

平成 30 年度 文部科学省
ポスト「京」で重点的に取り組むべき社会的・科学的課題に関する
アプリケーション開発・研究開発

平成 30 年度
「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」
成果報告書

令和元年 5 月 31 日

国立研究開発法人 理化学研究所

奥野 恭史

本報告書は、文部科学省の科学技術試験研究委託事業による委託業務として、国立研究開発法人 理化学研究所が実施した平成30年度「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」の成果を取りまとめたものです。

目次

1. 委託業務の題目	1
2. 実施機関（代表機関）	1
3. 委託業務の目的	1
4. 平成 30 年度（報告年度）の実施内容	2
4-1. 実施計画	2
4-2. 実施内容（成果）	5
4-3. 活動（研究会等）	88
4-4. 実施体制	90
別添 1 学会等発表実績	
別添 2 実施計画書	

1. 委託業務の題目

「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」

2. 実施機関（代表機関）

代表 機 関	機関名		国立研究開発法人理化学研究所			
	所在地		〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1			
課題 責任者	ふりがな	おくの やすし	生年	西暦 1970 年 6 月 17 日 (48 歳)		
	氏名	奥野 恭史	月日	※2019 年 4 月 1 日現在		
	所属部署名	生命機能科学研究センター		役職	客員主管研究員	
	連絡先	Tel. 06-6155-0111 Fax. 06-6155-0112 E-mail yasushi.okuno@riken.jp				
事務 連絡 担当者	ふりがな	きら みずほ				
	氏名	吉良 みずほ				
	所属部署名	外部資金室	役職	主査		
	連絡先	Tel. 048-467-9642 Fax. 048-467-2634 E-mail mizuho.kira@riken.jp				

3. 委託業務の目的

この十数年、製薬業界では、世界的規模で、新薬の承認数が横ばい状態（20 品目程度／年）であるのに対し、研究開発費が増え続けているという深刻な問題に直面している。従って、開発費を抑えながら、効率的に新薬を開発することは、製薬業界にとっての重要課題の一つであり、計算機シミュレーションによる創薬に大きな期待が寄せられている。しかしながら、現状の創薬計算技術は、予測精度の低さや評価できる化合物数・標的タンパク質数の限界などの問題から、実際の実験に置き換わるほどの革新的技術に至っていない。本研究では、ポスト「京」の演算能力を最大限に活かす分子シミュレーション技術を開発することで、生体分子システムの時間的空間的機能解析に資する新たな計算生命科学を開拓するとともに、これらを用いた創薬計算フローと次世代創薬計算技術を開発することで、高精度かつ超高速の革新的な創薬計算基盤の構築を目指すものである。ポスト「京」を基軸とした創薬計算基盤を製薬会社に提供することで、医薬品開発が加速され、画期的新薬や希少疾患薬の創出が期待される。

このため、国立研究開発法人理化学研究所を中核機関として、分担機関である国立大学法人京都大学大学院医学研究科、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人東京工業大学生命理工学院、国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科、国立大学法人東京大学大学院情報学環、国立大学法人東京大学先端科学技術研究センター、国立大学法人名古屋大学、公立大学法人横浜市立大学、国立研究開発法人産業技術総合研究所、及び国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構と密接に連携し、研究開発を実施する。

4. 平成 30 年度（報告年度）の実施内容

4-1. 実施計画

平成 30 年度は、本格実施フェーズとして、実施計画（研究開発内容、目標・期待される成果、実施体制、必要計算資源、工程表、所要経費等）に基づいた研究開発を、分担機関の国立大学法人京都大学大学院医学研究科、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人東京工業大学生命理工学院、国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科、国立大学法人東京大学大学院情報学環、国立大学法人東京大学先端科学技術研究センター、国立大学法人名古屋大学、公立大学法人横浜市立大学、国立研究開発法人産業技術総合研究所、及び国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構と共同で実施する。本格実施フェーズ 2 年目の本年度は、プログラム設計、モデリング、方法論開発を行う。

具体的には、サブ課題 A「ポスト「京」での MD 高度化とアルゴリズム深化」では、大規模生体システムの効率的計算法を開発するため、新規手法のテスト、検証を実施する。サブ課題 B「次世代創薬計算技術の開発」では、次世代創薬計算技術プロトタイプを完成させるため、各種要素技術開発を実施する。サブ課題 C「創薬ビッグデータ統合システムの開発」では、統合システムのプロトタイプを完成させるため、創薬計算フローをテスト実行する。また各種創薬計算手法を、協力機関と連携し具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価を行う。

(1) ポスト「京」での MD 高度化とアルゴリズム深化（サブ課題 A）

①ポスト「京」での MD 高度化

平成 30 年度は、引き続き、長距離相互作用（FFT 計算）の高速化を進める。また、短距離相互作用計算については、SIMD 化率を向上させるためのプログラム改変を実施する。長時間にわたる MD 計算を効率的に実施するために、数値積分の時間刻み幅を大きくする手法など、新たな手法を導入し MD 計算のさらなる効率化を進める。

②拡張アンサンブル法

平成 30 年度は、自由エネルギー摂動法（FEP）を GENESIS 公開版に移植、網羅的なテスト計算を実施した後に公開する。公開に伴い、MD 計算のセットアップ及び解析用ツールも整備する。H29 年度 REST/REUS 法を用いてキナーゼ・阻害剤ドッキングの効率化に成功したことをうけ、H30 年度は、REST 法や Gaussian Accelerated MD 法を用いたさらなる効率化を進めるとともに、AMPA 受容体、キナーゼ、リゾチームのドッキングを実施し具体的な応用実績を積む。

③長時間ダイナミクス法（再委託先：国立大学法人東京工業大学生命理工学院 北尾彰朗）

平成 30 年度は、PaCS-MD 法を用いたタンパク質-低分子複合体及びタンパク質-ペプチド複合体の解離シミュレーションとマルコフ状態モデルを組み合わせ、創薬応用に重要なキネティック量の計算法開発を行う。さらにタンパク質-ペプチド系で複合体形成と解離を繰り返し、タンパク質に結合する分子がフレキシブルな場合にも最適な複合体構造の探索を可能にするシミュレーション法の開発を行う。

④ハイブリッド QM/MM 自由エネルギー法（再委託先：国立大学法人京都大学大学院理学研究科化学専攻 林重彦）

平成 30 年度は、タンパク質の薬剤結合に対して、非経験的 QM/MM 自由エネルギー法に基づく高

精度な結合エネルギー計算法の開発を行う。QM/MM RWFE-SCF 法を用いた自由エネルギー構造最適化及び MD シミュレーションを用いた自由エネルギー摂動法計算を、タンパク質及び薬剤耐性変異体のリガンド結合に適用し性能評価を行う。またリガンド分子の構造揺らぎの効果の計算における自由エネルギー外装法で必要となる MM/MM RWFE 法を開発する。

- ⑤粗視化モデリング（再委託先：国立大学法人京都大学大学院理学研究科生物科学専攻 高田彰二、国立大学法人名古屋大学 篠田渉）

平成 30 年度は、大規模なタンパク質・核酸・リン脂質複合系に対して、より高精度な粗視化シミュレーションを実現するための相互作用モデルを開発・改良し、それを適用してクロマチンとタンパク質の競合、生体膜とタンパク質の動態についての計算を実施する。具体的には、ATP 依存リモデラーによるヌクレオソームへの動的作用、生体膜への膜タンパク質の挿入とそれによる多成分膜の状態変化等についての、細胞生物学的実証研究を行う。

- ⑥自由エネルギー計算法（再委託先：公立大学法人横浜市立大学 池口満徳）

平成 30 年度は、リガンドとタンパク質間の高効率・高精度な結合自由エネルギー計算法の開発を継続する。そのための最適な全原子分子動力学シミュレーションのプロトコルの確立を目指して、溶媒和自由エネルギー、タンパク質・リガンドの静電相互作用に関わるサイズ効果など、結合自由エネルギーに関する様々な要素を検討する。そこで開発された方法を、種々のタンパク質とリガンドの結合自由エネルギー計算に適用し、実験値との比較等の性能検証を行う。

（2）次世代創薬計算技術の開発（サブ課題 B）

- ①動的分子機能制御（再委託先：公立大学法人横浜市立大学 池口満徳）

平成 30 年度は、リガンド結合に際して立体構造変化が機能に重要な役割を果たすタンパク質について、分子の動的機能の解析を継続する。その解析では、スーパーコンピュータを用いて多数の全原子分子動力学シミュレーション計算を実施し、パスサンプリング法やマルコフ状態遷移モデル等を用いて多数のシミュレーション結果を統合する。リガンドの種類（アゴニスト、アンタゴニストなど）によって、タンパク質に誘起される立体構造変化の相違についての分子メカニズムの研究を行う。

- ②タンパク質間相互作用制御（再委託先：国立大学法人東京大学 藤谷秀章・山下雄史）

平成 30 年度は、これまでに開発を進めてきた新しい FUJI 脂質力場を用いて、抗生物質が効かない多剤耐性菌などが持つ多剤排出ポンプの分子動力学計算を行い、複数のタンパク質からなる超分子構造でタンパク質間相互作用が排出ポンプ制御にどのように関わっているかを解析する。多剤排出ポンプのエンジンである細菌内膜の AcrB と外膜の排出チャンネル TolC がペリプラズム領域の AcrA 六量体を挟んでどのように機能するかを部分的な分子動力学計算を援用しながら解析を進めて多剤耐性に対抗する方法を探索する。

- ③ウイルス標的創薬計算技術（再委託先：国立大学法人名古屋大学 篠田渉）

平成 30 年度は、B 型肝炎ウイルスカプシドの大規模分子動力学計算を継続して実施し、カプシド環境における分子構造・運動の解析を行う。さらに、薬剤のカプシド吸収における自由エネルギー解析技術の開発・改良を行い、逆転写酵素阻害剤を対象として、全原子及び粗視化分子動力学シミュレーションを併用した自由エネルギー解析を実施する。また、RNA 含有のカプシドを扱うため、RNA の粗視化モデルを構築する。また、カプシド形成阻害剤によるカプシドタンパク複合体の構造安定性

への影響について、自由エネルギー解析等を実施する。

④核酸-タンパク質相互作用制御（再委託先：国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 河野秀俊）

平成 30 年度は、核内の DNA 収納状態の変化を調べるため、大規模な全原子分子動力学計算シミュレーションを実行し、DNA の解離に伴うヒストンコア崩壊の自由エネルギー解析や、ヌクレオソーム結合タンパク質の離脱に伴って連結した 2 つのヌクレオソームの相対配置の変化の解析を行う。また、ヌクレオソーム構造から DNA の解離のしやすさについて、塩基配列依存性を明らかにする。

⑤細胞内環境シミュレーション

平成 30 年度は、引き続き、これまでのシミュレーショントラジェクトリを用いて、分子混雑系におけるタンパク質・基質結合の分子機構を解析する。それらの結果を土台にして、分子混雑環境におけるタンパク質・基質結合の分子機構を実際のシミュレーションによって調べる。

(3) 創薬ビッグデータ統合システムの開発（サブ課題 C）

①高精度薬剤デザイン（再委託先：国立大学法人京都大学大学院医学研究科 奥野恭史）

平成 30 年度は、創薬ビッグデータ統合システムにサブ課題 A とサブ課題 B で開発される MD 計算法及び各種創薬計算法を実装する。さらに、AI 創薬手法の実装評価を行う。また、協力機関と連携し、創薬ビッグデータ統合システムを具体的な創薬ターゲットに適用することで性能評価を引き続き行う。特に、ゲノム医療・創薬への応用を実現する計算基盤の構築を行う。

②機能制御部位データベース（再委託先：国立研究開発法人産業技術総合研究所 広川貴次）

平成 30 年度は、①アンサンブル構造から、バーチャルスクリーニングやドッキングの精度を高める構造の選定法について、分子動力学計算の設定環境やアンサンブル構築の改良と高精度化をサブ課題 C①と連携して行う、②DrugBank の標的タンパク質構造情報に基づく、機能制御部位データベースの実装、③共同研究を通じた機能部位予測結果の検証やバーチャルスクリーニングヒット率の評価、の研究課題を遂行する。

③創薬関連ビッグデータ（再委託先：国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科 津田宏治）

平成 30 年度は、深層学習を用いた化合物生成技術を開発し、膨大なタンパク質構造と化合物の組み合わせから薬剤候補化合物を高速に探索する。また、Grammatical Evolution 法などを用いた並列生成の研究を行う。当該アルゴリズムを応用し、サブ課題 A と B で生み出された標的部位（タンパク質機能制御部位）の動的構造と、多数の化合物の組み合わせに適用することで、性能を評価する。

④標的分子ネットワーク（再委託先：国立大学法人東京工業大学生命理工学院 北尾彰朗）

平成 30 年度は、これまで開発してきた、創薬ターゲットとなりうるタンパク質-タンパク質複合体のモデル構造を粗視化ドッキングで構築し、全原子構造で精密化した上で最適構造モデルを選択する方法をさらに効率化する。既に開発した分子動力学計算とエネルギー表示の理論を組み合わせたタンパク質-タンパク質複合体モデル評価法に、機械学習などを導入することで、1 複合体モデルを複数の構造モデルで評価する場合に、1 モデルの評価に要する平均計算時間を大幅に短縮する。

⑤生体系マルチスケールモデリング（再委託先：国立大学法人東京大学大学院情報学環 寺田透）

平成 30 年度は、心筋イオンチャネル hERG の電子顕微鏡構造に基づき、電位センサードメインのモデルを構築する。このモデルを水和した脂質二重層に埋め込み、MD により平衡化した後、前年度までに開発した方法を用いて、膜電位依存的な立体構造変化の推定経路に沿ったモデルを多数生成

する。また、実験的に立体構造が決定していない心筋イオンチャネルについて、ポア領域の立体構造モデルを複数構築し、不整脈を誘発することが知られている薬剤のドッキングを行う。この結果に基づいて適切な心筋イオンチャネルモデルを選択するとともに、モデルの改良を行う。

(4) プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、執行部会議を定期的実施し、プロジェクト運営全般の検討・決裁・指揮を行う。重点課題1 ワークショップ（全体会議）を2回開催し、プロジェクト全体の進捗状況を確認しつつ計画の見直し等を行う。プロジェクトで得られた成果については、積極的に公表し、今後の展開に資する。

さらに、ポスト「京」創薬推進委員会、実験技術連携推進検討会、バイオ計算分野振興 WG において、外部有識者を招聘して意見を聞くとともに、協力機関との連携・調整にあたる。特に、平成30年度は、日本生物物理学会などバイオ計算に関心の高い研究者を数多く集める学会との共催により本課題に関連した発表枠を設けることで、効果的な討論、意見交換を行うほか、ワークショップの内1回については国際シンポジウムとして第一線の外国人研究者を広く世界より招聘し、討論を行うことを通じ、知見を広めるとともに本プロジェクトのプレゼンスを高める。

また、課題推進にあたり、第三者の視点で進捗状況の把握・評価・改善提言・指導等を行う諮問委員会を適宜開催する。

4-2. 実施内容（成果）

平成30年度は、本格実施フェーズとして、実施計画（研究開発内容、目標・期待される成果、実施体制、必要計算資源、工程表、所要経費等）に基づいた研究開発を、分担機関の国立大学法人京都大学大学院医学研究科、国立大学法人京都大学大学院理学研究科、国立大学法人東京工業大学生命理工学院、国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科、国立大学法人東京大学大学院情報学環、国立大学法人東京大学先端科学技術研究センター、国立大学法人名古屋大学、公立大学法人横浜市立大学、国立研究開発法人産業技術総合研究所、及び国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構と共同で実施した。本格実施フェーズ2年目の本年度は、プログラム設計、モデリング、方法論開発を行った。

具体的には、サブ課題A「ポスト「京」でのMD高度化とアルゴリズム深化」では、大規模生体システムの効率的計算法を開発するため、新規手法のテスト、検証を実施した。サブ課題B「次世代創薬計算技術の開発」では、次世代創薬計算技術プロトタイプを完成させるため、各種要素技術開発を実施した。サブ課題C「創薬ビッグデータ統合システムの開発」では、統合システムのプロトタイプを完成させるため、創薬計算フローをテスト実行した。また各種創薬計算手法を、協力機関と連携し具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価を行った。

(1) ポスト「京」でのMD高度化とアルゴリズム深化（サブ課題A）

① ポスト「京」でのMD高度化

本課題では、大規模生体システムの計算を実施するために、ターゲットアプリである超高並列分子動力学計算プログラム GENESIS のポスト「京」での高速化を行っている。平成30年度は、長距離

相互作用（FFT 計算）及びボトルネックとなる実空間非共有結合相互作用（短距離相互作用）計算について、アルゴリズムを修正し、チューニングを通じて高度化を進めた。短距離相互作用計算については、SIMD 化率を向上させるためにプログラムを改変した。詳細な性能値や具体的な修正事項については、開発担当企業との秘密保持契約に基づき、公表を差し控える。

