text{DI}}$$

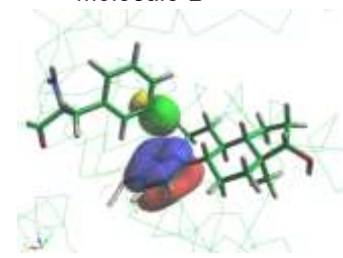
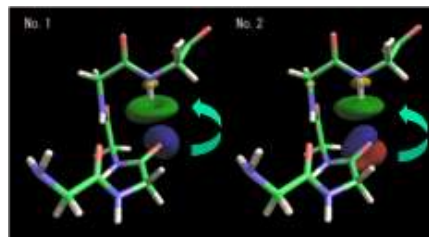
- Electrostatic energy (ES): ΔE_{ES}
- Exchange repulsion energy (EX): ΔE_{EX}
- Charge transfer energy (CT): ΔE_{CT}
- Dispersion energy (DI): ΔE_{DI}

Expansion of Kitaura-Morokuma's energy decomposition analysis into FMO



軌道相互作用解析

- ◆ CAFI (電荷移動・分極相互作用)
- ◆ FILM (分散相互作用; CH/ π , π / π)

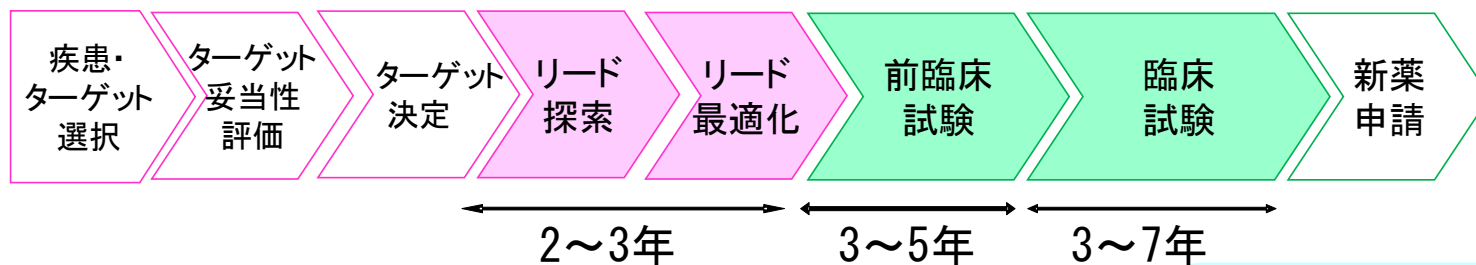


フラグメント分子軌道法に基づく構造生命科学

- ◆ FMO法と構造生命科学
- ◆ インシリコ創薬
- ◆ FMO法と構造データベース
- ◆ 核酸を含む系
- ◆ ドラッグ・デリバリー・システム

医薬品開発におけるインシリコ(*in silico*)の役割

課題：医薬品の開発プロセスの短縮 ⇒ インシリコ創薬による貢献



◎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デザインする。

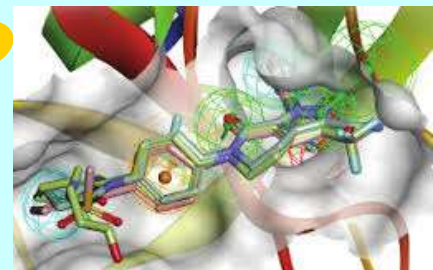
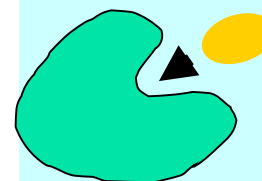
1つの薬を出すのに約2万化合物の合成が必要



効率化のためには？

インシリコ創薬

形状認識と静電ポテンシャル、ドナーアクセプター結合などの古典的扱いが主流



- 現在主流の古典力学的扱いでは精度が足りない
- 量子化学計算による「電子の挙動」に基づく設計が必要
- 手法の確立・汎用性の検証、大規模データ、スパコンの活用などが急務

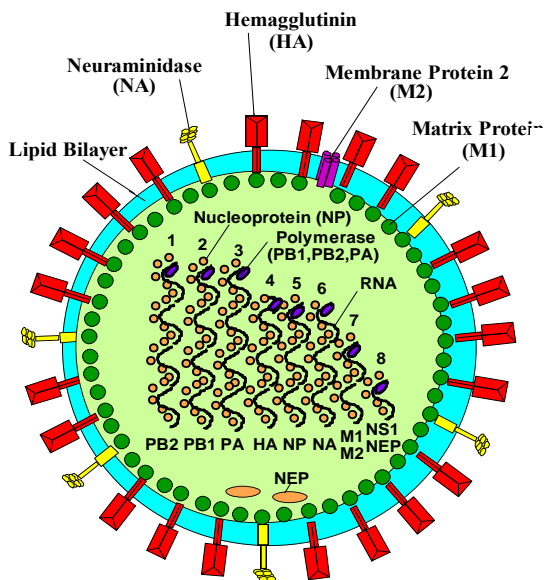
SBDDの例: インフルエンザNAとリレンザ・タミフル

SBDD: Structure Based Drug Design

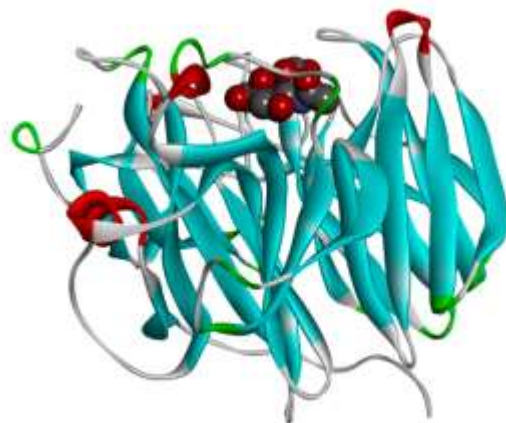
リガンドと標的タンパク質との立体構造および相互作用を考慮した論理的創薬手法



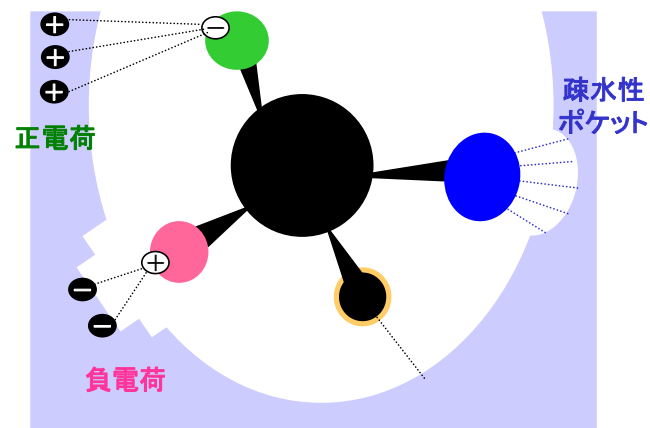
Nature News 2012/1/20より



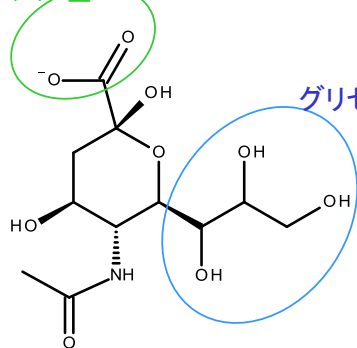
NA-シアル酸複合体構造



受容体タンパク質と化合物の相互作用

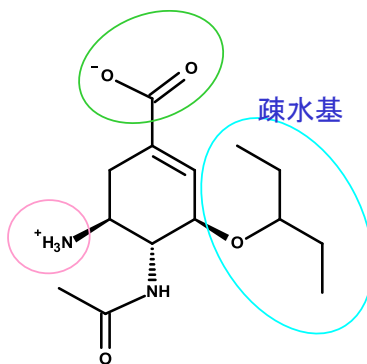


カルボキシル基



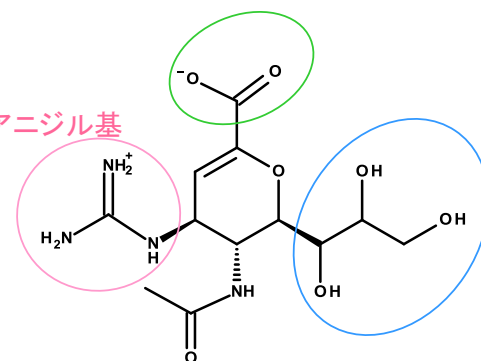
シアル酸

疎水基



タミフル(活性体構造)

グアニジル基

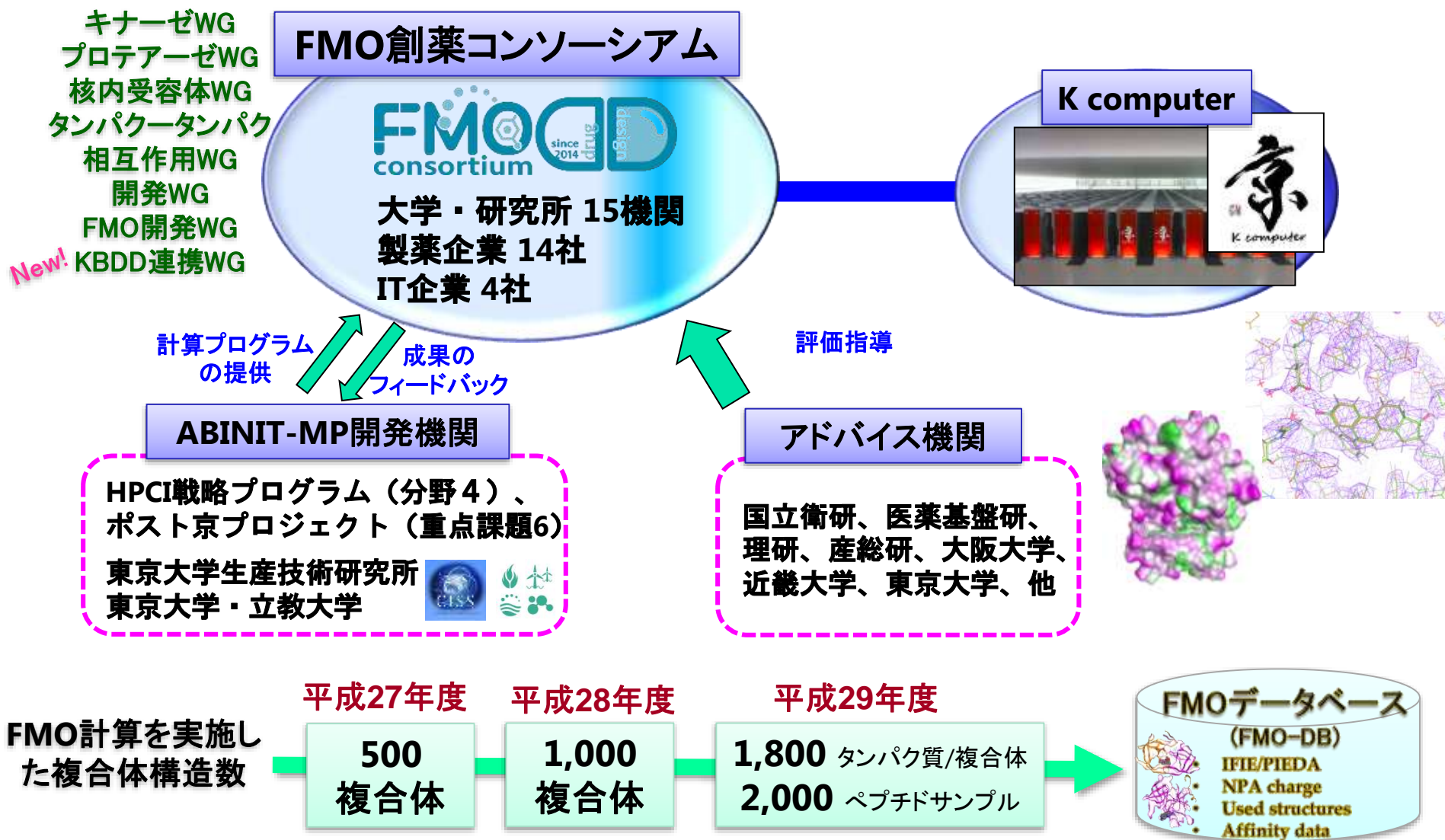


リレンザ

FMODDによる「京」産業利用課題の推進 (2015～)

「HPCIを活用したFMO創薬プラットフォームの構築」(課題番号hp170183)

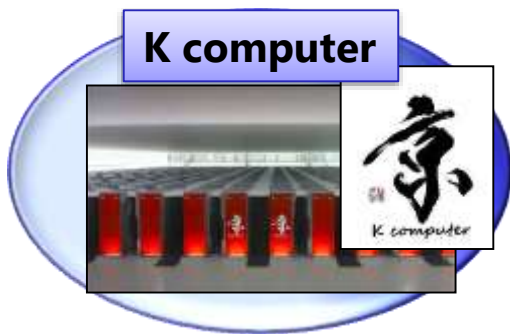
産学官連携で実用的なFMO創薬技術を開発する



2年連続で「京」利用課題の優秀成果賞を受賞

「HPCIを活用したFMO創薬プラットフォームの構築」(課題番号hp160103) hp170183

FMO創薬コンソーシアム



生命

日本発の理論計算手法により
新しい創薬基盤の確立をめざす

薬の開発とは、例えば人体を形づくる細胞に基盤となるタンパク質にウイルスが結合しても害のないように作用する薬剤候補物質を探し出すことです。そこで、タンパク質をフラグメント(断片)単位に分割し、タンパク質と薬剤候補物質の結合性を計算機により精密に解析するフラグメント分子軌道(FMO)法を用いた新しい創薬アプローチが進んでいます。

●「京」を使って、集積で1500種を超えるタンパク質-薬剤候補物質の複合体のFMO法による大規模計算を行い、それに基づいて計算結果の評価を行いました。
●FMO法による大規模な計算結果をデータベース化する取り組みをスタートさせました。

構築されたタンパク質の大規模計算結果をデータベースとして蓄積・公開することにより、創薬のスクリーニング基盤構築、新規創薬、創薬候補の効率的な選別が期待されることと期待されています。

京都大学 薬学部 薬品物理化学教室
准教授 福澤 薫氏

連絡先: hp160103
印刷版: <http://www.hpci-office.jp/ysp/kyu/hp160103/kyukome.pdf>

研究概要

フラグメント分子軌道(FMO)法とは

創薬とはこれまでになかった薬を創出するための過程のことです。医薬品の開発現場から製品化までには、10年以上の年月を要します。その初期段階は、何十万もの化合物から薬剤候補物質の探索、薬剤候補物質の効率的検証等に費やしています。創薬に計算機を用いることは「インシリコ創薬」と呼ばれ、薬剤候補物質として有望な物質(リード化合物)を効率的に短い期間で探索すること、より効果的な分子を設計することと期待が寄せられています。

タンパク質と薬が結合した際の電子状態について量子化学計算を用いたシミュレーションを行うことにより、結合が強い弱い、どのような相互作用が働いているかがわかります。ただし、シミュレーションを行うために膨大な量の計算が必要となります。

3D配座の電子で構成される小さな複合分子軌道化物体としての量子化学計算が中心ですが、タンパク質より大きな高分子化合物は数千もの断片で構成されており、従来の良い計算ができませんでした。そこで、タンパク質をフラグメント(断片)に分割し(図1)、各フラグメントを量子化学計算で断片として、結果をうまく重ね合わせるタンパク質全体を再現するという近似手法のフラグメント分子軌道(FMO)法が2006年に開発(京都大学)により開発され、広く利用されるようになってきました。

FMOデータベース公開をめざして

タンパク質の構造は、X線結晶構造解析等により予測されています。FMO法は、結晶構造からさらに踏み込んで、タンパク質断片の電子的な相互作用や、タンパク質と薬剤候補物質との電子的な相互作用まで計算できるため、創薬にとって非常に強い手段といえます。

対象となるタンパク質の情報は非常に多いため、効率よく計算を行うことが課題です。そこで、自主的な学際連携組織「FMO創薬コンソーシアム」の中でFMO法に関する情報にFMO法による計算・検証を行い、結果をデータベースとして蓄積することに取り組むとともにFMO創薬手法の共有を行っています(図2)。

公開のFMOデータベースを利用して「京」による高速計算を行い、また共同ユーザーを募集して結果の検証等も進捗して行くことにより、一歩に大規模計算が進むようになり、平成30年には構築された複合体のデータ数は2000種以上に積み上げて公開予定です。将来的には1万種以上の構築された複合体データを蓄積し、人間にとって薬業に貢献する創薬基盤となることが期待されます。

図1 FMO法によるタンパク質の分割

図2 FMOデータベースの構築

FMODDのWG体制と2017年度の研究成果

FMODD代表: 福澤薫(星薬)

キナーゼWG

田中成典(神戸大)
他1大学・5社



P38, JAK

核内受容体WG

栗田典之(豊橋技科大)、
他2大学・2社



AR, VDR, ER

開発した項目

- ◆ 結合性の評価・活性予測
- ◆ 選択性の評価
- ◆ FMOデータベース
- ◆ 自動計算プロトコール
- ◆ MDからのサンプリング

FMO
データベース

複合体、アポ体

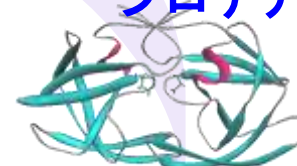
開発WG

本間光貴(理研)
他4大学・4社



プロテアーゼWG

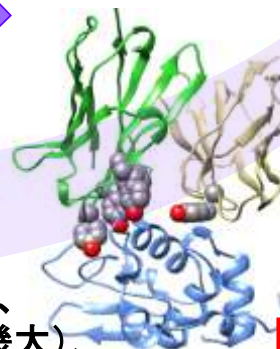
矢城陽一郎(岡山理科大)、
他1大学・1社



レニン, HIV-1

PPI WG

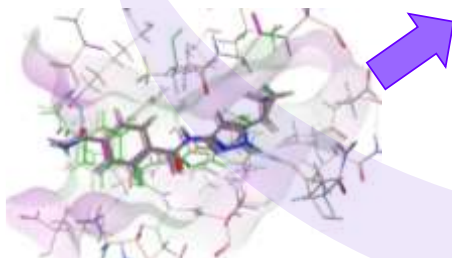
高木達也(阪大)、
川下理日人(近畿大)、
他1大学・7社



MDM2-p53, TCR-pMHC,
Hel-HyHel10

KBDD連携WG

鷹羽健一郎(旭化成ファーマ)、
他4大学・1研究所

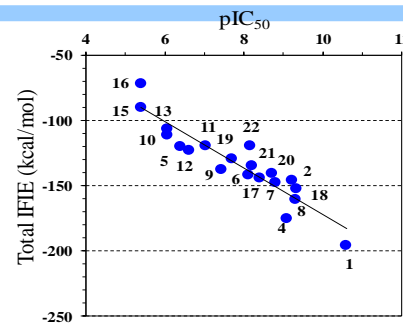
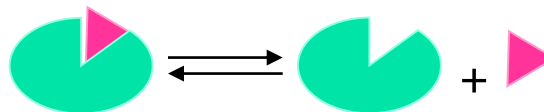


