

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460035

研究課題名(和文) 計算創薬のための蛋白質複合系の精密構造・相互作用解析手法の開発

研究課題名(英文) Development of theoretical methods for interaction analysis of protein-ligand systems in computational drug design

研究代表者

田中 成典 (TANAKA, Shigenori)

神戸大学・システム情報学研究科・教授

研究者番号：10379480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、主としてフラグメント分子軌道(FMO)法に基づくタンパク質-リガンド分子複合系の大規模電子状態計算を行い、構造ベース・インシリコ創薬の基盤技術を構築することを目標とした。産官学が連携した「FMO創薬コンソーシアム」の活動の中で、スーパーコンピュータ「京」を用いて発ガンに関わるキナーゼp38とその約90種類のリガンド分子との相互作用解析を行い、結果をデータベース化した。また、分子動力学シミュレーションにより、やはり発ガンに関係したRasタンパク質の状態遷移についても検討し、阻害剤設計に関わる2つのスイッチの開閉機構を論じた。

研究成果の概要(英文)：In order to construct a platform of the structure-based insilico drug design, ab initio large-scale quantum-chemical calculations for protein-ligand systems were carried out on the basis of the fragment molecular orbital (FMO) method. As one of our activities in the "FMO Drug Design Consortium" for the collaborations of industry, academia and government, the interaction analyses for cancer-related kinase p38 in complex with about one-hundred species of ligand molecules were performed, and the data base of the calculated results was constructed. In addition, the molecular dynamics simulations for the state transitions of cancer-related Ras protein were also carried out to investigate the open-close mechanism of molecular switches, which has provided useful information for the design of effective inhibitors for Ras.

研究分野：計算生物学

キーワード：インシリコ創薬 リガンドドッキング 電子状態計算 相互作用解析 クラスタ分析 ハイパフォーマンスコンピューティング フラグメント分子軌道法 産官学連携

1. 研究開始当初の背景

(1) 薬剤開発を加速する有力な手法の一つとして計算機を活用したインシリコ・アプローチの重要性が認識されているが、ドラッグデザインにおいて必要とされる精度・定量性等に関して改善の余地がある。古典力学に基づく分子動力学 (Molecular Dynamics; MD) シミュレーションが多くの場合に用いられるが、使われる力場やタンパク質構造の精度、また、大規模なスクリーニングを行う上での解析の高速化、あるいは計算結果から効果的に必要な情報を抽出する統計的手法の開発などの課題が残されている。

(2) シミュレーションで用いられる分子間の力場を改善する最も直接的なアプローチは第一原理電子状態計算を実行することであり、タンパク質-リガンド分子複合系全体の高精度電子状態計算は、フラグメント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital; FMO) 法などを用いることで可能となっている。

(3) 大規模なシミュレーションを実行するためのスーパーコンピュータや超並列計算等のためのハイパフォーマンス・コンピューティング (HPC) 環境がハード・ソフト両面で整いつつある。

2. 研究の目的

(1) インシリコ創薬技術は、製薬企業と大学・国研などが産官学の枠を超えて連携して開発することが望ましく、その基盤技術プラットフォームを構築する。

(2) パイロットプロジェクトとして、重要な創薬ターゲットタンパク質に対して、構造や活性のわかっている多数のリガンド分子に対する FMO 計算を網羅的に実行し、スクリーニング計算の実際的なプロトコルを確立するとともに、結合・相互作用に関するデータベースを構築する準備を進める。

(3) 上記の計算・解析を京コンピュータなどの国内の HPC プラットフォームを活用して実行する方法論・プロトコルを確立する。

(4) FMO 法をベースにしたインシリコ創薬技術開発における効果的な新技術・新手法の開発を進める。

3. 研究の方法

(1) X 線結晶構造と結合活性がわかっている重要な創薬ターゲットタンパク質と多数のリガンド分子のデータを用い、網羅的な FMO 計算を電子相関を考慮した MP2 レベルで実行し、リガンドとアミノ酸の間のフラグメント間相互作用エネルギー (Inter-Fragment Interaction Energy; IFIE) 解析を行って、実験的に得られている結合活性を計算で再現できるかどうか確認する。また、実際の具

