

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：37303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12132

研究課題名（和文）高精度なイン・シリコ創薬を目指した新規分散力エネルギー評価法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel dispersion energy estimation method for reliable in silico drug discovery

研究代表者

吉田 達貞 (Yoshida, Tatsusada)

長崎国際大学・薬学部・講師

研究者番号：80527557

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、簡便かつ高精度な分散力エネルギーの評価法について継続的な開発と改良を行い、原子・電子レベルの観点から生体関連分子の分子間および分子内相互作用における分散力の寄与を詳細に理解し、従来よりも高精度かつ高速なインシリコ・スクリーニングへの応用を目的としている。非結合分子間力錯体等を用いた精度検証では、計算コストの高い電子相関理論を用いた手法と同等ないし優れた性能を示すことができた。幾つかのタンパク質・リガンド複合体系の結合相互作用解析では、結合自由エネルギー変化の実測値を高精度に再現し、リガンドのスクリーニングにおいてもその有用性を実証することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、弱いながらもその評価が困難であった分散力エネルギーを簡便かつ正確に見積もることができるようになれば、膨大な数の医薬品候補化合物を高速に扱うために信頼性の低い古典力場計算やドッキング計算が主流であったインシリコ・スクリーニングの信頼度の向上や分散力を自在に制御した精密な医薬品分子設計、人工変異タンパク質のデザイン等への応用に繋がる。また、結合親和性が弱いため、正確な認識メカニズムの理解が困難である糖鎖・レクチン複合体の相互作用解析に基づく網羅的な糖鎖プロファイリングへの展開等が考えられる。

研究成果の概要（英文）：This research purpose is to continuously develop and improve a simple but effective approach for the evaluation of dispersion energies, to gain a detailed understanding of inter- and intra-molecular interactions involving biomolecules at the atomic and electronic level, and to apply it to in silico screening with higher accuracy and less computational time. Accuracy verification using non-covalent interaction complexes showed performance comparable to or superior to that of computationally expensive methods based on electron correlation theory. In binding interaction analyses of several protein-ligand complex systems, this approach could reproduce observed binding free-energy changes nicely, demonstrating its usefulness in ligand screening.

研究分野：計算科学

キーワード：分散力エネルギー イン・シリコ創薬 分子軌道法 分子間相互作用 レクチン

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬物とタンパク質の結合において、分散力は水素結合、静電相互作用、水和自由エネルギー変化とともに重要な分子間相互作用の一つである。同時にタンパク質内では、高次構造形成のための分子内相互作用として長距離的に分散力が働くことで、機能発現にも関与する。Wet な実験研究により、分散力をはじめとする相互作用エネルギーの強さを定量的に記述することは困難であり、コンピュータを用いた計算化学的手法が大きな役割を果たす。特にコンピュータを活用した IT 創薬技術であるインシリコ・スクリーニングにおいて、薬物とその標的タンパク質との結合自由エネルギー変化を高精度に予測することは、今後一層不可欠である。分子軌道法による分散力の評価には、平均場近似を超えた電子相関の取り込みが必須となる。電子相関を取り込む方法としてメラプレセット摂動法 (MP_n)、配置間相互作用法 (CI)、クラスター展開法 (CCSD) などが考案されており、低分子の構造・物性・反応性などに対する実験の解釈と予測に貢献してきた。しかし、このような既存の方法は膨大な計算時間と計算機資源を要求するため、近年のコンピュータの著しい性能向上をもってしても、タンパク質丸ごとのような生体巨大分子への適用は未だ困難である。本来は弱い相互作用とされる分散力が薬物に対するタンパク質の結合認識にとっていかに駆動力となり得るのかを定量的に明らかにするには、計算時間と計算機資源をできるだけ抑えて、生体巨大分子の分散力エネルギーを高精度に評価する必要がある。

このような背景から、申請者らは計算負荷が十分に小さく、自己無矛盾場 (self-consistent field: SCF) 計算の収束性が良好なハートリーフォック (Hartree-Fock: HF) 理論に対して、新しい分散力エネルギーの補正法 (HF-Dtq 法) を提案し、非結合分子間力錯体を用いてその有用性を検証してきた。HF-Dtq 法では、以下の基本式 () に示すシグモイド型の新規な減衰関数とパラメータを使用し、HF エネルギー (E_{HF}) に対する古典的な分散力エネルギー (E_{disp}) の補正を簡便に行う。

$$E_{HF-Dtq} = E_{HF} + E_{disp}$$
$$E_{disp} = Dtq(r_{ij}) = -s_6 \sum_{i,j} [a_1 + (1 - a_1) / (1 + \exp(-\alpha(r_{ij}/r_0 - shift_1)))] c_{ij}^6 / r_{ij}^6 \quad ()$$