CDK2, ERK2

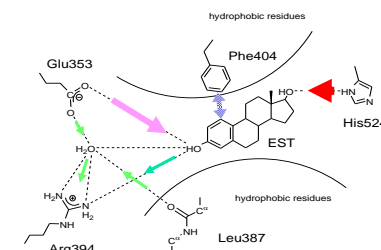
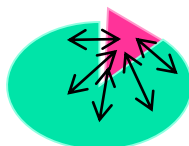
FMOの創薬での活用について

- リガンド結合エネルギーと活性値との相関を見る (X線結晶構造を用いる)

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



- フラグメント単位の相互作用を解析する (IFIE、PIEDA)

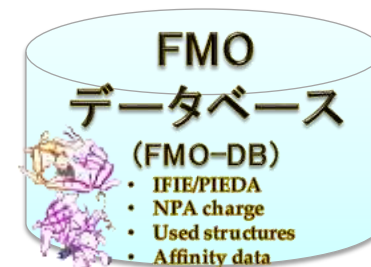


- 相互作用情報に基づいたデータ解析を行う



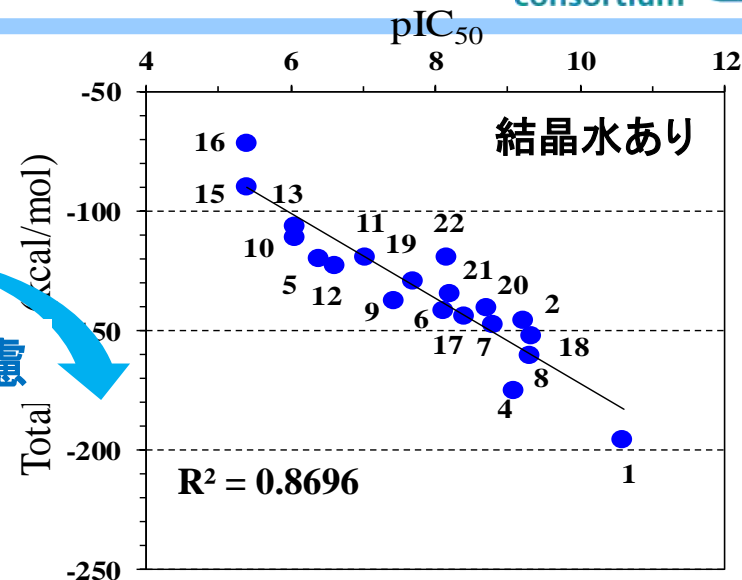
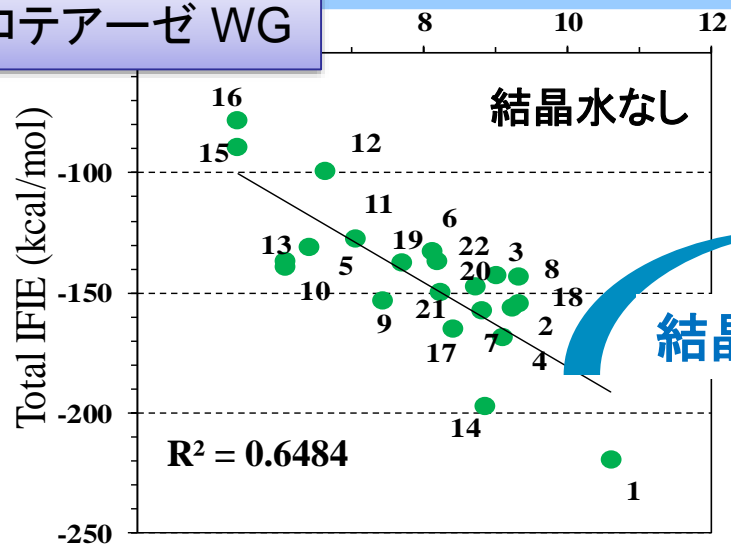
- 計算結果を集約したデータベースを作る

- 構造生物学、創薬化学との連携



FMO計算値と活性値との比較

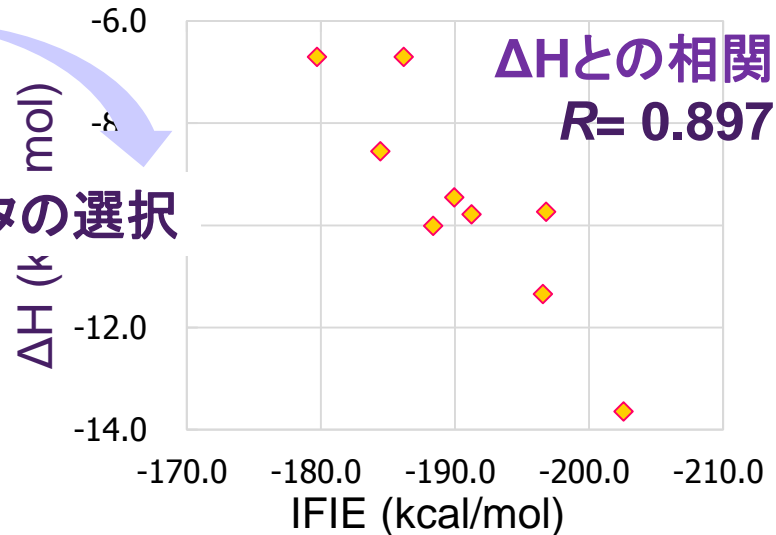
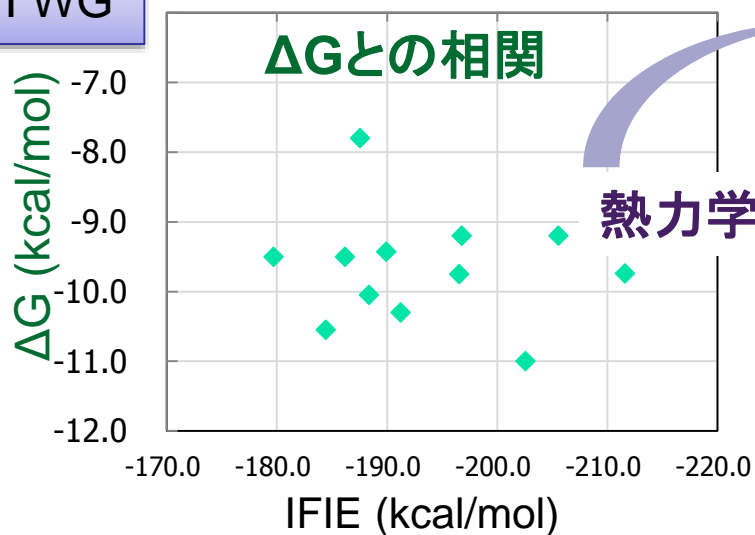
プロテアーゼ WG



結晶水の考慮

実験値と計算結果の相関関係を指標に多くの事例を検証

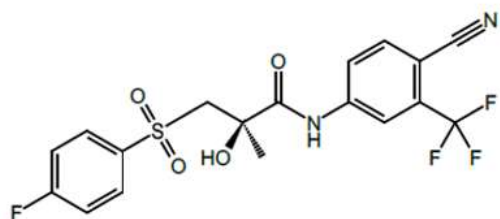
PPI WG



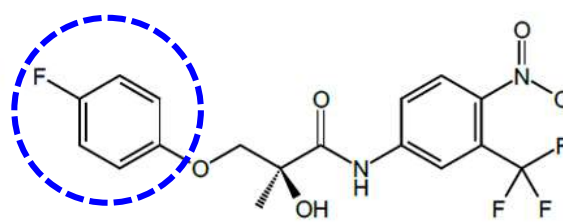
FMO相互作用に基づくりガンドの分子設計

～アンドロゲン受容体～

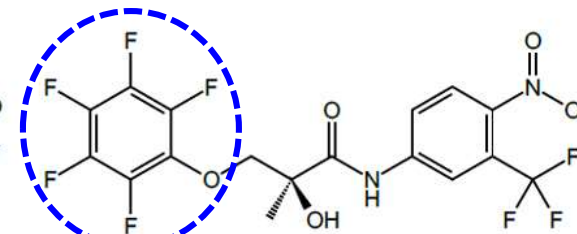
I. Kobayashi *et al.*, *J. Mol Graph Model*, 75 (2017) 383.



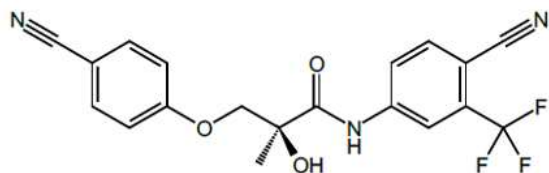
Ligand : 198
K_i : 11 nM



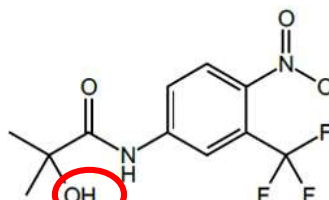
FHM (6.1 nM)



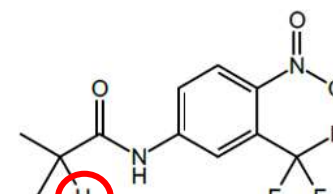
B67 (1.4 nM)



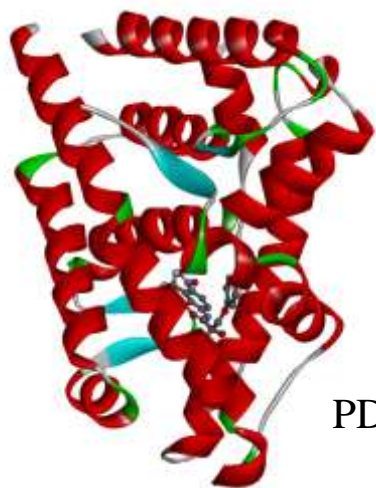
RLJ (3.8 nM)



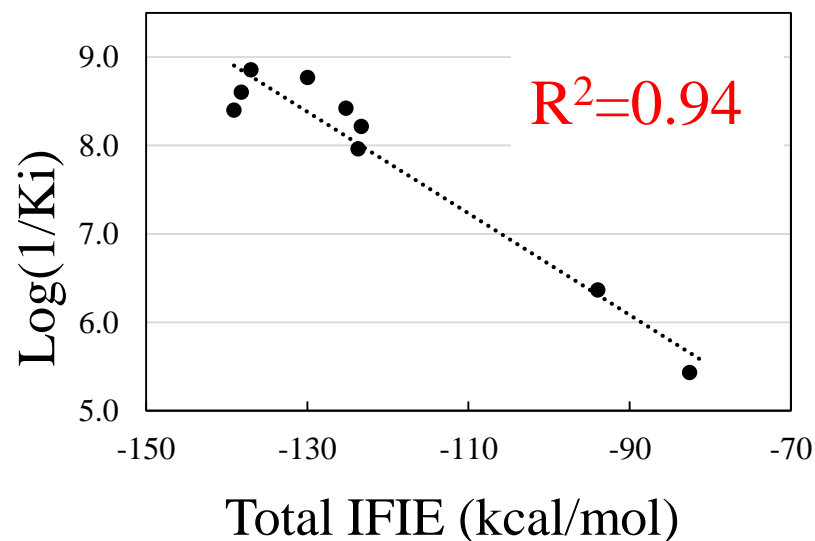
HFT (430 nM)



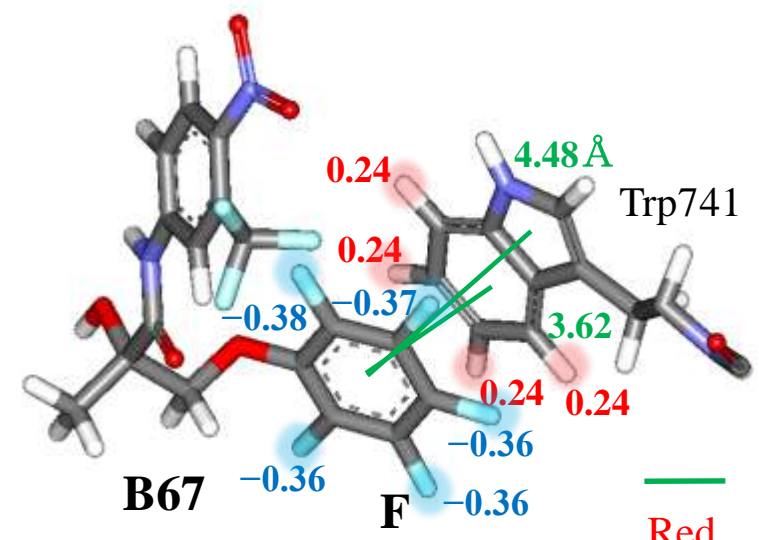
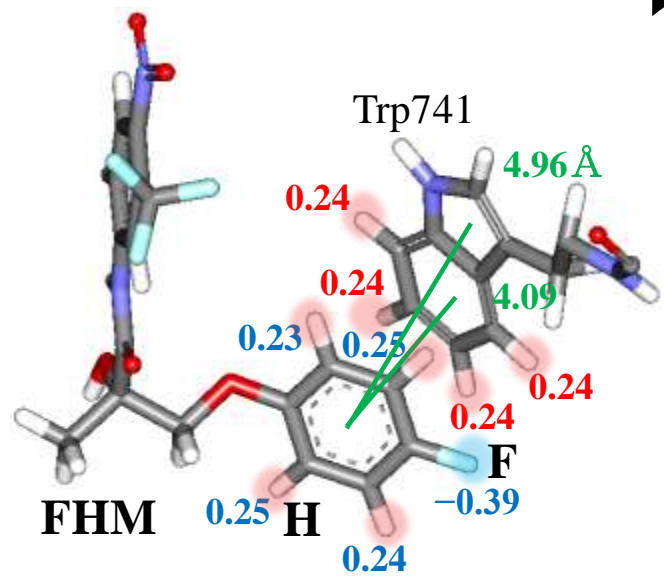
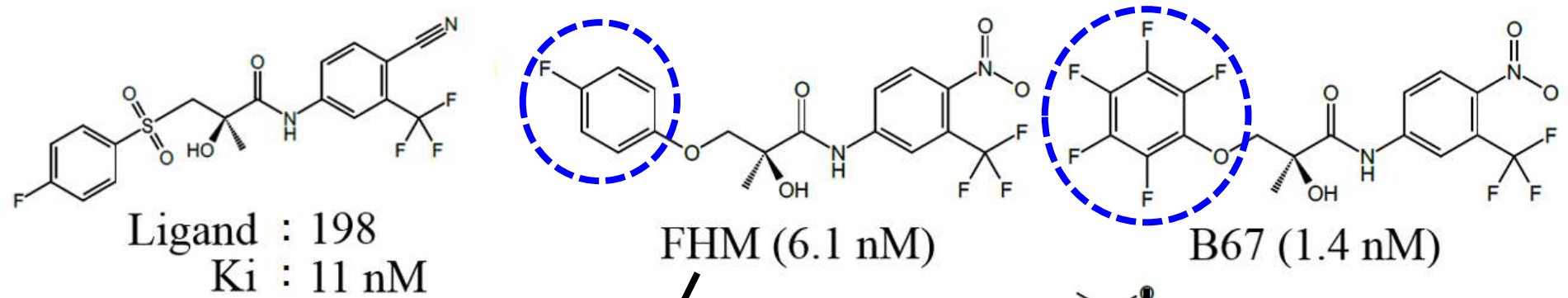
HFT-H (3700 nM)



PDBID: 2AXA
(FHM)

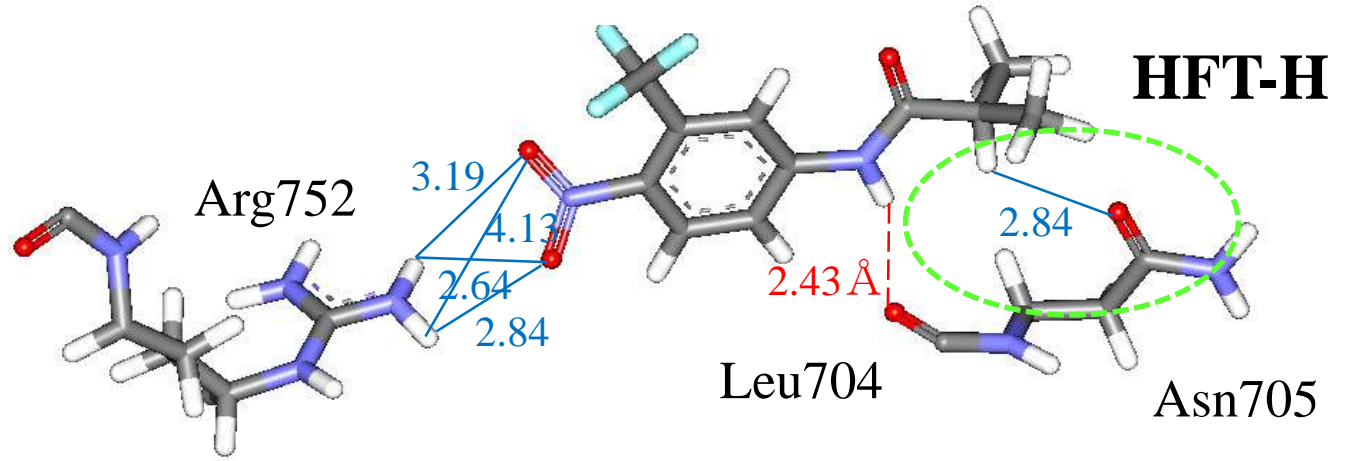
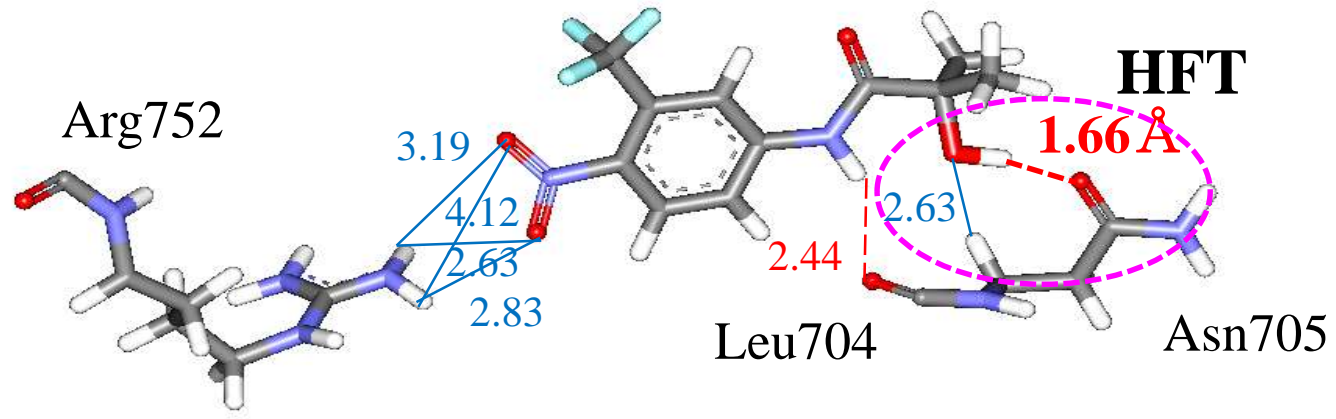
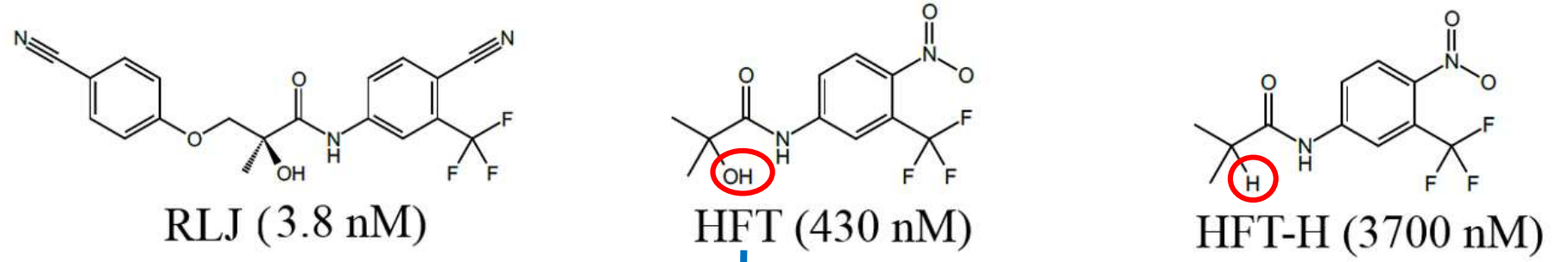


