

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22790122

研究課題名（和文） オーダーN法第一原理計算手法を導入したタンパク質機能制御分子最適化手法の基盤構築

研究課題名（英文） Development of O(N) DFT Methodology in Lead Optimization

研究代表者

大塚 教雄 (OTSUKA TAKAO)

独立行政法人理化学研究所・計算分子設計研究グループ・研究員

研究者番号：30465968

研究成果の概要（和文）：

インシリコ創薬における化合物最適化過程で導入されている電子状態計算に対し、我々が開発してきたオーダーN法第一原理計算手法を導入し、タンパク質-タンパク質機能制御分子複合体といった複雑系に適用する事に成功した。他の大規模系電子状態計算と共に結合親和エネルギー計算を行い性能評価をした。またタンパク質-制御分子複合体まるごとの構造最適化計算に成功し、構造緩和の効果として、制御分子周辺の構造緩和とタンパク全体の側鎖構造変化が大きい事が分かった。

研究成果の概要（英文）：

In the field of drug discovery, we have employed large-scale first-principles calculations on protein-ligand systems, using our large-scale DFT code. With the detailed studies for the calculation conditions, we have succeeded in calculating the protein-ligand binding energies. We have also performed the fully structural relaxation of protein-ligand complexes using our large-scale DFT code. We have found that the structure of the side chains of the amino acids surrounding the ligand is largely changed. From these results, it seems that the structure of the entire protein, not just the area around the ligand, should be modelled when performing a study on SBDD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：インシリコ創薬、オーダーN法、第一原理計算、密度汎関数法、分子間相互作用、結合親和性

1. 研究開始当初の背景

近年の医薬品開発では、効率性を重視した計算機支援による薬剤設計（インシリコ創薬）が重要な技術となっている。インシリコ創薬は、創薬過程における「化合物探索」と「化合物最適化」を適用範囲としている。大多数の候補分子から薬理活性を持つ薬剤選出を目的とする化合物探索では、分子ドッキングが中心的な手法となっていたが、最近では分子動力学(MD)計算が導入され、化合物スクリーニングの新しい手法が構築された。一方、選出された薬剤を改変し更なる薬理活性の向上を目的とした化合物最適化では、第一原理電子状態計算が導入されているが、創薬標的分子のポケット部位と化合物の立体構造を考慮した薬剤設計を行うためには(SBDD)、取り扱える系のサイズが小さい(数十原子)等の問題点を抱えていた。この分野において、より大きなサイズの系を取り扱う事のできる第一原理計算手法の導入は必須である。

一般に、生体系に対する第一原理計算は、QM/MM法と空間分割法による量子化学計算がほとんどである。通常的第一原理電子状態計算手法では、系の原子数 N に対して計算量が N の3乗に比例して増大するという問題がある。このため、扱える系のサイズには500-1000原子程度に限界があり、巨大な生体分子に対する第一原理計算を実現することは不可能な状況であると言える。

我々はこれまでに、超大規模系の第一原理計算を実現する、計算量が系の原子数 N に比例するオーダー N 法第一原理計算手法とそのプログラム開発を行ってきた。我々の手法をインシリコ創薬分野に導入し、系としてタンパク質-タンパク質機能制御分子複合系に適用し、大規模系第一原理電子状態計算手法の性能査定と実用利用における手法問題点のあぶり出しを行い、手法改善の検討を行う。

2. 研究の目的

本研究では、我々が開発して来たオーダー N 法第一原理計算手法と大規模分子系量子化学計算手法を、タンパク質-タンパク質機能制御分子(数千から数万原子)の複合体系に適用し、この系における分子間相互作用、環境効果等を明らかにする事を目標とする。また研究の過程で、生体系に対する第一原理計算に基づく研究を行うために必要な理論手法を明らかにし、インシリコ創薬スクリーニングにおける化合物最適化手法の実効利用を高める技術基盤の構築を行う。

3. 研究の方法

大規模系電子状態計算手法として、我々が開発してきたオーダー N 法第一原理計算(CONQUEST)、また量子化学計算プログラムのフラグメント分子軌道(FMO)法と分割統治分子軌道(DC)法を用いた。タンパク質-タンパク質機能制御分子複合系として、実験、MD計算、QM/MM計算から結合親和エネルギーが算出されているFKBP(FK506-binding protein)とその機能制御系(10種)を用いた。この系の原子数は約1800原子である。

具体的な方法として、(i)精度の高い第一原理計算のタンパク質-機能制御分子複合系の大規模系に対する適用条件の検討、(ii)大規模系電子状態計算手法の結合親和エネルギー予測のアセスメント計算、(iii)次ステップのために、複合系の構造安定性に対する第一原理計算の手法改善のための情報獲得、として進めた。

