

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（特設分野研究）

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0168

研究課題名（和文）大規模電子状態計算を基軸とした遷移状態アナログ分子設計法の技術構築

研究課題名（英文）Development of in silico transition state analogue molecular design method based on large-scale electronic structure calculations

研究代表者

大塚 教雄（Otsuka, Takao）

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員

研究者番号：30465968

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：創薬分野の実験技法にある「遷移状態アナログ」分子による化学反応制御法に対して、電子状態計算と遷移状態探索法を組み合わせた手法を導入することで、「遷移状態アナログ」分子の設計思想を理論計算によるインシリコ創薬技術化を試みた。ヒストン-ヒストン化学修飾制御分子を例として取り上げ、実験的な成功点に対して、理論計算的な解釈を与え、また、新しい制御分子を設計するための情報を蓄積した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

創薬分野の実験技法である「遷移状態アナログ」分子の設計思想を、大規模電子状態計算と遷移状態探索法を組み合わせることで、インシリコ創薬技術の開拓に向けて取り組み、実験と理論の両思想を相補的に活用し、実験技術を理論計算技術化していくことは将来の分子設計に非常に役立つと考える。

研究成果の概要（英文）：In order to develop the transition state analogue molecular design in the field of drug discovery, we introduced a large-scale electronic structure calculations combined with transition state search method. With the detailed studies for the transition state structures, environmental effects, and the practical computational conditions, we have obtained the information for designing new transition state analogue molecules. We also applied the methodology to the Cytochrome P450 systems.

研究分野：理論化学

キーワード：遷移状態アナログ 大規模電子状態計算 Nudged Elastic Band法 order-N ヒストン シトクロムP450

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の医薬品開発において、生体機能に大きく寄与している酵素触媒反応の遷移状態に着目し、その反応の遷移状態における立体構造と電子的特性が良く似た分子「遷移状態アナログ」を設計し反応を制御する、といった実験技法がある。この技法には、(1) 化学反応機構や遷移状態構造を何らかの方法で事前を知る(例えば、中間構造の共結晶が得られており X 線結晶構造解析が行われている)必要があり、また、(2) 得られた遷移状態の情報からその目的のアナログ分子を作成するには個々の実験感覚と技術を要する、等の問題点を抱えており、実験的には限られた例に留まっている。

これまで我々は、大規模電子状態計算手法(大きなサイズの系を取り扱う事のできるオーダー-N法第一原理計算手法(CONQUEST)やフラグメント分子軌道(FMO)法)を導入し、新しいインシリコ創薬技術の基盤の構築を行ってきた。我々はこれまでの成果を基に、大規模電子状態計算の応用例として、ヒストン化学修飾系を制御する医薬分子開発に向けた準備研究を行ってきた。この準備研究の中で、反応制御に向けた理論的な医薬分子設計を困難としている課題、(1) 化学反応機構の詳細を知る必要がある、(2) 反応機構のどの段階を標的とした医薬分子を設計するのか、を見出すに至った。ヒストン化学修飾系の理論的な先行研究は、米国等で量子-古典力学混合(QM/MM)法や更に分子動力学計算を組み合わせた(QM/MM-MD)方法等により既に数多くなされているが、これらの研究は、反応機構の要因は記述されているが、反応のどの段階が決定的に制御しうるのかといった設計に向けた情報は乏しい。

我々は、これらの課題を克服するために、創薬分野における実験技法である「遷移状態アナログ」分子による化学反応制御法に着目し、この実験技法の思想を理論計算に反映する手法として、大規模電子状態計算と Nudged Elastic Band (NEB) 法を用いた遷移状態探索法の組み合わせによるインシリコ分子設計法を考えるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、大規模電子状態計算と遷移状態計算法を組み合わせることで、大規模電子状態計算による(量子力学に基づいた)広範囲な分子場を考慮した化学反応機構を解明し、計算による遷移状態の情報提供を行う。同時に、生体化学反応制御の鍵となる新奇な生体機能制御分子の設計指針と提案を行う事を目指とする。また研究の過程で、生体分子-反応制御分子に対する電子状態計算に基づく研究を行うために必要な理論の構築とインシリコ創薬における電子状態計算を活用した「遷移状態アナログ」分子設計法の技術確立する事も目標とした。