長時間にわたる MD 計算を効率的に実施するために、長いステップ幅でも安定した MD 計算を可能にする高精度な時間発展スキームを導入した。具体的には、新たな温度定義を導入することで、精度を損なうことなく、長い時間ステップ幅を用いた計算を可能にした。通常の MD 計算では、各時間ステップでの温度は、時間ステップ幅もしくは $1/2$ 時間ステップ幅での運動エネルギー (K_{full} もしくは K_{half}) を用いてエネルギー等分配則に基づき決められている。しかし、そのように決めた温度 (T_{full} もしくは T_{half}) は、時間ステップ幅の 1 次までの精度しかなく、時間ステップを大きくすると MD 計算の精度が著しく損なわれてしまう。例として、ウシ膵臓トリプシンインヒビター (Bovine Pancreatic Trypsin Inhibitor, BPTI) タンパク質と溶媒水分子からなるシステムについて、既存の温度定義 (T_{full} もしくは T_{half}) を用いた計算から求めた溶質部分の温度分布を図 1 (左) に示す。 T_{full} と T_{half} のいずれの定義を用いた計算でも、時間ステップを 1 fs から 5 fs へと大きくするにつれて、溶質部分の温度分布が 1 fs のものから著しくずれていることがわかる。同様なテストを、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) が形成する二重膜についても行った。図 1 (右) に、 T_{full} もしくは T_{half} を用いた計算から得られた脂質あたりの面積 (Area per lipid, APL) の分布を示す。この場合もやはり、時間ステップを 2 fs から 5 fs へと大きくするにつれて、APL の分布が著しくずれていることがわかる。

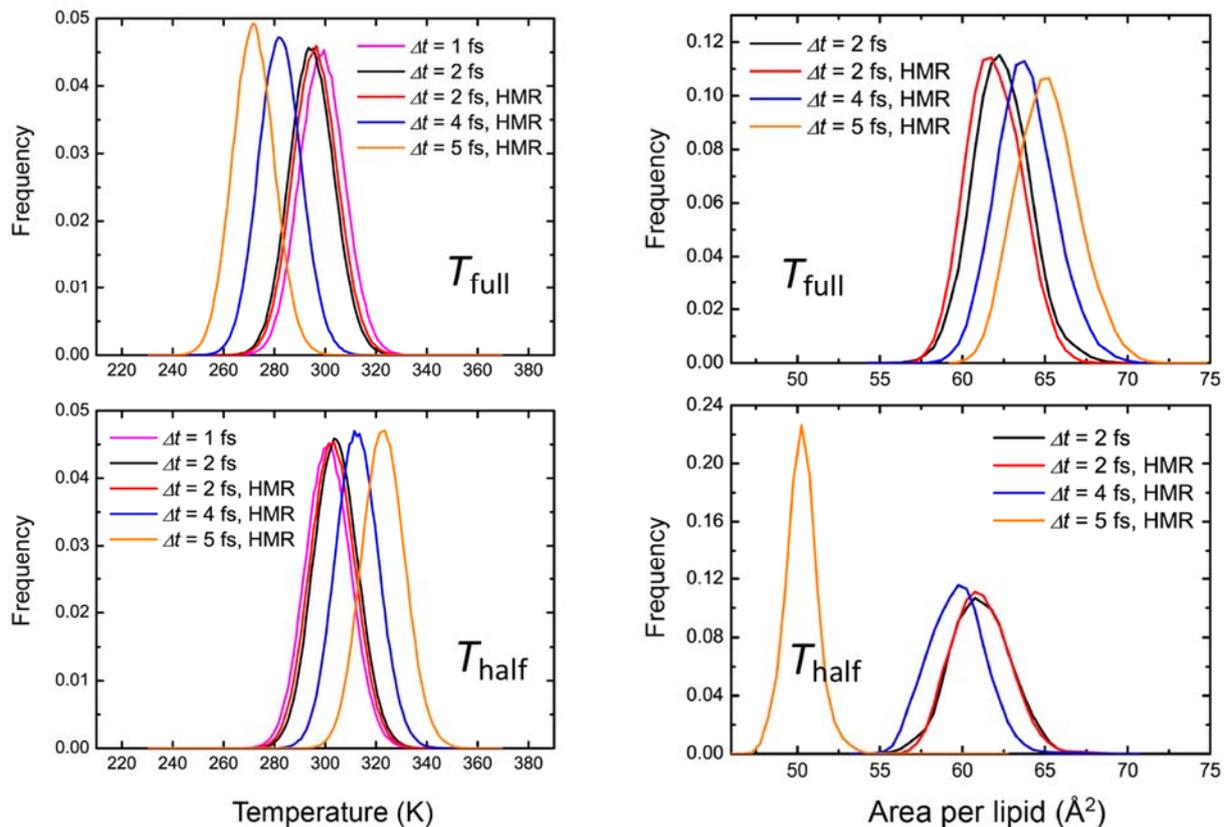


図1 異なる時間ステップを用いた計算における、水中の BPTI タンパク質の温度分布 (左) と DPPC 二重膜の脂質あたりの面積 (Area per lipid、APL) の分布 (右)。温度定義には、既存の T_{full} もしくは T_{half} を用いた。

そこで、 K_{full} と K_{half} を組み合わせることで、時間ステップ幅の 3 次までの精度を保つ新たな温度定義を導出し GENESIS に実装した。図 2 に、水中の BPTI タンパク質と DPPC 二重膜について、新たな温度定義 (T_{opt}) を用いた計算から得られた BPTI タンパク質の温度分布 (左) と APL 分布 (右) を示す。通常温度定義を用いた計算では、温度分布、APL 分布ともに時間ステップに顕著な依存性を示したのに対して (図 1)、新たな温度定義 (T_{opt}) を用いた計算から得られた温度分布と APL 分布は、時間ステップに依存せず一定となっている。このように、温度定義を改めることで、より長いステップ幅を使用しても物性・性質を適切に計算可能であることを確認した。同結果は論文として国際誌に掲載された (J. Jung et al. J. Chem. Theory Comput. (2019))。

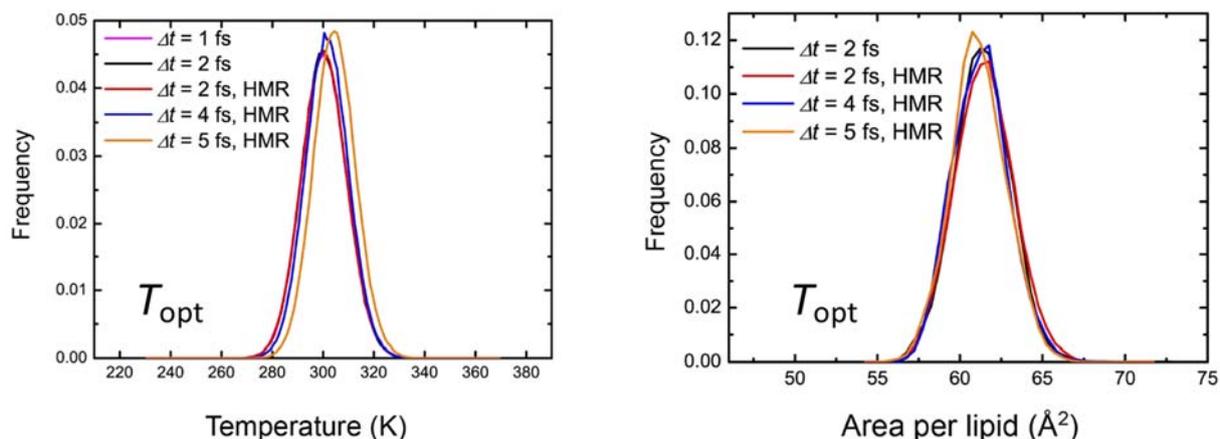


図2 異なる時間ステップを用いた計算における、水中の BPTI タンパク質の温度分布 (左) と DPPC 二重膜の脂質あたりの面積 (Area per lipid, APL) の分布 (右)。今回新たに導出した温度定義 (T_{opt}) を用いた。

この手法の開発の意義は非常に高く、もし、5 fs のステップ幅を用いて安定で信頼性の高い分子動力学計算が実現すれば、現在標準的に用いられている 2 fs のステップ幅を用いた計算と比較して 2.5 倍の加速を実現したことになる。ステップ幅の拡大はターゲットとする分子サイズや種類によらず一般的であるため、今後はさらに多数のアプリケーションにこの手法を適用し、分子動力学の安定性や計算結果の信頼性を確認していく予定である。また、通常分子動力学計算だけでなく、自由エネルギー摂動計算や拡張アンサンブル法などと組み合わせた場合でも、5 fs のステップ幅での安定な計算が実現するかは興味深いところである。

我々がこれまで開発してきた非共有結合相互作用の最適化アルゴリズムと本研究で開発したより信頼性の高い温度定義と長いステップ幅の実現は、互いに全く独立に分子動力学計算を加速することができる。すなわち、それぞれの加速率の積がトータルの加速率となるため、我々が開発している GENESIS の最新バージョンのスピードアップは従来 (「京」で利用したもの) と比較するとはるかに高速なものとなっている。また、信頼性の高い温度定義と長いステップ幅の実現は、実際には分子動力学計算ソフトウェアによらず一般的な手法の開発である。この方法の有用性が認識されていくことで、GENESIS だけでなく様々な分子動力学ソフトウェアに手法が導入され、我々の開発が研究分野全体のレベルを引き上げていくことができると確信している。

②拡張アンサンブル法

GENESIS による高精度かつ超高速の創薬計算を実現するために、分子シミュレーションの要素計算技術を開発し評価している。平成 30 年度は、自由エネルギー摂動法 (Free Energy Perturbation 法、FEP 法) を GENESIS 公開版に移植した。摂動部分の取り扱いとして、従来のデュアルトポロジーを用いる方法に加え、ハイブリッドトポロジーを用いた方法を導入した。このことにより、CHARMM 力場だけでなく、広く用いられている AMBER 力場の FEP 計算も実施できるようになった。また、様々な拘束条件を課して計算を効率化するスキームにも対応し、高精度 FEP 計算も実施できるようになった。手法の検証計算として、典型的なベンチマーク系である FK506 結合タンパク質 (FKBP)

と 10 種類のリガンドとの結合自由エネルギーを計算し、実験値を正しく再現することを確認した (図 1)。MD 計算のセットアップ及び解析用の初歩的なツールも整備し、公開に向けた準備ができた。

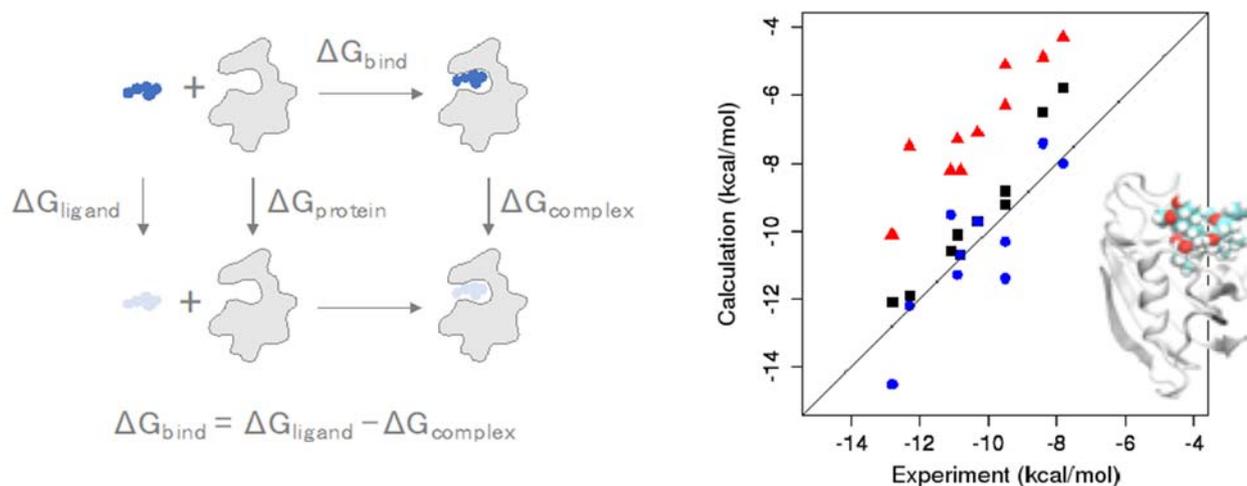


図 1 自由エネルギー摂動計算 (FEP 計算) のスキーム (左) と、FEP 法を用いて計算した FK506 結合タンパク質 (FKBP) と 10 種類のリガンドとの結合自由エネルギーと実験値との比較 (右)。△と□は文献値 (H. Fujitani et al. Physical Review Letter (2009)) で、それぞれ、AM1-BCC と RESP 電荷を用いた計算。○は AM1-BCC 電荷を用いた本研究の計算値。

一方、タンパク質-リガンドの結合計算については、Replica Exchange Umbrella Sampling (REUS) 法を用いた AMPA 受容体へのリガンド結合計算の結果が論文として国際誌に掲載された (H. Oshima et al. Biophysical Journal (2019))。また、既存の Replica Exchange with Solute Tempering (REST) 法を改良した generalized REST (gREST) 法と REUS 法を組み合わせた Src キナーゼ・PP1 阻害剤の gREST/REUS ドッキング計算の結果も、現在論文として投稿中である。この計算では、gREST 法を用いることで、タンパク質とリガンドの構造柔軟性を十分に取り込んだドッキングが可能になった (図 2)。具体的には、各レプリカ 300 ns の計算中にリガンド (PP1 阻害剤) の結合・脱離を 100 回程度観測することに成功し、結晶構造を水の位置まで含めて超高精度に予測することが可能になった (図 3)。さらに過渡的な初期複合体 (会合体) の構造と相互作用を明らかにした。初期複合体形成は、リガンド結合の成否を左右する重要なステップであるが、実験的に過渡的な中間体を捉えるのは極めて難しく、その詳細についてわかっていることは少ない。今回の結果は、初期複合体でリガンドは G-loop と呼ばれる保存性の高いアミノ酸残基群と相互作用しており、G-loop がリガンドを最初に補足し結合へと導く重要な役割を果たしていることを示唆する。この結果は、生化学実験の結果とも良く対応しており、今後の薬剤設計に役立つ新たな視点を与えるものである。

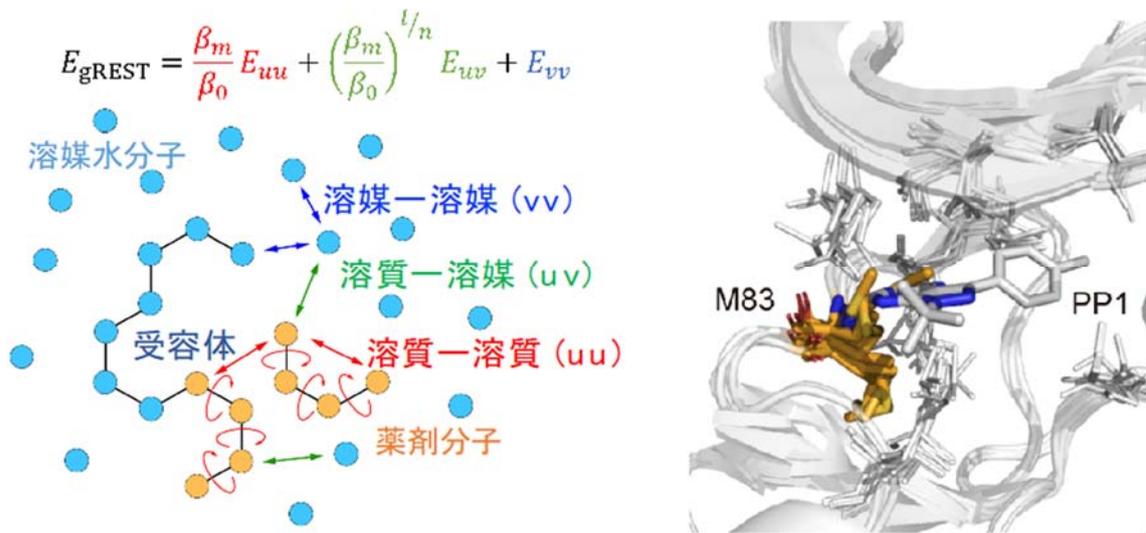


図2 generalized REST (gREST) 法のタンパク質-リガンド系への適用スキーム (左) と、シミュレーションにおける溶質部分 (リガンド (PP1) と Met83 を含む活性サイト付近の 10 アミノ酸残基) の構造揺らぎ (右)。タンパク質のリガンド結合部分が大きく揺らいているのがわかる。