4. 研究成果

(1) オーダー N 法第一原理電子状態計算と大規模系量子化学計算手法における計算条件の検討と結合親和エネルギーの算出

1-A. FMO計算

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法による電子相関計算による精度検証から、1フラグメント1残基(1F1R)のフラグメント分割、6-31G(d)基底関数を用いた1F1R FMO2-MP2/6-31G(d)の計算レベルを用いる事で実験値との相関は0.77と得られる事が分かった。

FMOの3体効果(FMO3)を考慮した1F1R FMO3-MP2/6-31G(d)計算では、実験値との相関は0.80となり、1F2R FMO2-MP2/6-31G(d)の0.79と同等な相関係数が見積もられた。

近年、MP2の電子相関計算において、経験的な修正を施したMP2法(SCS-MP2)を用いた1F1R FMO2-SCS-MP2/6-31G(d)では、実験値との相関に関して0.73となり、1F1R FMO2-MP2/6-31G(d)とほぼ同等であり、大きな改善は見られない事、相互作用エネルギーの絶対値にバラつきがある事が分かった。

より高精度な電子相関計算であるcoupled-cluster法の計算実行では、1フラグメント辺りの計算時間が膨大である事、反復計算が収束しない、すなわち、最終計算結果まで到達しない、といった問題が有る事が分かり、現段階としては実行利用には向いていないという結論に達した。

溶媒効果として PCM 計算を用いた。1F1R FMO2-MP2/6-31G(d)/PCM[1(2)]による相互作用エネルギーの計算値と実験値との相関は 0.91 となり、溶媒効果を考慮した FMO-MP2 計算は実験値との相関が良くなる結果を示した。

FMO 計算では、PCM 計算による溶媒効果の考慮により相関係数の大きな改善が見られた。また溶媒効果の有無による相互作用エネルギーの絶対値の比較では、15-23 kcal/mol の差があり、溶媒効果を考慮する事で実験値方向へシフトする事が分かった。今後は、実験値との直接比較のための更なる物理化学的効果の考慮・評価が重要である事が示唆できる。

1-B. DC 計算

サブシステム形状とバッファ半径について、RHF/STO-3G, 1SCF の計算条件で評価した。サブシステム形状に関しては、フラグメント型と原子型の 2 つの形状に対して評価をし、共にバッファ半径 8.0 Å で全エネルギーの誤差が 0.1 mHa で抑えられる事が分かった。

DC 計算においては、当初、サブシステム形状の読み込み部分にプログラム上のバグを発見し、その修正依頼をプログラム開発者に行った。また、十分な並列化計算を実行できず、実用系での実行利用を高めるための詳細な計算条件の検討を実施する事ができず、今後の検討課題である。

1-C. CONQUEST 計算

FKBP-制御分子複合体系全体計算において、我々のオーダーN 計算手法が適用可能である事が分かった。オーダーN 計算手法である密度行列最適化法に関して、系の全エネルギーは、比較的小さなカットオフ半径でも高精度に得られる事が分かった。

PBE 汎関数と DZP 基底を用いた SCF 計算による結合親和エネルギーの計算値と実験値との相関係数は 0.71 を得た。更に、1 ショット計算による van der Waals 相互作用を考慮した計算 (vdW-DF 法) を実行し、相関係数が 0.83 に向上する事が分かった。

SCF 計算では、系によっては、収束解を得るまで多数の繰り返し計算が必要であった。1 スナップショット構造を用いた SCF 計算では、結合親和エネルギーの絶対値が大きく見積もられる傾向があった。計算精度改善に関しては、分子運動といった環境効果をより適切に考慮できる手法 (第一原理分子動力学計算) を構築する必要性があると考えている。

(2) オーダーN 法第一原理計算による全系構造緩和計算

実験的に構造が分かっている 4 種の FKBP-制御分子系に関して、CONQUEST を用いた第一原理計算による構造最適化計算を行い、relaxed structure を得る事に成功した。また、構造最適化前後における結合親和エネルギーの算出を行う事で、relaxed structure の効果を明らかにした。

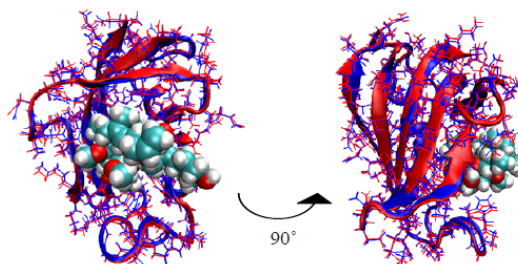


図 1. FKBP-L20 の構造：(青) 構造緩和前、(赤) 構造緩和後

図 1 は、FKBP-L20 複合体 (PDB ID: 1FKF、全原子数 1792) の実験構造と第一原理計算による構造最適化計算結果の比較である。この系における平均二乗誤差 (RMSD) は、全体構造では 0.4567、主鎖のみでは 0.2712 となり、構造最適化によって、側鎖部分の構造が大きく変化した事が分かった。他の系も同様に主鎖の RMSD は 0.25-0.30、全体で 0.89-0.45 となり、側鎖部分の構造に最適化計算が寄与している事が分かった。