2. 研究の目的

本研究では、これまでの分散力エネルギーの補正法 (HF-Dtq 法) について継続的な開発と改良を進め、実際の生体巨大分子系に対する有用性を実証することを目的とした。これにより、原子・電子レベルの観点から、生体関連分子の分子間および分子内相互作用における分散力の寄与を正確かつ詳細に理解できるようになれば、従来よりも高確度かつ高速なインシリコ・スクリーニングをはじめ、分散力を駆動力とした精密な医薬品分子の設計、フォールディングやりガンドとの相互作用を制御した人工変異タンパク質等の開発にも繋がると考えられる。

3. 研究の方法

(1) 間および分子内相互作用エネルギーの検証

HF-Dtq 法の汎用性を高めるためにこれまでの検証用データセットを拡充し、BioFragment Database (L.A. Burns *et al.*, 2017, *J. Chem. Phys.*) に登録されているより大規模かつ多様で、広範な分子間相互作用エネルギーを持つアミノ酸主鎖 - 主鎖間、主鎖 - 側鎖間、側鎖 - 側鎖間相互作用モデル (3,574 個) に対する検証を試みた。同様に分子内相互作用エネルギーの検証用セットとして、生体関連分子として重要なペプチドならびに糖モデルを主な解析対象とした。相互作用エネルギーの評価は HF-Dtq/6-31G(d) レベルで行い、分子間相互作用エネルギーの計算には基底関数重ね合わせ誤差に対する補正を考慮した。参照値には理論極限 (CCSD(T)/CBS) あるいは DW-CCSD(T**) - F12/aug-cc-pV(D+d)Z を用いた。

(2) 生体巨大分子系に対する応用計算

(A) 分散力の寄与が特に重要と予想される免疫抑制に関与する FK506 結合タンパク質と一連のマクロライド系大環状型薬物との複合体形成について、HF-Dtq 法を用いて算出した結合自由エネルギー変化の計算値により実測値を再現することを試みた。

(B) インシリコ・スクリーニングを想定した検証として、2P2I Database (M.J. Basse *et al.*, 2016, *Database*) に登録されている X 線結晶構造が解かれたタンパク質・タンパク質相互作用を阻害する低分子化合物とタンパク質との 10 種の複合体構造のデータセットについて、ドッキング計算により発生させた 4~5 個の結合ポーズの中から正解に近いポーズを適切に選定できるかどうかを非経験的フラグメント分子軌道法 (FMO 法) に HF-Dtq 法を組み合わせ検証した。

(C) 糖に対して弱い結合性を示すレクチンの結合相互作用エネルギーの定量的評価ならびに ZINC20 に集積の化合物ライブラリーを用いた実践的な阻害剤のスクリーニングを実施した。

4. 研究成果

(1) 分子間および分子内相互作用エネルギーの検証

非結合分子間力錯体を用いた分子間相互作用エネルギーの評価から、参照値である理論極限に対する HF-Dtq/6-31G(d) の平均絶対誤差は 0.37 kcal/mol (図 1) と、Grimme らの分散力補正を

導入した DFTs-D3(BJ)/6-31G(d) (0.56 ~ 1.08 kcal/mol) よりも優れた性能を示すことができ、計算コストの高いより大きな基底関数を用いた DFTs-D3(BJ)/def2-QZVP の結果 (0.29 ~ 0.36 kcal/mol) に迫る高い化学的精度であった。このデータセットに基づき設定した式 () の関数形およびパラメータの汎用性は、BioFragment Database 由来のアミノ酸間相互作用セットを用いて確認した。分子間相互作用エネルギーの参照値がより広範にわたった場合でも、HF-Dtq/6-31G(d) の平均絶対誤差は 0.33 kcal/mol と、DFTs-D3(BJ)/def2-QZVP (0.15 ~ 0.30 kcal/mol) と比べても遜色のない結果を得ることができた。さらに、その計算時間は ~ 1/310 倍に短縮可能であり、大規模系に対しても精度と時間の両面から十分に適用可能であると考えられた。一方、ペプチドや糖の最安定配座を基準とした際の配座の相対エネルギー比較による分子内相互作用エネルギーの精度検証の結果 (図 2)、基底関数に小さな 6-31G(d) を使用した場合には平均絶対誤差から判断し、HF-Dtq/6-31G(d) の結果は MP2 法や各種の DFTs-D3(BJ) 法と比較してほぼ遜色なかったが、より大きな基底関数の使用が適切であることが示唆された。