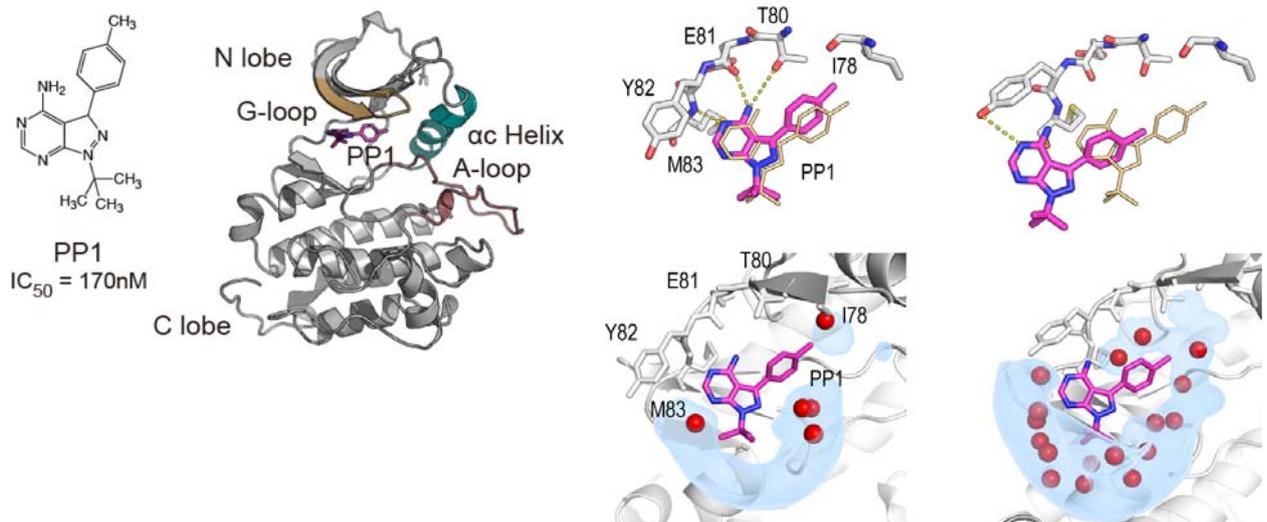


図3 二次元レプリカ交換法 (gREST/REUS 法) の計算対象とした Src キナーゼと PP1 阻害剤 (リガンド) の構造 (左) と、計算により予測された 2 つのリガンド結合構造と水分布 (右)。比較のために X 線結晶構造 (黄) も示した。主結合構造 (左の結合構造) では、X 線結晶構造で見える水分子 (赤球) の位置も計算により予測できている (水色の分布)。

gREST/REUS 法は、高い精度で結合予測が可能な反面、反応座標を用いる上、計算コストも非常に高いという課題がある。例えば、上記の計算では、反応座標軸 (タンパク質とリガンドの距離) に 18 レプリカ、gREST 軸 (溶質温度) に 8 レプリカを用いており、合計で 144 レプリカ (18×8=144) が必要になる。そこで、結合ポーズをより安価に求める手法として、gREST 法 (REST 法を改良した

手法) に基づいた効率的なドッキング計算スキームを考案し、T4 リゾチーム置換体 (T4LL99A) のリガンド結合計算を実施した (図 4)。

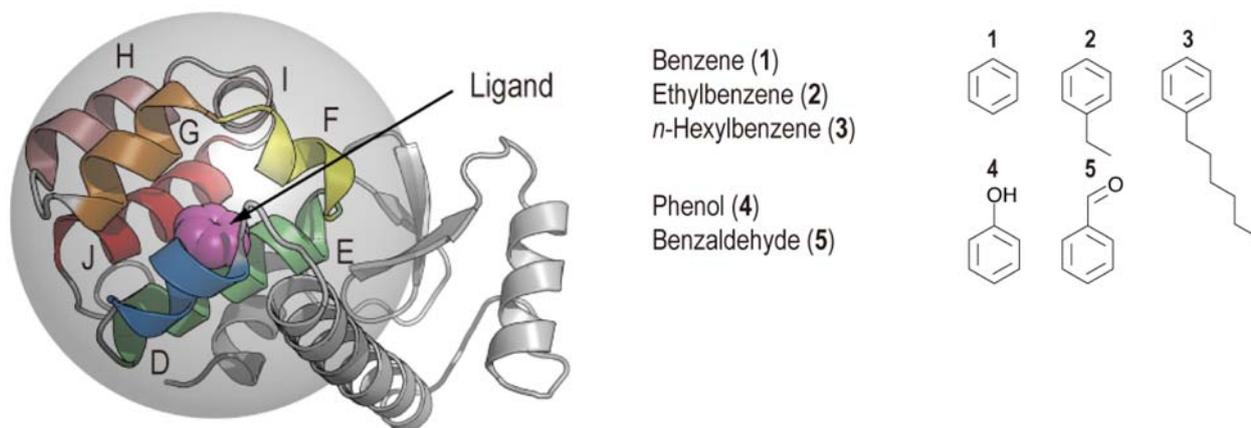


図 4 gREST 法と Flat-bottom ポテンシャルを用いた T4 リゾチーム L99A 置換体の結合計算スキーム (左) と、今回検討した 5 種類のリガンド分子 (右)。Flat-bottom ポテンシャルはグレー球で示しており、リガンド分子は球の中を自由に動き回る。

ワイルドタイプの T4L にはリガンドは結合しないが、L99A 置換により空洞が生じリガンドが結合することが知られている。リガンド結合部位がタンパク質の奥に埋め込まれているため、タンパク質の構造揺らぎを考慮しない通常のドッキング計算では取り扱えない難しい系である。さらに、ワイルドタイプと L99A 置換体の立体構造に大きな違いは見られないことから、リガンド結合に際してタンパク質の立体構造が変化する必要があり、通常の MD 計算ではリガンド結合を観測するのが難しい。実際、1 μ s の MD 計算を実施したが、リガンド結合を観測することはできなかった。今回考案した新たな計算スキームでは、反応座標は用いずに、gREST 法のみを用いてタンパク質結合サイト近傍の構造揺らぎを十分に取り込んだ。さらに、Flat-bottom ポテンシャルを導入し、リガンドが結合サイトから遠く離れないよう工夫し、リガンド結合イベントの探索効率を向上させた。必要なレプリカ数は gREST (溶質温度) に用いる 8 レプリカのみで、gREST/REUS 法と比べ計算コストを大幅に軽減することができる。計算結果は良好で、タンパク質の揺らぎを許すことにより、分子サイズの大きなリガンドの結合も観測することに成功した (図 5)。

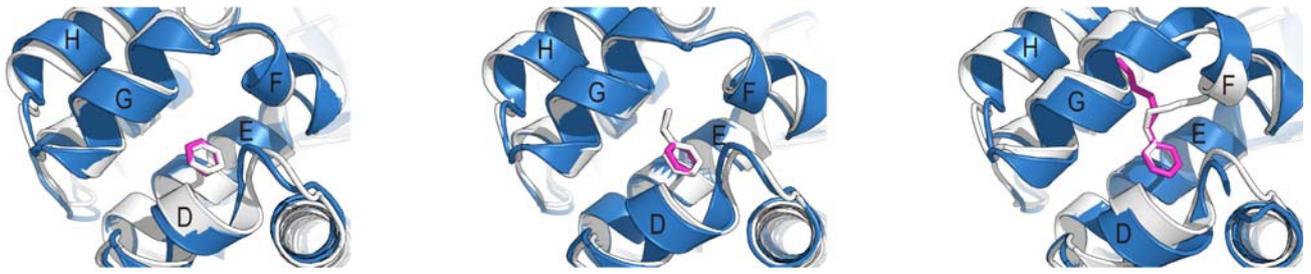


図5 gREST 法と Flat-bottom ポテンシャルを用いた結合計算から得られた T4 リゾチーム L99A 置換体と 3 つの結合性分子 (ベンゼン、エチルベンゼン、ヘキシルベンゼン) との結合構造 (白：結晶構造、青とマゼンタ：計算結果)

さらに、X 線結晶構造を良く再現するだけでなく、実験では捉えることが難しい準安定結合ポーズの存在も予測した。計算結果の解析から、大きなサイズのリガンドが結合するときは、タンパク質のリガンド結合サイト付近のヘリックス構造が、一時的に折れ曲がった構造から伸びた構造へと変化していることも見出した。この結果は実験結果とも良く一致しており、結合の分子機構についても新たな知見を得た。リガンド結合予測においては、結合性と非結合性分子が区別されるか否かも重要である。そこで、結合性分子だけではなく、非結合性分子のドッキング計算も実施した。その結果、非結合性分子は一時的に結合サイトに入ることはあるものの、結合状態で強く安定化することはないことを示した。gREST 法を用いた計算から自由エネルギープロファイルを求めたところ、結合性分子では結合状態が最も安定な状態となる一方で、非結合性分子では初期会合状態が最も安定な状態となる (図 6)。従って、gREST 法を用いた新たな計算スキームは、結合性分子と非結合性分子を自由エネルギー的に明確に判別することができ、さらに結合性分子については結合構造も高精度で予測できることが示された。以上の研究成果は、現在論文として投稿中である。

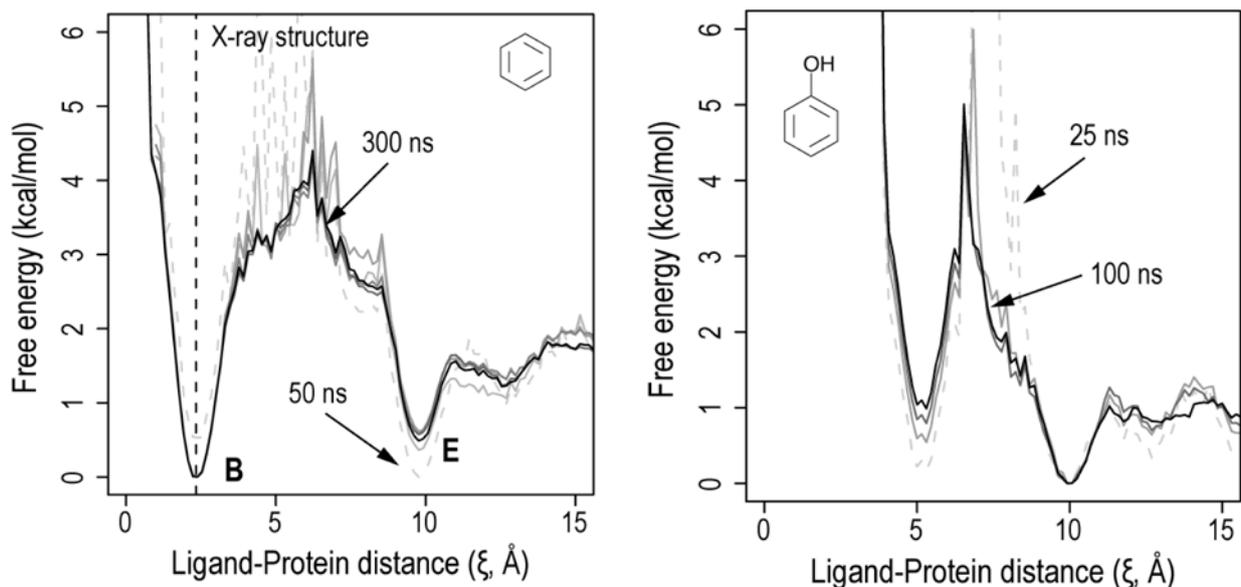


図6 gREST法とFlat-bottomポテンシャルを用いた結合計算から求めたリガンド結合の自由エネルギープロファイル。ベンゼン（結合性分子、左）とフェノール（非結合性分子、右）のプロファイルを示す。

計算コストを抑えた効率的な計算法として、Gaussian Accelerated MD (GaMD) 法を用いたキナーゼ・阻害剤のドッキング計算も実施した。GaMD法で求めた結合自由エネルギープロファイルでは、gREST/REUS法の結果に比べX線結晶構造の安定化が小さく、計算は十分収束していない。しかし、X線結晶構造が自由エネルギー的な安定構造となっていることに違いはなく、単一計算（レプリカを必要としない）GaMD法でも、結合構造の予測が十分可能であることを確認した。ポスト「京」で並列に大量の創薬MD計算（Capacity Computing）を効率良く実施する計算基盤ができた。

③長時間ダイナミクス法（再委託先：国立大学法人東京工業大学生命理工学院 北尾彰朗）

平成30年度は、第一にParallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD) 法を用いたタンパク質複合体の解離シミュレーションとマルコフ状態モデル (MSM) を組み合わせ、創薬応用に重要なキネティクス量の計算を可能にする方法の開発を行い、これに成功した。

具体的には、解離に要する実時間が秒程度必要であるタンパク質 MDM2 と天然変性タンパク質 (IDP) であるタンパク質 p53 のN末端ペプチドの複合体をターゲットとすることにした。この複合体は解離に要する時間が秒程度なので、通常の分子動力学計算では解離を観察することはできない。従って、チャレンジングなターゲットであるといえる。また、このターゲットはこれまでに行ったタンパク質-リガンド系（リゾチーム-triNAG）と比べると、ペプチドはリガンドと比べて分子量が大きくしかもフレキシブルであることでより計算が複雑になることが予測された。特にこのペプチドはMDM2と結合しているときはヘリックスを形成するが、解離したときには2次構造が解消する可能性が高い。従って、前年より難易度が高いターゲットを選んだことになる。また、p53は注目されているがん抑制因子であり、しかもMDM2はp53と結合することで、p53のユビキチン化を進め、

p53 のターゲット DNA との相互作用をブロックし、さらに p53 の核外への排出を促進するなどの効果を持つことが知られており、生物学的にもその機能を明らかにすることは重要である。

図 1 に PaCS-MD を実行するためのシミュレーションシステムの概要を示す。このようにシミュレーションボックスは直方体とし、MDM2 は回転しないように弱い拘束力をかけ、一番長い方向（下図の X 方向）に p53 が外れるようにした。

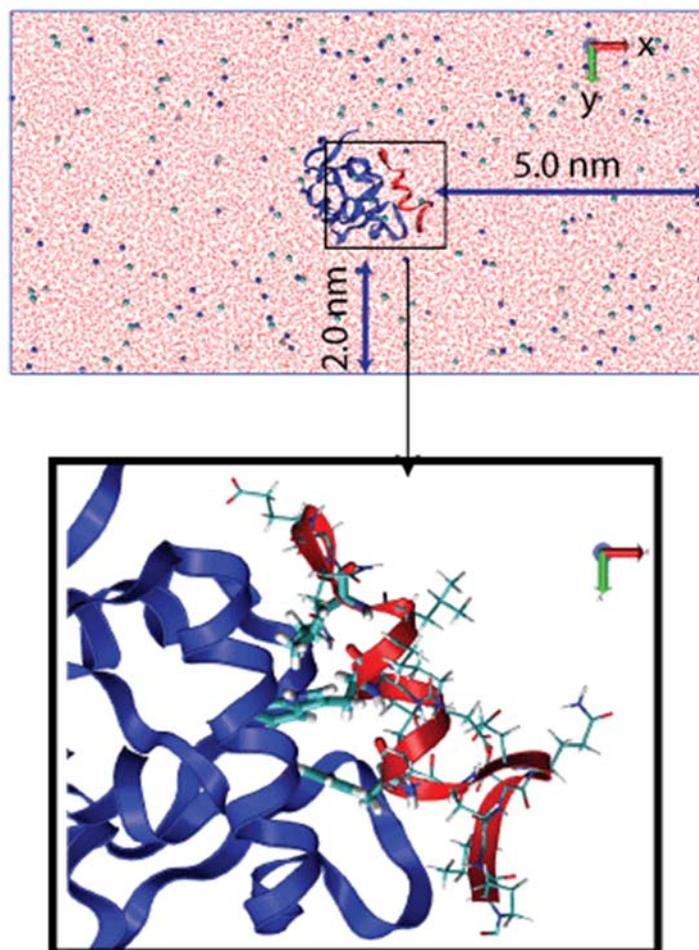


図 1 シミュレーションシステムの全体像(上)と MDM2 と p53 の相互作用のクローズアップ(下)。

PaCS-MD では、並列に n_{rep} 個の独立で、バイアスとなるエネルギーを与えていない MD 計算を一定時間 t_{cyc} にわたって実行する。そして得られた立体構造の軌跡（トラジェクトリ）の中から n_{rep} 個の構造を選択することを 1 サイクルとする。そして PaCS-MD は、選択した構造を初期構造として新たな分子動力学を開始するというサイクルを繰り返すことで、立体構造空間を効率的にサンプリングすることができる分子シミュレーション法である。以前の報告書でも述べたように、PaCS-MD が効率的である理由は、次のサイクルの初期構造として構造分布の端にあるまれな揺らぎを選択することによって、構造転移を飛躍的に起こりやすくしていることにある。PaCS-MD で生成されたトラジェクトリは原理上構造空間がオーバーラップしているので、MSM で解析することが可能である。昨年度までに計算から、PaCS-MD と MSM の組み合わせで、複合体の結合自由エネルギーが計算で

