

平成22年 6月 3日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20850020
 研究課題名（和文）FMO 法による体内揺らぎを考慮した相互作用法の構築とプリオンタンパクへの応用
 研究課題名（英文）Interaction analysis based on FMO method within geometrical fluctuation: application to prion protein
 研究代表者
 石川 岳志（ISHIKAWA TAKESHI）
 岐阜大学・人獣感染防御研究センター・助教
 研究者番号：80505909

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、生体分子内の相互作用を量子化学的に解析するための手法を構築し、それをプリオンタンパク質と薬剤候補化合物の相互作用解析に応用することである。研究期間を通じて、自身が開発している FMO 計算プログラム「PAICS」に相互作用を高速に計算するルーチンを導入し、少ない時間で複数構造に対し相互作用解析を行うことが可能となった。これらの計算結果を平均的に取り扱うことで、体内揺らぎを考慮しかつ量子化学的に相互作用を議論することができた。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to develop a method for analyzing interactions in biomolecular systems with quantum chemical treatment and to apply it to the interaction between prion protein and a small molecule. I introduced a routine which enable us to calculate the interaction energies efficiently into a quantum chemical calculation program package "PAICS". Thus, I could obtain the interaction energies at several geometrical configurations. By taking average over them, I could discuss the interactions of biomolecular systems including the effects of the geometrical fluctuation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,140,000	342,000	1,482,000
2009 年度	480,000	144,000	624,000
総計	1,620,000	486,000	2,106,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：物理化学

キーワード：量子化学、フラグメント分子軌道法、プリオンタンパク質、RI-MP2 法

1. 研究開始当初の背景

(1) プリオンタンパク質はクロイツフェルト・ヤコブ病をはじめとするプリオン病の原因物質として知られており、正常型から異常型への構造変異が病気を引き起こすと考えられている。我々の研究センターでは、既に、正常型プリオンタンパク質に結合し構造変

異を抑制する低分子化合物 (GN8) を発見している。しかし、薬剤への利用を考えると、さらに結合力の高い化合物へ改良すること (化合物の最適化) が望まれている。そのためには、まず、GN8 とタンパク質の相互作用を詳細に理解することが重要である。

(2) 低分子化合物 (リガンド) とタンパク

の詳細な相互作用情報は、創薬をはじめとする生命科学の研究において非常に重要である。近年、フラグメント分子軌道法 (FMO 法) の開発によって、このような情報を量子化学の精度で得ることが可能となった。しかし、量子化学計算は非常に多くの計算時間を要するため、体内温度下の構造揺らぎの寄与を反映した解析が困難であった。

2. 研究の目的

プリオン病の薬剤候補化合物の最適化に利用できる情報を得るため、FMO 法を用いて、タンパク-リガンド間の相互作用を量子化学的に解析する。この際、複数のサンプリング構造で計算し平均値を用いて議論することで、体内温度による構造揺らぎの寄与を反映した情報を得る。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、できるだけ多くのサンプリング構造で FMO 計算を実行する必要がある。そのためには、計算に掛かる時間を少しでも少なくしなければならない。そこで、

1. FMO 計算で時間の掛かる MP2 計算を高速化する。
2. 計算するフラグメントのペアを相互作用解析に必要なものに限定する。

という工夫を、我々が独自に開発している FMO 計算プログラム「PAICS」に導入する。

(2) 上で開発したプログラムを使って、プリオンタンパク質と GN8 の相互作用解析をできるだけ多くのサンプリング構造に対して実行し、平均的に議論する。その結果から、GN8 の最適化に役立つ情報を得る。

4. 研究成果

(1) RI-MP2 法の導入による FMO 計算の高速化

RI 近似とは、量子化学計算に不可欠な積分計算を近似的に行うもので、十数年ほど前に、MP2 計算に適用されている。しかし、RI 近似が FMO 法に導入された例は報告されておらず、我々の研究が最初となる。具体的には、4 中心積分を 3 中心積分を用いて、

$$(\nu\mu|\lambda\sigma) \approx \sum_{PQ} (\mu\nu|P) V^{-1} PQ (Q|\lambda\sigma)$$