3. 研究の方法

本研究の大規模電子状態計算としてオーダー-N法第一原理計算プログラム CONQUEST と高精度量子化学計算を用いる。遷移状態探索計算として Nudged Elastic Band (NEB) 法を用いる。NEB 法は、化学反応前後の構造を入力として反応経路を探索する手法である。本手法を用いて特に注目する点は、遷移状態前後の構造とその電子状態、また、分子環境場による化学反応経路である。「遷移状態アナログ」分子を設計する観点から、厳密な遷移状態(ポテンシャルエネルギー曲面の鞍点)と共に遷移状態近傍の情報を重要視しており、この手法は非常に有用であると考えた。

4. 研究成果

(1) HKMT 系を用いた手法の有用性

まず、HKMT (Histone Lysine Methyltransferase) 系を用いて、我々の手法の有用性を検証した。HKMT 系は、SET ドメインと呼ばれる活性部位を持ち、S-adenosyl-L-methionine (Adomet) をメチル基供与体、ヒストンを受容体としてヒストン 3 のリシン 4 (H3K4) をメチル化する。この比較的単純な置換反応系を例に取り、量子化学計算やオーダー-N 法第一原理計算より遷移状態探索計算における系のサイズ効果の検証を行った。

図 1 は、この検証計算に用いた系と系のサイズ効果に伴う系のエネルギー変化である。図 1 (a) は、Small model として系の原子数が 171 原子、図 1 (b) は、Large model として、系の原子数が 1020 原子である。反応経路である "S-CH₃ ... NH₂" "S ... CH₃-NH₂" に着目し、この反応系に対する系の環境効果を明確にするため、その他の原子を freeze した very rigid model による計算を行った。図 1 (c) は、Small model と Large model のそれぞれによる反応経路に対する系のエネルギー変化を示しており、反応物の全エネルギーを基準点としてある。この結果から、系のサイズが大きくなる、すなわち、周囲の環境効果を取り込むことで、ポテンシャル障壁が安定化されていることが分かる。反応経路における周辺環境の効果は非常に重要であることを数値的に示した。

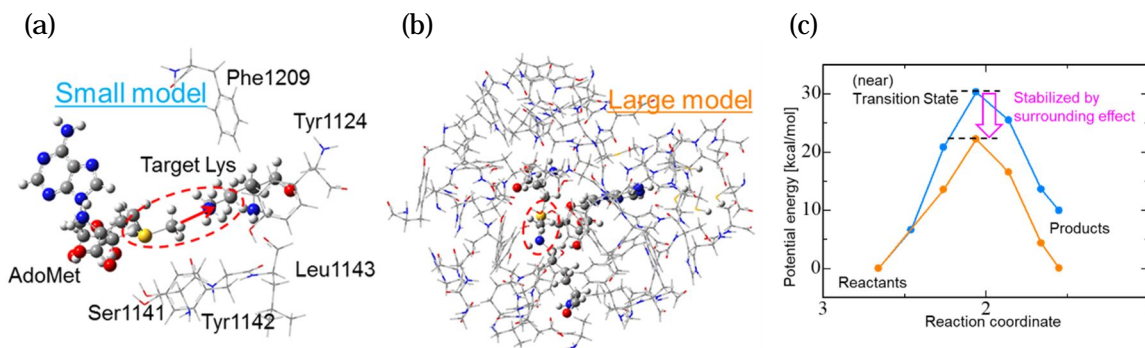


図 1 . メチル基置換反応における系のサイズ効果の検証。(a) Small model (原子数 171) (b) Large model (原子数 1020) (c) 系のサイズに伴う各反応座標点におけるポテンシャルエネルギーの変化

(2) HDAC 系を用いた遷移状態アナログ分子の相互作用

次に、「遷移状態アナログ」分子の設計に向けた情報と知見を得ることを目的として、実験成功例の 1 つである HDAC (Histone Deacetylase) 系を用いた計算検証を行った。HDAC は、ヒストンのアセチル化したリシンからアセチル基を除去する。図 1 は、実験で合成された「遷移状態アナログ」分子を含む系である (参考文献 : T. Suzuki et al., Bioorg. Med. Chem.Lett., 15, 331 (2005))。この合成された遷移状態アナログ分子は、アセチル化されたリシンが、HDAC により脱アセチル化する際の遷移構造が、四面体型の炭素を含む構造になると考えられる、といった実験的推察を基に、スルホン誘導体として設計された。

