

Title	フラグメント分子軌道法による量子生命情報基盤の構築: タンパク質基本フォールドと生体分子動的挙動 の解析
Author(s)	福澤, 薫
Citation	サイバーメディアHPCジャーナル. 2024, 14, p. 109- 112
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/96537
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

フラグメント分子軌道法による量子生命情報基盤の構築

~タンパク質基本フォールドと生体分子動的挙動の解析~

福澤 薫

大阪大学 大学院薬学研究科

1. はじめに

日本発の理論手法であるフラグメント分子軌 道(FMO)法は、タンパク質や核酸などの生体高分 子の全電子計算を高速に実施できる世界最先端 の手法である。さらに生体内の分子認識の要であ る分子内・分子間相互作用を量子化学的に解析で きるため、構造生物学者や創薬化学者の化学的直 観にも沿う理論解析手法として国際的にも高く 評価されている [1,2]。 我々は、 FMO 法を実用的 なインシリコ創薬技術として発展させ、今までに ない高精度な論理的創薬を実現させることを目 指して、2015年度から現在に至るまで、産学官連 携の FMO 創薬コンソーシアムを母体にして、 HPCI を活用した研究開発を行っている。また、 その成果を用いて FMO 創薬のための情報基盤を 構築するために、世界初のタンパク質の量子化学 計算データベースである「FMO データベース (FMODB)」を開発し、2019 年から一般公開して いる [3, 4]。FMODB では、構造生物学者や創薬 化学者が利用しやすいように、web インターフェ イスを整え、現在までに約37.000構造のFMO計 算結果を公開している。

FMODB が世界最大のタンパク質量子化学計 算データを保持している一方で、世界中の研究者 が利活用している生体高分子の構造データベー スである Protein Data Bank (PDB)では、本申請時 点で約 22 万エントリーの構造が公開されている。 FMODB で公開されている FMO データのうち、 独立した PDB 番号(PDBID)を持つものは約 7,700 構造であり、実験的に構造解析されている多様な タンパク質の計算を網羅しているとは言い難い。 そこで本研究では、PDB の網羅的 FMO 計算向け た第1歩として、代表となるタンパク質フォール ド(立体構造のパターン)を持つ薬 6,000 の PDB データに対する FMO 計算を実施し、構造生物学 の新たなインシリコ基盤となるデータベースを 構築する。

また、FMO 法によるタンパク質の量子化学計 算の現状は、エネルギー計算は実用レベルに達し ているものの、エネルギー微分を用いた構造最適 化 [5,6] や ab initio MD (FMO-MD) [7] は膨大な 計算資源を要するために殆ど実施例がない。しか しながら、タンパク質構造の精密化やドラッグデ ザイン、酵素反応等の解析のためにはこれらの実 用化が必須であるため、本研究では SQUID 上で の実行を試みた。

2. フラグメント分子軌道法

FMO 法では、生体高分子を残基単位などの「フ ラグメント」に分割し、フラグメントごとの量子 化学計算を実行する。その際には、各フラグメン トは他の全てのフラグメントからの環境静電ポ テンシャルの存在下にあるとする。これを、全て のフラグメント(モノマー)だけでなく、そのペ ア(ダイマー)についても計算する。式の詳細は 省略するが、全エネルギーは、以下の式で表すこ とができる。

$$E_{total} = \sum E'_I + \sum \Delta \tilde{E}_{IJ}$$

(1)

 E'_{I} は環境静電ポテンシャルの寄与を除いたモノ マーのエネルギー、 $\Delta \tilde{E}_{IJ}$ はフラグメント間の相 互作用エネルギー (Inter-Fragment Interaction Energy; IFIE) である。IFIE は網羅的に算出され、 それだけでも解析に用いることができるが、さら に、PIEDA (Pair Interaction Energy Decomposition Analysis)法によって、4つのエネルギー成分(静 電項 (ES)、交換反発項(EX)、電荷移動項 (CT+mix)、分散項 (DI))に分割することができる [8]。

 $\Delta \tilde{E}_{IJ} = \Delta \tilde{E}_{IJ}^{ES} + \Delta \tilde{E}_{IJ}^{EX} + \Delta \tilde{E}_{IJ}^{CT+mix} + \Delta \tilde{E}_{IJ}^{DI}$ (2)