きることを我々は明らかにしていた。また、MSM と組み合わせを考慮しても、 t_{cyc} は 0.1 ns が最適であることも既に突き止めていた。

今回は、キネティクス計算のためには MSM 計算に用いるデータのサンプル数を増やす必要があると考えた。PaCS-MD 法による解離シミュレーションを以前のタンパク質-リガンド系では 10 並列×10 トライアルまたは 100 並列×1 トライアルで計算していたところを、MDM2-p53 系では 30 並列×25 トライアルに増やした。これにより、PaCS-MD によってより広い空間で解離パスウェイを生成することができた (図 2)。また、複数のトライアルから得られたトラジェクトリをすべてマージしたデータに関して MSM 計算を行うことが可能になった。

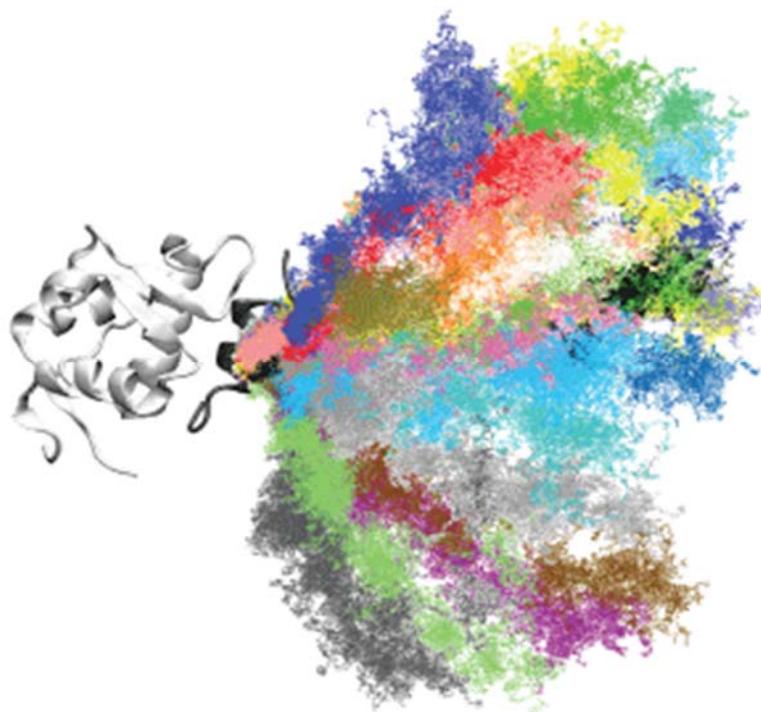


図 2 MDM2 (白) からの p53 (マゼンタ) の解離パスウェイ。MDM2 を固定してみた場合に、p53 の重心位置の瞬間的な位置を点で表したもの。色の違いはトライアルの違いを表す。

また MSM の構築方法も従来は各トライアルを独立に扱い、MSM に用いる 2 つの重心間距離を用いた 1D-MSM のみであったが、今回は全トラジェクトリをマージし、p53 の相対的な重心座標を用いる 3D-MSM と p53 のすべての C α 座標を用いる C α -MSM も行った。既に他の複合体に関する計算では、1D-MSM を使えば結合自由エネルギーが計算できることは明らかになっていた。結合自由エネルギーは結合状態と完全に解離した状態との平均力ポテンシャルの差から計算できるが、今回の計算ではさらに体積補正を行い、標準結合自由エネルギーを計算することにした。例として、図 3 に、1D-MSM で 2 つの分子の重心間距離 d の関数として計算した平均力ポテンシャル ($G(d)$) を示す。

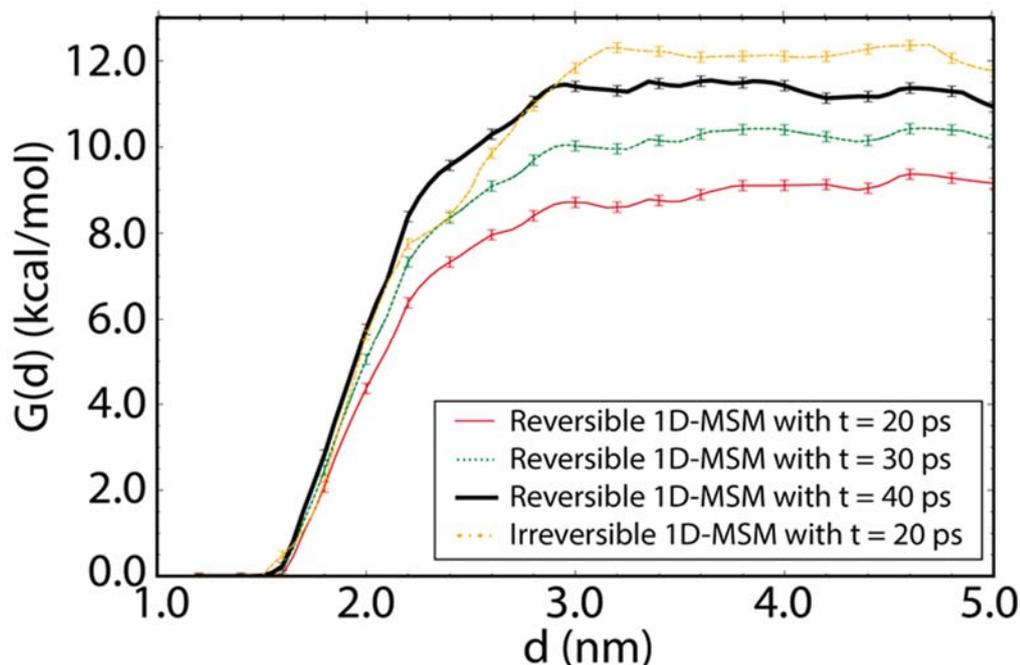


図3 1D-MSM で得られた、平均力ポテンシャル $G(d)$ を 2 つの分子の重心間距離 d の関数としてプロットしたもの。パラメータ (ラグタイム τ) を変えたときに値がどの程度変わるかも示してある。

表1 PaCS-MD/MSM と実験で得られた標準結合自由エネルギー (ΔG°)、解離速度定数 (k_{off})、結合速度定数 (k_{on}) 及びエフェクティブな結合速度定数 ($k_{on,eff}$)。

Method	ΔG° (kcal/mol)	k_{off} (s^{-1})	k_{on} ($10^7 M^{-1} s^{-1}$)	$k_{on,eff}$ ($10^7 M^{-1} s^{-1}$)
1D-MSM	-8.3 ± 0.3			
3D-MSM	-7.9 ± 0.7	3.27	477.93	0.19
C_α -MSM	-8.4 ± 0.7	3.12 ± 1.3	1.43 ± 0.2	
ITC/stopped-flow (残基 15-29)	-9.1 ± 0.1	2.06 ± 0.09	0.92 ± 0.004	
ITC/stopped-flow (残基 17-26)	-9.9 ± 0.1	1.43 ± 0.24	2.2 ± 0.02	
SPR	-8.8 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.21 ± 0.02	
DFS	-8.4 ± 0.5			

また本計算ではサンプル数を十分確保したので、標準結合自由エネルギー (ΔG_o) に加えて、解離速度定数 (k_{off})、結合速度定数 (k_{on}) の計算を行った。 $k_{on,eff}$ は、 ΔG° と k_{off} から計算した結合速度定数である。PaCS-MD/MSM で得られた結果を、等温滴定型熱量測定 (ITC) とストップとフロー、表面プラズモン共鳴 (SPR) 及び動的分子間力分光法 (DFS) で測定された結果と比較して表 1 に示す。これらの結果から、1D-MSM を使えば標準結合自由エネルギーが計算できることがこの複合体でも確かめられただけでなく、3D-MSM を使えばそれに加えて解離速度定数が計算できること、さらに

C α -MSM を使えばそれらに加えて結合速度定数も計算できることを示せた。3D-MSM から計算した k_{on} は、実験値と大きくずれていたが、 ΔG° と k_{off} からこれを概算することが可能である。このように MSM の座標の選び方・解像度を上げることで計算できる量が変わることも注意すべき点である。今回のケースでは、C α -MSM が最適であったが、MSM の座標の選択に関しては今後さらに検討を進めていく予定である。このように PaCS-MD 法で解離シミュレーションを行い、得られたトラジェクトリを MSM によって解析することで、実験値をほぼ再現する精度で標準結合自由エネルギー・解離速度定数・結合速度定数を計算することに成功し、長時間ダイナミクスを再現することができた。このことは、IDP 由来のフレキシブルなペプチドであっても、 ΔG° だけでなく、 k_{off} や k_{on} も PaCS-MD/MSM を用いて計算できることを示したものである。PaCS-MD を実行するのに要した延べの MD 時間は 3.895 μ s と短く、この計算量で現実には ms オーダーの現象を追えることは画期的である。しかも PaCS-MD の各トライアルの実行時間は平均 155/30 ns であった(30 は並列数)。各トライアルは並列に行えるので、PaCS-MD 計算すべてを同時に行える超並列環境があれば、必要な PaCS-MD の実行時間は数時間程度であり高速である。この研究成果は、J. Phys. Chem. B 誌に掲載され、ジャーナルカバーにも選ばれた (D.P. Tran & A. Kitao, J. Phys. Chem. B., 123, 2469-2478, 2019)。

平成 30 年度は、第二に PaCS-MD と MSM を用いてタンパク質-ペプチド系で複合体形成と解離を繰り返し、タンパク質に結合する分子がフレキシブルな場合にも最適な複合体構造の探索を可能にするシミュレーション法の開発も行った。これは昨年度から引き続いて行ったものである。

既に昨年度中に、PaCS-MD を応用することでタンパク質 MDM2 と p53 の N 末端ドメインの結合と解離を繰り返しシミュレーションを行っていたが、その手順は、1) 結合を促進する際には分子間距離がより短くなるように PaCS-MD のサイクルを繰り返す。2) 分子間距離が変化しなくなると今度は分子間距離が長くなるように PaCS-MD のサイクルを繰り返す。3) 十分に分子間距離が大きくなると再び結合を促進するよう 1) に戻る、であった。この操作を多数回行うことで多数の複合体候補構造を生成することが昨年度に確認できており、さらにこれらの候補構造の自由エネルギーを MSM 法で評価することで、結晶で得られている複合体構造に近いモデルを、自由エネルギー最小構造として生成できることを明らかにしていた。しかし、さらに良い結合構造を得るためには、複合体界面にある水分子を脱水和させる必要があるという問題点が残っていた。

そこで平成 30 年度は脱水和を含めたより良い結合モード予測法へと改良を進め、これに成功した。具体的には、PaCS-MD による結合・解離サイクルで多数の複合体モデルを作成し、それぞれのモデル構造から出発して 60ns の MD 計算を行うことで、脱水和と複合体立体構造のさらなる最適化が可能であることを見出した。さらに、PaCS-MD で得られたトラジェクトリと複合体モデルから出発した MD トラジェクトリを統合し、C α -MSM を行った。その結果、標準結合自由エネルギー最小構造として結晶構造に最も近い複合体構造を選び出すことに成功し、さらに実験値をほぼ再現する精度で標準結合自由エネルギー (-8.9 kcal/mol) ・解離速度定数 (1.14 s^{-1}) ・結合速度定数 ($2.5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) を計算することができた。このように、解離状態から出発してドッキングを行い、結合自由エネルギー最小状態として結晶構造に近い複合体構造を選択することができたことは、この方法がフレキシブルドッキングとして利用できることを示している。現在、この研究の論文執筆を進めている。

④ハイブリッド QM/MM 自由エネルギー法（再委託先：国立大学法人京都大学大学院理学研究科化学専攻 林重彦）

本課題では、タンパク質の薬剤分子結合に対して、量子化学的手法を用いたハイブリッド非経験的 QM/MM 自由エネルギー法に基づく高精度な結合エネルギー計算法の開発及び適用を行う。平成 30 年度は、タンパク質の薬剤結合に対する非経験的 QM/MM 自由エネルギー法に基づく高精度な結合エネルギー計算法の開発を行うと共に、量子化学的に扱う QM 領域の構造揺らぎを考慮するために必要な MM/MM 法の開発を行った。

まず、薬剤耐性の分子機構の理解に向けて、薬剤耐性が深刻である HIV プロテアーゼに対して、薬剤分子結合と酵素活性に関する解析手法の開発を行った。HIV プロテアーゼの機能阻害をする薬剤分子は、プロテアーゼ活性の反応遷移状態を模した遷移状態アナログ分子である。酵素は反応遷移状態に特異的に強い結合能を有するため、有用な薬剤分子の基本骨格として、反応遷移状態の分子構造を有する遷移状態アナログ分子が用いられる。図 1 に、HIV プロテアーゼの酵素反応スキームと代表的な薬剤分子である Indinavir の分子構造を示す。ペプチド鎖を加水分解する HIV のプロテアーゼ反応においては、 sp^2 平面構造を有するペプチドのカルボニル炭素原子に水分子が攻撃し、活性中間状態として sp^3 構造を有するジェミナルジオールが生成すると考えられている。Indinavir では、対応する結合部位が、活性中間状態の切断部位を模した sp^3 構造を有する第二級アルコール構造となっている。このような遷移状態アナログ分子結合による機能阻害に対する薬剤耐性の発現には、アミノ酸変異における薬剤分子結合能の低下に加えて、酵素活性の保持も必要な条件となる。従って、それらのアミノ酸変異による薬剤分子結合能と酵素活性の両者を同時に解析することにより、薬剤耐性の分子機構の理解や耐性に強い薬剤設計への指針が得られると期待される。

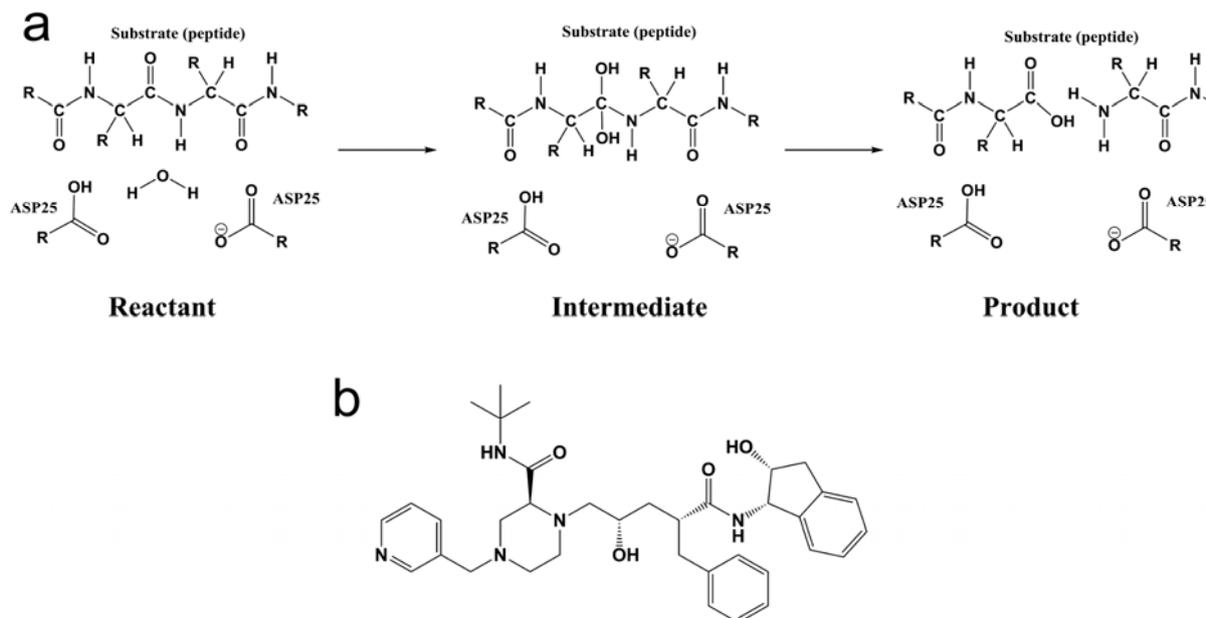


図 1 HIV プロテアーゼの酵素反応スキーム (a) と Indinavir 薬剤分子 (b)

本課題では、まず、HIV プロテアーゼの Indinavir 薬剤分子結合状態に関する研究を行った。HIV プロテアーゼはホモダイマーであり、そのインターフェースにある酵素反応部位に触媒活性に関わる二つのカルボン酸側鎖 (Asp25) が存在する (図 2a)。このカルボン酸側鎖のプロトン化状態は、薬剤結合能に大きく影響を与えると考えられるが、そのプロトン化状態に関する実験的情報は得られていない。そこで、まず、非経験的 QM/MM 自由エネルギー法を用いて、Indinavir 結合状態における触媒活性カルボン酸側鎖のプロトン化状態の解析を行った。これまでの研究で、天然基質分子に対しては、二つの触媒活性カルボン酸側鎖の内の一つがプロトン化していることが明らかになっており、アナログ薬剤分子に関しても同様に一つのカルボン酸側鎖がプロトン化していると考えられる。そこで、二つのカルボン酸側鎖のうちのどちらがプロトン化しているかを同定するために、野生型と薬剤耐性変異の入った HIV プロテアーゼのそれぞれに対して、二つのプロトン化状態の QM/MM RWFE-SCF 法を用いた自由エネルギー構造最適化計算を行い、それらのプロトン化状態間の自由エネルギー差を自由エネルギー摂動法により計算した。