図 2 は、model として HDAC の反応中心周りのアミノ酸 (相互作用距離 4Å) と実験にて合成された遷移状態アナログ分子を含む系であり、原子数が 271 原子のモデルである。表 1 では、構造最適化計算後の主要となる構造パラメータである。硫黄原子周りの構造は少しはずんでいるものの、実験的な推察を基に合成されたスルホン誘導体である遷移状態アナログ分子は、反応中間体を模倣するような構造を持って安定化することが分かった。

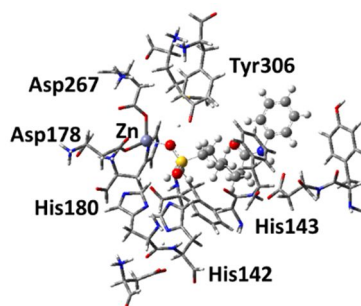


図 2 . 脱アセチル反応における HDAC と遷移状態アナログ分子 (原子数 271)。

表 1 . 遷移状態アナログ分子の構造パラメータ

	<i>Distance</i>	<i>Å</i>	<i>Angle</i>	<i>Deg.</i>
	Zn-O	1.98	O1-S-CH2	104.9
	S-O1	1.56	O2-S-CH2	113.7
	S-O2	1.44	CH3-S-CH2	106.2
	S-CH3	1.70		
	S-CH2	1.71		

(3) CYP と薬物分子との遷移状態解析

遷移状態アナログ分子の設計探索として、シトクロム P450 (CYP) によって代謝される薬物分子の設計に向けた検証を行った。CYP による薬物分子の代謝反応は、反応中心であるポルフィリン上にある鉄と酸素原子において、薬物分子からの水素原子の引き抜き反応が重要となる。薬物分子内の狙った部位にて反応を起こすためには、要因となる遷移状態構造や構造を調べることを目的とした。

図 3 は、CYP と 7-Ethoxycoumarin の配向の異なる反応物構造である。図 3 (a) から (c) では炭素 11 から、(d) では炭素 14 からの水素脱離反応を考慮する。図 4 は、7-Ethoxycoumarin における分子の反応性指標をグラフ化したものである。この反応性指標から、炭素 11 または炭素 14 の反応性が大きいことが分かる。図 5 は、図 3 における 4 つの配向構造からの水素脱離反応における反応経路の結果である。図 3 における (b) と (c) 構造、すなわち、炭素 11 からの水素脱離が有利であることが分かった。この結果から、分子単体の反応性指標とともに反応中心との配向構造、