ARのリガンド分子設計:ハロゲンの影響



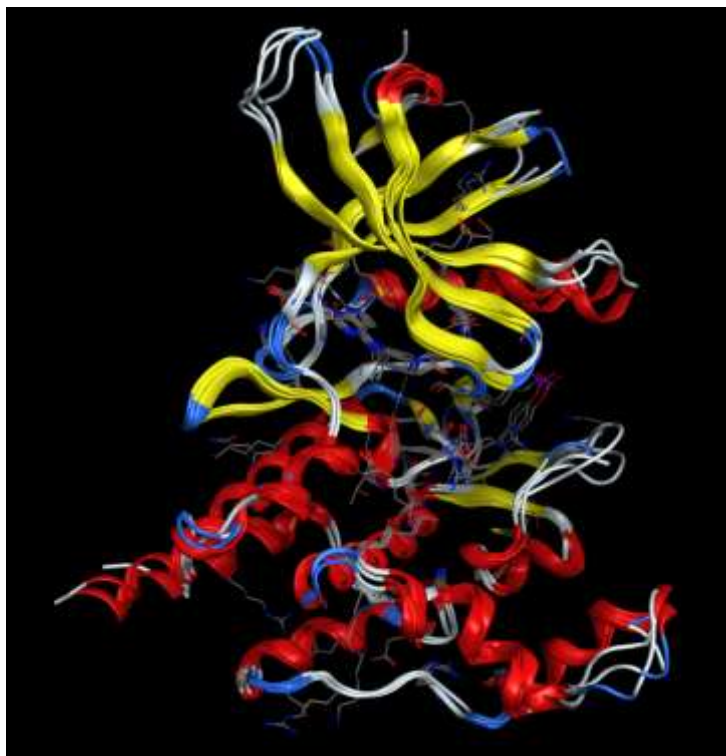
— π - π 相互作用
Red 原子電荷(+)
Blue 原子電荷(-)
Green 環間距離(Å)

ARのリガンド分子設計: 水酸基の影響



--- 水素結合
--- 静電相互作用

ヤヌス・キナーゼ(JAK)~ 4つのサブタイプ(Tofacitinib)



Protein Align : Pairwise Percentage Identity

Thu Jun 29 19:05:24 2017 (MOE 2015.10, Protein Align 2015.12)

The table value at row i, column j equals the number of residue matches between sequences i and j, divided by the length of sequence j.

Chains	1	2	3	4
1:3EYG.A		54.6	46.2	53.1
2:3FUP.A	55.2		55.0	47.5
3:3LXK.A	52.1	61.4		46.9
4:3LXN.A	58.3	51.5	45.6	

```

3EYG.A .....VDPHF EKRF LKRIRDLGEGHFGKVELCRYDPEGDNTG
3FUP.A .....DPTQFEERHLKFLQQLGKGNFGSVEMCRYDPLQDNTG
3LXK.A .....MGHHHHHHAQLYACQDPTIFEERHLKYISQLGKGNFGSVELCRYDPLGDNTG
3LXN.A MAHHHHHHHHHGALEVLFGQPGDPTVFHKRYLLKKIRDLGEGHFGKVSLYCYDPTNDGTG
    
```

```

3EYG.A EQVAVKSLKPESGGNHIADLKEIEILRNLYHENIVKYGICTEDGGNGIKLIMEFLPSG
3FUP.A EVVAVKQLQH.STEEHLRDFEREIEILKSLQHDNIVKYGVCYSAGRRNLKLIMEYLPYG
3LXK.A ALVAVKQLQH.SGPDQQRDFQREIQILKALHSDFIVKYRGVSYGPGRQSLRLVMEYLPYG
3LXN.A EMVAVKALKADAGPQHRSGWKQEIDILRTL YHEHIIKYGCCEDAGAASLQLVMEYVPLG
    
```

```

3EYG.A SLK EYLPKNKNINLKQQLKYAVQICKGMDYLGSRQYVHRDLAARNVLVESEHQVKIGDF
3FUP.A SLRDY LQKHKERIDH IKLLQYTSQICKGMEYLGTKRYIHRDLATRNILVENENRVKIGDF
3LXK.A CLRDFLQRHRARLDASRLLLYSSQICKGMEYLGSRRCVHRDLAARNVLVESEAHVKIADF
3LXN.A SLRDY LPRHS..IGLAQLLLFAQQICEGMAYLHAQHYIHRDLAARNVLLDNDRLVKIGDF
    
```

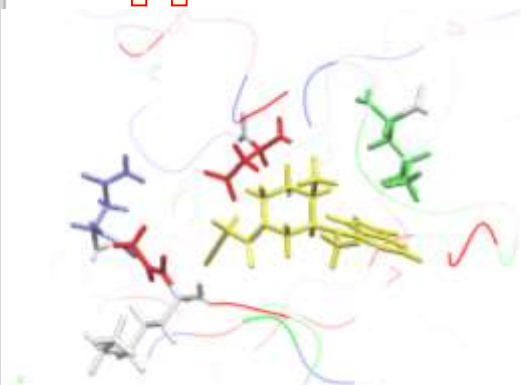
```

KFYIASDVWSFGVTLHELLTYCDSDS
KFSVASDVWSFGVVLYELFTYIEKSK
IFSRQSDVWSFGVVLYELFTYCDKSC
KFYYASDVWSFGVTLYELLTHCDSQ
    
```

```

CPPNCPEVYQLMRKCWEFQPSNRTS
RPDGCPEIYIMTECWNNVNRQPS
APPACPAEVHELMKLCWAPSPQDRPS
RPDKCPAEVYHLMKNCWETEASFRPT
    
```

...
...
SFS



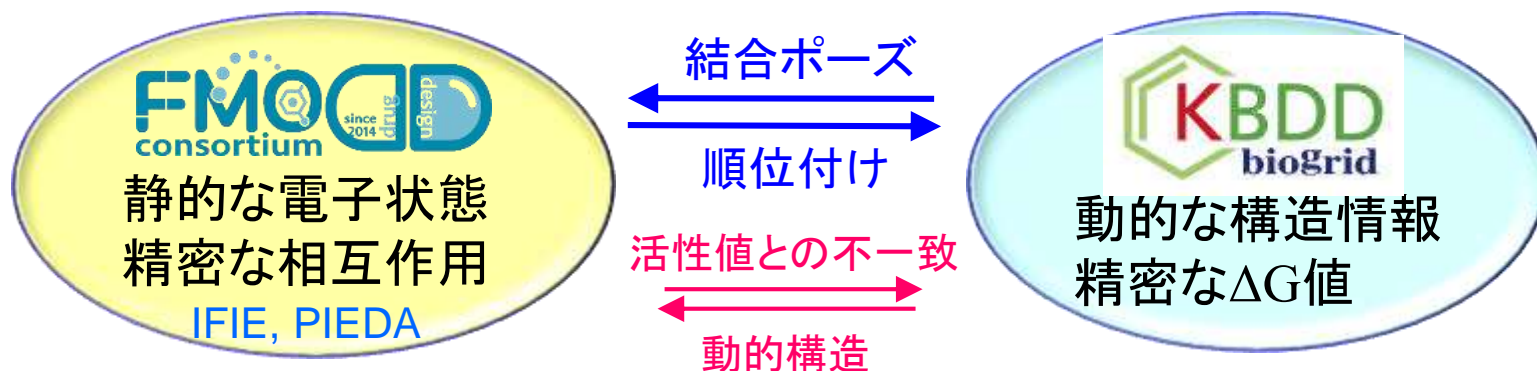
	JAK1	JAK2	JAK3	TYK2
Ki(nM)*	0.7	0.7	0.4	7.8
IFIE	-150.3	-139.4	-131.6	-135.6

* JMC56, 4521 (2013)

(kcal/mol)

情報交換・意見交流の必要性

- 古典MDとFMO(QM)から得られる結果・データは相補的。
- インシリコ創薬アプローチとして、相互利用の流れをつくとユーザビリティが向上する。



※ 2017年10月に合同公開シンポジウムを開催
 (CBI学会年次大会期間中、参加者200名程度)

データ連携事例の作成

- CDK2, ERK2を共通のターゲットとした計算を実施。
- FMOによるドッキングポーズの推定、統計解析、溶媒効果等の方法論の開発に繋げたい。

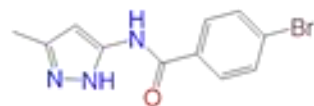
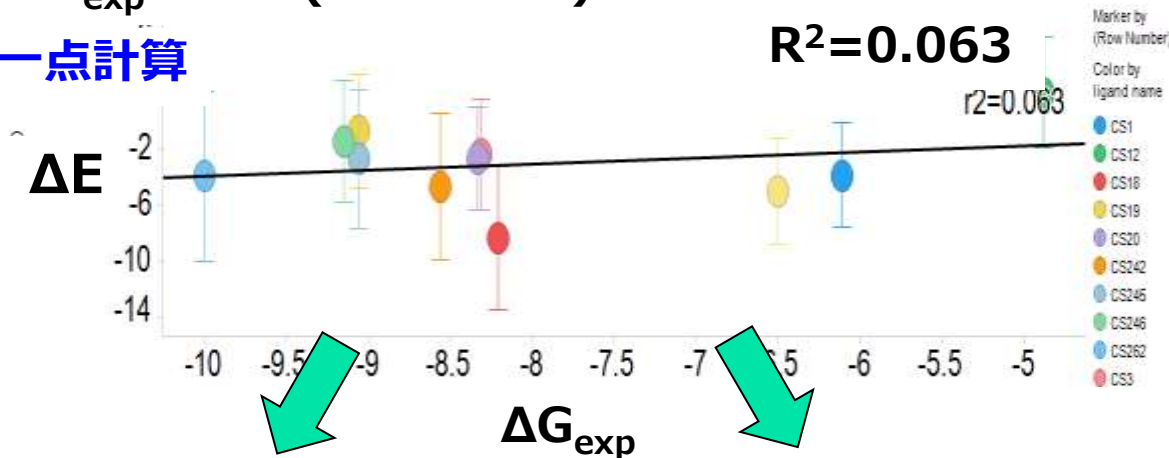
実験値 ΔG_{exp} と計算値の相関

CDK2 : *J. Chem. Inf. Model.* 2016, 56, 2445-2456

(in kcal/mol)

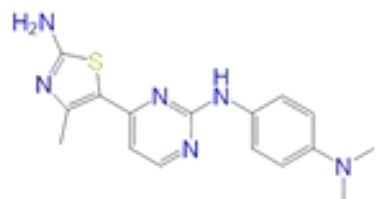
計11種のリガンドに対して
FMO計算を実施

ΔG_{exp} vs $\Delta E(\text{MM-PBSA})$
MM一点計算



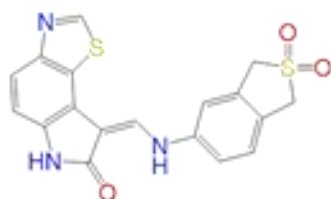
CS1 (PDB: 4EK4)

$\Delta G_{\text{exp}} = -6.11$ [kcal/mol]



CS18 (PDB: 3SW4)

$\Delta G_{\text{exp}} = -8.21$ [kcal/mol]

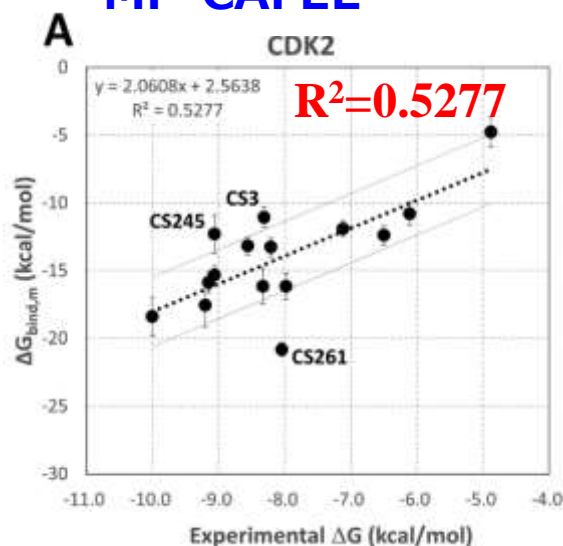


CS245 (PDB: 4FKR)

$\Delta G_{\text{exp}} = -9.06$ [kcal/mol]

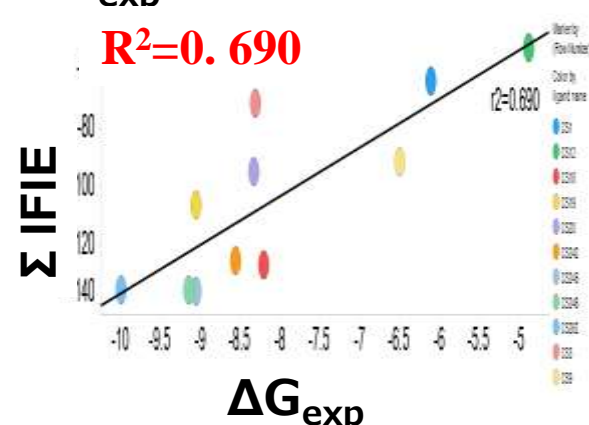
MP-CAFE

FMO



ΔG_{exp} vs total IFIE

$R^2 = 0.690$



X線最適化構造に対するFMO1点計算でも良い相関が得られる

フラグメント分子軌道法に基づく構造生命科学

- ◆ FMO法と構造生命科学
- ◆ インシリコ創薬
- ◆ FMO法と構造データベース
- ◆ 核酸を含む系
- ◆ ドラッグ・デリバリー・システム

FMO自動計算プロトコル*による京での計算



構造種類	タンパク質種類	固有PDB数	モデリング構造数	FMO計算実行数
X線結晶構造	Apo構造	202	203	203*
	p38-MAP kinase	85	100	100*
	Renin	34	64	64
NMR構造	TrpCage	1	76	76*
MDサンプリング構造	polyQ	1	1000	1000
	TrpCage	1	1000	991*
	Bromodomain	1	1000	902
(KBDD連携)ドッキング構造	CDK2	15	160	160
	ERK2	9	77	77

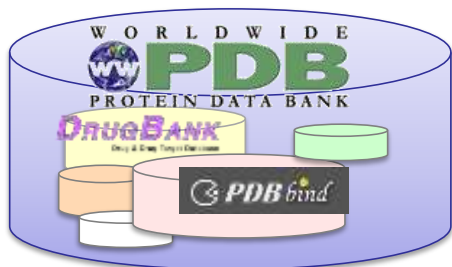
* Watanabe et al., CBI-J, submitted.

※FMO database登録済み

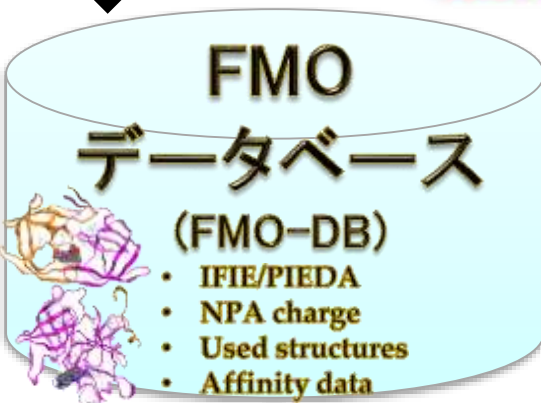
世界初のタンパク質の量子化学計算値データベース

- 2017年度に内部公開、2018年度に一般公開
- AMED-BINDSプロジェクトでwebインターフェイスを整備

H29年度末で約1740構造
 X-ray: 673
 NMR: 76
 MDサンプリング: 991
 (PDB: 約14万構造)

