

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26860084

研究課題名(和文)大規模分子系1電子軌道計算法を活用したインシリコ医薬分子設計の理論と技術開発

研究課題名(英文) Theory and development of in silico molecular design method based on FMO-LCMO method

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・生命システム研究センター・研究員

研究者番号：30465968

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

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大規模分子系電子状態計算手法に対して、我々が開発してきた大規模分子系1電子軌道計算(FMO-LCMO)法を導入し、タンパク質-タンパク質機能制御分子複合体系に適用し、複合体丸ごとの分子軌道を求める事に成功した。この複合体系におけるHOMO/LUMOエネルギーやタンパク質内における機能制御分子の電子状態分布の情報を得る事が出来た。また、FMO-LCMO法と連携する高精度・高効率計算手法の開発も行い、更なる効率化も行った。

研究成果の概要(英文)：In order to develop the compound optimization in the field of drug discovery furthermore, we introduced a large-scale one-electron orbital computational technique, called FMO-LCMO method. With the detailed studies for the calculation conditions, we have succeeded in computing the large-scale molecular orbitals of protein-ligand binding systems and have obtained the details of the electronic structure of ligand buried in a protein. We showed that the FMO-LCMO calculations has a high potential as one of the molecular design method.

研究分野：理論化学

キーワード：インシリコ創薬 大規模電子状態計算 分子軌道法 分子間相互作用 計算分子設計

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物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、分子動力学（MD）計算が導入され新しい化合物スクリーニング手法が提案されている。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、量子力学（QM）に基づいた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、(1) 取り扱える系のサイズが小さい（～数百原子）、それに伴い、(2) 周辺環境を考慮した十分なサイズで分子設計に活用できない、等の問題点を抱えている。

これまで我々は、上記 QM 計算における問題に対して、大規模電子状態計算手法（オーダーN法第一原理計算手法（CONQUEST）、フラグメント分子軌道（FMO）法）を導入し、新しい化合物最適化手法の技術基盤の構築を行ってきた。特に我々は、FMO 法を利用した化合物最適化手法の基盤技術として、結合親和エネルギー予測法の開発を行ってきた。しかしながら、電子状態計算による化合物最適化の“評価”方法は、一般に、生体分子とその薬物候補分子間の分子間相互作用エネルギーによる結合親和能の計算結果による解析からの“大小評価”がほとんどであり、FMO 法も同様にフラグメント間の相互作用エネルギー解析による“評価”に留まっていた。我々は、このような現状も踏まえ、更に化合物最適化における“設計”に向けたためには、更なる理論的な構築が必要である事に気がつき、本研究提案を行った。

2. 研究の目的

本研究では、大規模分子系電子状態計算として、FMO 法と我々が開発してきた大規模分子系 1 電子軌道計算法（フラグメント分子軌道線形結合による分子軌道：FMO-LCMO 法）を、タンパク質 - タンパク質機能制御分子（数千原子系）の複合体に適用し、大規模分子の分子軌道とその構成要素軌道の観点から、複合体における制御分子の分子内・分子間相互作用、制御分子近傍の環境効果等を明らかにし、新奇なタンパク質機能制御分子の設計指針と提案を行う事を目標とする。また研究の過程で、生体分子 - 機能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実行利用を高める技術開発を行う。

3. 研究の方法

大規模分子系電子状態計算として既に我々によって整備されているフラグメント分子軌道（FMO）法計算プログラムの修正版と、我々が開発した大規模分子系 1 電子軌道計算（FMO-LCMO）法を用いる。最初に取り扱うタンパク質 - タンパク質機能制御分子複合体として、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）とその機能制御系を用いた。この FKBP 系では、異なる Ligand が結合した数種の実験構造が入手可能となっており、この系の原子数は約 1800 原子系である。

具体的な手順として、(i) 複合体の初期構造を決定する、(ii) その初期構造を用いて FMO 計算を行う、(iii) FMO 計算データを用いて FMO-LCMO 計算を行い、大規模分子軌道を算出し、1 電子軌道エネルギーと分子軌道解析を行う、(iv) 有意なデータより理論の構築や分子設計指針を検討する、として進めた。

4. 研究成果

(1) FMO-LCMO 計算による 1 電子軌道エネルギーと分子軌道

FKBP とその機能制御系分子の一例を示す（ここでは、制御分子を Lig2 とする。詳細な構造は、発表論文を参照）。

図 1 は、FKBP-Lig2 複合体における HOMO (MO3239) と LUMO (MO3240) を示している。この複合体の HOMO は主として、FKBP の Glu33 の側鎖カルボン酸を寄与とする分子軌道である事が分かった。