PIEDA を用いることで、分子間相互作用の物理 化学的な解釈が可能となる。例えば水素結合では、 主要成分の静電項に加えて電荷移動項が関与す る。CH/ π や π - π 相互作用では、分散項が主な成 分となる。また交換反発項からは、立体障害が検 出できる。

本研究でのフラグメント分割は、タンパク質は アミノ酸単位、RNA は主鎖/塩基単位で行い、 低分子化合物や水分子は単一フラグメントとし て扱った。なお、FMO 計算プログラムは ABINIT-MP を用いた。

タンパク質のフォールド代表構造の網羅的解析

PDB に登録されているタンパク質の立体構造 は、X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡、 NMR などの実験手法を用いて長い年月をかけて 解析されてきた。近年の AlphaFold2 に代表され るタンパク質立体構造予測手法の精度の飛躍的 向上により、実験構造未知の静的な立体構造予測 も可能となった。今後は構造情報に対して構造生 物学上有用な情報の付加が求められており、 FMODB への期待は大きい。そこで本研究項目で は、フォールドデータベースである SCOP 2.0 に 登録されているファミリーから代表となる 5,9366 構造を選定し、FMO 計算結果を実施した。

PDB に登録されている実験構造は、欠損ルー プや欠損原子などを含んでいるものが多い。また、 X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡では水 素原子の位置が通常は特定できない。そのため、 FMO 計算を実施するための自動モデリング機能 (Automatic complementation)を開発し、タンパク 質構造の前処理を行った(図1)。



図1 タンパク質基本フォールドの網羅的 計算の流れ

SCOP2.0 からの 5,936 構造のうち、重複を除いた 5,352 構造を処理した結果、5,332 構造の自動処理 に成功し、MP2/6-31G*レベルの FMO 計算を実施 した。用いたタンパク質には、例えば図 2 に示す ような様々なフォールドが含まれる。



図 2 SCOP2.0 に登録されている代表構造の例

得られた FMO 計算結果から、各フォールドの タンパク質における残基間相互作用エネルギー を取り出すことができる。例えば N 残基からな るタンパク質には、N(N-1)/2 個の残基ペアが内在 しており、それらの全てに対して IFIE および PIEDA の相互作用エネルギーが得られる。全計 算結果を統計的に解析すると、中性残基間と荷電 性残基間の相互作用のエネルギー分布は図 3 の ようになっていた。中性残基間の相互作用(図 3A) では、最近接原子間の距離が、1.6~2.0 Å のとこ ろでのエネルギー的に安定な相互作用(-15~-20 kcal/mol)をしているペアが多く、これらは主に 水素結合によるものであると考えられる。一方で、 荷電性残基間の相互作用ペアのエネルギーは、同 程度の距離で-120 kcal/mol 程度であり、これらの 残基間では塩橋を形成しているため大きく安定 化する(図 3B)。今後、残基の種類ごとに分類し た同様の解析を進め、タンパク質に内在する残基 間相互作用の分布を明らかにする予定である。ま た、これらのデータは FMODB にも順次登録し、 公開する予定である。



図3 残基間の距離 (Å) と相互作用エネルギー (kcal/mol)の関係。(A) 中性残基間、(B) 荷電 性残基間(酸性-塩基性アミノ酸残基)の組み 合わせ。

4. 量子化学計算による生体高分子の動的挙動の 解明

ABINIT-MP プログラムによる FMO 計算では、 結晶構造や古典 MD からのサンプリング構造に 対するエネルギーの一点計算は既に実用レベル に達しており、アカデミアのみならず製薬企業等 の研究現場でも用いられている。しかしエネルギ 一微分を用いた構造最適化や ab initio MD (FMO-MD) は膨大な計算資源を要するために未だ実用 化されていない。実験的な分解能の低い PDB デ ータの精密化や精密なドラッグデザイン、さらに は酵素反応や DNA/RNA などの新規創薬モダリ ティの解析において、構造最適化の実用化は必須 である。特に構造決定の難しい RNA や環状ペプ チドに対しては、力場が十分に整備されていない ことから、その構造解析や創薬応用への期待が高 まっている。