体的な計算で用いられるプロトコルの妥当性に関して詳しく吟味する。

(2) (1) で得られた多数のリガンド分子に対する IFIE データを統計科学的に分析するとともに、公開を前提としたデータベースの作成を開始する。

(3) 実験的に得られているリガンドの結合活性データとの良い相関が得られるためには、タンパク質-リガンド複合系の正確な立体構造が必要である。FMO 電子状態計算と MD 計算の連携も含めて、最適化構造とその周りのゆらぎを計算・解析する手法・プロトコルを検討する。

4. 研究成果

(1) 何社かの製薬企業と連携して、スーパーコンピュータ「京」を用いて発ガンに関わるキナーゼ p38 (図 1) とその約 90 種類のリガンド分子との FMO-IFIE 解析を行い、結合活性に関する実験結果 (IC50) と比較した。全てのリガンドに対しては計算値と実験値の間の良い相関は得られなかったが、計算プロトコルを詳しく分析した結果、リガンドのタイプ分けにより、それぞれのクラスでは程良い相関が得られることが判明した (図 2)。

(2) (1) で得られた IFIE データをリガンドの種類とアミノ酸配列に対する行列データと見なして特異値分解を行い、「雑音データ」を除外することで、計算値と実験値の良好な相関が得られることがわかった。これらの解析を通じて、構造データに内在している不正確さを計算過程でどのように改善して実験に対応する計算結果を得ることができるかの具体的な指針が得られつつある。

(3) 「FMO 創薬コンソーシアム」の産官学連携活動の一つとして、いくつかの創薬ターゲットタンパク質に対する IFIE 計算値をデータベース化して公開する作業を開始した。

(4) FMO 法の適用事例として、海洋生物等に感染するモルビリウイルス (麻疹ウイルスの一種) のヘマグルチニンタンパク質と宿主細胞のレセプター (SLAM, Nectin-4, CD46) の間の分子認識に関する理論解析を行った。

(5) FMO 解析以外にも、インシリコ創薬技術基盤の開発を進めた。例えば、リガンドドッキングシミュレーションにおいて水の溶媒和自由エネルギーの効果をスコア関数 (力場) に取り入れる手法の開発や、タンパク質の構造ゆらぎを考慮するフレキシブル・ドッキング手法の開発を行った。また、MD シミュレーションにより、発ガンに関係した Ras タンパク質の状態遷移についても検討し、阻害剤設計にとって重要な 2 つのスイッチの開閉機構を論じた。

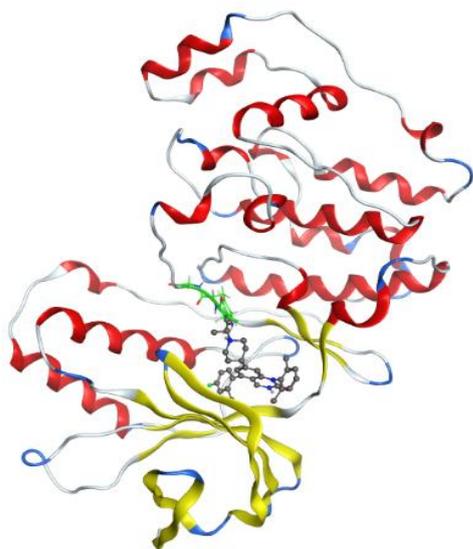


図1. キナーゼ p38 と dihydroquinazolinone の複合体の構造

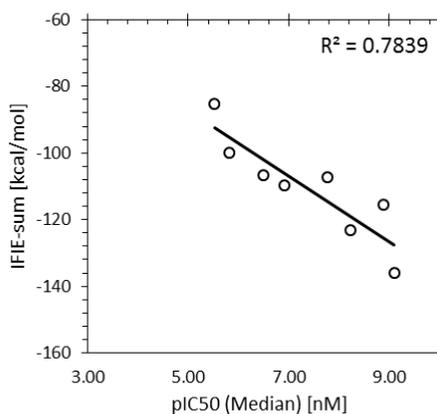


図2. リガンドがアミドビフェニルタイプの場合の p38 との結合活性の実験値 (横軸) と計算値 (FMO-IFIE sum; 縦軸) の比較

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 25 件)

(1) H. Tateishi-Karimata, T. Ohyama, T. Muraoka, P. Podbevsek, A. M. Wawro, S. Tanaka, S. Nakano, K. Kinbara, J. Plavec, and N. Sugimoto, Newly Characterized Interaction Stabilizes DNA Structure: Oligoethylene Glycols Stabilize G-quadruplexes via CH- π Interactions, *Nuc. Acids Res.*, in press. doi: 10.1093/nar/gkx299 査読有

(2) K. Shimamura, F. Shimojo, A. Nakano, and S. Tanaka, Meteorite Impacts on Ancient Ocean Derive Multiple NH₃ Production Mechanisms, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19 (2017) pp. 11655-11667. DOI:

10.1039/c7cp00870h 査読有

(3) S. Uehara and S. Tanaka, Cosolvent-Based Molecular Dynamics for Ensemble Docking: Practical Method for Generating Druggable Protein Conformations, *J. Chem. Inf. Model.* 57 (2017) pp. 742-756.

