2021/4/28 - R-CCS主催 記者勉強会 - 資料



Shigenori Tanaka Kaori Fukuzawa *Editors*

Recent Advances of the Fragment Molecular Orbital Method



ABINIT-MP

新型コロナウイルスの受容体結合ドメイン(RBD)と アンジオテンシン変換酵素2(ACE2)の結合状態に 関するフラグメント分子軌道計算による解析

新型コロナウイルス特別PJ-第4課題 望月祐志(立教大学)、田中成典(神戸大学)

お願い

この資料中にある図表を利用する際は、下記フォームより利用申請を行ってください。

報道機関向け問い合わせフォーム

クレジットは以下を記載するようお願いいたします。
 提供:立教大学 望月祐志研究室

「富岳」COVID-19プロジェクト第4課題の関係者

■立教大学 理学部

望月祐志(教授)、奥脇弘次(助教)、畑田崚(修士課程修了)、秋澤和輝(修士課程1年)

■星薬科大学 薬学部

福澤薫(准教授)、川嶋裕介(特任助教)、半田佑磨(博士後期課程)

■神戸大学大学院システム情報学科 田中成典(教授)

■産業技術総合研究所健康医工学研究部門 古明地勇人(主任研究員)

■計算科学振興財団

坂倉耕太(担当課長)

■HPCシステムズ

渡邊啓正(マネージャー)

■役割分担

計算実行と解析: 奥脇、畑田、秋澤、川嶋、半田、古明地、田中、福澤、望月 ABINIT-MP実行環境整備、改良、ベンチマークテスト: 望月、坂倉、渡邊 全体統括: 望月、田中、福澤

FMO法とABINIT-MPプログラム

FMO Original; K. Kitaura et al., Chem. Phys Lett. 313 (1999) 701. / General Ref.; M. Gordon et al., Chem. Rev. 112 (2012) 632.

フラグメント分子軌道(FMO)法

◇巨大分子系

生体高分子や凝集系では一般的 ⇒ タンパク質、DNA (水和状態) 数千~数万原子、数千~数十万軌道

◇分割&統合系の量子論的手法の一つ 北浦らが22年前に2体展開で提案



【HIVプロテアーゼとロピナビル】

- ⇒ フラグメントとその対で系のエネルギーを評価 (FMO2)
- ⇒ 環境静電ポテンシャル (ESP)、直接結合切断 (BDA)
- ⇒ 階層的な並列処理(フラグメントリスト&内部処理)
- ⇒ 2次摂動(MP2)などの相関補正も直截(分散力の記述に必須)
- フラグメント間の相互作用エネルギー (IFIE)
 - ⇒ 生体分子の解析ツール
 - ⇒ 特に創薬系には有用
 - ⇒ 成分分析も可能 (PIEDA)





ダイマ

モノマー(アミノ酸単位など)

PIEDA Ref.; D.G. Fedorov et al., J. Comp. Chem. 28 (2007) 222. / T. Tsukamoto et al., J. Comp. Chem. Jpn. 14 (2015) 1.

フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)

FMO-HF法の全エネルギーEの計算式

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

 N_f : フラグメント(モノマー)の個数 E_I : モノマーのエネルギー, E_{IJ} : ダイマーのエネルギー

- ▶ FMO-HF法の全エネルギーEを書き換えると、全エネルギーをフラグメント間相互作用エネルギー△E_I、モノマーのエネルギーE_Iから周囲のフラグメントとの静電相互作用エネルギーを除いたエネルギーE'_Iの和で表せる。
- ▶ MP2などの相関エネルギー補正は加成的に行えばよい。

$$E = \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ} + \sum_{I} E'_{I}$$

IFIE解析 ⇒ 対象系の内部状態の理解

(Inter-Fragment Interaction Energy)

> さらに成分に分けることもよく行われる(PIEDA)。これにより、静電相 互作用、水素結合、分散力による各安定化が識別出来る。

FMOのプログラム

◇GAMESS-US [米国Gordonグループ]; Fedorov、北浦、中田ら GAUSSIANに抗し得る有カなフリーソフト、世界規模 (Fortran) ⇒ 様々な計算機能をFMO化、GDDI並列

◇ABINIT-MP; 望月、中野、福澤、田中ら

実用機能は十分、東大系PJ・CREST-PJなどで開発 (Fortran) ⇒ MPI/OpenMP混成並列、4体展開FMO、高次電子相関、高速 ⇒ 専用GUI、自動フラグメント分割で簡便、スパコンと好相性



S. Tanaka and Y. Mochizuki et al., Chem. Phys. Phys. Chem. 16 (2014) 10310. / http://www.cenav.org/abinit-mp-open_ver-1-rev-22/.

ABINIT-MPプログラム

・エネルギー

- \rightarrow FMO4: HF, MP2
- \rightarrow FMO2: HF~CCSD(T), LRD
- → Dimer-ESの連続多重極近似

・エネルギー微分

- \rightarrow FMO4: HF, MP2
- → FMO2: MP2構造最適化, MD
- ・その他機能
 - → SCIFIE, PB水和, sp²-BDA切断
 - \rightarrow CAFI, FILM
- •並列化環境
 - → MPI, OpenMP/MPI混成
 - → 最深部はBLAS処理
 - → Xeon系小型サーバ~「富岳」まで

$$E^{\text{FMO4}} = \sum_{I > J > K > L} E_{IJKL} - (N-4) \sum_{I > J > K} E_{IJK} + \frac{(N-3)(N-4)}{2} \sum_{I > J} E_{IJ}$$

$$-\frac{(N-2)(N-3)(N-4)}{6} \sum_{I} E_{I}$$

$$= \sum_{I > J > K > L} \left\{ \Delta E_{IJKL} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IL} - \Delta E_{JK} - \Delta E_{JL} - \Delta E_{KL} - \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IL} \right] - \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IL} \right] - \left[\Delta E_{IKL} - \Delta E_{IL} \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IL} - \Delta E_{IL} \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJK} - \Delta E_{IJ} - \Delta E_{IK} - \Delta E_{IK} \right] \right] + \sum_{I > J > K} \left[\Delta E_{IJ} + \sum_{I > J > K$$

Ref.; Nakano et al., Chem. Phys. Lett. 523 (2012) 128.



[BioStationViewer / GUI]

これまで(出版済み)のハイライト

ABINIT-MPによるFMO相互作用解析のスタンス

■富岳の特徴

- ・ノードあたりで48コア、利用者プログラムで20GB超のメモリ空間にアクセス出来る
- ・ 圧倒的なノード数、ラック単位(384ノード)で10程度を要求するジョブも容易に可
- ・端的に言えば「京」の100倍の計算力(世界Top500で2期1位)

■FMO相互作用解析の利点

- ・アミノ酸残基間、アミノ酸残基-阻害剤間の相互作用を<mark>高信頼度で算定</mark>(量子論ベース)
- ・相互作用に関するデータが阻害剤の改良や新規開発、抗体のデザインの基礎的知見となる
- ・実験に対しては解釈ないし予測/最適化などの相補的情報を提供(むろん"限界"はアリ)

■多数の分子構造による統計的な評価

- capacity computing的な使い方
- ・本プロジェクトではメインプロテアーゼ(Mpro)の解析を対象に
- ・構造の揺らぎを古典動力学(MD)シミュレーションで取込み、それらにFMO計算を一括実施
- ・

 静的な構造一つでの相互作用エネルギー評価と異なる動的な描像を取得可能
- ・ FMO-MP2/6-31G*レベル、1.7千フラグメント(水含む)、1構造で0.6時間(半ラック)

■高コストな3次摂動計算の実行

- capability computing的な使い方
- ・スパイクタンパク質系を解析 (最大の系は5.3千残基)
- ・ MP2よりも高コストのMP3を実用的に実行、連続多重極展開近似なども駆使
- ・ MP3が可能となるとMP2.5スケーリングにより信頼性の向上が可能
- ・FMO-MP3/cc-pVDZレベル、クローズ型(6VXX:3.3千残基)は3.4時間で完了(8ラック)

q

【メインプロテアーゼはウイルスの増殖に関与】

メインプロテアーゼと阻害剤の例







N3阻害剤(結晶構造あり)

ネルフィナビル

Cys 44

> Thr 25

Thr 45

His 172

ロピナビル





既存薬との複合体構造 (ドッキング予測)

10

メインプロテアーゼ+N3リガンドの構造サンプリング





R. Hatada et al., *J. Chem. Inform. Model.* **60** (2020) 3593 & *Appl. Phys. Express* **14** (2021) 027003. S. Tanaka et al., *ChemRxiv* (2021) <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.13775182.v1>