と近似する。これにより、積分計算だけではなく、MP2 計算で時間を要する積分変換を高速に実行することが可能となる。本研究で

は、RI-MP2 を行うためのプログラムを新規に作成し、FMO 計算プログラム「PAICS」に実装した。また、詳細は省略するが、このプログラムは、MPI によって並列化されている。高速化のテストとして、HIV-1 プロテアーゼのロピナビル複合体とプリオンタンパクの GN8 複合体に関して計算を行った。プリオンタンパクの結果を以下に示す。

	通常の MP2	RI-MP2
MP2 の計算時間	4888.6 分	460.5 分
その他の計算時間	1992.6 分	1992.6 分
FMO の計算時間	6881.2 分	2453.1 分

RI 近似により MP2 計算の時間が 1/10 程度短縮され、全体の計算時間も 1/3 程度軽減された。また、近似の導入によるタンパク質全体の MP2 エネルギーの誤差は、0.01% 以下であった。

(2) ダイマー計算の制限による FMO 計算の高速化

通常、FMO 計算を実行する場合、全てのフラグメントペア (アミノ酸残基とリガンド分子のペア) に関して量子化学計算を行う。しかし、我々が創薬に利用しようと考えているのは、アミノ酸残基とリガンド分子間の相互作用のデータのみである。従って、計算を実行するフラグメントペアを、これらのペアに制限することで、計算コストを大幅に減らすことができる。プリオンタンパクと GN8 分子の場合、5565 ペアから 414 ペアに減らすことができ、ダイマー計算の時間が 1/10 程度になる。

(3) プリオンタンパク質と低分子化合物の相互作用解析への応用。

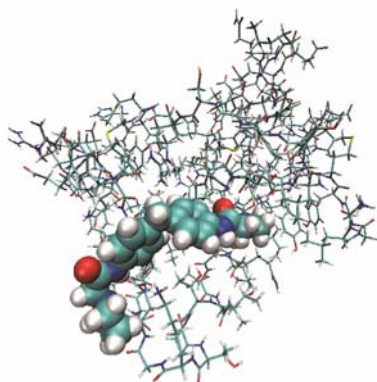
本研究で開発した手法を用いて、プリオンタンパク質と GN8 の複合体に関して応用計算を行った。

① 計算の詳細

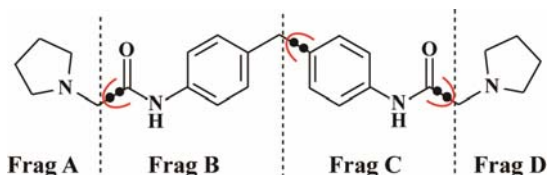
量子化学計算を行う場合、最初に、水素原子を含めた原子座標を準備しなければならない。本研究では、以下の手順で座標を作成した。

- [1] PDB (1AG1) から初期座標を取得。
- [2] 水素原子を付加し、GN8 分子を結合部位に設置し溶媒分子を配置。
- [3] 古典 MD シミュレーションを実行。
- [4] トラジェクトリーからランダムに 20 点の構造を抜き出す。

このようにして得られた 20 点の構造全てに関して FMO 計算を実行し、相互作用の解析を行った。構造の 1 つを以下に示す。

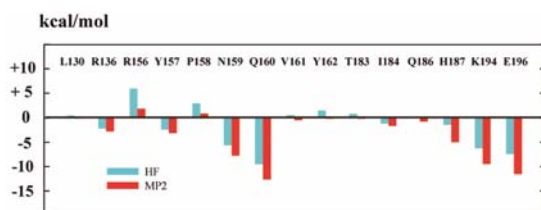


また、FMO 計算では、アミノ酸残基を 1 つのフラグメントとし、GN8 分子を 4 つのフラグメントに分割した。GN8 の分割のしかたを以下に示す。



② アミノ酸残基と GN8 間の相互作用解析

まず、各アミノ酸残基と GN8 の相互作用を調べた。GN8 の近傍にあるアミノ酸残基との相互作用エネルギーをプロットしたものを以下に示す。

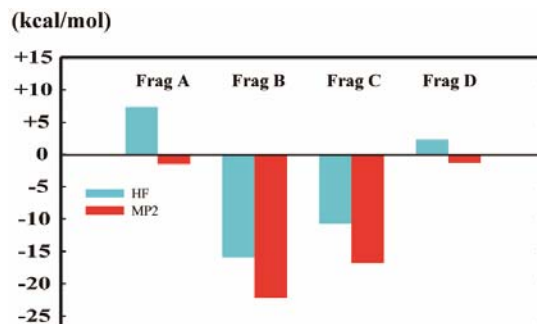


これは 20 点での計算の平均値である。この図から、N159、Q160、K194、E196 の 4 つのアミノ酸残基が GN8 と大きく相互作用し

ていることが分かる。現在、GN8 は離れた 2 箇所と結合し架橋構造を作りプリオンタンパクの構造変化を抑えていると考えられている。この計算結果から、この架橋構造は、4 つのアミノ酸残基との強い相互作用によって維持されていることが分かる。

③ GN8 の各部位とプリオンタンパクとの相互作用解析

次に、GN8 の各部位とタンパク全体の相互作用を調べた。以下に、その結果を示す。



これを見ると、GN8 の真ん中の部位 (Frag B と Frag C) がプリオンタンパク質と大きく相互作用し、複合体の安定化に寄与していることが分かる。一方、両端の部位 (Frag A と Frag D) は安定化にはほとんど寄与していない。このデータも、20 点の構造で計算した結果の平均値である。

④ 創薬への利用

最後に、これらのデータが創薬にどのように利用できるかを考える。通常、量子化学計算で得られるのは、結合自由エネルギーのエントロピー項への寄与である。よって、GN8 の Frag B と Frag C は、プリオンタンパク質との結合において、 ΔH を稼ぐ役割を果たしていると考えられる。一方、Frag A と Frag D は、 ΔH にはほとんど寄与していない。よって、これらの部位は、結合自由エネルギーのエントロピー項への寄与や立体的効果を請け負っていると考えられる。我々は、このような「リガンド分子の各部位の役割」を知ることによって、化合物の最適化を効率的もしくは論理的に行う事ができると期待している。

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 4 件)

- [1] **Acceleration of monomer self-consistent charge process in**

fragment molecular orbital method, T. Ishikawa and K. Kuwata, C.B.I.J. inpress (査読有り)

- [2] **Interaction analysis of the native structure of prion protein with quantum chemical calculations, T. Ishikawa** and K. Kuwata, J. Chem. Theor Comput. 6 (2010) 538-547 (査読有り)
- [3] **Theoretical study of the prion protein based on the fragment molecular orbital method, T. Ishikawa, T. Ishikura, K. Kuwata, J. Comput. Chem., 30 (2009) 2594-2601** (査読有り)
- [4] **Fragment molecular orbital calculation with RI-MP2 method, T. Ishikawa, K. Kuwata, Chem. Phys. Lett., 474 (2009) 195-198** (査読有り)

[学会発表] (計 3 件)

- [1] **第130回 日本薬学会 (2010年3月 28-30日 : 岡山) ランチョンセミナー : 「次世代創薬への挑戦」** : ○石川 岳志
- [2] **International Symposium on Multi-Scale Dynamics of Protein Complex Formations and Function (July 14-16, 2009 : Tokyo, Japan)** : Quantum chemical calculation of biomolecular systems based on fragment molecular orbital method : ○ T. Ishikawa
- [3] **第46回 生物物理学会 (2008年12月 3-5日 : 福岡) シンポジウム「レア イベントから創薬へ」**: 量子化学計算に基づく創薬研究へのアプローチ - プログラム開発と生体分子への応用 - : ○石川 岳志

[図書] (計 1 件)

- [1] **The FRAGMENT MOLECULAR ORBIAL METHOD: Practical Applications to Large Molecular Systems**; D. G. Fedorov and K. Kitaura Eds; CRC Press, Boca Raton, FL, 2009; Developments of FMO Methodology and Graphical User Interface in ABINIT-MP (Chapter 3, 37-62) ; T. Nakano, Y. Mochizuki, A. Kato, K. Fukuzawa, T. Ishikawa, S. Amaari, I.

Kurisaki, S. Tanaka

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

PAICS の ホーム ページ :
<http://www.paics.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 岳志 (ISHIKAWA TAKESHI)
岐阜大学・人獣感染防御研究センター・助教
研究者番号 : 80505909