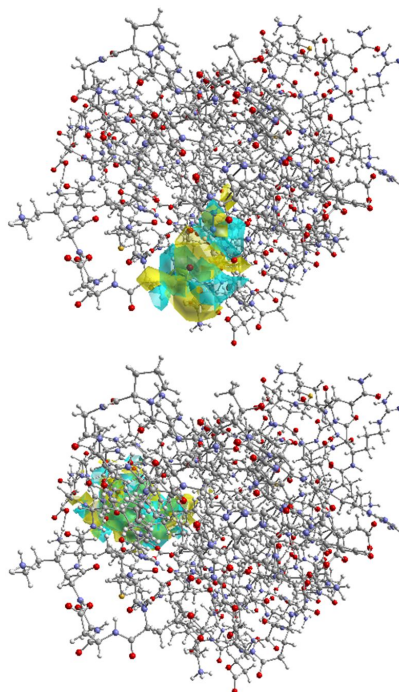


図 1 . FMO-LCMO 計算による FKBP-Lig2 複合体の HOMO (上) と LUMO (下)

一方、この複合体中における Lig2 の電子状態分布を見るため、図 2 に FKBP-Lig2 複合体全体の状態密度と Lig2 の部分状態密度を示す。Lig2 の電子状態は、エネルギー準位的に複合体内の-0.7 Ha (-19 eV) 周辺に分布している事が分かった。

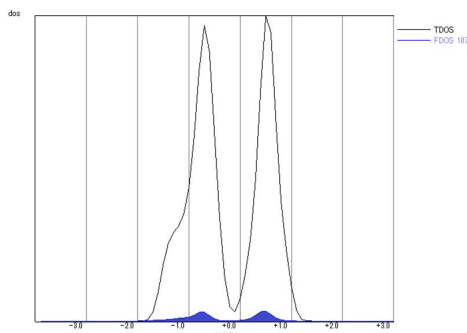


図 2 . FMO-LCMO 計算による FKBP-Lig2 複合体の全体の状態密度 (黒線) と Lig2 の部分状態密度 (紫)

FMO 計算と FMO-LCMO 計算より求めた FKBP-制御分子複合体の HOMO と LUMO の軌道エネルギーを表に示す。

FKBP-	HOMO (eV)	LUMO (eV)
Lig2	-9.75	-9.23
Lig3	-9.27	-9.04
Lig5	-9.45	-9.25
Lig6	-9.48	-9.28
Lig8	-9.07	-8.83
Lig9	-9.27	-9.18
Lig12	-8.82	-8.66
Lig13	-9.82	-9.76
Lig14	-9.07	-8.83
Lig20	-8.15	-7.88

実際の運用上では、FMO-LCMO 計算へ進む前過程として、常に FMO 計算が必要となっている。しかしながら、FMO 計算によるタンパク質 - 制御分子複合体系計算では、制御分子のサイズにも依存するが、非常に多くの計算時間を要する。例えば、上記の計算条件の下では、Lig2 (分子サイズ小) では約 29 時間、Lig20 (分子サイズ大) では約 68 時間の計算時間を要していた。このため、大多数の複合体を考慮する事を想定した場合、FMO-LCMO 計算へ進むまで既に多くの時間を要することになる。この非常に大きな計算コストを削減・改善する事を重要と位置づけ、また、FMO 計算後の FMO-LCMO 計算へもスムーズに移行できる手法の開発を行った。

(2) 多階層 FMO 計算を用いた高効率・高精度なタンパク質 - 薬物間相互作用計算

大多数のタンパク質 - 薬物複合体の相互作用エネルギーを算出するといった場合、通常の FMO 計算では、上記に述べた様に多くの時間を必要とする。我々は、この FMO 法の計算精度を維持しつつ、更に計算コストを削減するため、FMO 計算に階層という考え方を導入した多階層 FMO 計算によるタンパク質 - 薬物間相互作用エネルギー計算手法を確立した。

多階層 FMO 法では、それぞれのフラグメント分子が属する階層をどのように設定するか、という事が一つの鍵であった。我々は階層設定に関して、タンパク質のフラグメント分割の結果や電子相関計算による精度検証、また分子間相互作用の数値検証から、薬物分子からタンパク質への相互作用距離に対して階層設定を行う、を一つの指針として示した。

図 3 は、多階層 FMO 計算による結合相互作用エネルギーと実験値との相関を示している。多階層 FMO 計算では、高低の 2 つの階層を考慮し、二体効果までの FMO 計算 (MFMO2) を行った。各階層の計算条件は、高階層では MP2/6-31G(d)、低階層では HF/STO-3G とした。高階層に含むフラグメント分子の数と結合相互作用エネルギーの評価を見るため、薬物からの相互作用距離 R_{int} を 5.0 Å と 7.0 Å の結果を示してある。MFMO2 $R_{int}=5.0$ Å と $R_{int}=7.0$ Å による相関係数 R はそれぞれ、0.761 と 0.785 であり、相互作用距離 $R_{int}=5.0$ Å で FMO2-MP2 の相関係数 0.770 とほぼ同等である事が分かった。多階層 FMO 法と通常の FMO 法から求められた結合相互作用エネルギーの計算値の平均絶対誤差は、 $R_{int}=5.0$ Å の場合は 0.93 kcal/mol、 $R_{int}=7.0$ Å の場合は 0.56 kcal/mol であり、多階層 FMO 計算は、FMO2-MP2 の精度を高精度に維持している事が分かった。