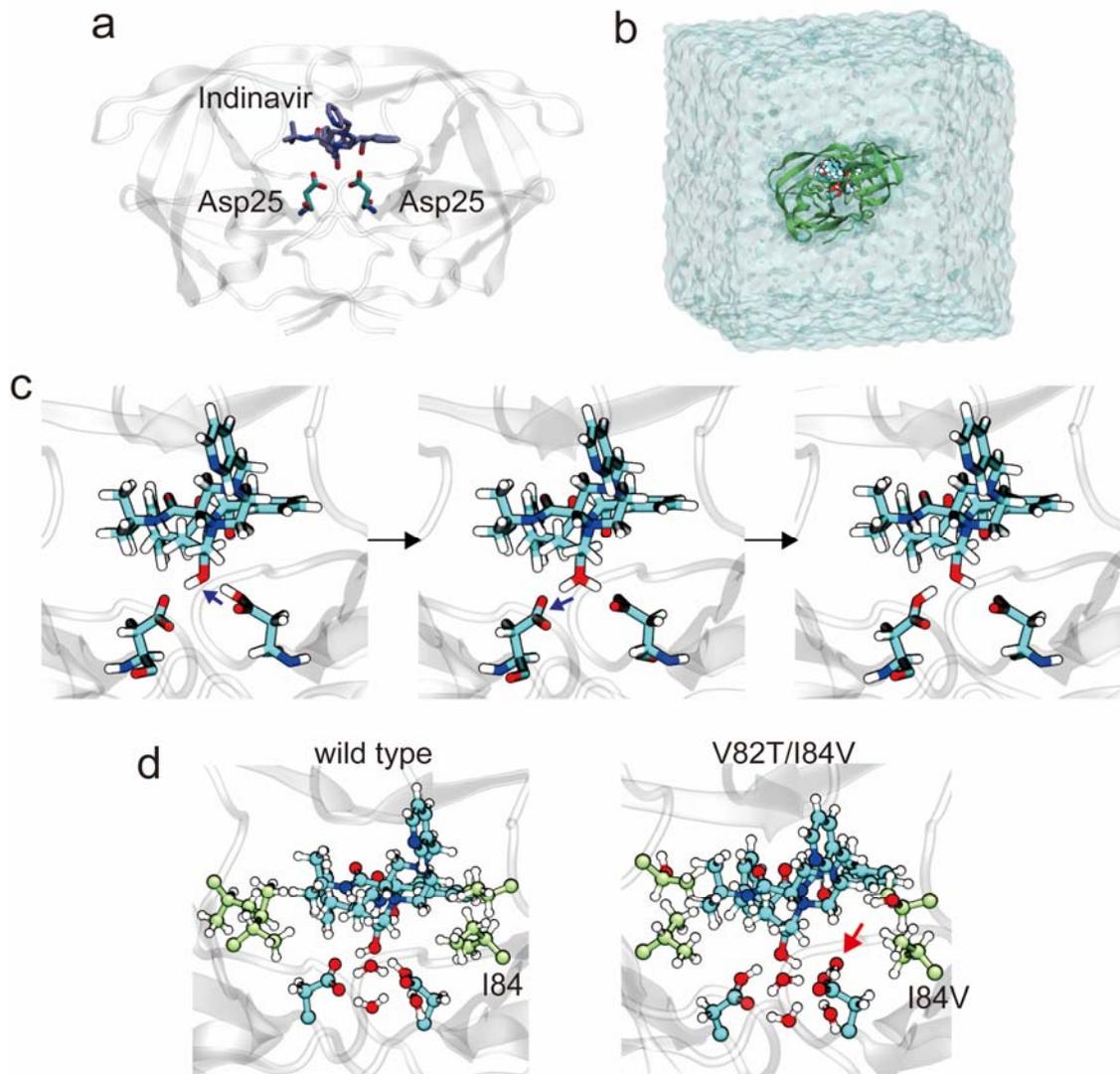


図 2 HIV プロテアーゼの Indinavir 結合状態。a : Indinavir 薬剤分子と触媒活性カルボン酸 (Asp25)。b : シミュレーション系。QM 領域は vdW 表示で描かれている。c : QM/MM 自由エネルギー構造最適化における BH 状態から AH 状態への自発的なプロトン移動。d : 野生型の BH 状態と V82T/I84V 変異体の AH 状態の比較。変異導入により触媒活性カルボン酸に新たに水分子が配位し (赤矢印) pKa が下がる。

本課題で開発を行っている非経験的 QM/MM 自由エネルギー法における自由エネルギー構造最適化手法である QM/MM RWFE-SCF 法では、分子力学 (MM) による古典的力場を用いる分子動力学 (MD) シミュレーションによるタンパク質環境の構造サンプリングと、その構造サンプルにより得られる自由エネルギー曲面上での活性部位の非経験的量子化学 (QM) 法を用いた構造最適化計算の繰り返しにより、自由エネルギー構造最適化が行われる。シミュレーション系は、水環境中に置かれた Indinavir 薬剤分子が結合した HIV プロテアーゼの周期境界条件系であり、約 76,000 原子で構成される (図 2b)。MD シミュレーションは Amber プログラムパッケージを用いて行った。シミュレーシ

オン系の中で、Indinavir 薬剤分子と触媒活性カルボン酸側鎖の計 105 原子を QM 領域として取り扱った。電子状態計算は密度汎関数法 (B3LYP-D3 汎関数) を用いた。基底関数は 6-31G** (Asp のカルボン酸の酸素原子及びそれに結合している炭素原子は 6-31+G**) であり、基底関数数は 1,059 である。QM/MM 構造最適化計算は、独自の QM/MM インターフェースを組み込んだ GAMESS プログラムパッケージを用いた。

まず、野生型タンパク質に対して、二つの触媒活性カルボン酸側鎖のそれぞれどちらかがプロトン化した二つのプロトン化状態 (便宜上 AH と BH と呼ぶ) の自由エネルギー構造最適化計算を行った。昨年度から行ってきた様々な構造探索の結果、AH 型及び BH 型の両者に対して自由エネルギー最適化構造が決定された。構造最適化に要した MD シミュレーション時間は、AH 型で 1,100 ns、BH 型で 1,590 ns であった。次に、その二つのプロトン化状態間の自由エネルギー差を計算するために、Bennett acceptance ratio (BAR) 自由エネルギー摂動法を用いた MD 計算を行った。二つの自由エネルギー最適化構造の QM 構造と電荷を 20 分割点で線形補間し、片道 1 μ s の両方向の自由エネルギー摂動計算を行った。計算は現在進行中であり、両方向にそれぞれ 300 ns の計算が終了した。

さらに、上記の野生型タンパク質の AH 型及び BH 型の自由エネルギー最適化構造から薬剤耐性変異体である V82T/I84V 変異体をモデリングし、それぞれのプロトン化状態に対して QM/MM 自由エネルギー構造最適化計算を行った。その結果、BH 型の初期プロトン化配置から出発した自由エネルギー最適化計算において、プロトンが自発的に他方のカルボン酸側鎖に移動し AH 型のプロトン化状態に変化した (図 2c)。従って、変異体におけるプロトン化状態は AH 型であると決定することに成功した。このような自発的なプロトン移動は通常の古典力場では観測できず、本手法の QM/MM 自由エネルギー計算を用いることにより可能となった。観測された野生型と変異体におけるプロトン化状態の安定性の違いは、変異導入により活性部位にわずかに空隙が生じ、そこに新たに侵入した水分子が片方の触媒カルボン酸側鎖を水和し pKa を下げることに起因している (図 2d)。AH 型のプロトン化状態の自由エネルギー最適化構造は、AH 型を出発構造とした最適化計算と BH 型から AH 型に変化した最適化計算の両方で決定され、ほぼ同じ最適化構造が得られた。それぞれの最適化計算に要した MD シミュレーション時間は、960 ns 及び 3,880 ns であった。さらに、上記の AH 型へのプロトン移動をエネルギー的に裏付けるため、BH 型のプロトン化状態を保持する拘束を加えた自由エネルギー構造最適化計算、及びその BH 状態と AH 型との自由エネルギー計算を行う。現在、自由エネルギー構造最適化計算が進行中であり、これまでに 500 ns の最適化サイクルが進んでいる。

次に、天然基質分子 (KARVLAGAM 配列のペプチド鎖) に対するプロテアーゼ反応の解析を行った。シミュレーション系や計算条件は上記の薬剤分子の計算と同様である。QM 領域として切断部位のアミノ酸 (Leu と Ala) と二つの触媒カルボン酸側鎖、及び加水分解反応に関わる水分子を含む 3 個の水分子の合計 65 原子をとり、基底関数数は 587 である。これまでの計算で、B3LYP-D3 汎関数を用いた反応始状態とジェミナルジオール型の反応活性中間状態の自由エネルギー構造最適化が完了している (図 3a)。そこで、それらの状態間の自由エネルギー差を BAR 自由エネルギー摂動法により計算した。線形補間した 40 点の分割点に対して片道 2 μ s の両方向の自由エネルギー計算を行った (図 3b)。その結果、それぞれの状態の QM エネルギー差とタンパク質環境との相互作用に起因する自由エネルギー差の和で与えられる状態間のエネルギー差は 15.8 kcal/mol となった。実験で得ら

れている反応活性化エネルギーが約 17 kcal/mol であり、活性中間状態の自由エネルギーより数 kcal/mol は大きいと予想されるため、活性中間状態の自由エネルギーは過大評価していると考えられる。そこで、QM エネルギーの汎関数依存性を検討した。孤立系での QM 領域に対して、様々な汎関数を用いた密度汎関数理論法により QM エネルギー差の計算を行うと共に、参照値として高精度の波動関数理論である CCSD(T)法を用いた計算を行い、比較を行った。その結果、通常ではあまり例を見ない 10 kcal/mol を超える非常に顕著な汎関数依存性を見出した。上記の計算で用いた一般的に使用される B3LYP-D3 汎関数による計算では、CCSD(T)計算に比べて 6.6 kcal/mol もの過大評価をしていることがわかった。そこで、CCSD(T)計算に近い値となる M06-2X 汎関数を用いた自由エネルギー構造最適化計算を開始した。

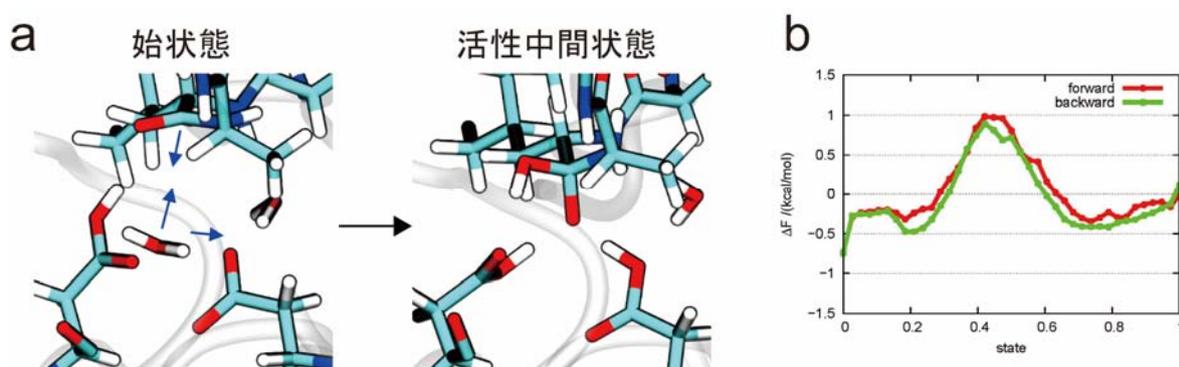


図 3 天然基質分子のプロテアーゼ反応の始状態と活性中間状態の自由エネルギー最適化構造 (a) と BAR 自由エネルギー摂動計算の自由エネルギー変化 (b)。

次に、複雑な電子状態と分子構造を有するリガンド分子を結合する光受容体膜タンパク質であるチャネルロドプシンのキメラタンパク質である C1C2 に対して、QM/MM 自由エネルギー構造最適化計算を用いて、光活性化状態のモデリングを行った。C1C2 は、光遺伝学で用いられる光感受性イオンチャネルであり、リガンド分子であるレチナールプロトン化シッフ塩基 (RPSB) の光異性化反応によりイオンチャネルが開く。RPSB 分子は正電荷の共鳴構造を有するポリエン鎖からなり、その化学的状态や構造は非常に複雑であるため、高精度な MD シミュレーションが困難であった。そこで、本課題で開発している非経験的 QM/MM 自由エネルギー最適化法を用いて、光異性化後のリガンド分子とそれに相関するタンパク質光活性化の構造変化を解析した。

シミュレーション系は、C1C2 の二量体を POPC 脂質の細胞膜と水環境に埋め込んだ周期境界条件の系 (図 4a) で、全原子数は約 194,000 原子である。分子力場はタンパク質に対しては CHARMM27、脂質分子に対しては CHARMM36 を用いた。RPSB 分子を QM 領域に取り、密度汎関数法 (M06-2X 汎関数、6-31G*基底) を用いて計算した。基底関数数は約 500 である。

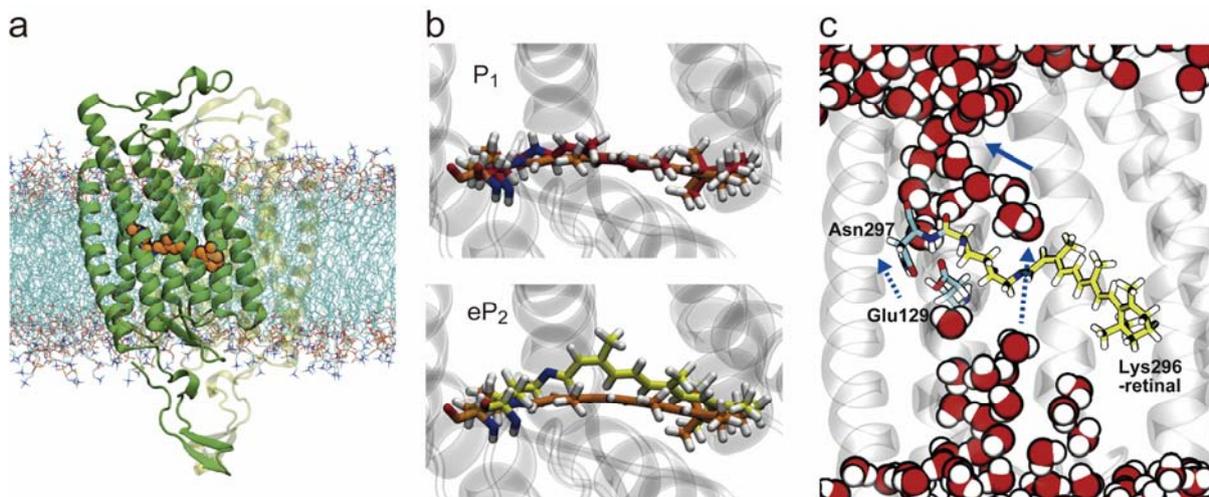


図4 C1C2の光活性化の構造変化。a：シミュレーション系。b：リガンド分子の構造変化。暗状態構造がオレンジ色で描かれている。c：提案された新たなイオンチャネル経路。

光活性化による構造変化を解析するために、暗状態、光異性化反応直後の P_1 状態、さらにその次に現れる RPSB 分子のプロトンが近傍のカルボン酸側鎖に移動した eP_2 状態（発色団は RSB 分子になる）に対して、QM/MM 自由エネルギー構造最適化計算により高精度な構造モデルを得た。自由エネルギー構造最適化計算に要した MD シミュレーション時間は、それぞれ 180 ns、150 ns、及び 126 ns である。図 4b にリガンド分子の自由エネルギー最適化構造を示す。リガンド分子の光異性化直後の P_1 状態では、ポリエン鎖の立体配置がトランス体からシス体が変わるものの、プロトン化シッフ塩基付近が局所的に強く捻じれることにより、結合部位ポケットのなかでリガンド分子の全体の形が大きく変わらないことがわかった。一方、 eP_2 状態では、シッフ塩基付近の局所的な強い捻じれが解消し、その結果、分子全体が大きく横に倒れる構造変化をするを見出した。この変化は、リガンド分子の脱プロトン化により正電荷の共鳴構造が消失し、シッフ塩基付近の捻じれが硬くなったことに起因する。さらに、このリガンド分子の大きな構造変化に相関して、タンパク質の大きな構造変化が誘起され、チャネルを形成すると思われる領域への水分子の侵入を観測した（図 4c）。これにより、これまで未知であったチャネル経路に関しての理論予測を行うことに成功した。このようなリガンド分子の電子状態の大きな変化に起因するリガンド分子とタンパク質の複雑な構造変化は、一般的な分子力場で記述することが非常に困難であり、本課題で開発している非経験的 QM/MM 法で初めて観測することが可能となった。また、この系は膜環境中の膜タンパク質であり、本手法が膜タンパク質にも有用であることが示された。