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00791> 査読有

(4) S. Tanaka, Improved Equation of State for Finite-Temperature Spin-Polarized Electron Liquids on the Basis of Singwi-Tosi-Land-Sjolander Approximation, *Contrib. Plasma Phys.* 57 (2017) pp. 126-136. DOI: 10.1002/ctpp.201600096 査読有

(5) K. Yoshinari, S. Tanaka, and K. Ebina, An Effective Microscopic Index Associated with Cell Survival and DNA Lesions for Estimating Radiation Risk, *J. Environ. Health Sci.* 3 (1) (2017) pp. 1-5. DOI: 10.15436/2378-6841.17.1187 査読有

(6) S. Uehara and S. Tanaka, AutoDock-GIST: Incorporating Thermodynamics of Active-Site Water into Scoring Function for Accurate Protein-Ligand Docking, *Molecules* 21 (2016) 1604 (21 pages).

doi:10.3390/molecules21111604 査読有

(7) S. Tanaka, Correlational and Thermodynamic Properties of Finite-Temperature Electron Liquids in the Hypernetted-Chain Approximation, *J. Chem. Phys.* 145 (2016) 214104 (11 pages). doi: 10.1063/1.4969071 査読有

(8) K. Shimamura, F. Shimojo, A. Nakano, and S. Tanaka, Meteorite Impact-Induced Rapid NH₃ Production on Early Earth: Ab Initio Molecular Dynamics Simulation, *Sci. Rep.* 6 (2016) 38953 (10 pages). doi: 10.1038/srep38953 査読有

(9) M. Nakano, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, F. Tama, O. Miyashita, S. Nakano, and N. Sugimoto, Local Thermodynamics of the Water Molecules around Single- and Double-Stranded DNA Studied by Grid Inhomogeneous Solvation Theory, *Chem. Phys. Lett.* 660 (2016) pp. 250-255. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cplett.2016.08.032> 査読有

(10) Y. Suzuki, K. Ebina, and S. Tanaka, Four-Electron Model for Singlet and Triplet Excitation Energy Transfers with Inclusion of Coherence Memory, Inelastic Tunneling and Nuclear Quantum Effects, *Chem. Phys.* 474 (2016) pp. 18-24. DOI: 10.1016/j.chemphys.2016.05.001 査読有

(11) T. Matsuoka, S. Tanaka, and K. Ebina, Reduced Minimum Model for the Photosynthetic Induction Processes in

Photosystem I, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* 160 (2016) pp. 364-375. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.04.009 査読有

(12) S. Tanaka, Diffusion Monte Carlo Study on Temporal Evolution of Entropy and Free Energy in Nonequilibrium Processes, *J. Chem. Phys.* 144 (2016) 094103 (14 pages). DOI: 10.1063/1.4942861 査読有

(13) M. Nakano, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, F. Tama, O. Miyashita, S. Nakano, and N. Sugimoto, Thermodynamic Properties of Water Molecules in the Presence of Cosolute Depend on DNA Structure: A Study Using Grid Inhomogeneous Solvation Theory, *Nucl. Acids Res.* 43 (2015) pp. 10114-10125. doi: 10.1093/nar/gkv1133 査読有

(14) S. Uehara, K. J. Fujimoto, and S. Tanaka, Protein-Ligand Docking Using Fitness Learning-Based Artificial Bee Colony with Proximity Stimuli, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) pp. 16412-16417. DOI: 10.1039/c5cp01394a 査読有

(15) H. Kondo, K. J. Fujimoto, S. Tanaka, H. Deki, and T. Nakamura, Theoretical Prediction and Experimental Verification on Enantioselectivity of Haloacid Dehalogenase L-DEX YL with Chloropropionate, *Chem. Phys. Lett.* 623 (2015) pp. 101-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cplett.2015.01.053> 査読有