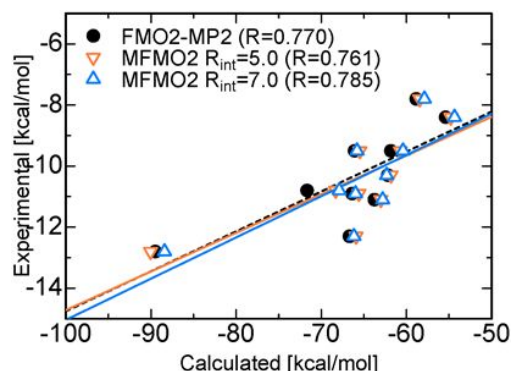


図 3 多階層 FMO 計算による結合相互作用エネルギーと実験値との相関

(3) 創薬支援計算機の試作

FMO 計算や高効率な多階層 FMO 計算に基づいて、FMO-LCMO 計算を実行、そのデータに基づいて分子軌道を描画する FMO-LCMO viewer (東京大学常行研究室にて開発) がシームレスに稼働する計算創薬支援システムの試作機 (図 4) を構築した。

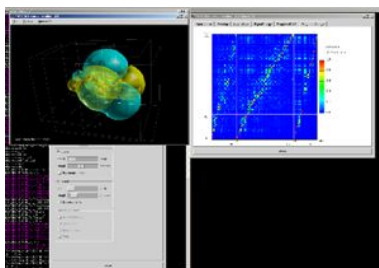


図 4 . 計算創薬支援システムの試作機

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 3 件)

N. Okimoto, T. Otsuka, Y. Hirano, M. Taiji, “Use of the Multilayer Fragment Orbital Method to Predict the Rank Order of Protein-Ligand Binding Affinities: A Case Study Using Tankyrase 2 Inhibitors”, 査読有, ACS Omega, 3, 2018, 4475-4485. DOI: 10.1021/acsomega.8b00175

大塚 教雄, 沖本 憲明, “多階層 FMO 法を使用したタンパク質 - 薬物間相互作用に関する研究”, 査読有, 分子シミュレーション学会誌アンサンブル, 2017, 19(4), 238-244.

T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, “Assessment and Acceleration of Binding Energy Calculations for Protein-Ligand Complexes by the Fragment Molecular Orbital Method”, 査読有, Journal of Computational Chemistry, 36, 2015, 2209-2218. DOI: 10.1002/jcc.24055

[学会発表](計 11 件)

大塚 教雄, 沖本 憲明, 泰地 真弘人, 常行 真司, “フラグメント分子軌道法を活用したタンパク - リガンド系の大規模分子軌道解析”, 第 30 回分子シミュレーション討論, 2016 年 11 月 30 日 - 12 月 2 日, 大阪大学 (豊中)

T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, S. Tsuneyuki, “Application of FMO-LCMO method to Protein-Ligand system”, CBI Annual Meeting 2016, 2016 年 10 月 25 日 - 27 日, Tower Hall Funabori (Tokyo)

大塚 教雄, “創薬における大規模電子状態計算法の技術化”, 筑波大学量子化学セミナー (招待講演), 2016 年 7 月 8 日, 筑波大学 (つくば)

大塚 教雄, “大規模電子状態計算の基礎と生命科学分野での応用研究事例”, 京都大学医学部奥野研究室セミナー (招待講演), 2016 年 1 月 6 日, 京都大学 (京都)

大塚 教雄, 沖本 憲明, 泰地 真弘人, “多層フラグメント分子軌道法を活用した効率的なタンパク - リガンド相互作用の計算”, 第 29 回分子シミュレーション討論, 2015 年 11 月 30 日 - 12 月 2 日, 朱鷺メッセ (新潟)

大塚 教雄, “大規模電子状態計算手法のインシリコ創薬への基盤技術化”, 第 2 回電子状態理論シンポジウム (招待講演), 2015 年 11 月 7 日, 早稲田大学 (東京)

T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, “Acceleration of Protein-Ligand Binding Energy Calculation Using Fragment Molecular Orbital Method”, CBI Annual Meeting 2015, 2015 年 10 月 27 日 - 29 日, Tower Hall Funabori (Tokyo)

T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji, “Development of new molecular design technique by large-scale electronic structure calculations”, 第 1 回理化学研究所・産業技術総合研究所共同シンポジウム, 2015 年 6 月 29 日, 産業技術総合研究所 (東京)

大塚 教雄, “インシリコ創薬における電子状態計算手法の基盤技術化への取り組み”, 量子系分子科学セミナー (招待講演), 2015 年 6 月 5 日, 計算科学研究機構 (神戸)

大塚 教雄, “大規模電子状態計算手法の生体分子系への応用”, 和歌山大学第八回吉宗セミナー (招待講演), 2015 年 3 月 4 日, 和歌

山大学（和歌山）

T. Otsuka, N. Okimoto, M. Taiji,
“Assessment of Protein-Ligand Binding
Energy Calculation Using Fragment
Molecular Orbital Method”, CBI Annual
Meeting 2014, 2014年10月28日 - 30日,
Tower Hall Funabori (Tokyo)

6．研究組織

(1)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・生命シス
テム研究センター・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

(4)研究協力者

なし