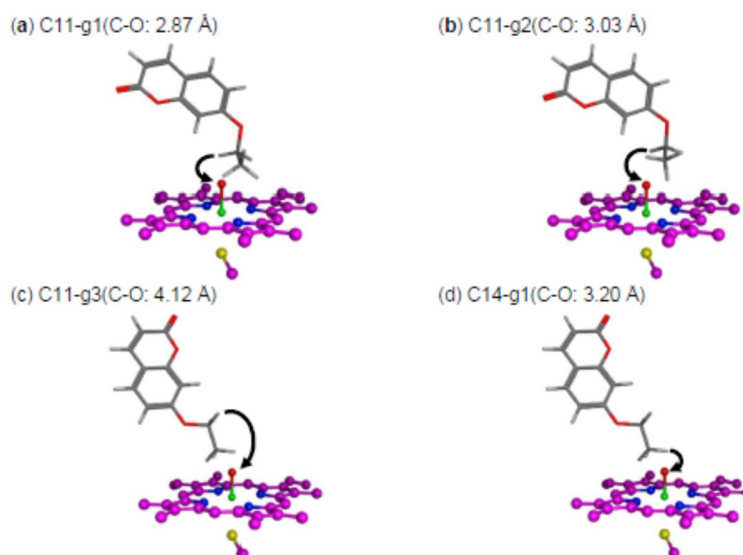


図 3 . CYP の反応中心 (FeO-ポルフィリン) と 7-Ethoxycoumarin の構造

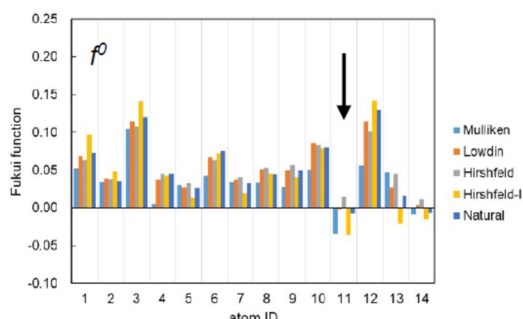


図 4 . 7-Ethoxycoumarin の Fukui 関数法による反応性指標。5 種の population 解析による評価

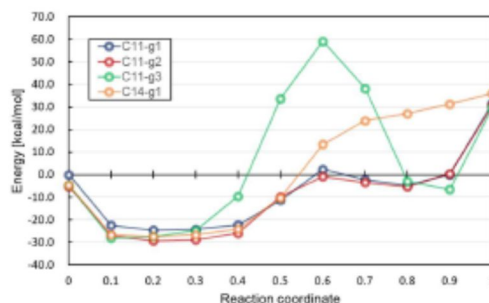


図 5 . 7-Ethoxycoumarin の 4 種の配向構造からの水素脱離反応における遷移状態計算

(4) 大規模電子状態計算手法の数値検証による問題点と解決策

本研究における数値検証において、大規模電子状態計算手法であるオーダー-N法第一原理計算手法 (CONQUEST) における通常計算条件 (PBE 交換相関汎関数) に関して、十分な数値検証が必要となった。この精度検証のため、遷移状態探索計算プログラムを量子化学計算ソフ

トウェア (NWChem と Gaussian) 上で稼働できるよう実装とテスト計算を行った。当時の計算条件では、非自己無撞着場での計算条件が好ましいことが分かった。その後、オーダーN法第一原理計算手法 (CONQUEST) は、exact exchange 汎関数が利用となっており (2020年3月時点)、この汎関数を組み合わせることで、自己無撞着場計算も有効であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takao Otsuka, Makoto Taiji	4. 巻 1136
2. 論文標題 Application of order-N first-principles DFT calculations with temperature controlled molecular dynamics to biomolecular system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012025 ~ 012025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1088/1742-6596/1136/1/012025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Hiroaki Saito, Makoto Taiji	4. 巻 1290
2. 論文標題 Quantum chemical analysis of reaction indices and reaction path for drug molecules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012021 ~ 012021
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1088/1742-6596/1290/1/012021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takao Otsuka, Makoto Taiji	4. 巻 1136
2. 論文標題 Application of order-N first-principles DFT calculations with temperature controlled molecular dynamics to biomolecular system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012025 ~ 012025
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi:10.1088/1742-6596/1136/1/012025	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takao Otsuka, Makoto Taiji, David R. Bowler, Tsuyoshi Miyazaki	4. 巻 55
2. 論文標題 Linear-scaling first-principles molecular dynamics of complex biological systems with the CONQUEST code	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 1102B1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) JJAP.55.1102B1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大塚教雄、沖本憲明、齋藤大明、泰地真弘人
2. 発表標題 量子化学計算による薬物分子の代謝反応性部位と初期反応過程に関する考察
3. 学会等名 第13回分子科学討論会2019名古屋
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Hiroaki Saito, Makoto Taiji
2. 発表標題 Quantum chemical analysis of reaction indices and reaction path for drug molecules
3. 学会等名 XXX IUPAP Conference on Computational Physics (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takao Otsuka, Makoto Taiji, David R. Bowler, Tsuyoshi Miyazaki
2. 発表標題 Application of order-N first-principles DFT calculations with temperature controlled molecular dynamics to biomolecular system
3. 学会等名 XXIX IUPAP Conference on Computational Physics, CCP2017, Paris (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takao Otsuka, Makoto Taiji, David R. Bowler, Tsuyoshi Miyazaki
2. 発表標題 Constant temperature order-N first-principles molecular dynamics calculations of biomolecular system and short-time behavior
3. 学会等名 第54回日本生物物理学会大会
4. 発表年 2016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
連携研究者	沖本 憲明 (Okimoto Noriaki) (30333321)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員 (82401)	