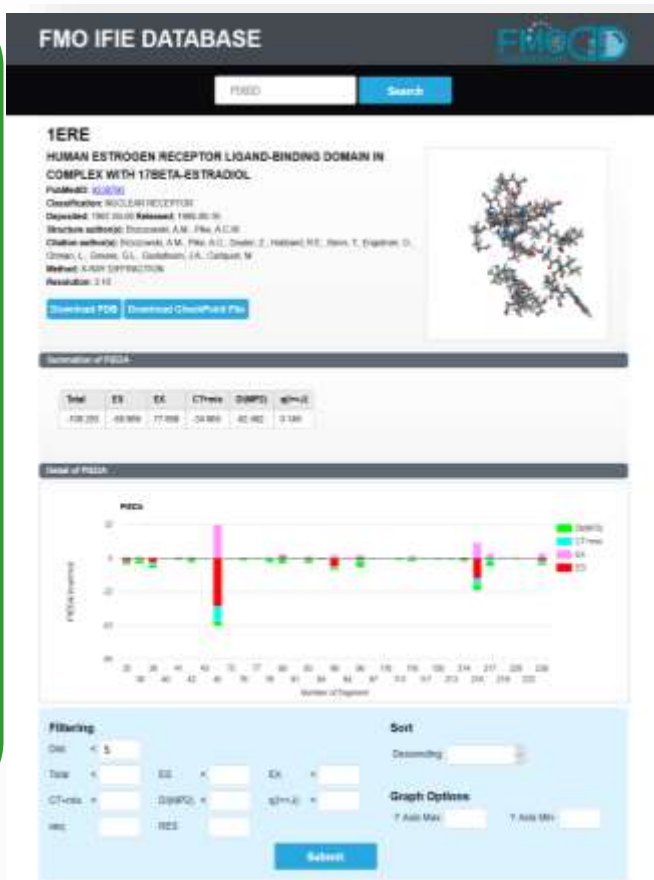


半自動化プロトコル
 によるFMO計算



相互作用情報に基づく様々な用途

- 生命現象の解明
- FMO力場の開発
- 医薬品設計 (新しい置換基の提案)
- AI創薬
- 「薬らしさ」の評価
- 構造生物学との連携

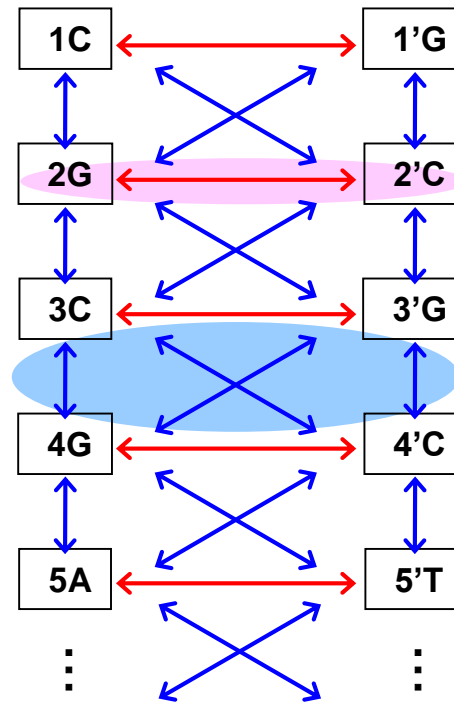
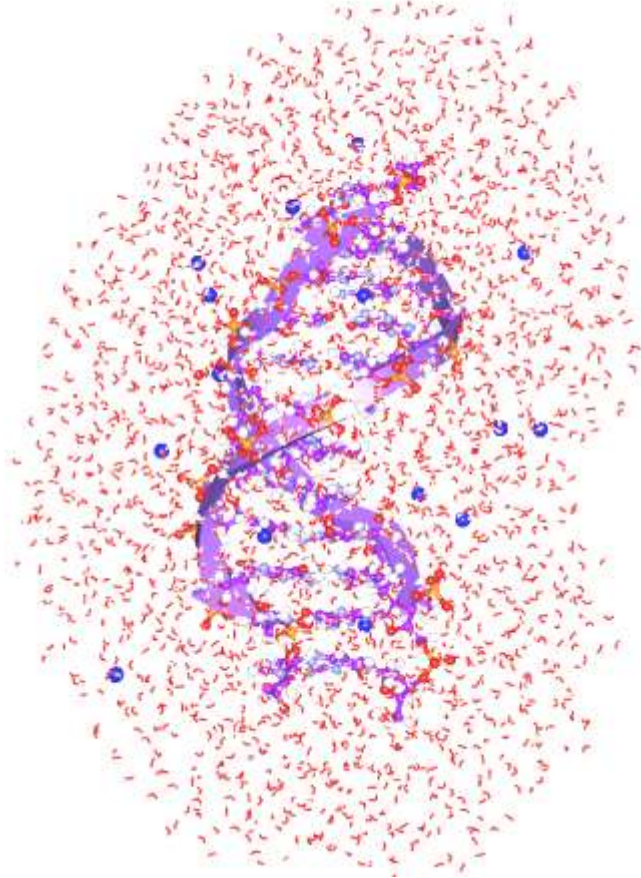


将来的には全PDBデータを格納し、世界中の構造生物学者に用いられるDBを目指す

フラグメント分子軌道法に基づく構造生命科学

- ◆ FMO法と構造生命科学
- ◆ インシリコ創薬
- ◆ FMO法と構造データベース
- ◆ 核酸を含む系
- ◆ ドラッグ・デリバリー・システム

分子間あるいはDNA内部の相互作用



**Watson-Crick
hydrogen bond**

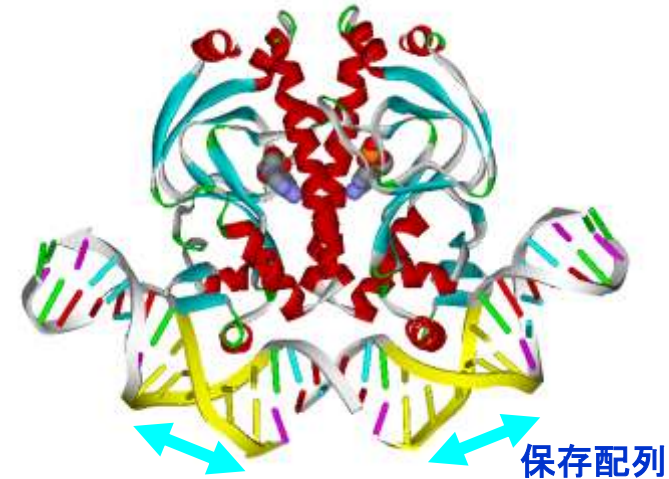
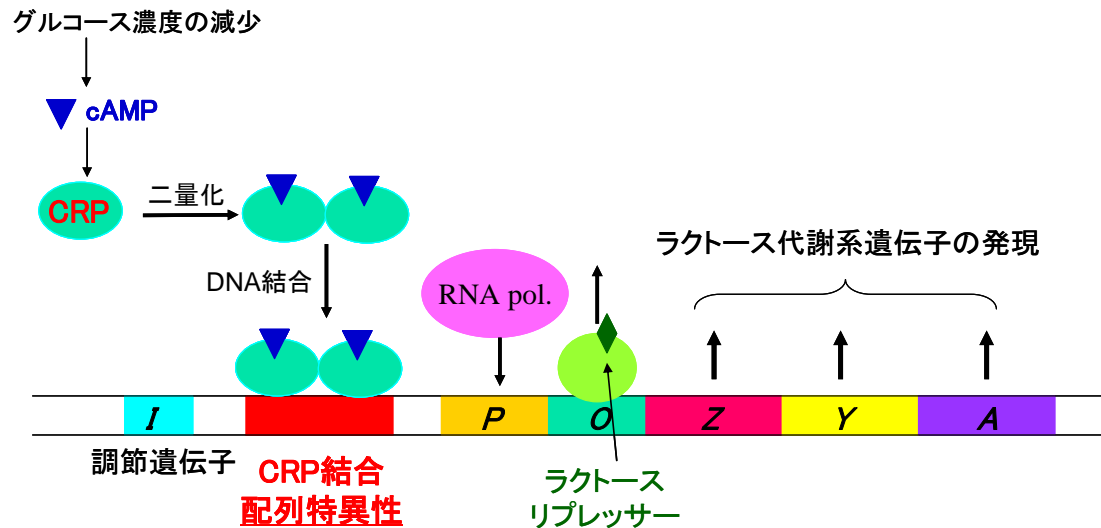
**Stacking
interaction**

5'-CGCGAATTCGCG-3'
water shell: 0-13 Å

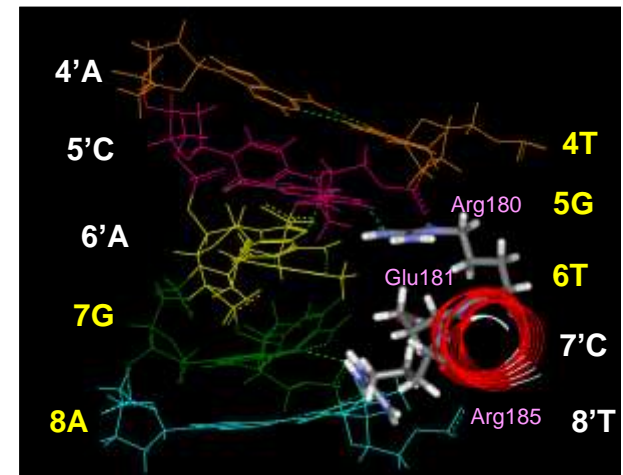
DNA結合タンパク質：DNAと大腸菌CRPとの相互作用

Fukuzawa, Komeiji, Mochizuki et al., J. Comp. Chem. 27, 948 (2006).

ラクトースオペロンとCRP

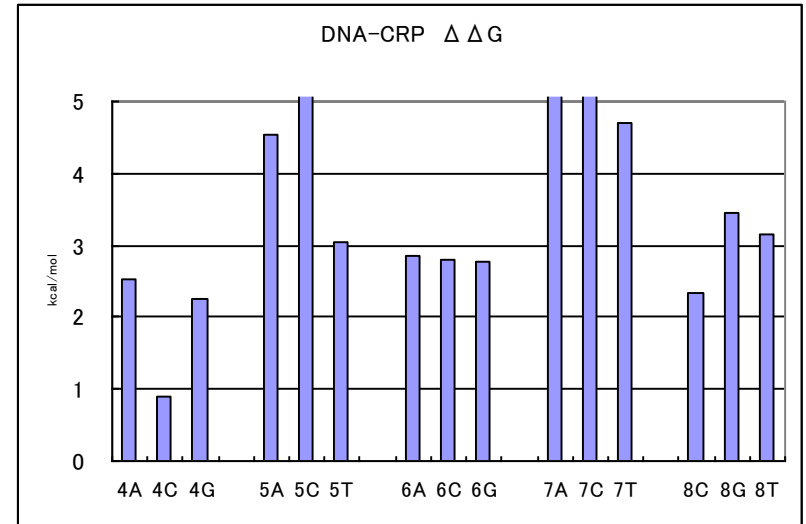
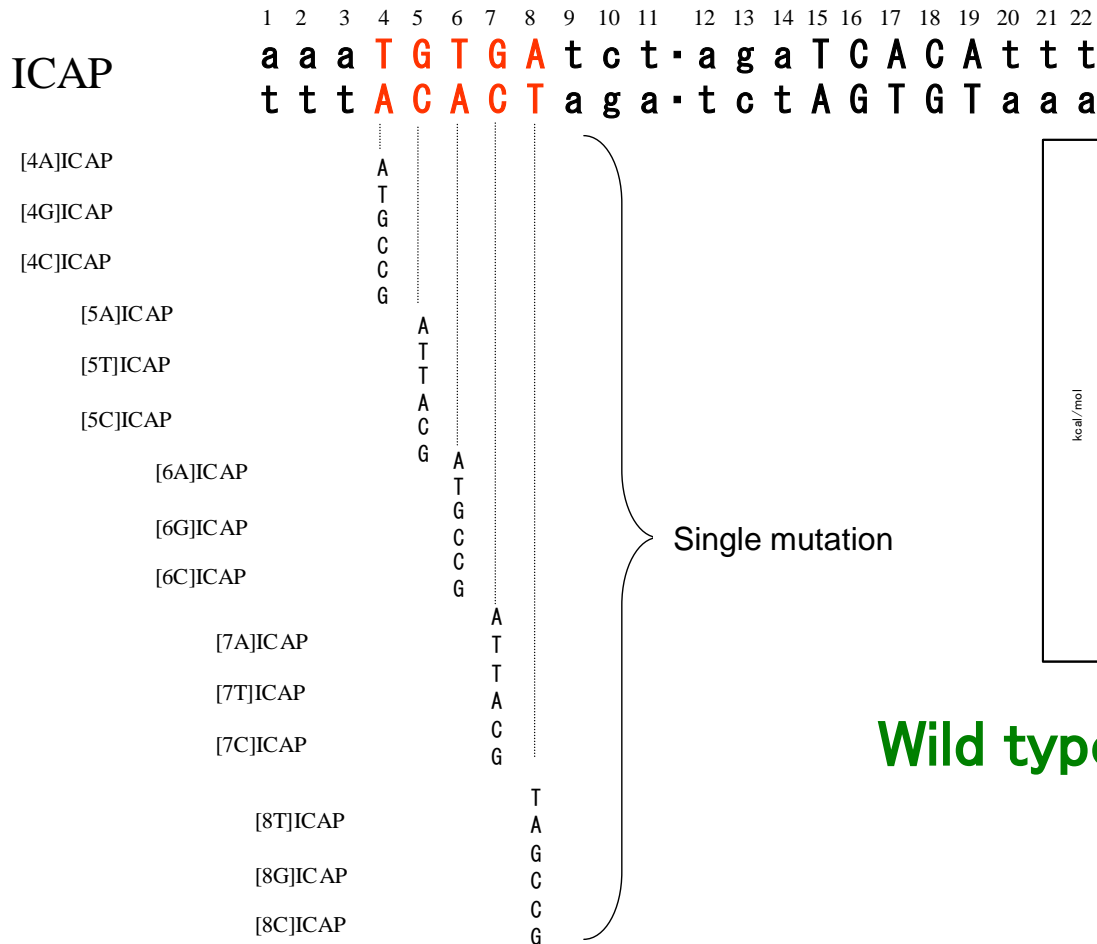


CRP-DNA 複合体 (PDBID:1J59)



CRPは糖代謝にかかわる遺伝子の転写を制御する

一塩基置換実験による結合自由エネルギーの変化^a



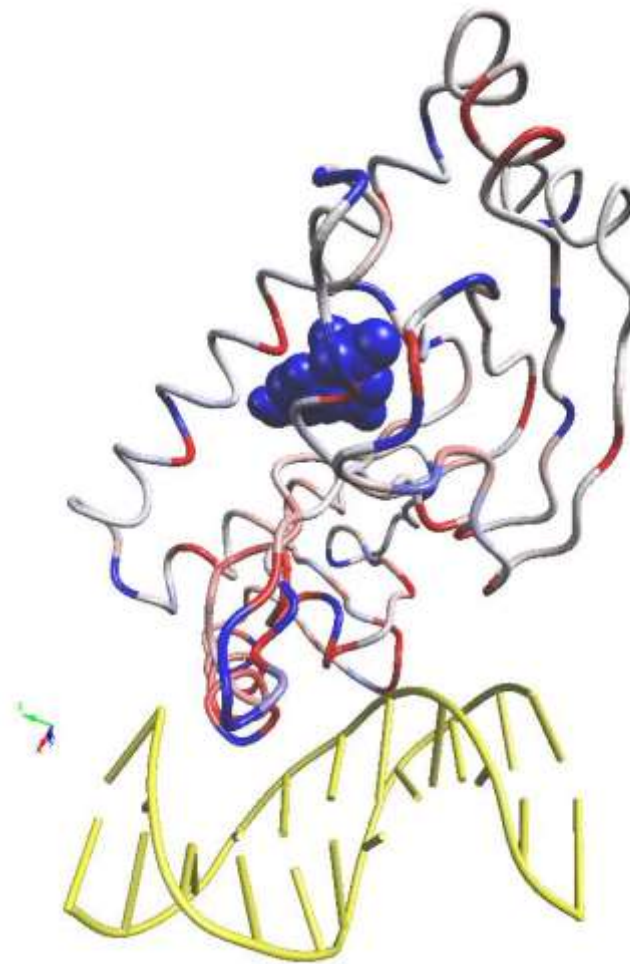
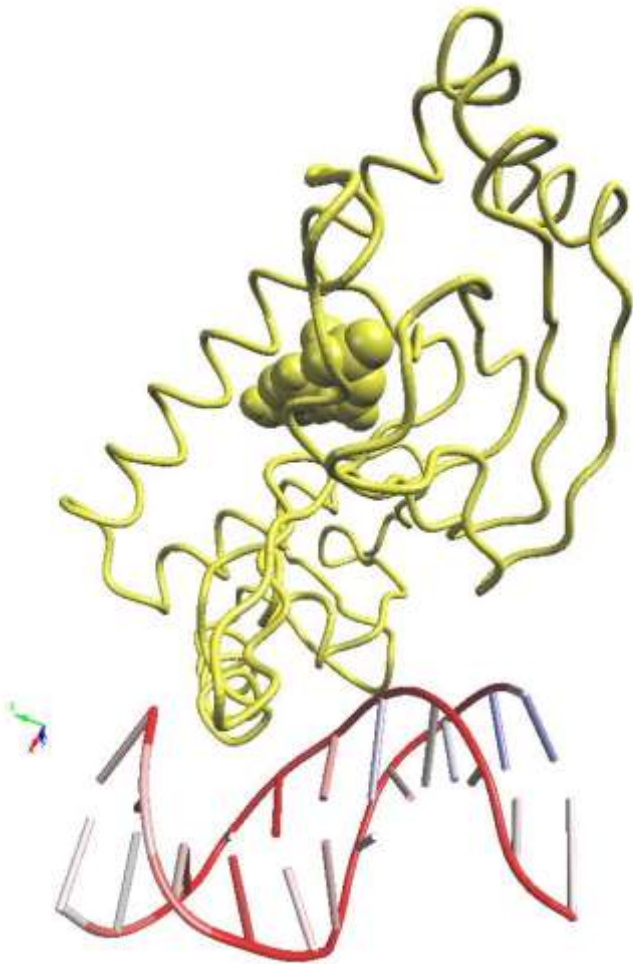
Wild type T G T G A

a) Gunasekera, A., Ebright, Y. W., and Ebright, R. H. (1992) "DNA sequence determinants for binding of the *Escherichia coli* catabolite gene activator protein." *J. Biol. Chem.* 267, 14713-14720

DNA と CRP-cAMP との間の相互作用

cAMP-CRP complex and each DNA base or sugar-phosphate fragments

DNA duplex and each amino acid or cAMP fragments



9 8 7 6 5 4 3 2 1 -1 -2
 T A G T G T A A A A A
 A T C A C A T T T T T

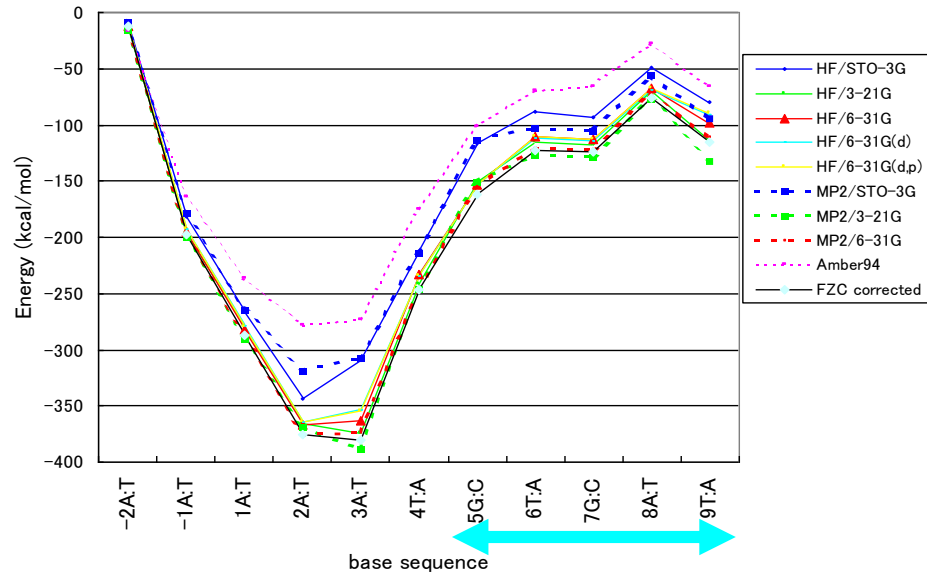
9 8 7 6 5 4 3 2 1 -1 -2
 T A G T G T A A A A A
 A T C A C A T T T T T

reference fragment(s)
 stabilized fragments
 destabilized fragments

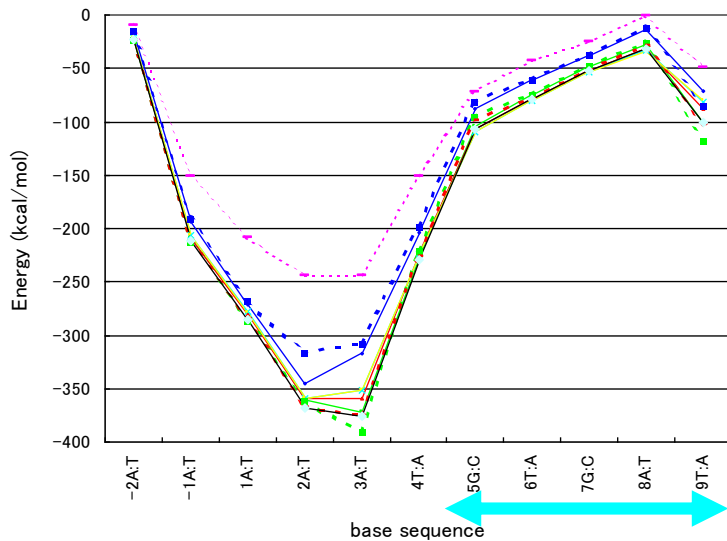
[FMO-MP2/6-31G]