新型コロナウイルスMpro+N3リガンドの解析例

古典MDで1000構造をサンプルしてFMO-MP2/6-31G*(PR)レベルで計算



ゆらぎを含めた評価(オレンジ)では複数のアミノ酸残基が安定化に寄与する描像

【1.1千残基の鎖が3本絡み合って構成される巨大タンパク質】

スパイクタンパク質



感染の仕組み

Spikeタンパク質のReceptor Binding Domain (RBD)領域(Thr333-Pro527)がヒトのアンジオテンシン 変換酵素2(ACE2)受容体と相互作用することで感染

Spikeタンパク質に変異が生じてきている

⇒特にRBDの残基に変異が起きている「変異株」はACE2との結合形態が従来の SARS-CoV-2と異なっている可能性がある K. Akisawa et al., RSC Adv. 11 (2021) 3272.

スパイクタンパク質の可視化IFIEの例

MP2.5/cc-pVDZ level





Chain-Bから見た図

スパイクタンパク質の鎖間のIFIE

● Closed構造とopen構造の単量体間のIFIE (MP3.5/cc-pVDZの値を使用)



B (RBD)が構造変化するためChain Bが関わるA-B間、B-C間ではエネルギーが大きく失われている B-C間は特にIFIEの変化量が大きく、814.4 kcal/molの安定化の相互作用エネルギーが消失

B (RBD)-Chain C 間の結合がClosedからopenへの構造変化にが大きく関わっている

スパイクタンパク質RBDのエネルギー損失の補填

ACE2とB38抗体によるB (RBD)のエネルギー損失の補填 (MP3.5/cc-pVDZの値を使用)

RBD-ACE2、RBD-B38抗体間の結合によってclosed構造のB (RBD)の何%まで回復可能か示した



エネルギー損失をACE2では60.0%B38抗体では44.0%まで回復可能

変異株RBDとACE2の相互作用解析

K. Akisawa et al., RSC Adv. 11 (2021) 3272.

RBDのエネルギー損失の補填(荷電残基を明記)

Spikeタンパク質 コロナウイルスの最も外側(表面)に位置 感染時に機能する重要なタンパク質の1つ 約1100残基×3の3量体で構成

感染の仕組み

Receptor Binding Domain (RBD)領域(Thr333-Pro527)がヒトのアンジオテンシン変換酵素2(ACE2)受 容体と相互作用することで感染



構造変化やACE2との結合における荷電性残基の重要性が明らかに

RBD-ACE2の相互作用での重要残基

RBD-ACE2間、RBD-B38抗体間で安定化の寄与が大きい

RBD側の残基 (MP3.5/cc-pVDZ)

Lys417 Salt Bridge

| RBD-ACE2 | | RBD-B38 Fab | | ACE2 αHelix |
|----------|------------|-------------|------------|-----------------|
| RBD | IFIE | RBD | IFIE | |
| residues | (kcal/mol) | residues | (kcal/mol) | |
| Lys417 | -267.8 | Asp420 | -72.7 | |
| Arg403 | -220.4 | Lys417 | -44.1 | Asp30 |
| Arg408 | -208.3 | Asn487 | -37.7 | |
| Lys444 | -201.5 | Gly476 | -37.1 | -119.3 kcal/mol |
| Arg509 | -174.9 | Arg403 | -36.0 | 塩橋 |
| Lys378 | -169.2 | Asn501 | -32.8 | 1100417 |
| Arg457 | -166.5 | Tyr505 | -32.5 | Lys417 |
| Arg454 | -166.3 | Glu465 | -24.2 | |
| Lys458 | -165.9 | Asp427 | -23.4 | |
| Arg346 | -162.3 | Phe456 | -23.3 | _ S Protein RBD |

150 kcal/mol以上の変化をした残基は赤、荷電性残基はオレンジで示した

RBD-ACE2間はすべて<mark>荷電性残基、</mark>RBD-B38抗体間は非荷電性残基も寄与が大きい ACE2とB38抗体では結合形態が異なる Lys417が最重要残基

【アミノ酸の一文字記法; Asn=N, Tyr=Y, Lys=K, Glu=E, Thr=T】

RBDの変異箇所



- イギリス株 501Y.V1(B.1.1.7系統): N501Y
- ・南アフリカ株 501Y.V2(B.1.351系統): K417N, E484K, N501Y
- ・ブラジル株 501Y.V3(B.1.1.248系統): K417T, E484K, N501Y
- ・これらの変異を想定し、野生株構造(PDB ID: 6M0J)を基に置換