さらに、光活性化により複雑なリガンド分子とタンパク質のシステイン側鎖が共有結合を形成する LOV ドメインタンパク質に対して、QM/MM 自由エネルギー構造最適化法を用いた研究を行った。このような複雑なリガンド分子とタンパク質が共有結合を形成する系に対しては、精度の良い力場パラメータの決定が困難であり、一般的な分子力場法を用いた MD シミュレーションの実施が困難である。本研究で開発している非経験的 QM/MM 自由エネルギー構造最適化法では、力場パラメー

タの決定をスキップできるため、非常に精度と効率の良い計算が可能となる。本年度は、シミュレーション系を構築し、QM/MM 自由エネルギー構造最適化計算を行い、活性化に重要と考えられている Gln111 の側鎖のフリップや C 末端領域の α ヘリックスの変形など、上記の共有結合形成に伴うタンパク質の大きな構造変化を明らかにした。

また、リガンド分子の構造揺らぎの効果を計算するための MM/MMRWFE 法の開発を進めている。本年度は、QM/MM RWFE-SCF 法の計算コードに基づき、MM-MM 相互作用のルーチン及び MM 構造最適化のルーチンの開発を行った。

⑤粗視化モデリング（再委託先：国立大学法人京都大学大学院理学研究科生物科学専攻 高田彰二、国立大学法人名古屋大学 篠田渉）

平成 30 年度は、大規模なタンパク質・核酸・リン脂質複合系に対して、より高精度な粗視化シミュレーションを実現するための相互作用モデルを開発・改良し、それを適用してクロマチンとタンパク質の競合、生体膜とタンパク質の動態についての計算を実施した。具体的には、ATP 依存リモデラーによるヌクレオソームへの動的作用、転写因子のヌクレオソームへの競合的作用、生体膜への膜タンパク質の挿入とそれによる多成分膜の状態変化等についての、細胞生物学的実証研究を行った。

まず、平成 29 年度から開発してきたタンパク質・DNA の特異的相互作用モデル PWMcos (図 1) のチューニングを継続して実施した。本年度のチューニングによって、新規タンパク質に適用する際のパラメータの微細チューニングのプロトコルが概ね完成した (Tan & Takada, J. Chem. Theor. Comp. 2018)。

また、同じく平成 29 年度から継続して開発してきた生体膜を構成するリン脂質の粗視化分子モデル、リン脂質とタンパク質との相互作用モデルについて、テストシミュレーションを繰り返し実施しながらパラメータチューニングを実施した。ターゲットリン脂質に対して、膜の厚み、膜面のリン脂質密度、脂質の秩序パラメータの 3 物性を同時に満たすパラメータセットを、組み合わせ最適化問題の手法を適用して探索した。この手法によって、様々なターゲットリン脂質の物性を有するパラメータを半自動的に求めることができるようになった。しかし、リン脂質 2 重膜のテスト計算において、周期境界条件を課して長いテストシミュレーションを実施した際、稀に、生体 2 重膜に穴が形成される、という課題を発見した。この問題を解決するために、様々な試行錯誤を続けたが、まだ完全な解決には至っていない。周期境界条件を用いない場合にはこの問題は生じないため、実際的には、リン脂質 2 重膜でできたベシクル系に問題なく適用可能である。

さらに、リン脂質膜への膜タンパク質の挿入とそれによる多成分膜の状態変化の実証研究を実施した。実験的に良く調べられている 1 回膜貫通ヘリックス WALP を用いて、長さの異なる WALP についてその傾き角の検証を行い、実験と誤差範囲で整合性のある傾き角を得ることを確認した。

PWMcos function
For MD w/ genomic DNA sequence

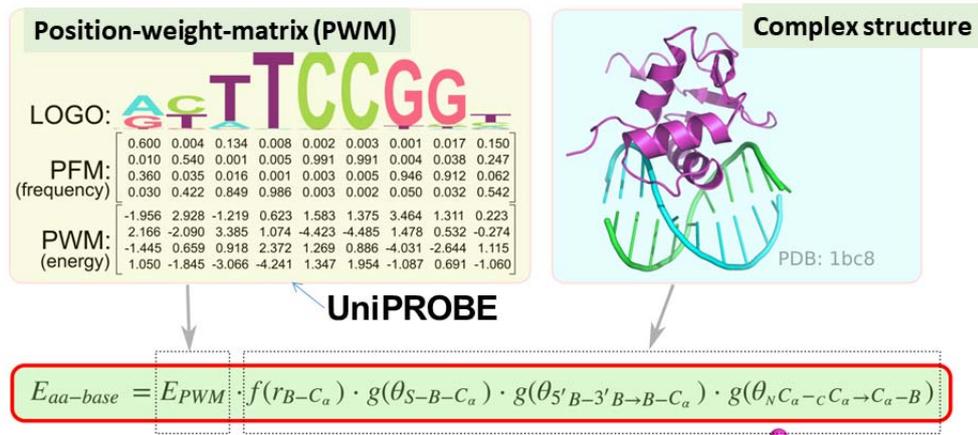


図1 タンパク質・DNA 相互作用モデルのチューニング (Tan & Takada, *JCTC* 2018)

細胞生物学的実証研究として、ATP 依存クロマチンリモデラーによるヌクレオソームスライディング過程のシミュレーションを実施し、リモデラーによるスライディング機構を明らかにした。真核生物の染色体・クロマチンは、ヌクレオソームが数珠状に連なったポリマーであり、ゲノム DNA 上におけるヌクレオソーム形成位置は、ゲノム DNA 配列による静的な効果及びクロマチンリモデラー等による動的な作用によって巧みに制御されていることがわかっている。そこで、クロマチンリモデラーがどのような作用でヌクレオソームをスライディングさせるのか、という問題は現在、極めて盛んに研究されている。特に 2017 年から 2019 年春までに、クライオ電顕によるリモデラーとヌクレオソーム複合体構造が相次いで報告された。本研究では、このクライオ電顕構造に基づいて、粗視化分子モデルを適用してクロマチンリモデラーによるヌクレオソームスライディングを再現し、その詳細な分子機構を研究した (Brandani & Takada, *PLoS Comp. Biol.* 2018)。

まず、Chen らがクライオ電顕により決定したリモデラー Snf2 とヌクレオソームの複合体構造をもとに、ATP 加水分解と共役した Snf2 の尺取虫運動を実現するシミュレーションモデルを構築した(図 2)。Snf2 の 2 つの部位 (ローブ) は、アポ状態では離れており、ATP 結合とともに閉じる。その際、ローブ 1 が DNA 上をすべる。ATP が加水分解して ADP 結合状態になると再び 2 つのローブは開く。ただしこのとき、ローブ 2 と DNA との相互作用が弱いので、ローブ 2 がすべる。これが尺取虫運動の仕組みである。留意すべきこととして、リモデラー Snf2 が DNA 上を移動する尺取虫運動の仕組みは良く理解されているが、ヌクレオソームをスライディングするためには DNA がヒストン 8 量体に対して動く必要があり、その仕組みは未解明である。

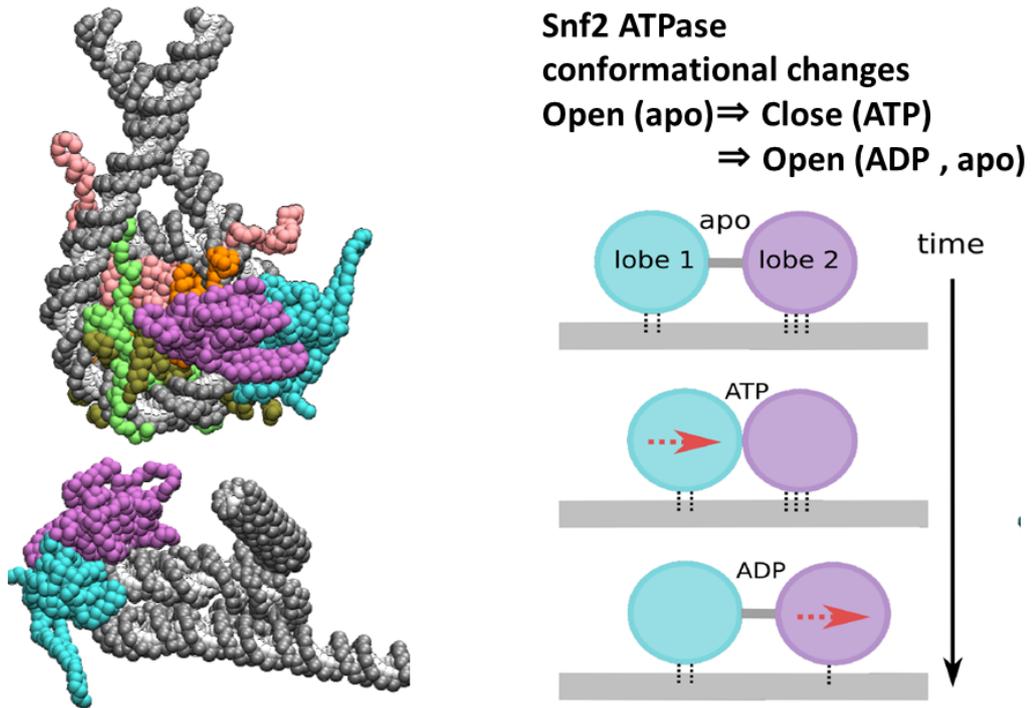
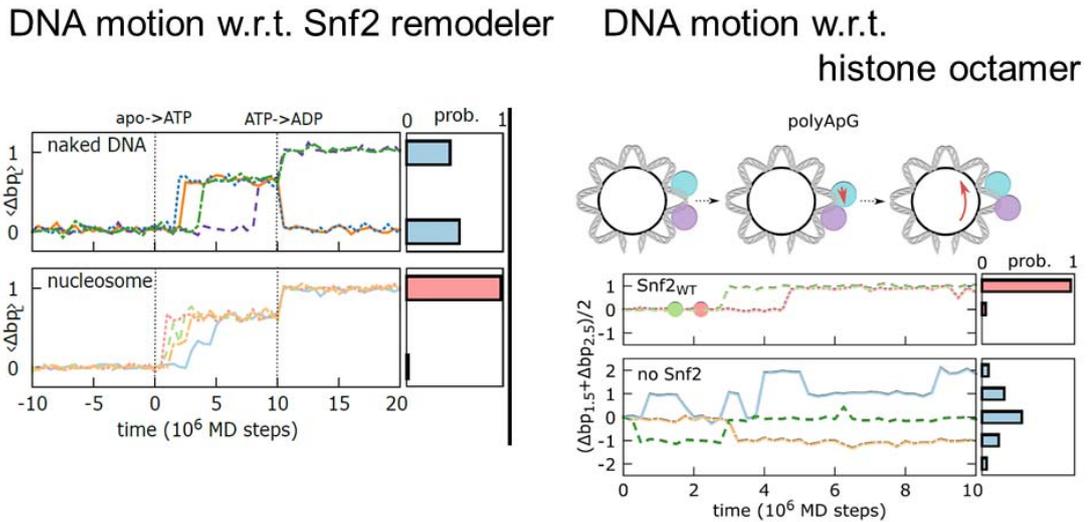


図2 クロマチンリモデラーの構造と尺取虫運動モデル (Brandani & Takada, *PLoS Comp Biol* 2018)

次に、上記のモデル化を行ったリモデラーをヌクレオソーム上に結合させ、ATP加水分解1サイクルのシミュレーションを、100回実施した(図3)。Snf2はDNA上を、高効率で1加水分解当たり1塩基対だけ移動した(図3左下)。この運動と共役して、DNAはヒストン8量体に対して1塩基対だけ移動した(図3右)。1サイクルの後、Snf2は、ヒストン8量体に対して同じ位置に戻っている。すなわち、この過程を通じて、ヌクレオソーム上のDNAだけが1塩基対スライディングし、それ以外は同じ構造状態にもどる過程を実現することに成功した。分子シミュレーションで、クロマチンリモデラーがヌクレオソームをスライディングさせることに成功したのは、本研究が初めてである。



Snf2 ATPase domain on Poly-AG sequence nucleosome
 (Repeat 100 times w/ stochastic forces)

図3 ATP加水分解サイクルの粗視化MDシミュレーション (Brandani & Takada, *PLoS Comp Biol* 2018)

シミュレーションから、クロマチンリモデラーがどのようにヌクレオソームをスライディングさせるのか、その分子機構の詳細を分析することができる。Snf2 リモデラーがアポ状態 (図4一番左の状態) からATP結合した際に、2つのローブが閉じて、ローブ1が過渡的にヒストン8量体に対して回転する (図4左から2番目)。これは、ATP結合Snf2にとって準安定状態であり、その後一定時間を経て、DNAの一部がヒストン8量体に対して移動しDNAに一对のtwist defect (巻き数欠損) を生成する (図4左から3番目)。すなわち、ローブ1の前方ではDNA1巻き当たり11塩基の+型欠損 (茶色)、ローブ1の後方ではDNA1巻き当たり9塩基の-型欠損 (緑色) を生じる。その後、まず後方に生じた-型欠損は、それより後ろのDNAを1塩基分引き込むことにより、解消する。次にそれより遅れて、+型欠損がローブ1前方のDNAを1塩基分押し込むと、この欠損も解消する。全体を通じて、全領域のDNAがリモデラーの前方 (ローブ2からローブ1の方向) に1塩基対スライディングしたことになる。我々の提案したスライディング機構は、その後相次いで発表された実験論文とも (まだ議論は続いているものの) 大筋で整合的であり、確からしいものである。

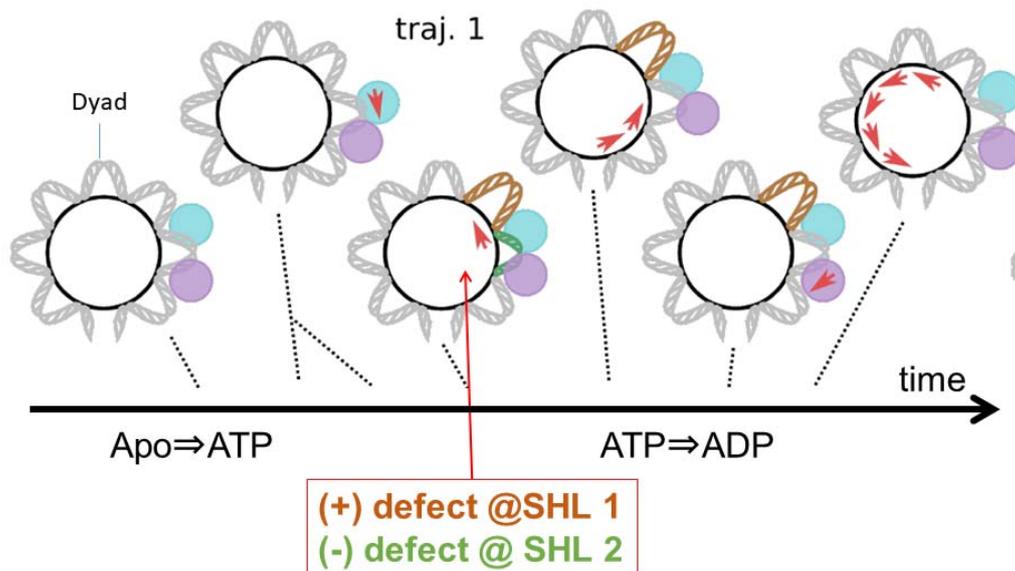


図4 MDシミュレーションにより解明したスライディング機構 (Brandani & Takada, *PLoS Comp Biol* 2018)

2例目の細胞生物学的実証研究として、クロマチンとタンパク質の競合について、転写因子のヌクレオソーム上への結合過程についての粗視化分子シミュレーションを実施し、結合モードを分析した。染色体は、無数のヌクレオソームが数珠状に連なってできている。ヌクレオソーム内のDNAには多くのタンパク質(特に転写因子)がアクセスできないと考えられている。従って不活性なクロマチン状態に相当する。一方、あるクラスの転写因子などのタンパク質は、この不活性なクロマチン状態にもアクセスし、それを活性化する働きを持つことが期待される。ヌクレオソーム混雑化の染色体にアクセスし、より開いたDNA状態を作る効果を持つ転写因子は、パイオニア転写因子とよばれ、その動態に注目が集まっている。例えば、山中因子として有名なOct4及びSox2はパイオニア転写因子の例であり、パイオニア転写因子としての性質を持つことが細胞初期化に必要な可能性がある。