結合親和エネルギーの計算値の実験値との相関係数は、構造緩和前は 0.12、構造緩和後は 0.93 であった。相関係数は、4 種の系の結果より求めた値のため、かなり良値として見積もられている事に注意する必要がある。この最適化構造を用いた vdW 計算 (vdW-DF と DFT-D2) を導入した 1 ショット計算による結合親和エネルギーの計算値と実験値との相関係数は、vdW-DF は 0.83、DFT-D2 は 0.86 とであった。vdW 計算により絶対値誤差は大きくなる。全系の計算結果をまとめると、制御分子周辺の構造緩和とタンパク全体の側鎖構造変化の効果が大きく、結合親和エネルギーに寄与している事が分かった。

(3) その他の系に対する応用

上記のタンパク質-制御分子複合体計算によって得られた分子間相互作用の知見や計

算手法技術は、他の生体分子系に適用可能となっている。例えば、人工塩基対を DNA 骨格内に導入する計算が実行できる事を確認している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, D. R. Bowler, T. Miyazaki, "Structural relaxation and binding energy calculations of FK506 binding protein complexes using the large-scale DFT code CONQUEST", IOP Journal of Physics: Conference Series (in press).
- ② T. Otsuka, T. Miyazaki, "A quantum chemistry study of Ds-Pa unnatural DNA base pair", Int. J. Quantum Chem., 113, 504-509, 2013.

[学会発表] (計 11 件)

- ① T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, D. R. Bowler, T. Miyazaki, "Structure relaxation and binding energy calculations of FK506 binding protein complexes using order-N DFT code CONQUEST", Conference on Computational Physics (CCP2012), 2012 年 10 月 14 日, 神戸
- ② 大塚 教雄, 有田 通明, D. R. Bowler, 宮崎 剛, "人工塩基対を含んだ DNA 系に対する塩基対間相互作用の評価と超大規模計算に向けた試み", 第 6 回分子科学討論会, 2012 年 9 月 18 日, 東京大学, 東京
- ③ T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, D. R. Bowler, T. Miyazaki, "Structure relaxation and binding energy calculations of FKBP complexes using linear-scaling DFT code CONQUEST", Theory and Applications of Computational Chemistry (TACC-2012), 2012 年 9 月 2 日, Pavia, Italy
- ④ T. Otsuka, T. Miyazaki, N. Okimoto, M. Taiji, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "Binding energy calculations of FKBP complexes using linear-scaling DFT code CONQUEST", Quantum Systems for Chemistry and Physics (QSCP16), 2011 年 9 月 15 日, 金沢
- ⑤ T. Otsuka, T. Miyazaki, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "Theoretical study on hydrated DNA systems by linear-scaling

DFT code CONQUEST", The Seventh Congress of the International Society for Theoretical Chemical Physics (ISTCP-VII)", 2011 年 9 月 4 日, 東京

- ⑥ 大塚 教雄, 宮崎 剛, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "オーダー-N 法 DFT 計算プログラムの開発と DNA 系に対する適用", 次世代ナノ統合シミュレーションソフトウェアの研究開発 第 5 回公開シンポジウム, 2011 年 2 月 23 日, 神戸
- ⑦ 大塚 教雄, 宮崎 剛, 沖本 憲明, 泰地 真弘人, David R. Bowler, Michael J. Gillan, "Binding energy calculations of FKBP complexes using the order-N DFT code CONQUEST", 第 3 回バイオスーパーコンピューティングシンポジウム, 2011 年 2 月 22 日, 神戸
- ⑧ 大塚 教雄, 宮崎 剛, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "オーダー-N 法第一原理計算を用いた DNA 系の全エネルギーと力計算 - 古典力場計算との比較 -", 第 24 回分子シミュレーション討論会, 2010 年 11 月 24 日, 福井
- ⑨ T. Otsuka, T. Miyazaki, N. Okimoto, M. Taiji, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "Structure relaxation of FKBP (FK506 binding protein) complexes using the order-N DFT code CONQUEST", Psi_k Conference 2010, 2010 年 9 月 14 日, Berlin, Germany
- ⑩ 大塚 教雄, 宮崎 剛, D. R. Bowler, M. J. Gillan, "オーダー-N 法第一原理計算を用いた DNA 系の全エネルギーと力の計算", シンポジウム「電子状態の新機軸」, 2010 年 8 月 10 日, 分子科学研究所 (岡崎)
- ⑪ 大塚 教雄, "オーダー-N 法第一原理計算による DNA 系の大規模計算", 日本化学会 第 4 回関東支部大会, 2010 年 8 月 31 日, 筑波大学 (つくば)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大塚 教雄 (OTSUKA TAKAO)

独立行政法人理化学研究所・計算分子設計研究グループ・研究員

研究者番号: 30465968

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし