

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, 新保 雄大,  
曾田 邦嗣, 山岸 純也, 泰地 真弘人, 末永 敦, 藤田 茂雄, Dmitry Nerukh,  
小堀 知輝, Arturs Scukins, Sergey Karabasov

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

<p>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</p> <p>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。</p>	<p>造サンプリング (沖本、平野、近藤)</p> <p>(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、Dmitry)</p> <p>(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)</p> <p>(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。</p> <p>(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)</p> <p>(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)</p>
<p>2. 具体的な利用内容、計算方法</p> <p>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、</p> <p>(1) 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解</p> <p>(2) 標的分子を制御する分子の設計</p> <p>(3) 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張・性能向上</p> <p>の3つの研究をすすめる。</p> <p>(1) 制御分子の設計には、対象となる標的生体高分子の機能・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。</p> <p>(ア) 拡張アンサンブルの手法を用いた構</p>	<p>(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。</p> <p>(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)</p>

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。また溶媒和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-制御分子複合体間に働く相互作用の大規模系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-制御分子複合体間の相互作用エネルギーの算出を行う。

#### 球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果 (曾田)

蛋白分子の動力学的特性とそれに関わる溶媒水の効果を明らかにすることを目的とする。具体的には、水溶液中の 5 種の球状蛋白質について、蛋白質自身の構造揺らぎと共に、蛋白質分子内及び分子表面近傍の水和水が蛋白質の構造揺らぎに与える動力学的效果の分子機構を明らかにする。これによって、蛋白質の構造形成・物性・機能発現に果たす、蛋白質の動力学的特性と溶媒水の果たす役割に関する知見を得る。

#### 蛋白質分子の動力学特性と水和効果 (新保)

タンパク質の構造揺らぎがその機能発現において重要であることは、多くの研究で明らかにされているが、その分子的詳細、特にマイクロ秒～ミリ秒域の遅い構造揺らぎの実体は、殆ど解明されていない。このような揺らぎは、実験に因る検出や包括的な解析が非常に困難であるが、高速並列計算機の能力向上により、分子動力学法による解析が手の届くところに近づきつつある。本研究は、これに挑戦することにより、非晶質固体としてのタンパク質に特有の構造揺らぎに関する新たな描像の発見をめざすものである。

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)

自由エネルギー地形計算はタンパク質の構造と機能の関係を知る上で重要であり、現在、構造変化のメカニズムの解析やタンパク質の安定構造の予測への応用を試みている。しかし、これらの計算では、構造のサンプリングのために膨大な計算が必要となる。

分子動力学計算の並列化と応用 (泰地)

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 に関して並列性能が十分でない。そこで、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、Dmitry)

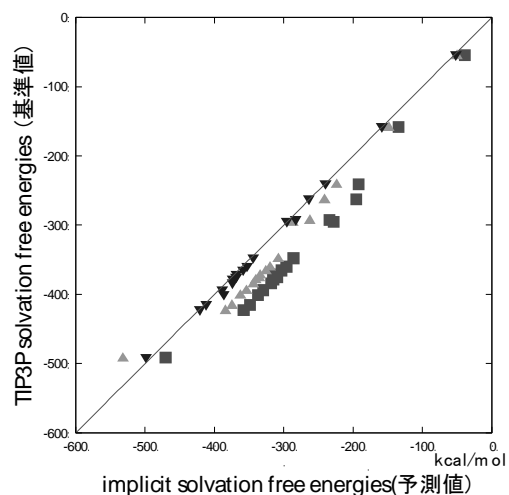
創薬ターゲットタンパク質 (G9a, Set7/9, Tankyrase 等) に対して、分子ドッキングによる薬剤探索の前処理としてのタンパク質構造のサンプリングを行うため、各タンパク質に対して分子動力学シミュレーション (拡張アンサンブル法も含む) を実施した。結果、生体内

環境下での多様な構造が抽出でき、構造解析の結果から創薬研究の為の適切な構造を選定することができつつある。これらの構造を利用し、今度は分子ドッキングによる薬剤探索を実行する予定である。

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事が分かった。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る。

途中結果だが、本年度に再設定した PB 法のパラメータを用いた時が最も溶媒和自由エネルギーの再現性が高い (次図)。▼は本年度に開発したパラメータを、▲■は既存のパラメータを用いた時の結果である。▼が最も高精度であることがわかる。



球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果および蛋白質分子の動力学特性と水和効果 (曾田、新保)

MDS データを用いて、蛋白質と水和水の熱的な構造揺らぎを陽に考慮して、水和サイトを同定・分類する手法を開発した。更に「架橋水素結合図」を作成し、水和サイトの動的構造を記述する手法を考案した。加圧水溶液中のリゾチームに対して MDS を実行し、得られた時系列データに上の手法を適用して、蛋白質と水和水の動的特性の圧力依存性を解析した。その結果、加圧により水和サイトの再編が起ることを見出した。(曾田・新保)

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)

構造変化のメカニズムの解析やタンパク質の安定構造の予測の為に自由エネルギー地形計算をおこなった。現在結果の解析中である。

分子動力学計算の並列化と応用 (泰地)

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-制御分子複合体間に働く相互作用の大規模系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 (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。

6. RICC の継続利用を希望の場合は、これまで利用した状況 (どの程度研究が進んだか、研究においてどこまで計算出来て、何が出来ていないか) や、継続して利用する際に行う具体的な内容

本研究テーマで遂行してきた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。しかし、本年度の研究成果はその一部が達成できたに過ぎない。そこで、システムバイオロジーの分野において大きく貢献することを目標に、次年度も継続して研究を行う予定である。

平成 23 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】**

1. Suenaga, A., Okimoto, N., Hirano, Y., and Fukui, K. "An efficient computational method for calculating ligand binding affinities" PLOS One, 7(8):e42846, doi: 10.1371/journal.pone.0042846, 2012

**【国際会議などの予稿集、proceeding】**

1. Yamagishi, J., Okimoto, N., Kasai, T., Suenaga, A., Okada, M., Imamoto, A., and Taiji, M. "Computational Design of Small Peptide Inhibitors of Protein-Protein Interactions in CRK-SH2 Mediated Intracellular Signaling" the Proceedings of "Molecular Simulation Studies in Material and Biological Sciences 2012" *in press*

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

1. 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)