(16) R. Kurauchi, C. Watanabe, K. Fukuzawa, and S. Tanaka, Novel Type of Virtual Ligand Screening on the Basis of Quantum-Chemical Calculations for Protein-Ligand Complexes and Extended Clustering Techniques, *Comput. Theor. Chem.* 1061 (2015) pp. 12-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.comptc.2015.02.016> 査読有

(17) T. Matsuoka, S. Tanaka, and K. Ebina, Systems Approach to Excitation-Energy and Electron Transfer Reaction Networks in Photosystem II Complex: Model Studies for Chlorophyll a Fluorescence Induction Kinetics, *J. Theor. Biol.* 380 (2015) pp. 220-237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.05.006> 査読有

(18) H. Tateishi-Karimata, M. Nakano, S. Pramanik, S. Tanaka, and N. Sugimoto, i-Motifs Are More Stable than G-Quadruplexes in a Hydrated Ionic Liquid, *Chem. Commun.* 51 (2015) pp. 6909-6912. DOI: 10.1039/c5cc00666j 査読有

(19) K. Fukuzawa, I. Kurisaki, C. Watanabe, Y. Okiyama, Y. Mochizuki, S. Tanaka, and Y. Komeiji, Explicit Solvation Modulates Intra- and Inter-Molecular Interactions within DNA: Electronic Aspects Revealed by

the Ab Initio Fragment Molecular Orbital (FMO) Method, *Comput. Theor. Chem.* 1054 (2015) pp. 29-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.comptc.2014.11.020> 査読有

(20) S. Tanaka and M. Nakano, Effects of Bridge Functions on Radial Distribution Functions of Liquid Water, *Interdiscip. Sci. Comput. Life Sci.* 7 (2015) pp. 152-156. DOI: 10.1007/s12539-015-0013-2 査読有

(21) M. Nakano, H. Tateishi-Karimata, S. Tanaka, and N. Sugimoto, Affinity of Molecular Ions for DNA Structures is Determined by Solvent-Accessible Surface Area, *J. Phys. Chem. B* 118 (2014) pp. 9583-9594. dx.doi.org/10.1021/jp505107g 査読有

(22) S. Anzaki, C. Watanabe, K. Fukuzawa, Y. Mochizuki, and S. Tanaka, Interaction Energy Analysis on Specific Binding of Influenza Virus Hemagglutinin to Avian and Human Sialosaccharide Receptors: Importance of Mutation-Induced Structural Change, *J. Mol. Graph. Model.* 53 (2014) pp. 48-58. DOI: 10.1016/j.jmgm.2014.07.004 査読有

(23) H. Kondo, T. Nakamura, and S. Tanaka, A Significant Role of Arg41 Residue in the Enzymatic Reaction of Haloacid Dehalogenase L-DEX YL Studied by QM/MM Method, *J. Mol. Catal. B* 110 (2014) pp. 23-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.09.006> 査読有

(24) C. Watanabe, K. Fukuzawa, S. Tanaka, and S. Aida-Hyugaji, Charge Clamps of Lysines and Hydrogen Bonds Play Key Roles in the Mechanism to Fix Helix 12 in the Agonist and Antagonist Positions of Estrogen Receptor α : Intramolecular Interactions Studied by the Ab Initio Fragment Molecular Orbital Method, *J. Phys. Chem. B* 118 (2014) pp. 4993-5008. dx.doi.org/10.1021/jp411627y 査読有

(25) K. Fukuzawa, C. Watanabe, I. Kurisaki, N. Taguchi, Y. Mochizuki, T. Nakano, S. Tanaka, and Y. Komeiji, Accuracy of the Fragment Molecular Orbital (FMO) Calculations for DNA: Total Energy, Molecular Orbital, and Inter-Fragment Interaction Energy, *Comput. Theor. Chem.* 1034 (2014) pp. 7-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.comptc.2014.02.002> 査読有

[学会発表] (計 16 件)

- (1) 田中成典:「量子生命科学の展望」(第 1 回量子生命科学研究会、2017 年 4 月 12 日、東京大学山上会館、東京)
- (2) 田中成典:「バイオシミュレーションに

おける分子夾雑効果」(日本化学会第 97 春季年会・特別企画「分子夾雑の生命化学」、2017 年 3 月 16 日、慶応義塾大学、横浜市)

(3) 田中成典：「水和生体分子系の熱力学」(公開シンポジウム「気候変動の中での(植物)生態系へのマクロ、ミクロからの考察：光合成、植物進化までを視座に置いて」、2017 年 2 月 20 日、酪農学園大学、江別市)