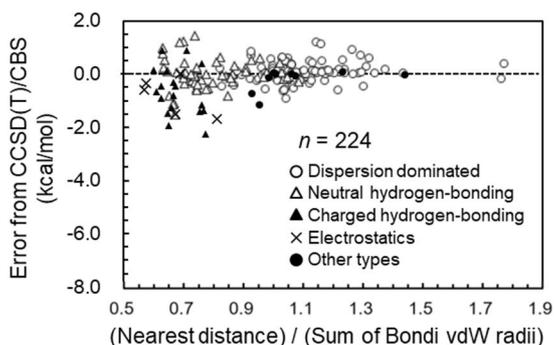


図 1. HF-Dtq/6-31G(d) を用いた分子間相互作用エネルギーの精度検証。

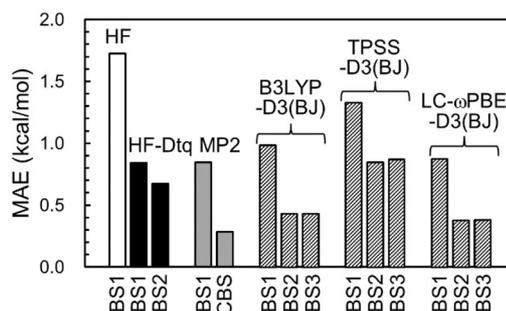


図 2. 分子内相互作用エネルギーの精度検証。BS1, BS2, BS3 は 6-31G(d), 6-31+G(d), def2-QZVP をそれぞれ表す。

(2) 生体巨大分子系に対する応用計算

(A) FK506 結合タンパク質と一連のマクロライド系環状型薬物との複合体形成について、結合相互作用に関わる代表エネルギー項を用いた自由エネルギーの線形表現解析から、結合自由エネルギー変化の実測値を SMD/HF-Dtq/6-31G(d) レベルで算出した計算値により 0.5 kcal/mol 以下の誤差で再現し (図 3)、化合物間における結合自由エネルギー変化の差異が主に分散力エネルギーの変動に起因すること ($r=0.93$) を定量的に明らかにすることができた。この解析では化合物の結合部位近傍 27 アミノ残基を切り出したモデル構造 (~ 5,800 原子) を用いたが、HF-Dtq/6-31G(d) による 1 複合体構造の計算時間は 6.8 時間と実用的であった。

(B) 2P2I Database 中で Class2 に分類された低分子化合物とタンパク質との 10 種の複合体構造について、各タンパク質につき得られた 4~5 個のドッキングポーズのランクづけを行った。その結果、X 線結晶構造に近い結合ポーズを正しく選定できた成功率は、FMO-HF-Dtq/6-31G(d)/PCM[1(2)] レベルで結合自由エネルギーを評価した場合 80% とドッキングのスコア関数や古典論に基づく分子力場法 (MM-GB/SA 法) の 50~70% (Z. Wang *et al.*, 2019, *Bioinformatics*) と比較して良好であった。今後、Class1 や 3 に対しても成功率の比較を行うことでスクリーニングにおける有用性を検証する予定である。

(C) MytiLec-1 のホモ二量体状態の MD 計算から得られた複数のスナップショットに対して、FMO-HF-Dtq/6-31G(d)/PCM[1(2)] レベルで糖の結合認識ならびに単量体同士の会合に伴う相互作用エネルギー解析を行った。また、単量体状態の MD 計算から得られたスナップショットに対して二量体形成における会合面を標的とした低分子化合物のスクリーニングをドラッグ・リポジショニングの観点から行った。深層学習を取り入れた GNINA によるドッキングスコア関数、MM-GB/SA 法、FMO-HF-Dtq/6-31G(d)/PCM[1(2)] レベルの結合自由エネルギー評価を用いた段階的な化合物の絞りこみにより、5 つの候補化合物 (Ligs. 1-5) を絞り込んだ。これらの化合物の結合には MytiLec-1 中のアミノ酸残基との水素結合や静電相互作用に加えて、やはり二量体会合面の疎水性アミノ酸残基との分散力相互作用が重要となることを定量的に示した。さらに候補化合物と MytiLec-1 との複合体構造について、短時間の MD 計算を実施することで、会合面の結合部位から遊離することなく強固な結合を維持できる可能性がある化合物 (Fig. 3) を見出すことができた (図 4)。