塩基対とCRP-cAMP複合体の相互作用

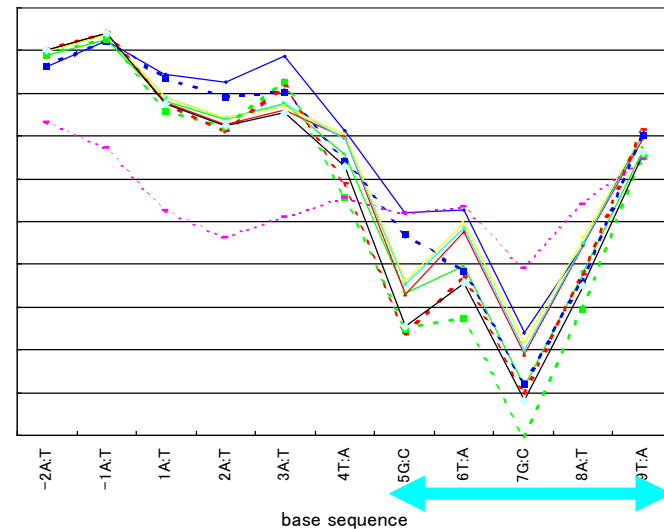
(a) Nucleotide



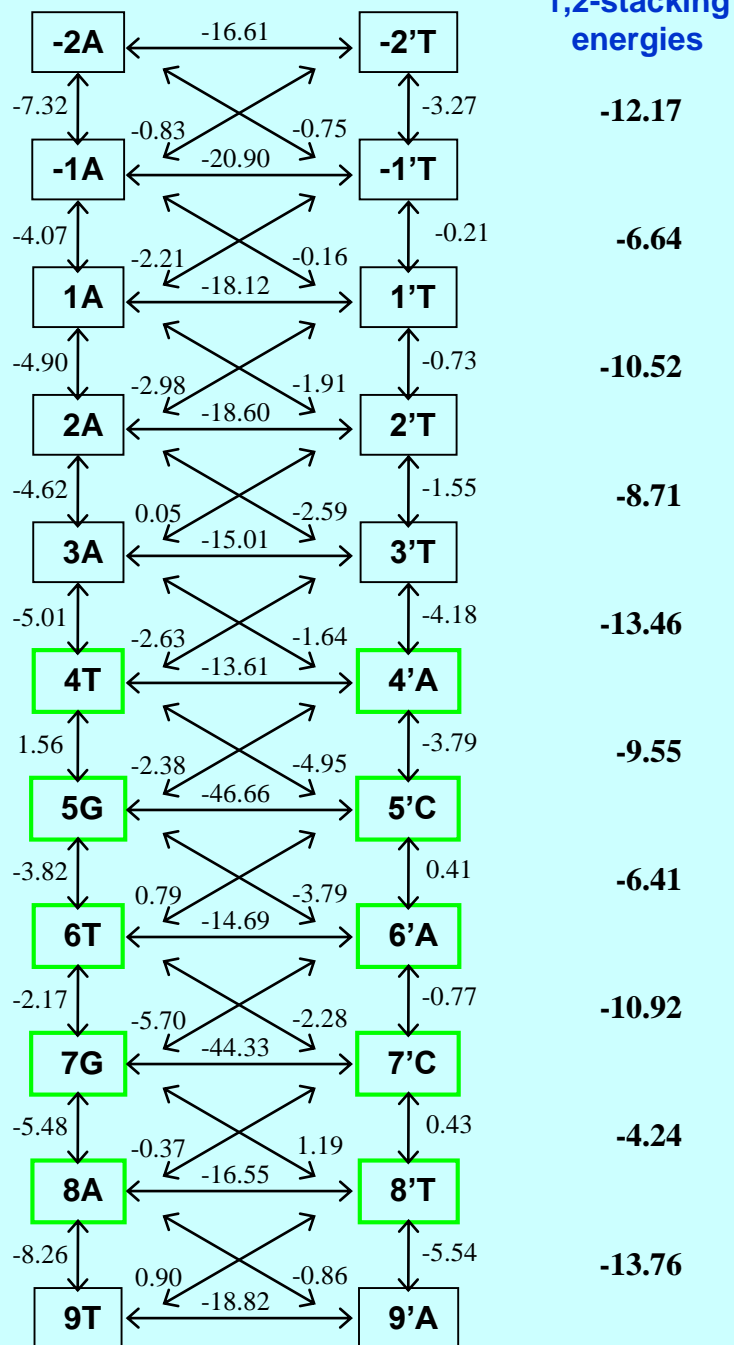
(b) DNA main chain (sugar-phosphate)



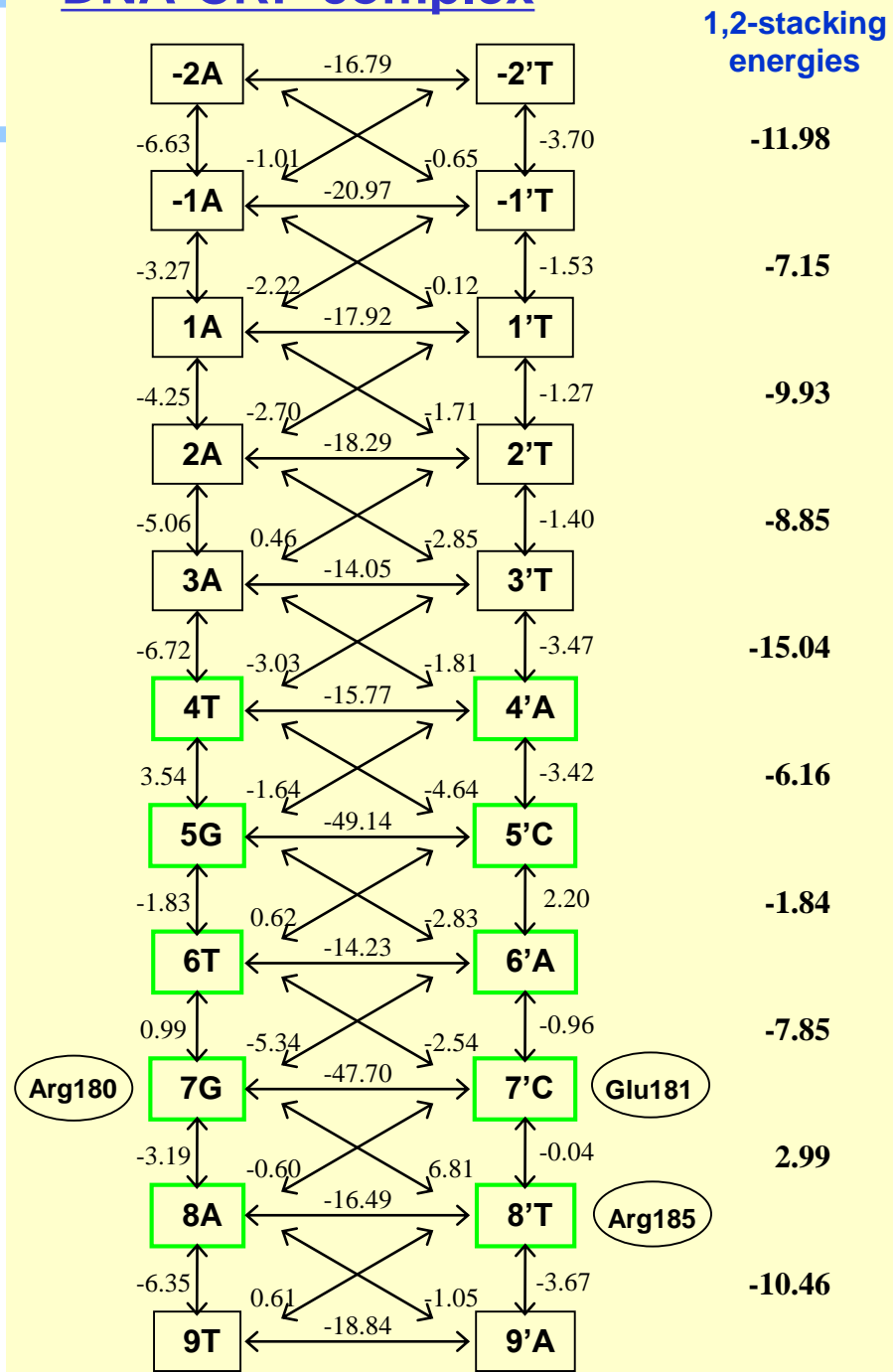
(c) DNA base



Free DNA

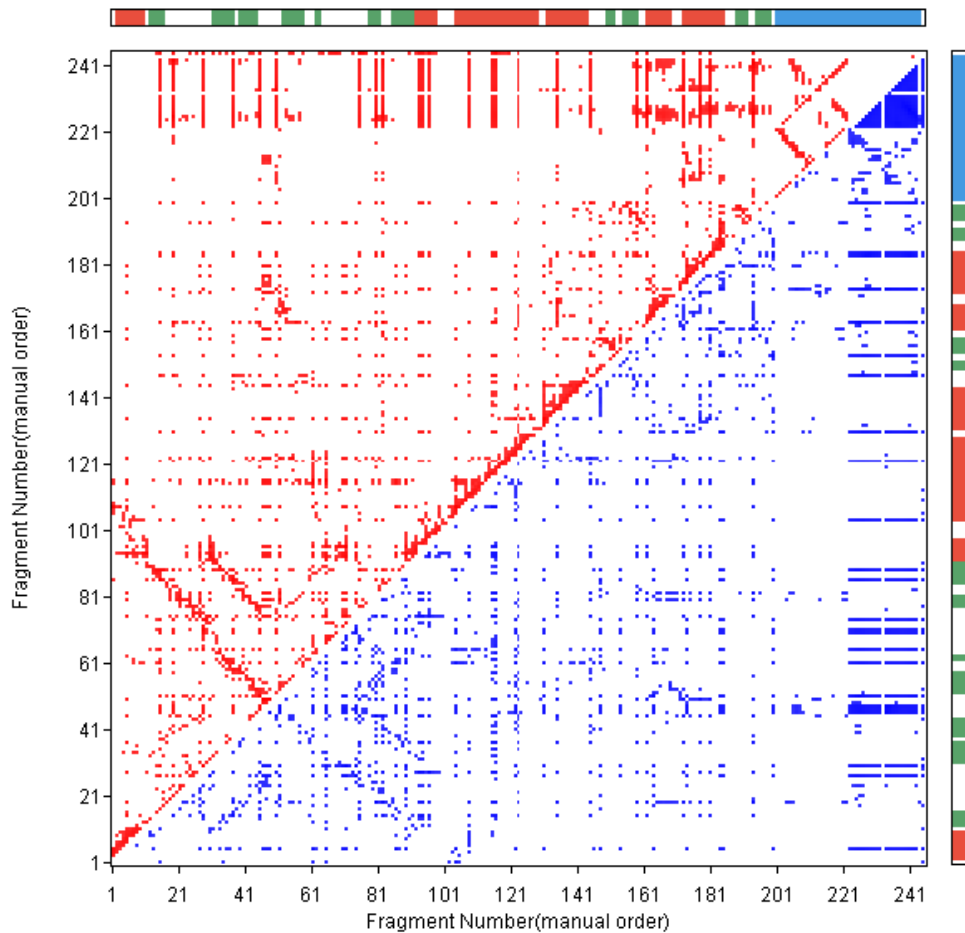


DNA-CRP complex

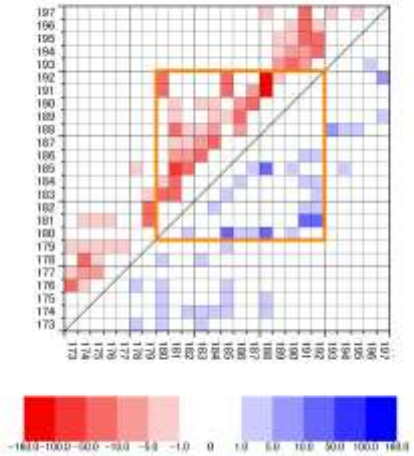


CRP-DNA 複合体の2次元IFIE-MAP

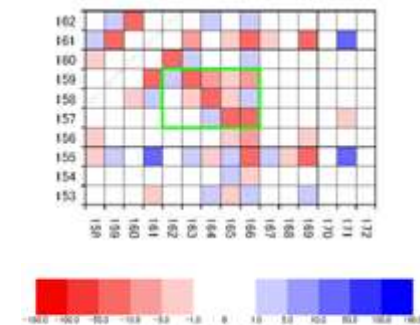
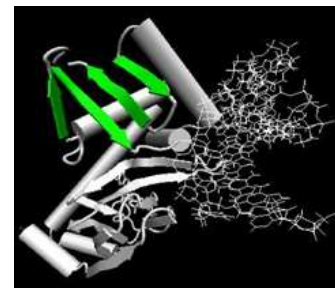
I. Kurisaki et al., Biophys. Chem. 130, 1-9 (2007).



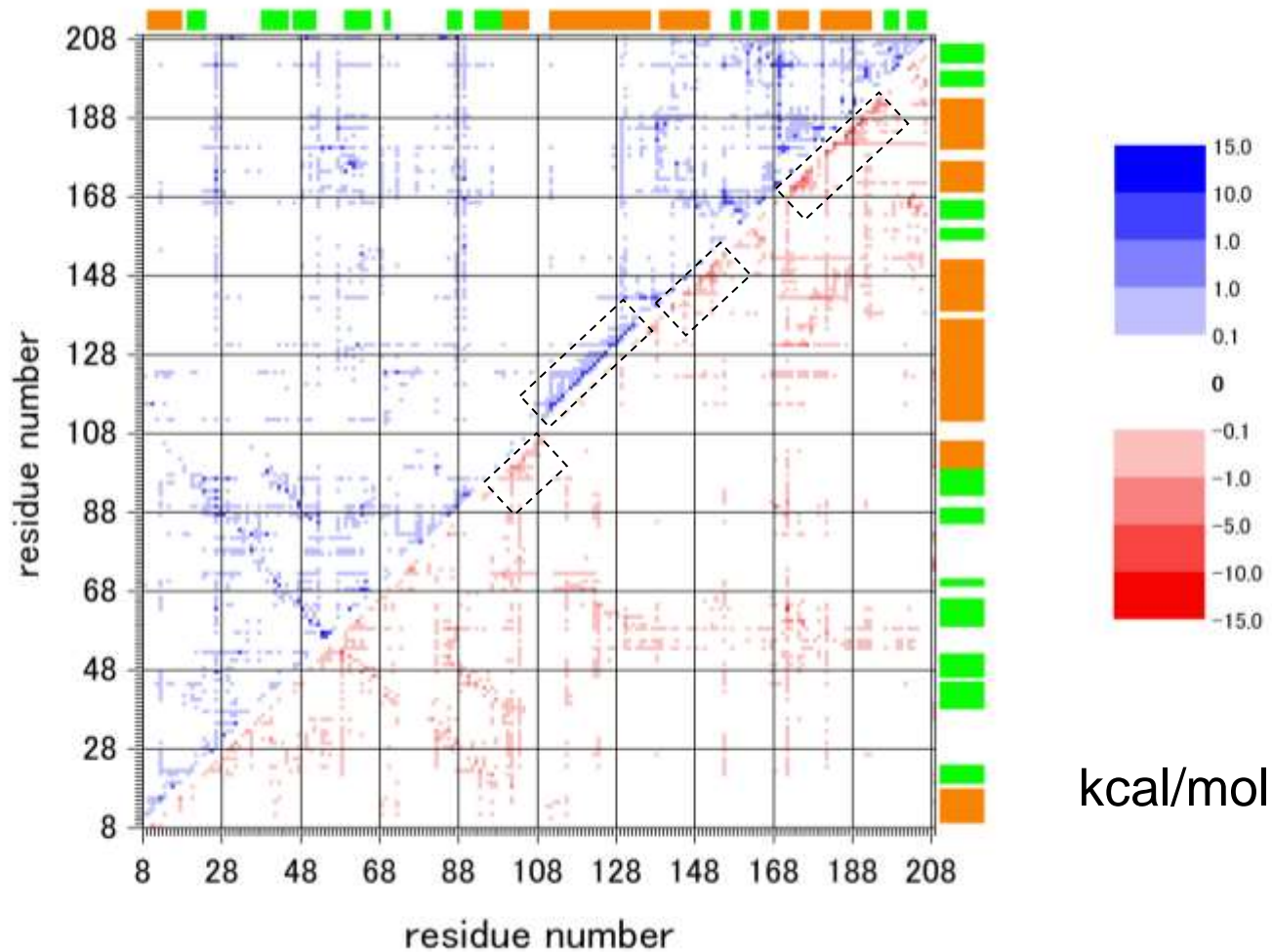
α -helix



β -sheet



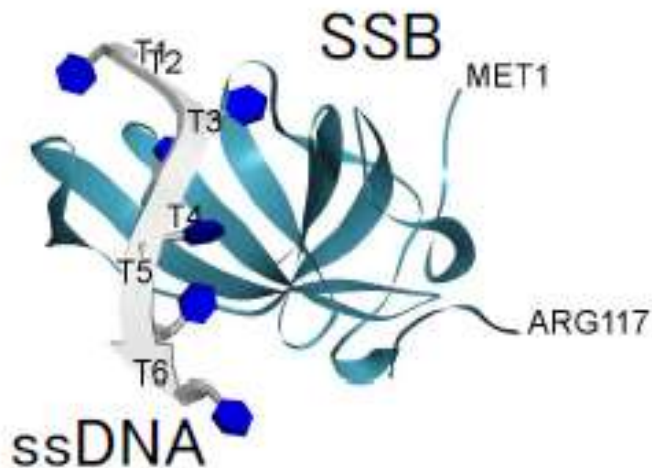
差MAP ($IFIE_{Complex} - IFIE_{Free}$)



Stability of α -helix is changed by making complex between DNA and CRP

一本鎖DNAと結合タンパク質との相互作用

Interaction between a single-stranded DNA (ssDNA) and a binding protein (SSB).