(4) 田中成典：「水溶液中の生体分子の構造変化に伴う自由エネルギー解析」(FIBER 未来大学・第 2 回研究成果報告会、2017 年 1 月 10 日、甲南大学、神戸市)

(5) K. Maruyama, Y. Sheng, H. Watanabe, K. Fukuzawa, and S. Tanaka, "Singular Value Decomposition in the FMO-IFIE Analysis for Ligand Screening" (CBI 学会 2016 年大会、2016 年 10 月 25 日、東京)

(6) 田中成典：「電子状態計算を基盤とした量子生物学」(生物学・光源・物性研究者による量子生物学合宿勉強会、2016 年 7 月 12 日、SPRING-8、兵庫県佐用郡佐用町)

(7) S. Tanaka, "Theoretical Study on Dynamics and Functions of Solvated Biomolecules" (FIBER Future College: FIBER 国際核酸サミット 2016, July 6, 2016, Konan University, Kobe, Japan)

(8) 田中成典：「生体分子系のボトムアップ・マルチスケールシミュレーションに向けて」(High Performance Computing Chemistry 2015 ワークショップ、2015 年 12 月 1 日、理化学研究所・計算科学研究機構、神戸)

(9) 田中成典：「生体分子系における非平衡過程」(バイオスーパーコンピューティング神戸 2015、2015 年 11 月 30 日、神戸大学コンベンションホール、神戸)

(10) 田中成典：「フラグメント分子軌道法に基づくアカデミア創薬」(CBI 学会 2015 年大会、2015 年 10 月 28 日、タワーホール船堀、東京)

(11) Y. Sheng, K. Maruyama, H. Watanabe, Y. Okiyama, C. Watanabe, T. Homma, K. Fukuzawa, and S. Tanaka, "Ligand Binding Analysis of p38 MAP Kinase with the Fragment Molecular Orbital Method" (CBI 学会 2015 年大会、2015 年 10 月 27 日、東京)

(12) S. Tanaka, "Nonequilibrium Processes in Biomolecular Systems" (Workshop on "Current Topics in Nano Simulations" (CT-NanoSim2015), September 17, 2015, Tsukuba University, Tsukuba, Japan)

(13) 田中成典：「タンパク質の量子化学計算の現状」(ワークショップ「量子構造生物学の現状と将来」、第 15 回日本蛋白質科学会年会、2015 年 6 月 24 日、あわぎんホール、徳島)

(14) S. Tanaka, "FMO Pharmaceutical Applications" (Workshop on Innovation and Pioneering Technology - Innovation by Synergy of Computational & Synchrotron Radiation Sciences (WINTech 2015), March

12, 2015, Kobe University, Kobe, Japan)

(15) 田中成典：「大規模シミュレーションによる生体分子機能デザインの試み」(甲南大学先端生命工学研究所 (FIBER) 私立大学研究基盤形成支援事業第 1 回研究成果報告会 (FIBER 未来大学シリーズ Series 10)、2015 年 1 月 7 日、甲南大学、神戸)

(16) 田中成典：「大規模分子シミュレーション技術の医療・創薬への応用」(探索医療薬物研究会第 2 回合同シンポジウム「創薬と医療-基礎と臨床の架け橋」、2014 年 9 月 13 日、大阪薬科大学、高槻)

[図書] (計 1 件)

(1) S. Tanaka, P.-N. Roy, and L. Mitas, ed., "Recent Progress in Quantum Monte Carlo" (ACS Symposium Series 1234, American Chemical Society, Washington, DC, 2016). 173 pages.

doi: 10.1021/bk-2016-1234.fw001

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

本人・研究室

http://eniac.scitec.kobe-u.ac.jp/tanaka/index_en.html

FMO 創薬コンソーシアム

<http://eniac.scitec.kobe-u.ac.jp/fmodd/index.html>

「京」課題

平成 28 年度「京」を含む HPCI システム利用研究課題「HPCI を活用した FMO 創薬プラットフォームの構築」(課題番号: hp160103)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 成典 (TANAKA, Shigenori)

神戸大学・大学院システム情報学研究科・教授

研究者番号: 10379480

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

鶴田 宏樹 (TSURUTA, Hiroki)

神戸大学・学術・産業イノベーション創造本部・准教授

研究者番号: 20346282

(4) 研究協力者

なし

以上