構造最適化では、タンパク質―リガンド系の結 合サイトの部分構造最適化を Frozen Domain (FMO/FD)法 [5]を用いてHF/6-31G*レベルで 実施した。核内受容体、キナーゼ、アンジオテン シン II 受容体などの典型例に対して、リガンド と周辺数残基の構造最適化が実施できることを 確認できた。さらに、FMO 最適化構造を用いた リガンド結合性の評価では、分子力場や QM/MM 法による最適化構造を用いるよりも阻害活性値 をよく再現できることが示された[9]。



図 4 リガンド周辺の水素結合ネットワーク構造 の最適化

次に、FMO-MD 計算の例として、バルジ RNA と 低分子リガンドの複合体(5塩基対モデル)の計 算を実施した。計算レベルは HF/6-31G*、



図 5 RNA-低分子複合体の FMO-MD 計算 タイムステップを 0.5 fs とし、8 ノードを用いて 約 26 日で 1.5 ps まで進行した。今後、古典 MD との揺らぎ構造の違いや相互作用の変化などの 評価・検討を実施する予定である。

5. おわりに

本研究の実施によって、世界に類を見ない、タ ンパク質基本フォールドを網羅した、量子化学計 算データベースを構築することが可能となった。 本研究で得られた膨大かつ網羅的なデータを基 にした IFIE/PIEDA の分布を新標準として、例え ば PDB 構造(実験構造)の妥当性を評価する手 法の開発などの活用が期待される。量子化学的な 観点から、現在結晶構造のモデルのクオリティ評 価に用いられている結合長、結合角、二面角等の 情報とは重複しない新たな視点を提供できる。ま た、SCOP 登録構造はフォールディング的に独立 性が高い事から、機械学習によるモデル構築のた めのデータセットとして期待でき、さらに創薬応 用分野で課題となっているデータ不足問題を解 決可能である。今後は、PDB 構造の網羅に向けて さらにデータ数を増やすとともに、応用例として は、FMO-AI 力場及び、相互作用予測 AI の 2 つ の AI モデル構築等へも展開する予定である。加 えて、本研究による網羅的なデータの拡充によっ て、FMODB 公開データが広く2次利用されるこ とになると期待できる。

また、本研究によって、構造精密化や酵素反応 解析の基盤となる構造最適化の実利用がスター トし、生体高分子の *ab initio* MD 計算の実現可能 性が示された。今後多くの生体分子の機能解明に 貢献することが期待される。

謝辞

本研究は、大阪大学薬学研究科/薬学部 量子 生命情報薬学分野の高谷大輔講師、田雨時助教、 奥脇弘次研究員、大野修氏、宮岸澄真氏、田中蒼 大氏、半田佑磨氏、理化学研究所の渡邉千鶴博士、 九州大学の加藤幸一郎博士の協力の下で進めら れた。また、構造最適化計算は、中野達也博士(国 立医薬品食品衛生研究所)および中山尚史博士 (コンフレックス社)、FMO-MD 計算は古明地勇

参考文献

- K. Kitaura, et al., Chem. Phys. Lett., 313, 701-706 (1999).
- Y. Mochizuki, S. Tanaka, K. Fukuzawa, ed.
 "Recent Advances of the Fragment Molecular Orbital Method: Enhanced Performance and Applicability", Springer, Singapore, (2021).
- (3) D. Takaya D, et al., J. Chem. Inf. Model. 61, 777-794 (2021).
- (4) C. Watanabe, et al., Chem-Bio Info. J., 19, 5-18 (2019).
- (5) D. G. Fedorov, et. al., Geometry Optimization of the Active Site of a Large System with the Fragment Molecular Orbital Method, J. Phys. Chem. Lett. 2, 282-288 (2011).
- (6) T. Tsukamoto et al., Partial geometry optimization with FMO-MP2 gradient: Application to TrpCage, Chem. Phys. Lett., 535, 157-162 (2012).
- Y. Komeiji, et al., Fragment molecular orbital method: application to molecular dynamics simulation, 'ab initio FMO-MD' Chem. Phys. Lett., 372, 342-347 (2003).
- (8) D. G. Fedorov, K. Kitaura, Pair interaction energy decomposition analysis. J. Comput. Chem. 28, 222-237 (2006).
- (9) K. Okuwaki, et al., Geometry Optimization using the Frozen Domain and Partial Dimer Approach with the Fragment Molecular Orbital Method: Implementation, Benchmark, and Application for Ligand-Binding Site of Proteins, in preparation.