▪ Electrostatic interaction between SSB side chain and ssDNA sugar-phosphate backbone

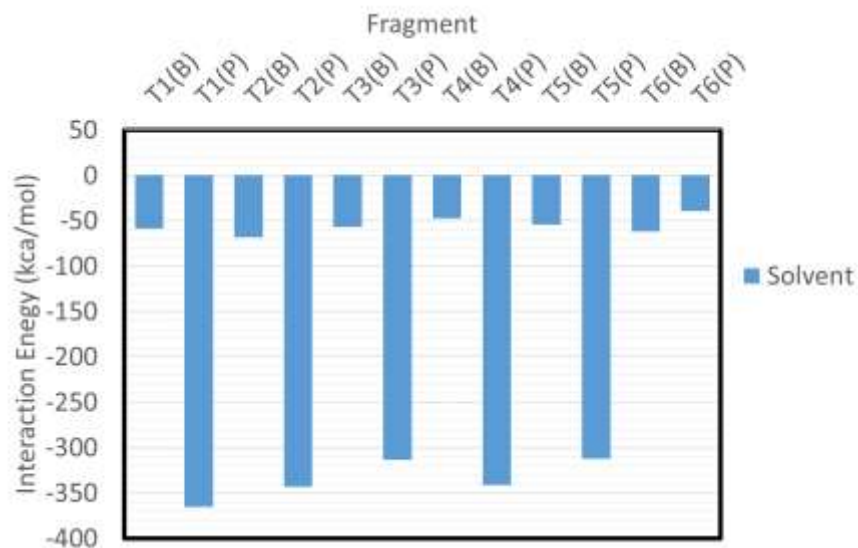
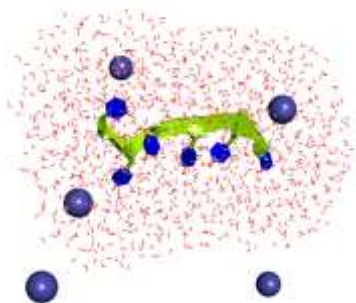


▪ Stacking interaction between SSB side chain and ssDNA base

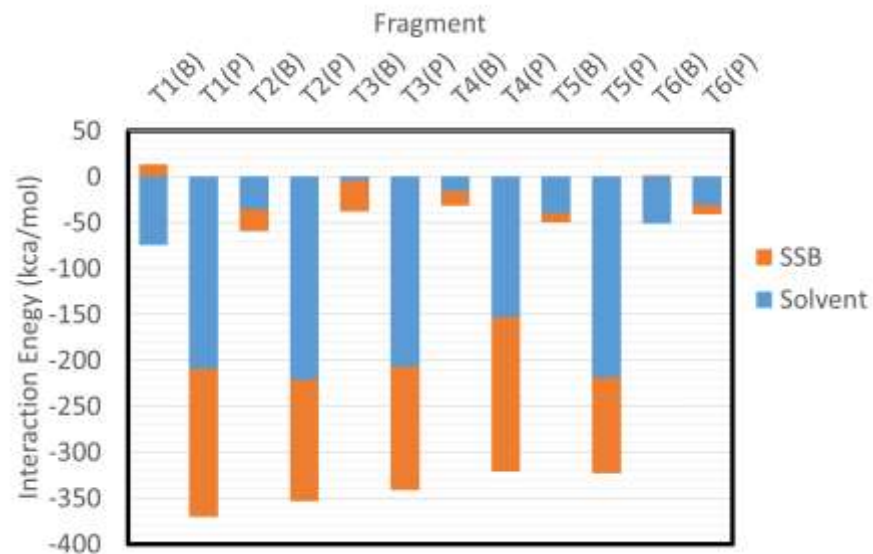
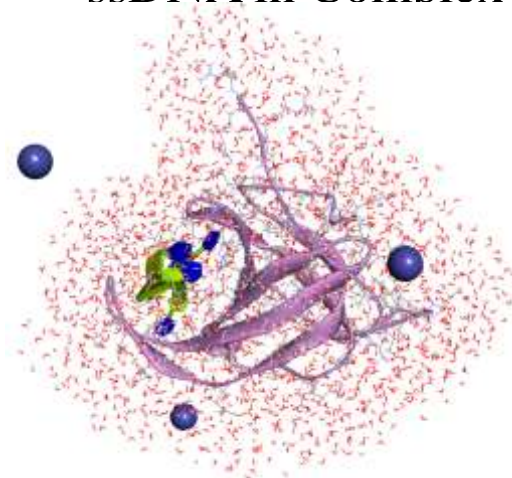


溶媒和とタンパク和の相互作用の違い

Isolated ssDNA



ssDNA in Complex



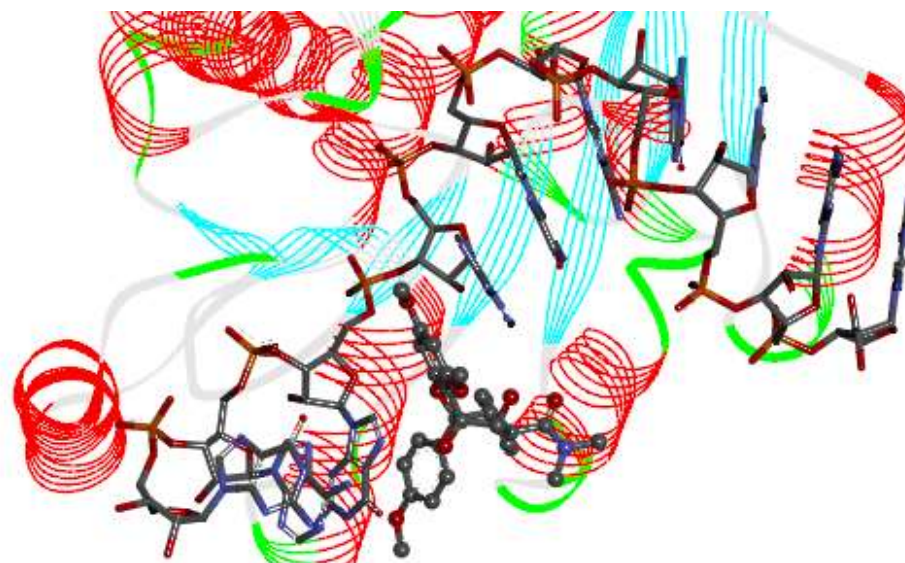
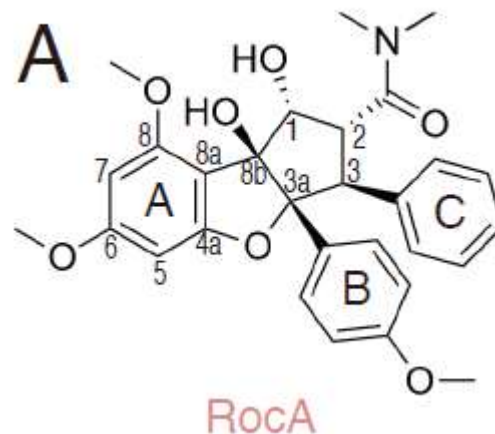
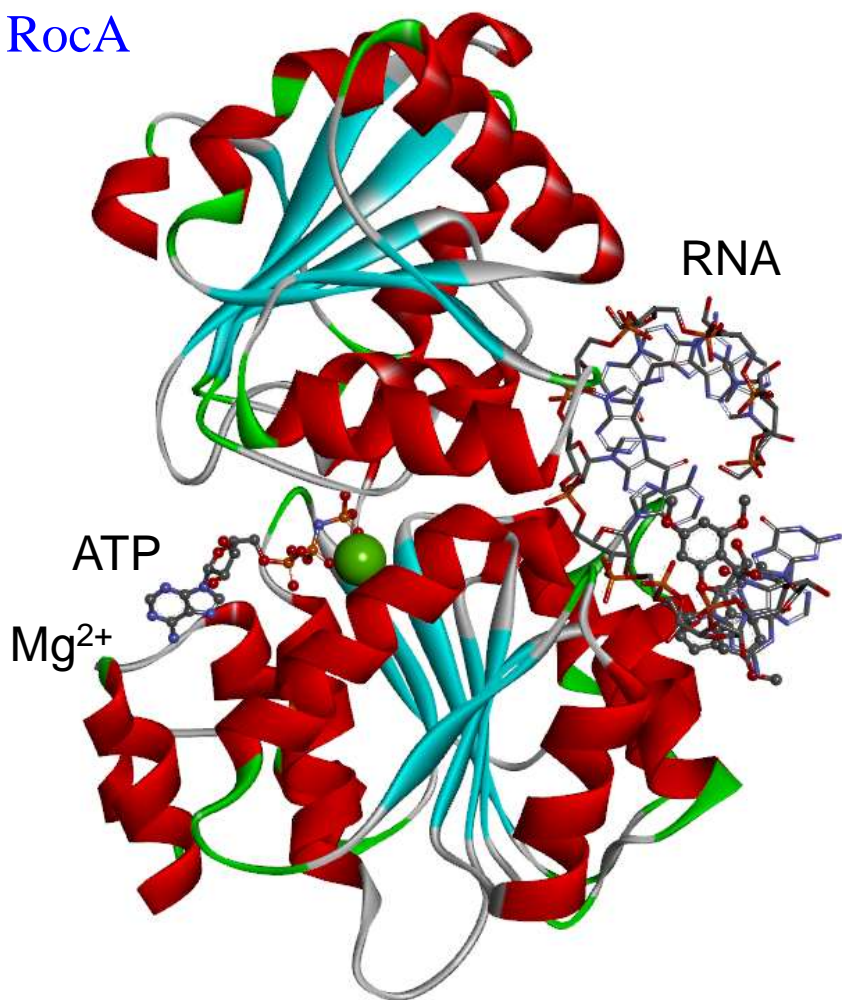
eIF4A-RocA と RNAとの複合体のFMO計算

“A translation inhibitor targets a bimolecular cavity between eIF4A and polypurine RNA”

Shintaro Iwasaki et al., submitted. to *Molecular Cell*

eukaryotic translation initiation factor: eIF

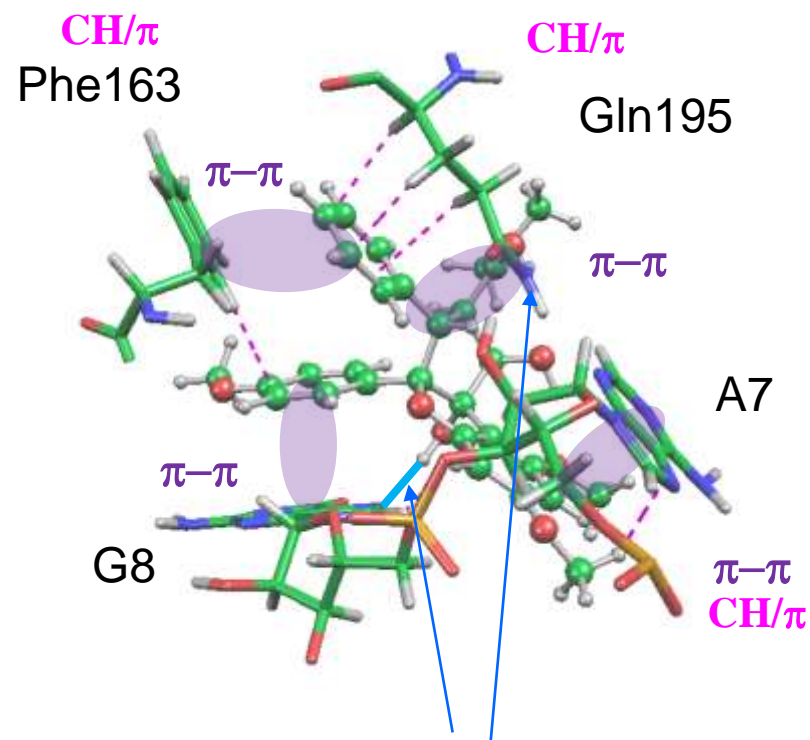
RocA



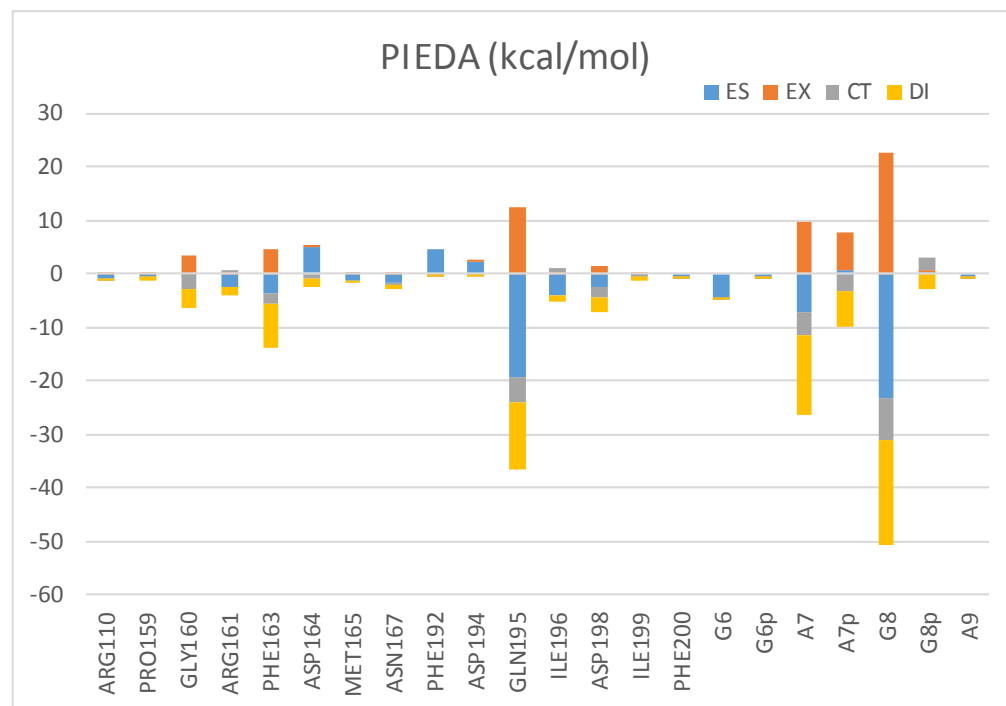
stacking interaction between RocA and purine

FMOによって可視化される相互作用

Interactions surrounding the ligand



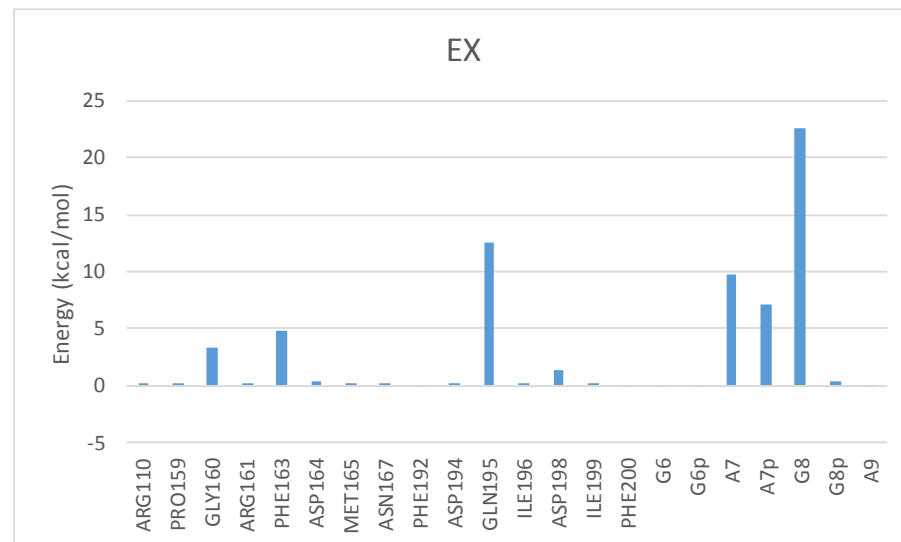
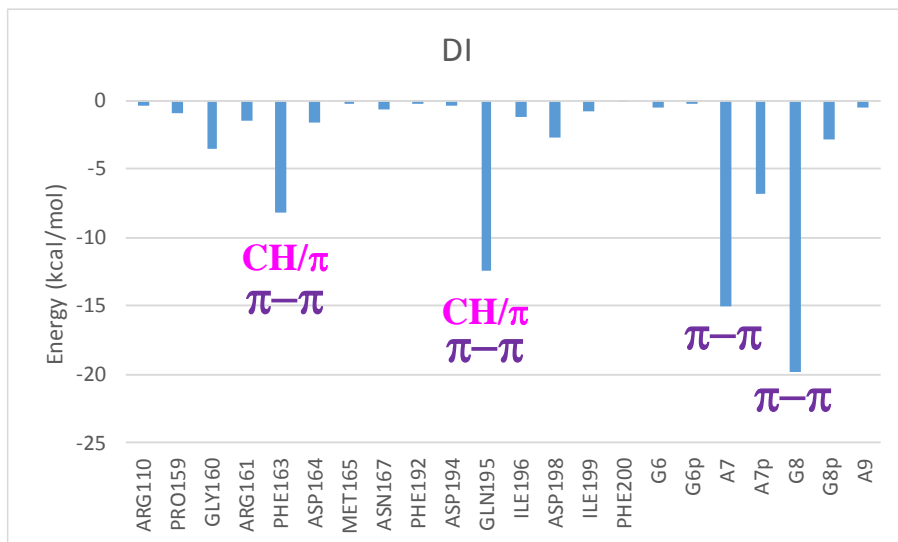
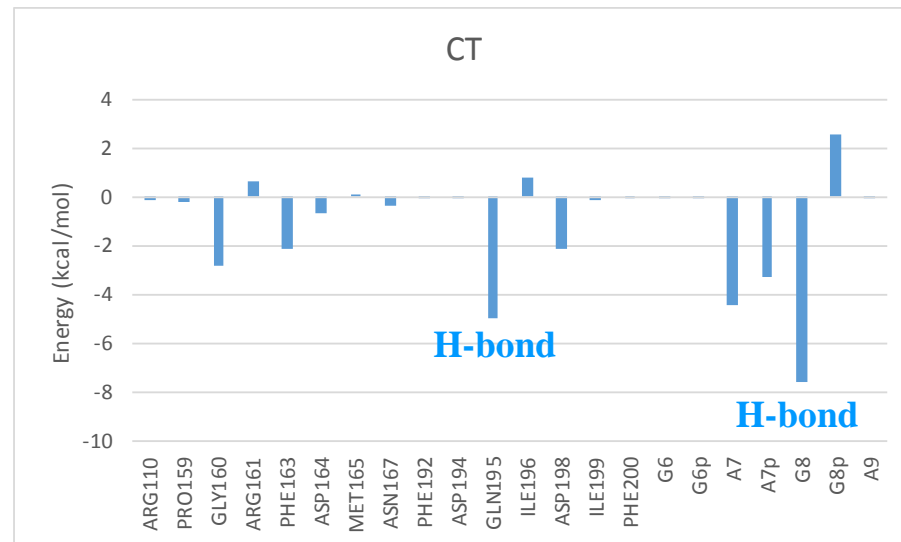
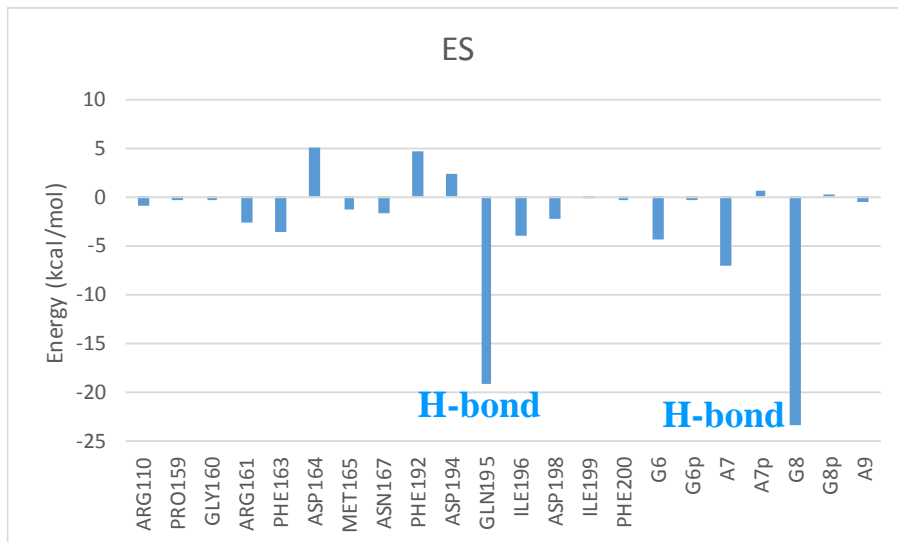
Two H-bonds : O6(RocA)-N7(G8);
O1(RocA)-NE2(Gln195);