K. Akisawa et al.,<https://doi.org/10.26434/chemrxiv.14318459.v2>. (プレプリントサーバーで4/30に公開)

RBD-ACE2の界面付近の位置関係



図示しているRBDの残基から4.5Å以内のACE2残基を表示

【「富岳」1ラックでFMO-MP3/cc-pVDZジョブは1構造が4.5時間程で完了】

RBD-ACE2の相互作用エネルギーの総和



安定化の増大 ⇔ 感染力の増加の"傍証"

B.1.1.7株(俗称:英国株)のN501Y変異の影響評価

【Dist.:距離(Å) / IFIEをPIEDAで分割; ES:静電項、EX:交換反発項、CT項:電荷移動項、DI:相関補正項】

N501Y変異によって、Tyr44やLys353との相互作用が顕著に増加

2021/4/28

【分散力はファンデルワールス力とも呼ばれる:電子分布の分極に由来する安定化(π電子は分極しやすい)】

B.1.1.7株(俗称:英国株)の相互作用の内訳

 Lys417のようなイオン性の結合は相関補正項が中心(LRD: 2~3割)
 Tyr501-Tyr44のπ/π、Tyr501-Lys353のようなCH/πのような相互作用 形態では分散力系の安定化(LRD)の寄与が大きい(LRD: 5~7割)

Lys417(+)-Asp30(-)の塩橋が消失 ⇔ K417N変異のデメリット (K417Tも同様)
 Lys31やHis31との反発が軽減 ⇔ K417N変異のメリット (K417Tも同様)

2021/4/28

【負荷電のE:Gluが正荷電のK:Lysに変わるため、静電相互作用の様相が大きく変化する】

B.1.351株(俗称:南アフリカ株)のE484K変異の影響評価

Glu484(-)はLys31(+)とは安定化、Glu75(-)とは不安定化の静電相互作用を持つ
 ・変異したLys484(+)とLys31は不安定化、Glu75とは安定化 (代替的なイメージ)

相互作用エネルギー和の界面からの距離依存性#1

- ・FMO計算では静電相互作用(ES)は過大評価される傾向アリ(特に長距離)
- ・タンパク質での静電相互作用の有効距離の目安は10Å
- ・界面からの距離を1Åステップで増加させてIFIE和の変化をチェック

- ・界面付近から近距離ではB.1.1.7株(俗称:英国株)の安定化が相対的に大きい
- ・距離が長くなるとB.1.351株とB.1.1.248株の安定化が優位になる(1.2倍)
- ・変異を「人為的に共存させた」モデルでは、さらに安定化が増す結果に(1.5倍)

【FMOによる計算化学的研究は感染症対策の一助になり得た・なり得る:「富岳」の大きな計算力を活用】

全体まとめと今後

■メインプロテアーゼ

- ・ MDシミュレーションとFMO連携によって構造ゆらぎを統計的に考慮した計算が容易に
- ・静的な構造での評価と<mark>動的な構造</mark>での評価に顕著な差異、「富岳」では後者が主流に

■スパイクタンパク質#1 (フルモデル)

- ・ RBDの構造変化による安定化エネルギーの顕著な減少、ACE2との"結合準備"の位置づけ
- ・荷電性残基間の相互作用の重要性を確認

■スパイクタンパク質#2(変異導入RBD-ACE2複合体モデル)

- ・変異による相互作用/結合安定化の残基単位の様態変化で詳細に解明
- ・ N501Y変異は接触面近傍でのRBD-ACE2の結合を増強 → 感染力の増大に符合(?!)

■今後の展開#1

- ・20年度のコロナ特別課題で「富岳」で計算済の結果を解析し、論文や学会等で成果報告
- ・ 変異株のPDB構造に対してHPCI課題hp210026でFMO計算を実施、解析結果を公開
- ・ B.1.617(俗称:インド株)などの新規の変異株も随時解析
- ・ MD-FMO連携シミュレーションの推進 → 動的なタンパク質間相互作用の把握
- ・次のパンデミックが懸念される(鳥)インフルエンザウイルス関係の予備計算 → 開始済
- ■今後の展開#2
 - ・ ABINIT-MPの高速化と機能向上の推進、「富岳」を頂点とするHPCI拠点でライブラリ提供
 - ・実際のパンデミック発生時に"計算のメリット"を活かせる活動のための基盤づくり