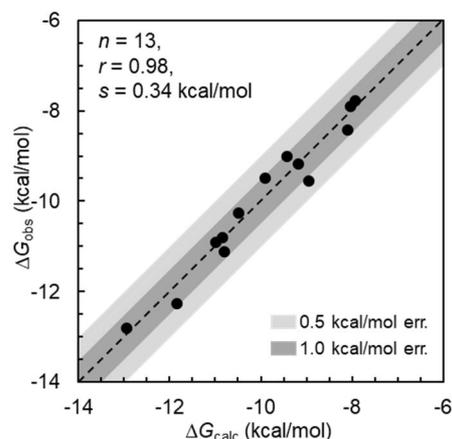


図 3. 結合自由エネルギー変化の実測値と計算値。

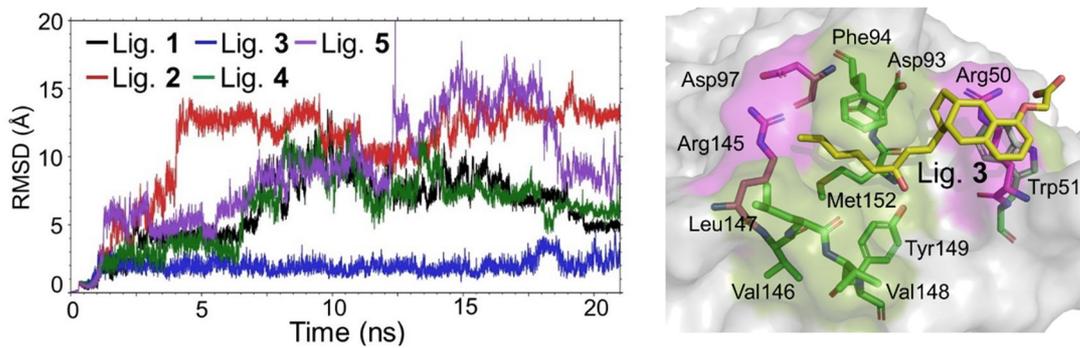


図 4. (a) MytiLec-1 と Ligs. 1-5 の複合体構造の MD 計算中における化合物構造の経時的変化, (b) 二量体会合面における MytiLec-1 と Lig. 3 の相互作用様式.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Masayori Hagimori, Tatsusada Yoshida, Yasuhisa Nishimura, Yukiko Ogawa, Keitaro Tanaka | 4. 巻 18 |
| 2. 論文標題 Syntheses of novel pyridine-based low-molecular-weight luminogens possessing aggregation-induced emission enhancement (AIEE) properties | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Beilstein journal of organic chemistry | 6. 最初と最後の頁 580-587 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3762/bjoc.18.60 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 平山和浩、山田 雄大、藤井佑樹、吉田達貞 |
| 2. 発表標題 MDおよびFM0計算に基づくMytiLec-1の糖鎖結合認識および二量体形成メカニズムの解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第143年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山田雄大、平山和浩、藤井佑樹、吉田達貞 |
| 2. 発表標題 ドッキングおよびMD計算を用いたMytiLec-1の二量体形成阻害剤のスクリーニング |
| 3. 学会等名 日本薬学会第143年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 川原羅夢、小川由起子、吉田達貞 |
| 2. 発表標題 分子動力学計算を用いたウシガエル卵由来レクチンcSBLの糖鎖結合認識メカニズムの解析 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第143年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 秋森 政頼、原 史子、吉田 達貞、小川 由起子、田中 啓太郎 |
| 2. 発表標題 高発光性示す凝集誘起型有機蛍光分子の開発 |
| 3. 学会等名 日本薬学会第143年会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 吉田達貞、藤井佑樹、河口夢、仲野純 |
| 2. 発表標題 分子科学計算に基づくMytiLec-1の糖鎖結合認識および二量体形成メカニズムの解析 |
| 3. 学会等名 第142回日本薬学年会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤井佑樹、マルコ・ジェルドル、小川由起子、吉田達貞、大関泰裕、藤田英明 |
| 2. 発表標題 -トレフォイル型レクチンによる免疫制御機構の解明 |
| 3. 学会等名 第38回日本薬学会九州山口支部大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|