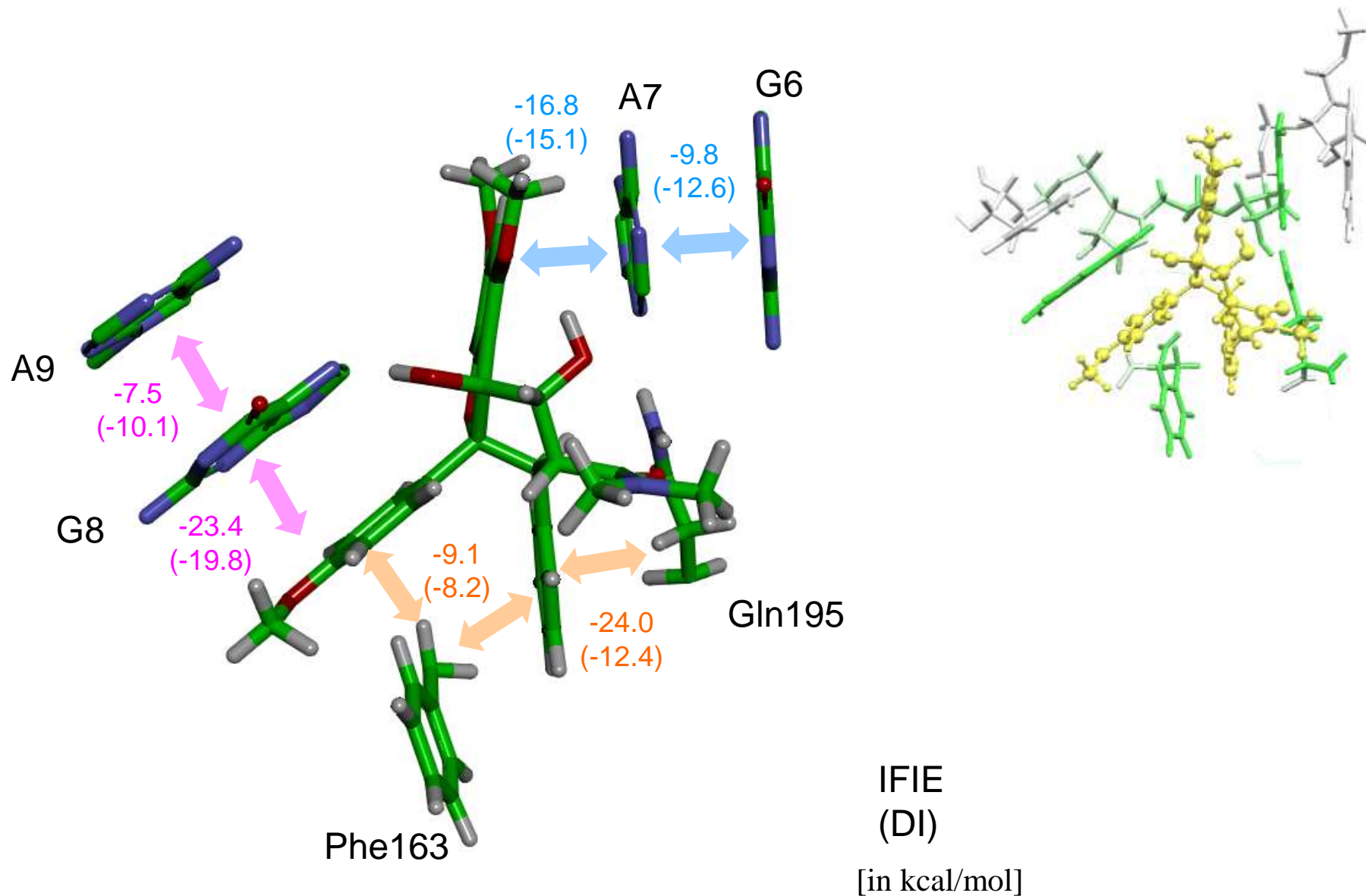
IFIE	ES	EX	CT	DI
-112.0	-70.0	63.0	-24.6	-80.4

(kcal/mol)

PIEDA 解析



リガンド周辺の分散相互作用ネットワーク

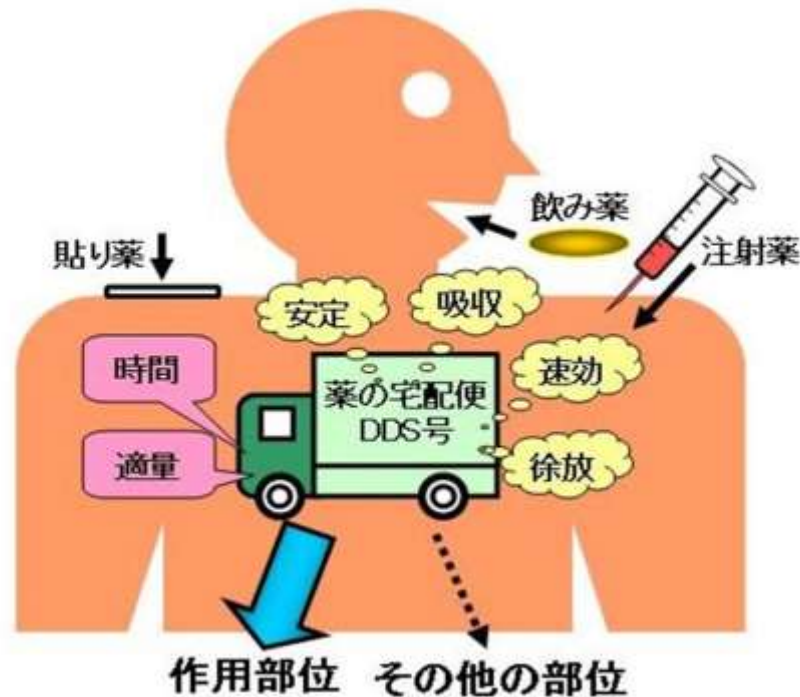


フラグメント分子軌道法に基づく構造生命科学

- ◆ FMO法と構造生命科学
- ◆ インシリコ創薬
- ◆ FMO法と構造データベース
- ◆ 核酸を含む系
- ◆ ドラッグ・デリバリー・システム

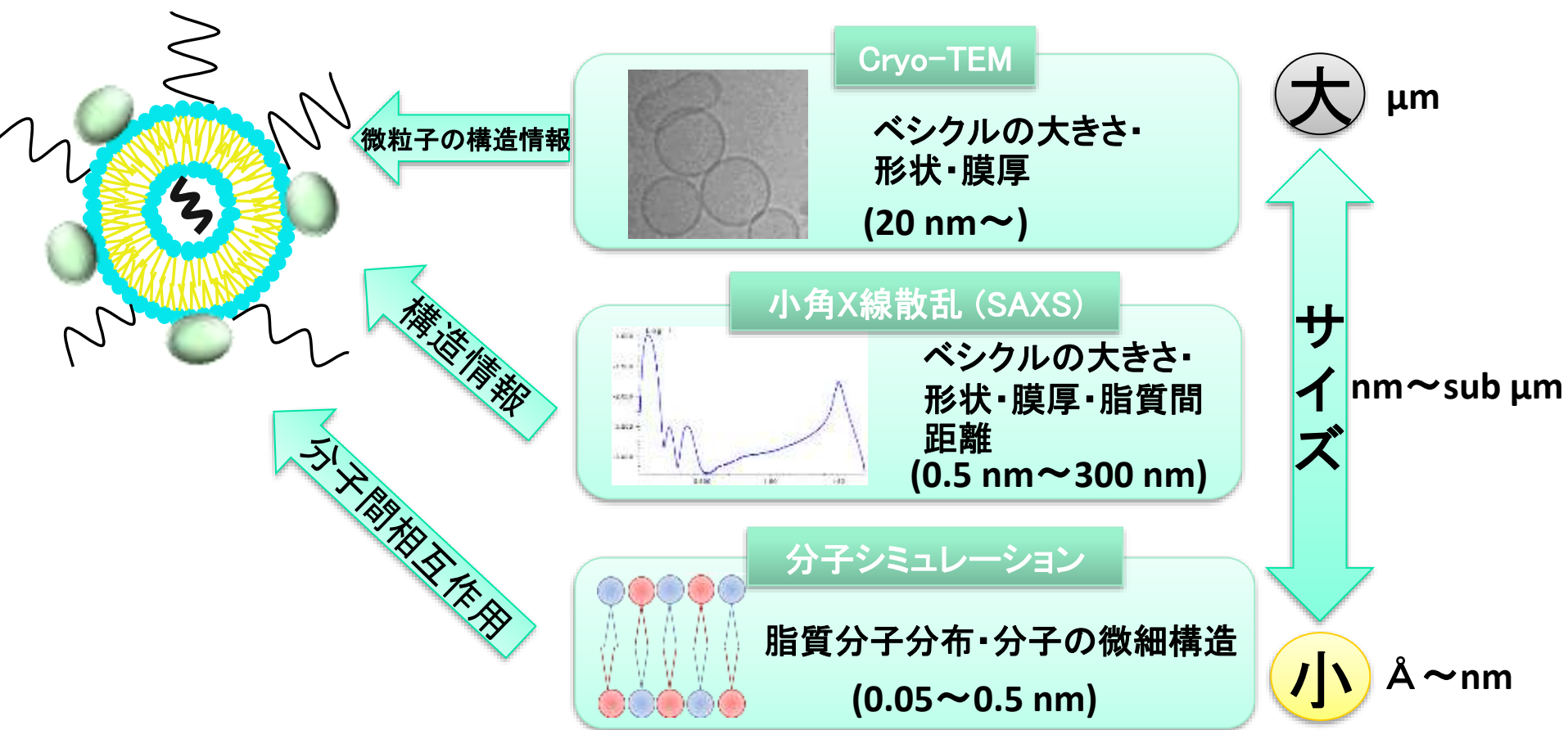
ドラッグ・デリバリー・システム

～FMO-DPD法を用いたDDS製剤設計～



リポソーム

微粒子の設計における物性評価

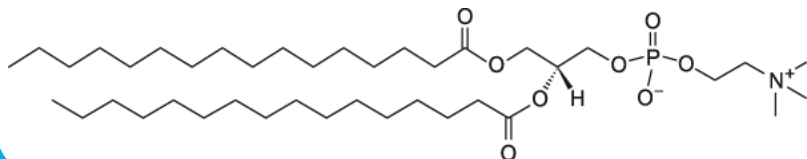


脂質微粒子の形成メカニズムを予測するための
分子シミュレーション手法の確立

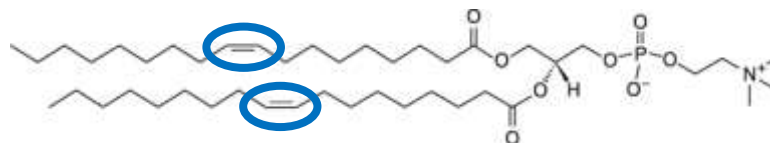
モデル脂質膜の調整と評価

リン脂質

DPPC (1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)

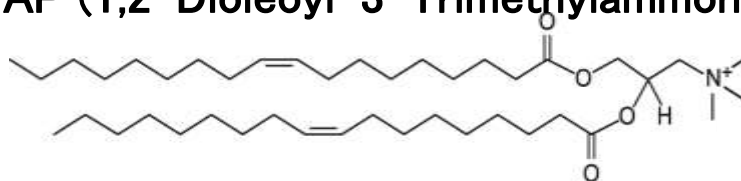


DOPC (1,2-di-(9Z-octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine)



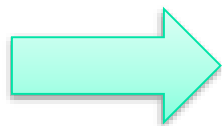
正電荷脂質

DOTAP (1,2-Dioleoyl-3-Trimethylammonium Propane)



組成比 (モル比)

DOTAP/DPPC(%)= 0%, 25%, 50%, 75%, 100%

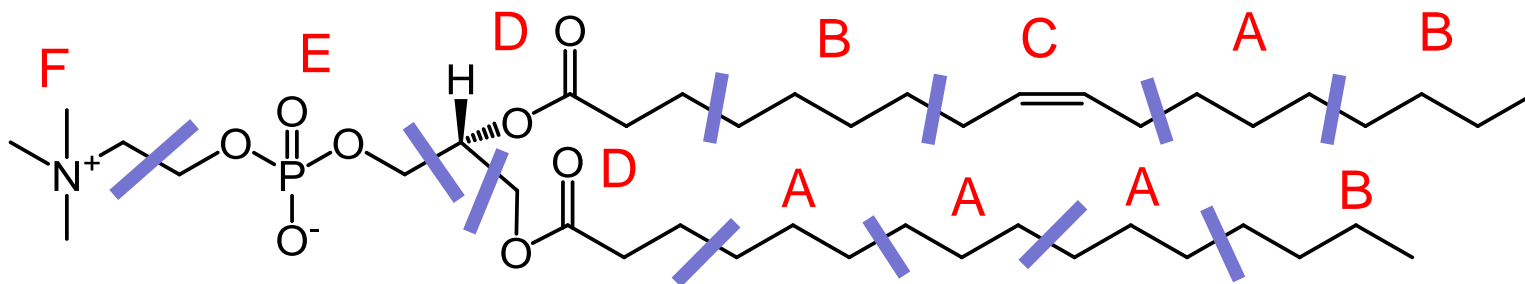


上記の組成比で実験 (SAXS, Cryo-TEM) 及びシミュレーションを行った。

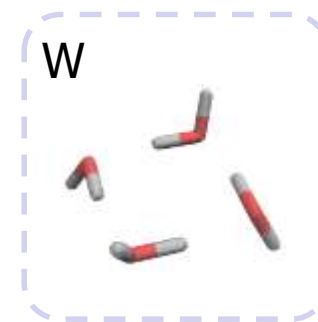
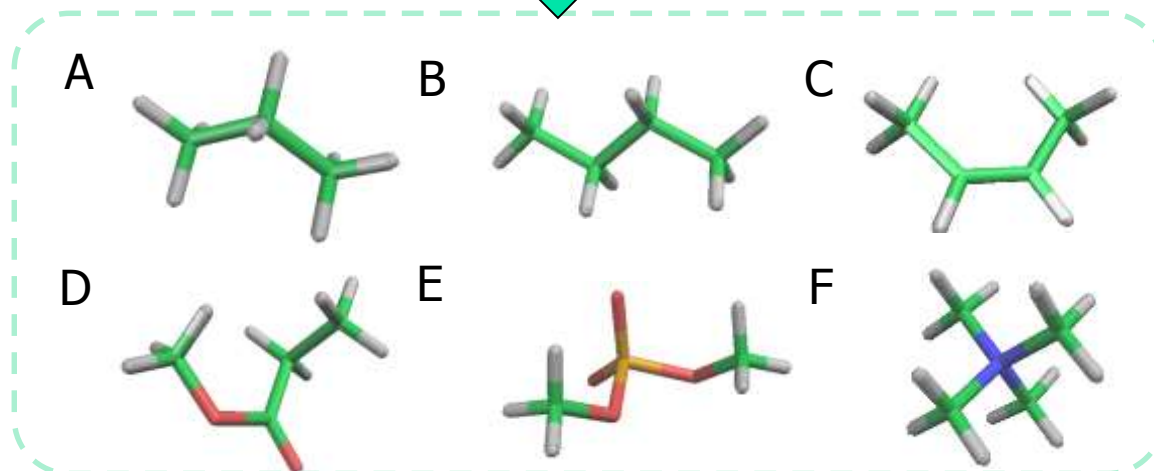
※SAXS (BL10C)は高エネルギー加速器研究機構にて測定、Cryo-TEM (JEM-2100F)は千葉大学にて測定

散逸粒子動力学(DPD)シミュレーション

POPC: 頭部にコリンを有する代表的なリン脂質



分子内を小分子に分割 ⇒ 「部品」として再利用可能



水を含めた7成分間、21ペア

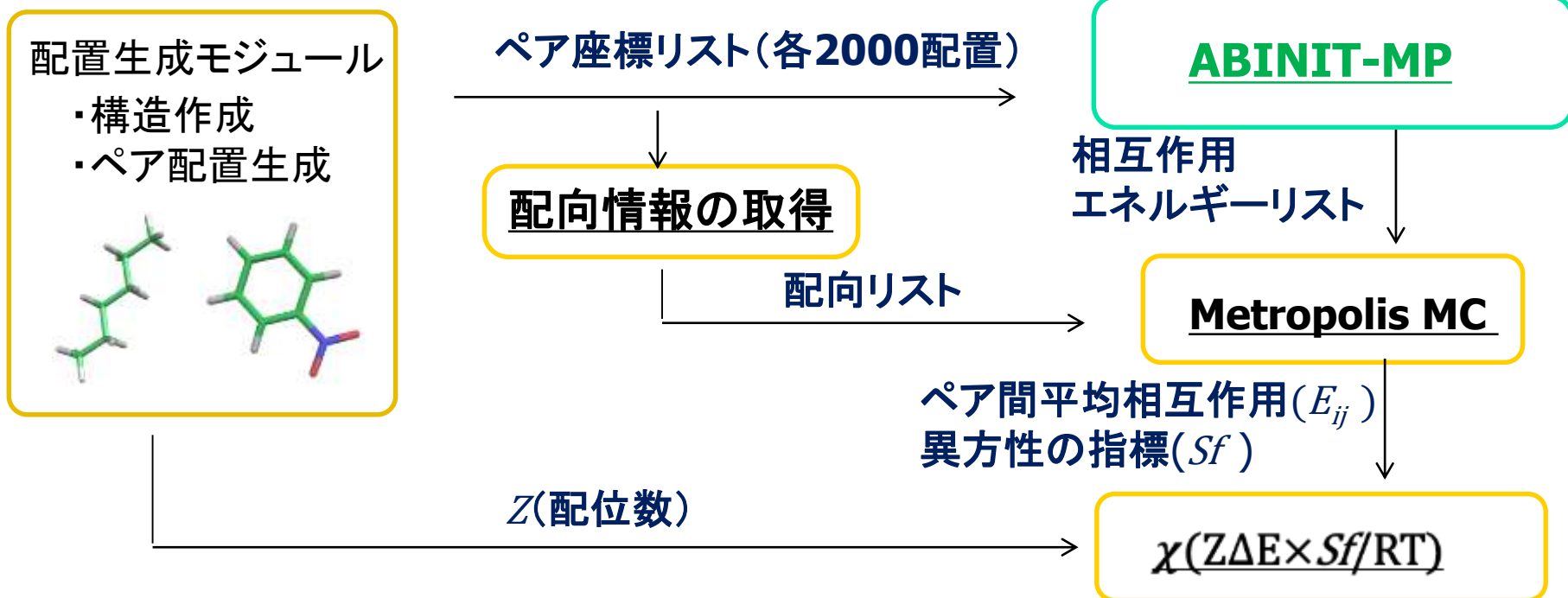
FMO法による相互作用パラメータの算定 ⇒ FMO-DPD法

- ・溶媒効果(Poisson-Boltzmann)を取り入れた二分子モデル計算
- ・計算レベル: FMO2-MP2-PB/6-31G[†]、各ペア2000配座

- ・パラメータ算定法: Okuwaki et al., *J. Phys. Chem. B* 122 (2018) 338-347.
- ・POPCでの解析例: Doi et al., *Chem. Phys. Lett.* 684 (2017) 427-432.

FMO計算に基づくパラメータ算定のワークフロー

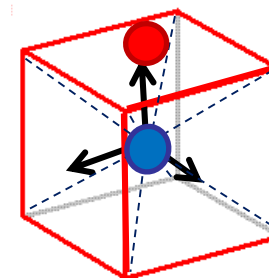
◆配置生成からパラメータ算出処理までの自動化



◆異方性の指標(Sf)の導入:

- ・特定の配向で強い相互作用を示す系: 平均相互作用を過大評価
- ・MC法採用配置の配向の偏りから相互作用をスケールリング

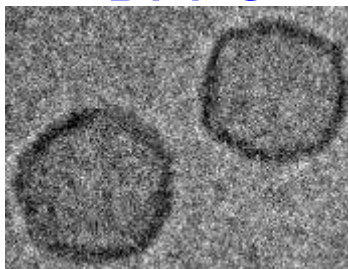
⇒単純な二成分系の相転移臨界温度が実験と良好な一致



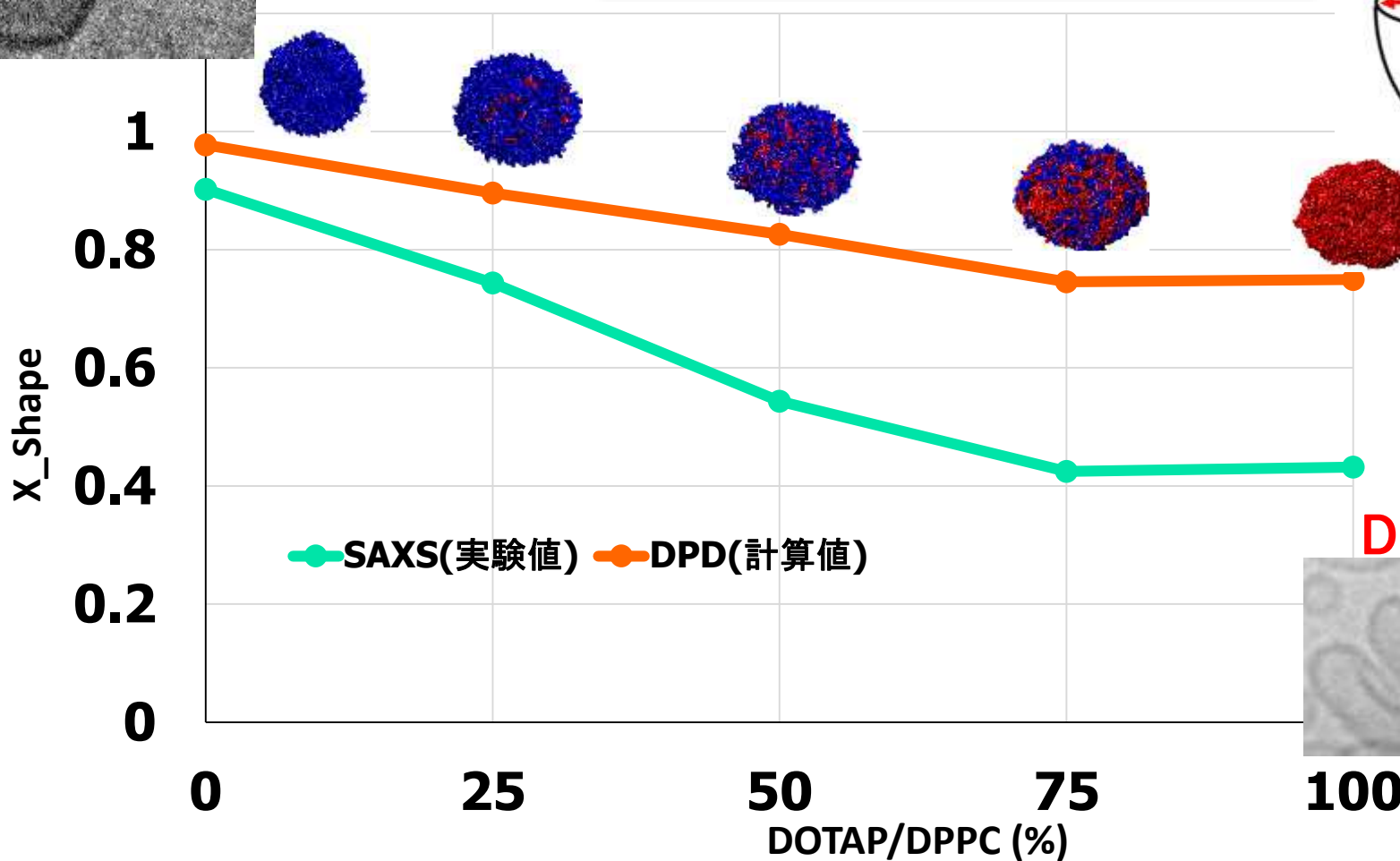
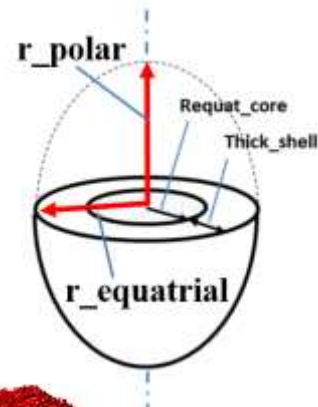
ワークフローを汎用システムとして公開済み (名称はFCEWS)

混合比率がベシクル形状に及ぼす影響

DPPC



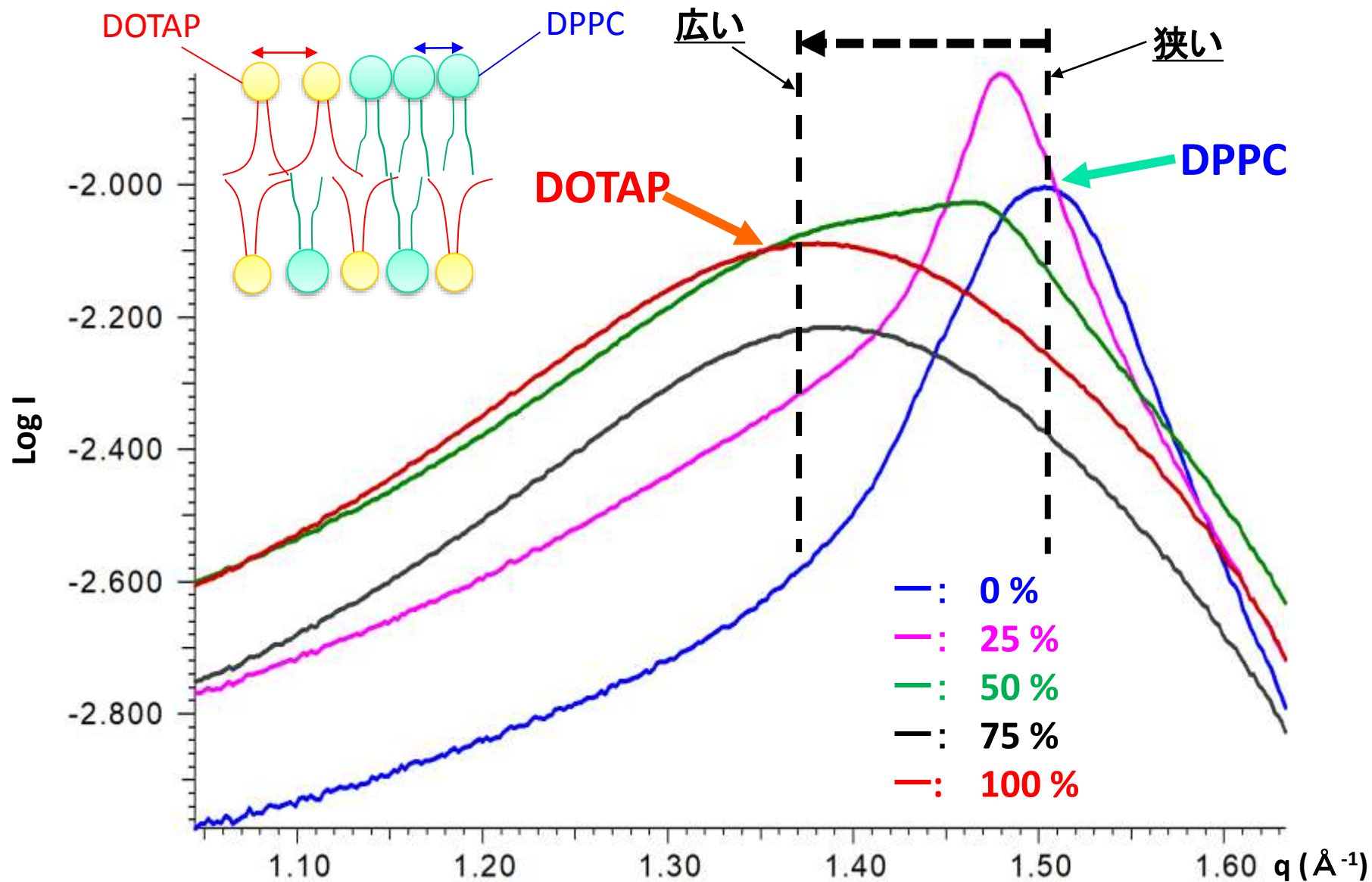
$X_{shape} = r_{polar} / r_{equatorial}$
 $X_{shape} = 1$: 球
 $X_{shape} < 1$: 扁球



DOTAP

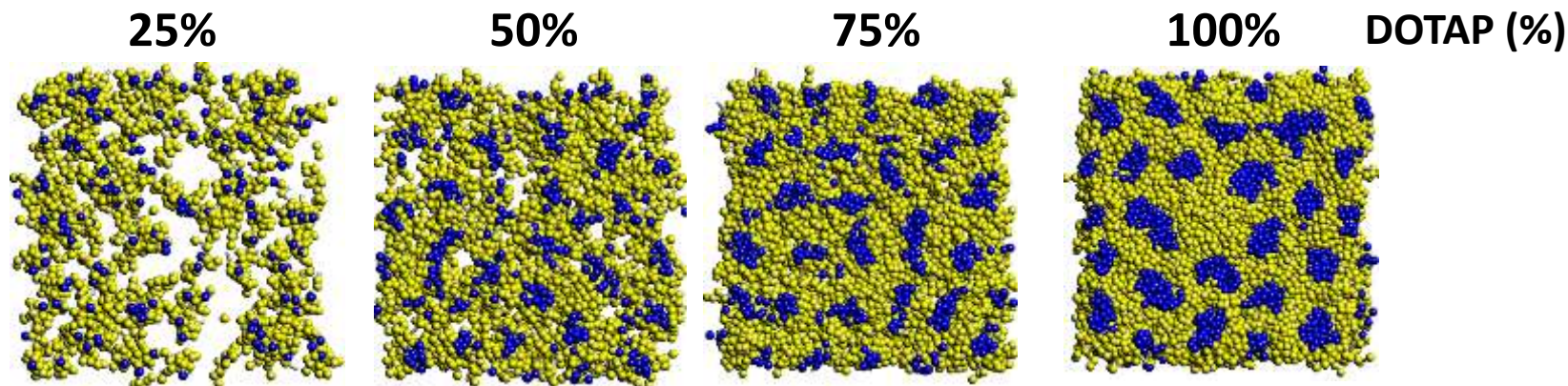
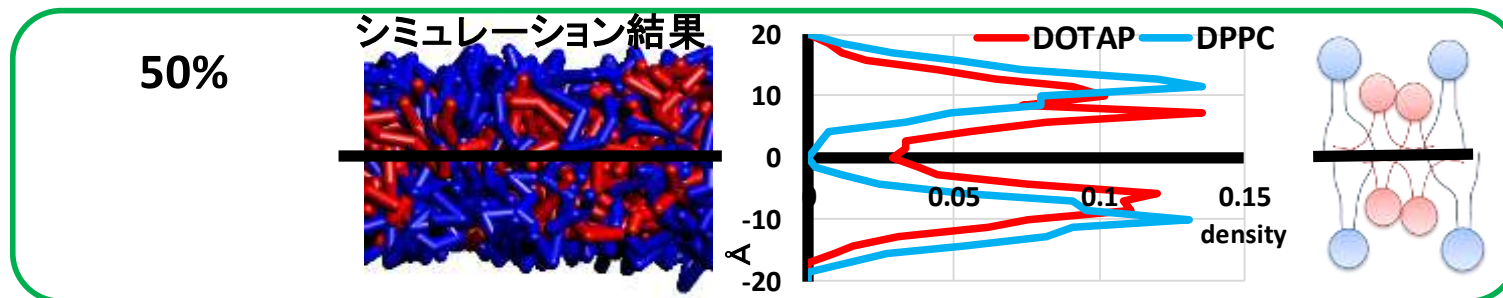
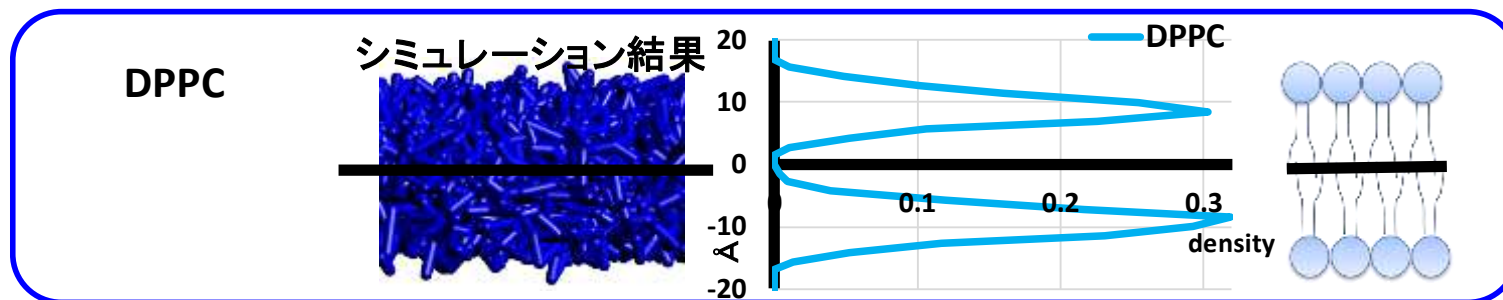


SAXSによる脂質配列の評価



脂質二重膜の表面形状と分布の評価

●:DOTAP ●:DPPC



まとめと今後の課題

～FMO創薬の実現にむけて～

- ◆ 日本発の理論手法であるFMO法を創薬に応用している。
- ◆ 産学官連携のFMO創薬コンソーシアムを母体として実用化を目指す。結合性/活性/選択性の評価など、分子設計に有用な情報を提供できる。統計解析、溶媒効果が依然として課題である。
- ◆ FMOデータベース (FMO-DB) は世界最大級のタンパク質の量子化学計算データを保持しており、今年度中の一般公開を予定している。
- ◆ FMO-DBは構造生物学者や合成化学者にも有用な基盤データである → 各種データベースとの連携により世界のスタンダード化を目指す。
- ◆ さらに、機械学習やAI創薬への基盤データとなる。
- ◆ 古典MDとQMの融合、FMO力場の開発、など異なるインシリコ手法を有効に活用するための評価方法を今後検討。
- ◆ KBDDとの連携、AMED-BINDSとの連携、ポスト京PJとの連携等を通じて、オールジャパン体制での実用的な創薬基盤の構築を進める。

FMOデータベース公開記念シンポジウム



FMOデータベース公開記念シンポジウム ～世界初のタンパク質の量子化学計算データベースと創薬への活用～

日時:2019年3月21日9:30～11:30

会場:D会場 幕張メッセ 国際会議場 201

オーガナイザー:本間光貴(理研)、福澤薫(星薬大)

講演予定者:

田中成典(神戸大院)「FMOデータベースの情報科学的な活用」

福澤薫(星薬大)「HPCIを活用したFMO創薬プラットフォームの構築」

本間光貴(理研)「構造インフォとFMO計算を融合したインシリコスクリーニング」

高谷大輔(理研)「FMOデータベースの概要と登録方法」

渡邊千鶴(理研)「創薬分子設計におけるFMOデータベースの利用」

増田(東レ)／加藤(みずほ情報総研)「機械学習を用いた高精度分子力場の構築に向けて」


謝辞

FMO創薬コンソーシアム(FMODD)

本間光貴、渡邊千鶴、高谷大輔、永瀬駿平、神坂紀久子、森脇寛智(理研)、
田中成典、渡邊博文、平田恭嘉(神戸大)、
関祐哉、半田佑磨、加藤司、町田大樹(星薬大)、
沖山佳生(国立衛研)、栗田典之(豊橋技科大)、矢城陽一郎(岡山理科大)。
高木達也(阪大)、川下理日人(近畿大)、鷹羽健一郎(旭化成ファーマ)
小沢知永(キッセイ薬品工業)、上村みどり(帝人ファーマ)
FMODD参加企業・大学・アドバイザーの皆様



ABINIT-MP/BioStationの開発

望月祐志(立教大)、中野達也(国立衛研)、
古明地勇人(産総研)、みずほ情報総研株式会社
ポスト京HPCI戦略プログラム(分野4)、ポスト京プロジェクト(重点課題6)



ファンド・計算機

「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hp180147)



創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム事業 (BINDS) (課題番号18am0101113j0002)