まず、Oct4をヌクレオソーム上に結合させた(図5)。ここでは、安定なことが知られているいわゆる601ヌクレオソームのDNA中にOct4認識配列を挿入したものを用いた。ただし、Oct4認識配列は8塩基対の長さを有し、これはDNA1巻きの10塩基に近いため、不可避免的に認識配列の一部はヌクレオソーム内側を向いている。従ってOct4は、ヌクレオソームを分解することなしに完全に8塩基対を認識することはできない。シミュレーションから、Oct4の多様なヌクレオソーム結合様式が明らかになった。特筆すべきものとして、2つのドメインからなるOct4の半分がヌクレオソーム上の一つのDNAに、もう半分は別のDNAに結合する様式である(図5右下)。また別の特筆すべきものとして、Oct4の半分が4塩基対の認識配列に結合し、残りの半分がヒストン8量体の横面(太鼓の鼓面)にある酸性パッチに結合するというモードである。これらの結合様式は、Oct4が裸のDNA2重らせんに結合する状況では存在しない、ヌクレオソーム特有の結合様式であり、Oct4がそれを利用している可能性を示している。

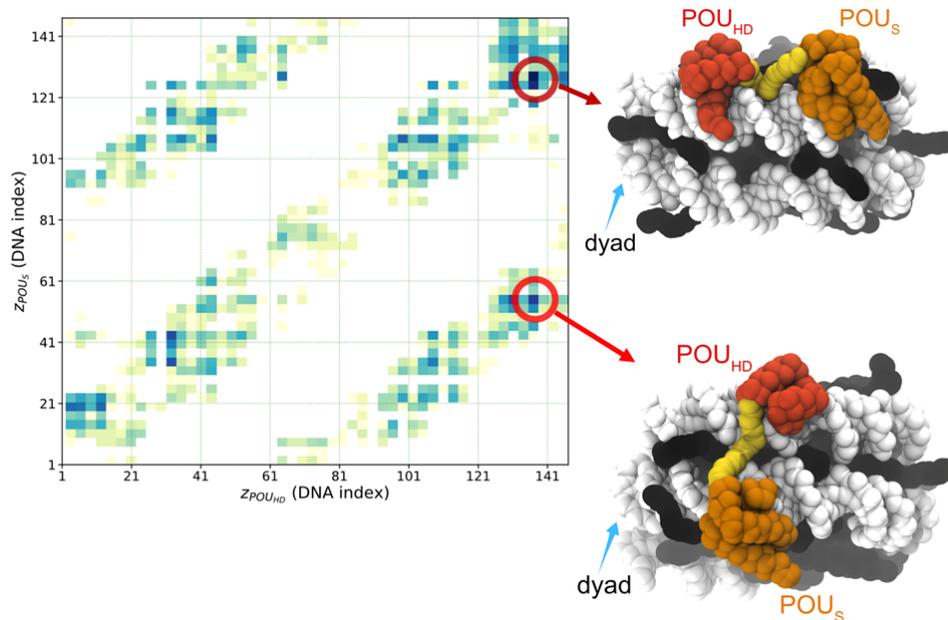


図5 MD シミュレーションによる山中因子 Oct4 のヌクレオソーム結合

次に、もう一つの山中因子 Sox2 のヌクレオソームへの結合を調べた。Sox2 は、主に DNA の 6 塩基対を認識する。安定な 601 ヌクレオソームの様々な位置に Sox2 認識配列を挿入してシミュレーションを繰り返したところ、非常に限定した位置（向き）に Sox2 認識配列を挿入した場合に限り、Sox2 がその認識配列を認識できることがわかった（図 6 左）。Sox2 のヌクレオソーム上への結合は、認識配列の向きに強く依存する。一方、認識できない場合には、Sox2 はヌクレオソームの dyad 領域に結合する性質を持つ（図 6 右）。これは dyad 領域には DNA2 重らせんが 1 本しかないためにアクセスしやすいことによる。601 ほど安定ではないヒトゲノム上のヌクレオソームに Sox2 を加えた場合、ヌクレオソーム DNA の位置は揺らぎ、Sox2 が結合できる DNA 位置になったタイミングで Sox2 が結合し、ヌクレオソームのスライディングを固定することも、計算機の中で観察された。Sox2 の向きは特異的な結合によってヌクレオソームの位置を固定する効果を持つことになる。

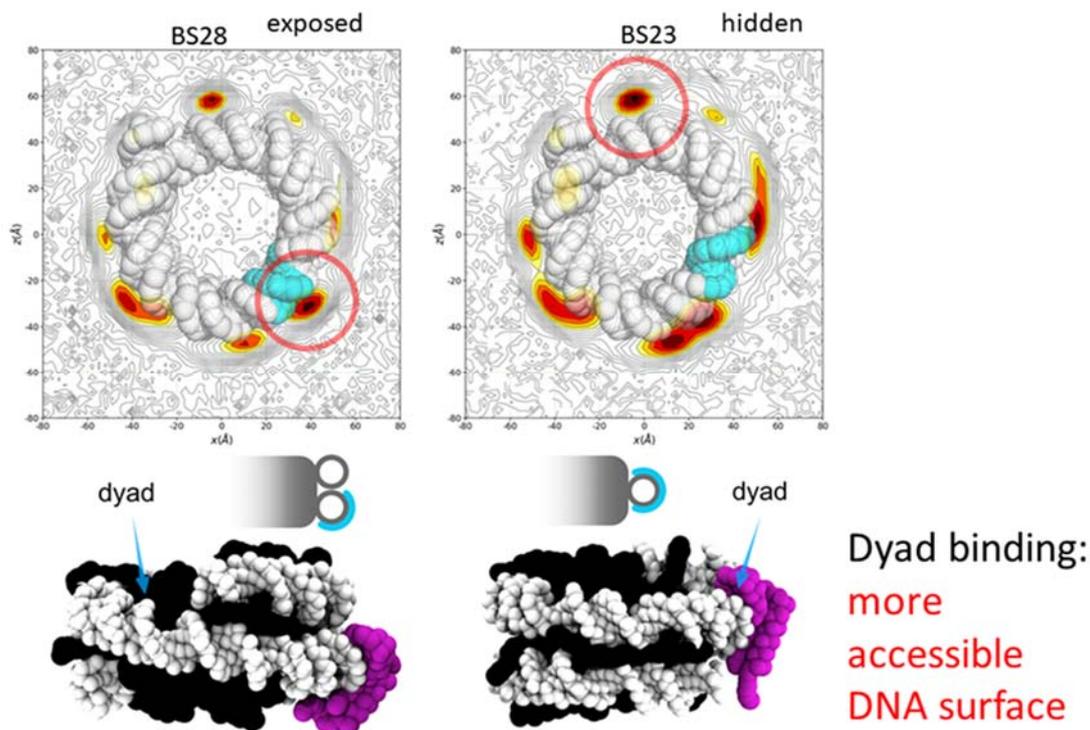


図6 MDシミュレーションによる山中因子 Sox2 のヌクレオソーム結合

⑥自由エネルギー計算法（再委託先：公立大学法人横浜市立大学 池口満徳）

平成30年度は、ポスト「京」で高効率に動作する全原子分子動力学シミュレーション（MD）を活用した、医薬品候補化合物（リガンド）とタンパク質間の高効率・高精度な結合自由エネルギー計算手法の開発を継続して実施した。荷電分子の静電相互作用に関わる有限サイズ効果は、溶媒和自由エネルギー計算の際にも問題となるが、結合自由エネルギー計算における影響を調査した。これまでに提案されている補正法を導入すると、結合自由エネルギー計算でも有限サイズ効果を抑えられることがわかった。しかし、その補正法は、溶媒の種類やイオン等の存在に依存している。従って、高精度な計算を行うには、補正法を必要としない計算手法の開発が必要であることがわかった。そこで、新規計算手法‘ワープドライブ法’（浴本亨、山根努、池口満徳、*J. Chem. Theory Comput.*, **14**, 6544-6559 (2018)）を提案し、有限サイズ効果の検証を行った。ワープドライブ法の結果は、全く補正をしていないにも関わらず、典型的な手法に補正を加えた値とほぼ一致することがわかった。

全原子 MD を使った結合自由エネルギー計算では、アルケミカル法が良く用いられる。アルケミカル法では、タンパク質・リガンド複合体系、及び、単体リガンド系の、2つの系を摂動計算に利用する。静電相互作用に関わる結合自由エネルギーに注目すると、タンパク質・リガンド複合体系でリガンドの電荷を段階的に消していく摂動計算（図1(A)）と、単体リガンド系でリガンドの電荷を段階的に消していく摂動計算（図1(B)）から得られる自由エネルギー差で計算される。その、2つの摂動計算過程は、静電溶媒和自由エネルギーの寄与を計算する過程と同じであり、有限サイズ効果が問題となる典型的な計算過程である。

有限サイズ効果とは、周期境界条件下の MD を使った静電溶媒和自由エネルギーが、MD のセルサイズに依存して変化してしまうアーティファクトである。溶媒和自由エネルギー計算で用いられる熱力学サイクル (図 1(C)) を示す。真空中から溶媒分子中へ、溶質分子を移動させる際の過程を示している。セルサイズ無限系の静電溶媒和自由エネルギー (図 1(C)左側) がセルサイズに依存しない理想値であり、周期境界条件を課した有限セルサイズでの静電溶媒和自由エネルギー (図 1(C)右側) がセルサイズに依存する計算値に対応する。セルサイズを大きくしていくと、計算値は極限值へ近づく。

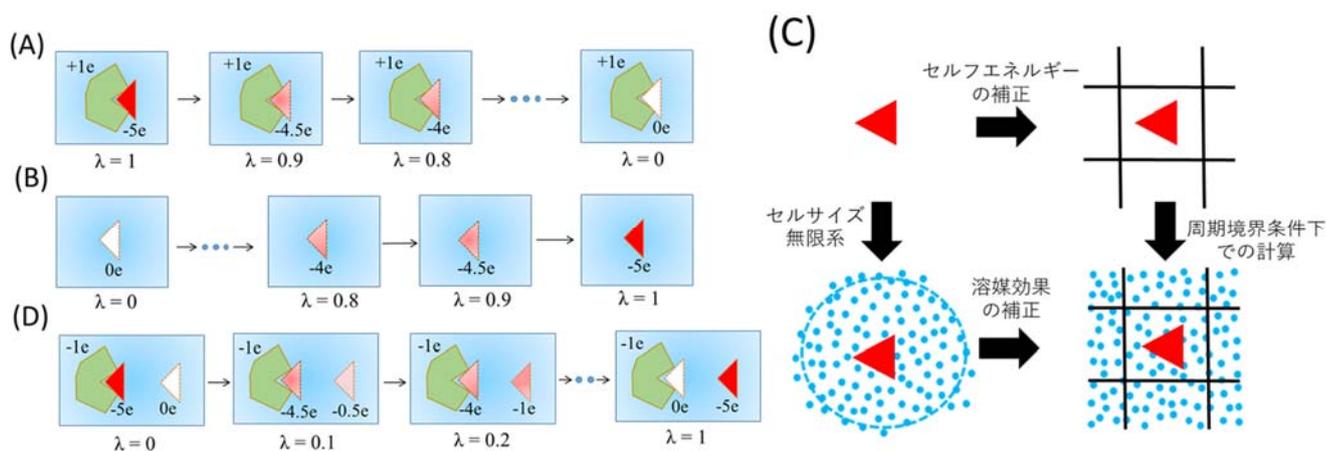


図 1 アルケミカル法の摂動計算、熱力学サイクル、ワープドライブ法の摂動計算

アルケミカル法を用いて、静電自由エネルギーにおける有限サイズ効果の程度を見積もった。対象は、SH2 タンパク質 (+1e) と pYEEL リガンド (-5e) を用い、セルサイズを系統的に変化させて摂動計算を行った。典型的なセルサイズとして、複合体を 10 Å の水の層で囲んだ系を使い、最も大きいセルサイズとして、セルの一辺が 100 Å を超える系を作成した。静電相互作用の寄与のみ厳密に検討するため、タンパク質とリガンドの構造は固定し、静電自由エネルギーは熱力学積分法により求めた。中間状態を導入し、リガンドの電荷をカップリングパラメータで線形にスケールした。各中間状態における、溶質-溶媒間静電相互作用のセルサイズ依存性を示す (図 2(A),(B))。複合体系、及び、単体リガンド系において、セルサイズによって静電相互作用エネルギーの値に差が出ていることがわかった。静電相互作用エネルギーをカップリングパラメータで積分した静電自由エネルギーも、セルサイズに依存することがわかった (図 2(C),(D))。補正をしない場合、静電自由エネルギーは、複合体溶液系、及び、リガンド溶液系で、それぞれ、約 90 kcal/mol、約 180 kcal/mol の違いがセルサイズに依存して生じることがわかった。この結果は、典型的なセルサイズで計算した静電結合自由エネルギー (複合体系での計算値とリガンド溶液系計算値の差) が、セルサイズの違いで値が大きく変化してしまうことを意味する。有限サイズ効果の起源は、総電荷の異なる各中間状態での静電相互作用エネルギーのセルサイズ依存性にあることもわかった。

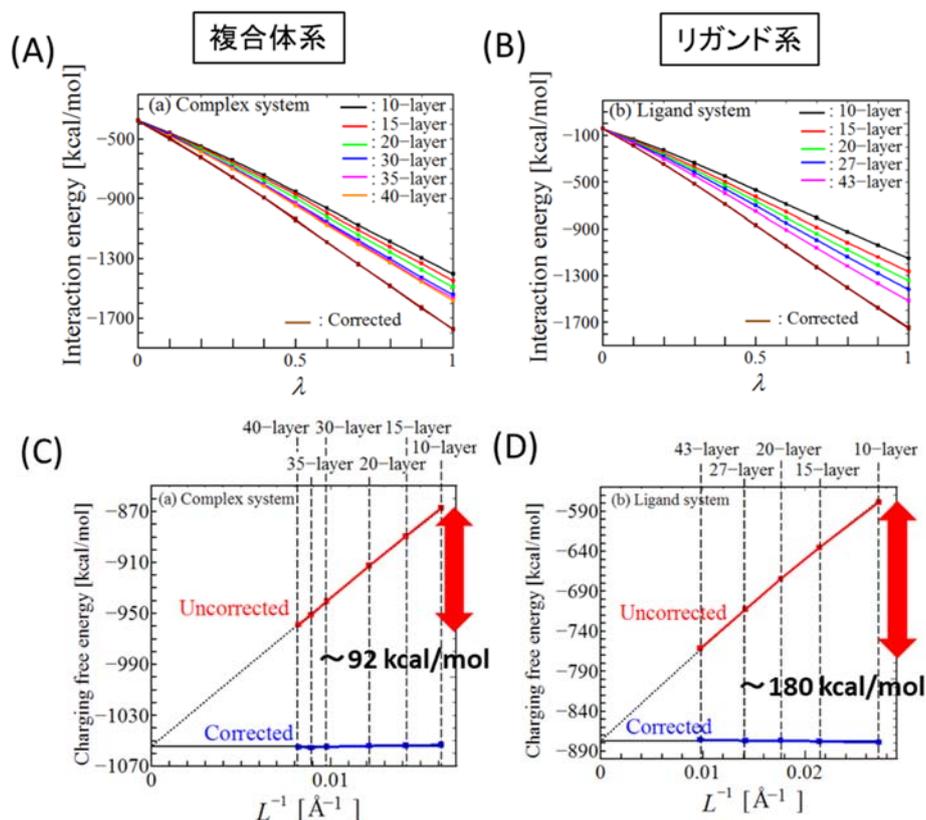


図2 アルケミカル法における静電相互作用エネルギーと静電自由エネルギー

有限サイズ効果の補正法が、アルケミカル法でも有効か調べた。Hummer ら、Rocklin らによって、有限サイズ効果の原因とその補正法が議論されている。有限サイズ効果には 4 つの物理的原因がある。1 つは、周期境界が誘起する、溶質分子とイメージ分子間の相互作用である (原因 1)。原因 1 は、溶質分子とイメージ分子間の相互作用 (セルフエネルギー、図 1(C) 上側の矢印) で補正できる。2 つめは、周期境界が誘起する不十分な溶媒和である (原因 2)。溶質分子と相互作用する溶媒分子の応答が、周期境界で制限されるために起こる。原因 2 は、セルサイズ無限系と周期境界条件を課した有限系の溶液系を用意し、溶媒効果の差を見積もることができれば補正できる (図 1(C) 下側の矢印)。しかし、セルサイズ無限系の溶液系を用意するのは、現実的に困難であるため、溶媒分子を連続誘電体モデル (陰溶媒) へ近似し、セルサイズ無限系と有限系の差が計算される。陰溶媒系では、全原子モデルにおける、溶媒分子の回転のような分子の特徴を表現できないため、陰溶媒への近似が離散化溶媒分子の効果を生じさせる (原因 3)。原因 3 は、溶媒分子モデルの四極子モーメントと、溶媒分子の平衡密度によって見積もられる。原因 3 の補正は discrete solvent correction (DSC) と呼ばれる。原因 4 として、溶質分子内の電荷分布の影響が知られている。本調査では、溶媒効果の補正 (原因 2) を、電荷分布のある系で行ったため、原因 4 の補正は考慮しない。複合体系、及び、単体リガンド系の静電自由エネルギーへ、原因 1-3 の補正を行った (図 3)。3 つの補正を行うと、セルサイズ依存性が、複合体系で 2 kcal/mol、単体リガンド系で 1 kcal/mol まで補正されることがわかった。しかし、典型的なセルサイズ (図 3, 10-layer) では、補正法の性能が悪いことがわかった。また、溶媒効果の補正と DSC は溶媒の種類やイオンの存在に依存するため、扱う系によって、それぞれの補正值

を計算する必要がある。高精度・高効率な結合自由エネルギー計算手法を開発するには、原理的にセルサイズ依存性が生じない計算手法が必要であることがわかった。

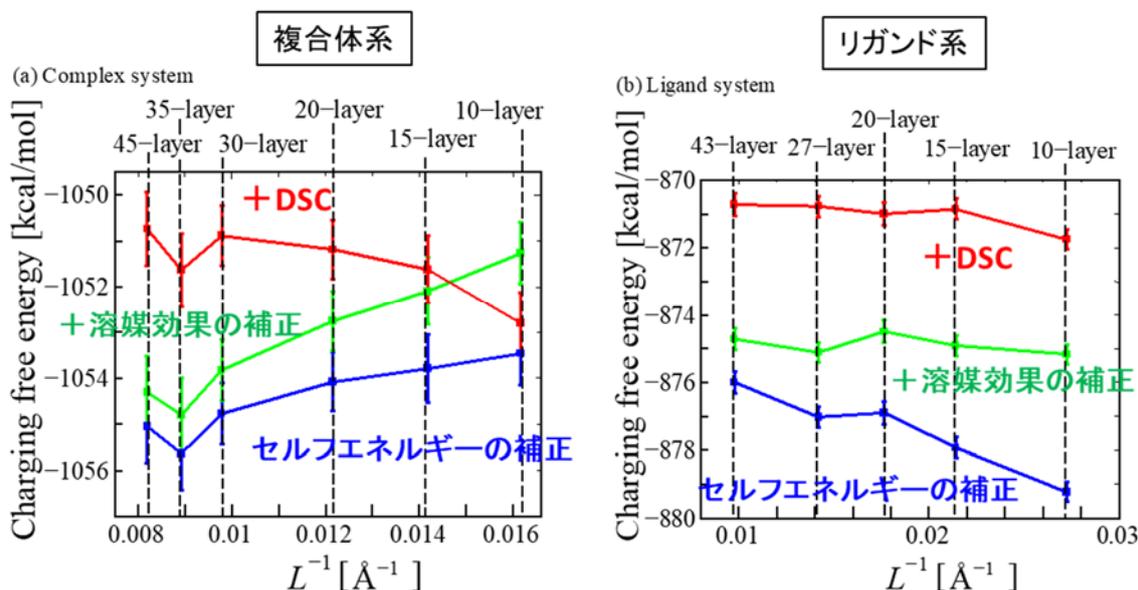


図3 有限サイズ効果の補正をした静電自由エネルギー (DSCの計算値は85 kcal/molのオフセットを含む)

そこで、補正を必要としないワーブドライブ法を開発した。既存アルケミカル法の検証により、有限サイズ効果は、摂動計算中に、中間状態で系の総電荷が変化するために生じることがわかった。既存アルケミカル法では、リガンドの消滅/生成を別々の独立した系で扱うため、総電荷の変化が起こる。そこで、ワーブドライブ法では、1つのMDセル中に、リガンドタンパク質複合体とバルク水中に非結合リガンドを配置した共存系を用いる。リガンド電荷の消滅/生成を同時に行えば、中間状態でも、総電荷が不変であるため、有限サイズ効果が生じないと期待される。既存アルケミカル法で用いたSH2-リガンド系を用い、共存系での摂動計算を行った。中間状態では、複合体中のリガンドの電荷が消滅すると、消滅した分だけ、非結合リガンドの電荷として生成させた(図1(D))。複合体と非結合リガンドは十分に離して(30 \AA)配置した。セルサイズを系統的に変化させ、ワーブドライブ法における、静電自由エネルギーの有限サイズ効果を検証した。

本方法で計算されたタンパク質とリガンド間の結合自由エネルギーは静電相互作用エネルギーに起因する項のみであり、その値は上記のように-180 kcal/mol程度と、対応する実験値-7.1 kcal/molと比較すると、かなりの過剰な値である。これは、タンパク質やリガンドの構造揺らぎや並進回転のエントロピー、ファンデルワールス相互作用に関する項等がまだ入っていないためであると考えられる。それらを考慮した予備的な計算によると、結合自由エネルギーの計算値は-20 kcal/mol程度まで接近した。今後、それぞれの項の計算の精度を上昇させることでさらに実験値に近づくことが期待される。

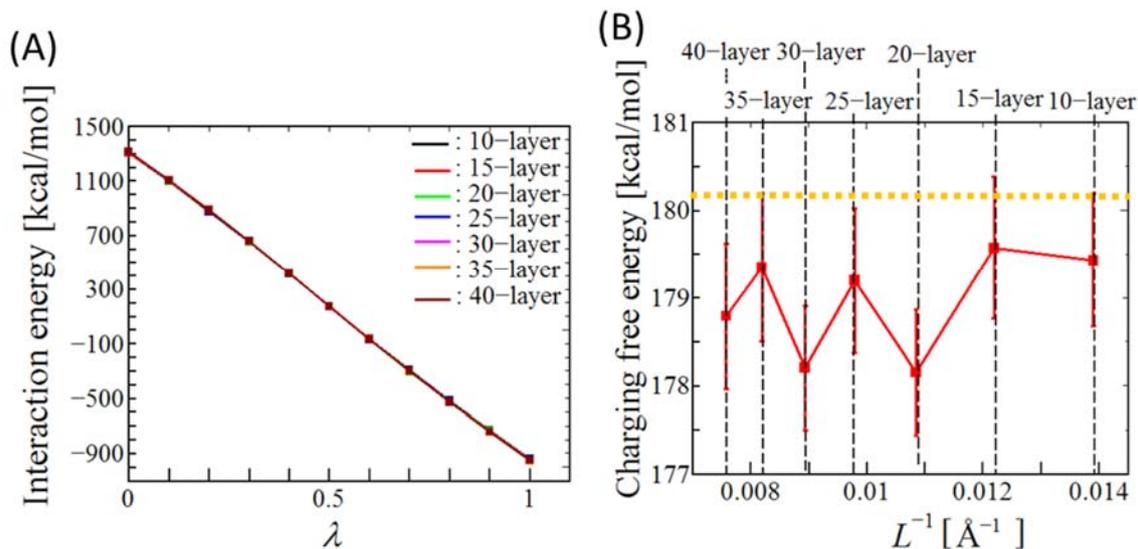


図4 ワープドライブ法における、静電相互作用エネルギーと静電結合自由エネルギー

ワープドライブ法で求めた静電自由エネルギーは有限サイズ効果を示さなかった。中間状態における静電相互作用エネルギーにセルサイズ依存性がなく (図 4(A))、その積分値である静電結合自由エネルギーにおいても、各セルサイズでの値が誤差の範囲で一致していた (図 4(B))。

ワープドライブ法と既存アルケミカル法での静電結合自由エネルギーを比較した。既存アルケミカル法では、複合体系と単体リガンド系の静電自由エネルギーの差で、静電結合自由エネルギーが計算される。典型的なセルサイズ付近では、補正を行った値でも、有限サイズ効果が疑われたため、大きなセルサイズでの値を平均して求めた。一方で、ワープドライブ法の値は、補正せず、各セルサイズの値を平均して求めた。ワープドライブ法での値 (-179.0 ± 0.3 kcal/mol) は、既存アルケミカル法での値 (-180.1 ± 0.4 kcal/mol) と極めて近いことがわかった。さらに、ワープドライブ法の典型的なセルサイズでの値 (-179.4 ± 0.8 kcal/mol) は、既存アルケミカル法の値に近いことがわかった。これらの結果より、ワープドライブ法では、補正法なしで、かつ、典型的なセルサイズでも有限サイズ効果の影響がない静電結合自由エネルギーが得られることがわかった。

(2) 次世代創薬計算技術の開発 (サブ課題 B)

①動的分子機能制御 (再委託先：公立大学法人横浜市立大学 池口満徳)

本課題は、ポスト「京」で高効率に動作する全原子分子動力学シミュレーション (MD) を活用し、タンパク質の機能発現に重要な構造変化や動的性質の理解から、その動的機能制御を目指すものである。平成 30 年度は、リガンド結合に際して立体構造変化が機能に重要な役割を果たす、創薬標的タンパク質ビタミン D 受容体の動的機能解析を継続して実施した。結合するリガンドの種類 (アゴニスト/アンタゴニスト) によって誘起される構造変化の違いを解析した。通常の MD では、その 2 つのリガンド結合構造の差が区別できない問題が明らかになったため、サブ課題 A の杉田グループで開発された、拡張アンサンブルである gREST 法を適用した。さらに、中分子として注目されている環状ペプチド医薬品であるシクロスポリン A の動的分子機能を研究した。シクロスポリン A では主鎖に化学修飾が入っているため、通常のタンパク質用の分子力場が利用できない。そこで、量子化

学計算を用いて、シクロスポリン A 用の新規分子力場パラメータを開発した。そして、gREST 法を適用したところ、シクロスポリン A の膜透過に重要と思われる構造変化を観察することができた。

ビタミン D 受容体は、核内受容体スーパーファミリーに属しており、リガンド依存的に特定の遺伝子発現を制御する転写因子である。核内受容体の機能発現メカニズムは、結晶構造解析や種々の実験によって以下のように想定されている。リガンド結合前の不活性型（アポ体）では、リガンド結合ドメイン（LBD）のヘリックス 12（H12）がフレキシブルに揺らいだ構造をとる。LBD へアゴニストが結合すると、H12 周囲の構造変化が起こり、AF-2 表面と呼ばれる特定のコンフォメーションをもった活性型となる。次に、パートナー分子と二量体化し、標的遺伝子への結合や、補助因子であるコアクチベーターのリクルートが起こり、標的遺伝子の発現を制御する。一方で、LBD にアンタゴニストが結合した場合、H12 の配置が活性型と異なり、AF-2 表面が形成できなくなる。そのため、コアクチベーターがリクルートできず、機能が発現できない。ビタミン D 受容体リガンド結合ドメイン（VDR）の結晶構造では、アゴニスト/アンタゴニストに関わらず、活性型の構造しか解かれておらず、アンタゴニスト活性を説明できる構造モデルがなかった（図 1）。

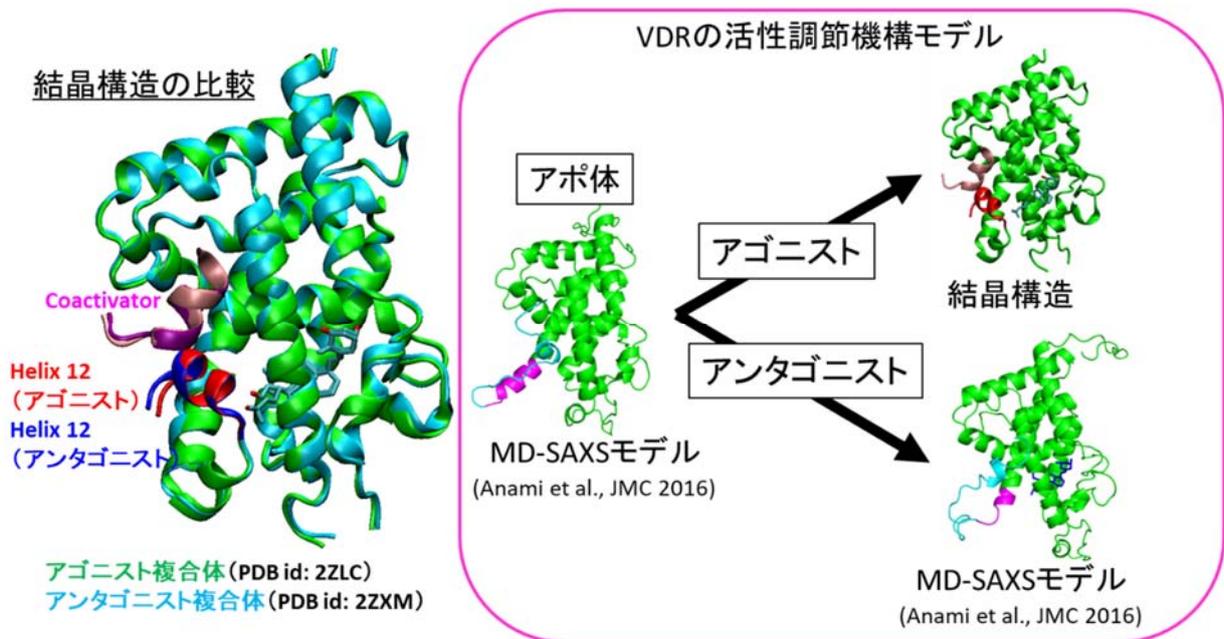


図 1 VDR の結晶構造と、活性調節機構のモデル

平成 29 年度までに、X 線小角散乱実験（SAXS）と分子動力学シミュレーション（MD）を組み合わせた MD-SAXS 解析、及び、マルコフ状態遷移モデル（MSM）を組み合わせた MSM-SAXS 解析を実施し、アンタゴニストが結合した VDR の溶液構造解析を行ってきた。その結果、実験 SAXS 結果と一致した、アンタゴニスト活性を説明できる溶液構造モデルの探索に成功した（図 1）。しかし、通常 MD（100 ns）による溶液構造探索では、計算時間の問題で、H12 付近のコンフォメーションの自発的な構造変化はシミュレーションすることができなかったため、H12 がほどけた構造をモデリングによって作成し、MD の初期構造として採用してきた。本年度は、高効率なサンプリング手法である gREST 法を用い、リガンド結合によって誘起される構造変化が自発的に起こるか検証した。リ

リガンド結合によって誘起される自発的な構造変化がシミュレーションできれば、リガンドとタンパク質間の構造活性相関の知見が得られる。弱いアゴニストの開発等、動的機能制御に基づき、狙った活性を持つリガンドの開発に役立つと期待される。

アゴニスト/アンタゴニストが結合した活性型の構造を初期構造とし、通常 MD と gREST 法によって溶液構造のサンプリングを実施した。通常 MD は 1 μ s ほど行ったが、アンタゴニスト結合構造は、アゴニスト結合構造と本質的に一致しており、両者の差がなかった。gREST 法の実施では、シミュレーションの条件検討を最初に行った。Solute tempering の領域として、MD/MSM-SAXS 解析から構造変化に重要とわかった領域と、機能発現に重要な H12 を選択した。スケールするポテンシャルとして、(二面角、CMAP、Lennard-Jones) の組み合わせと、(二面角、CMAP、Lennard-Jones、クーロン) の組み合わせを試した。温度レプリカの数を決めるため、複数温度で通常 MD を行い、solute tempering 領域の構造に変化が起こるかを確認した。構造変化が十分に起こる温度から、300 K までの間の温度を 4 つ設定し、計 6 レプリカを採用した。スケールするポテンシャルをクーロン有り/無しの条件を設定し、それぞれ、gREST 法を 500 ns 実施した。レプリカ間の交換率を解析したところ、クーロン有りの場合はシミュレーションが進むにつれて交換が生じなくなることがわかった。クーロン無しの場合は、良好な交換が観測されたため、1 μ s まで実施した。

gREST 法でサンプリングした溶液構造では、アゴニスト/アンタゴニスト結合構造に顕著な差が見られた。サンプリングされた 300 K における構造群を解析すると、アンタゴニスト結合時の代表構造は H12 の位置が活性型から異なり、かつ、H11-H12 ループや H10/11 の構造がほどけた構造であった。一方で、アゴニスト結合時では、H12 が活性型の位置にある構造が代表的であった。上記の結果は、gREST 法によるサンプリングによって、リガンドの種類に応じて誘起される構造変化が異なることを示している。また、その代表的な構造は、アゴニスト結合時では活性型と本質的に一致しており、対照的に、アンタゴニスト結合時では活性型とは異なる構造であった。これらの構造モデルは、リガンドの種類で期待される活性を合理的に説明できるため、種類の異なるリガンド結合によって誘起されるタンパク質の構造変化の違いが、gREST 法による高効率なサンプリングによって得られることがわかった。

アゴニスト/アンタゴニスト結合構造の代表的な構造群を用い、H12 付近の相互作用様式を解析した。アゴニスト結合時、リガンドと H12 付近に疎水コアが形成されており、H12 の位置を安定化していることがわかった。一方で、アンタゴニストの場合、H12 近くのリガンドの構造が異なるため、リガンドと H12 間の疎水性相互作用が弱くなり、疎水コアが形成されていなかった。その結果、H10/11 のキックの消滅、及び、H11-H12 構造の不規則化が起こり、H12 の位置が変化していた。また、アンタゴニスト結合構造の構造的な特徴は、MD/MSM-SAXS 解析で明らかにした構造モデルの特徴と一致していた。

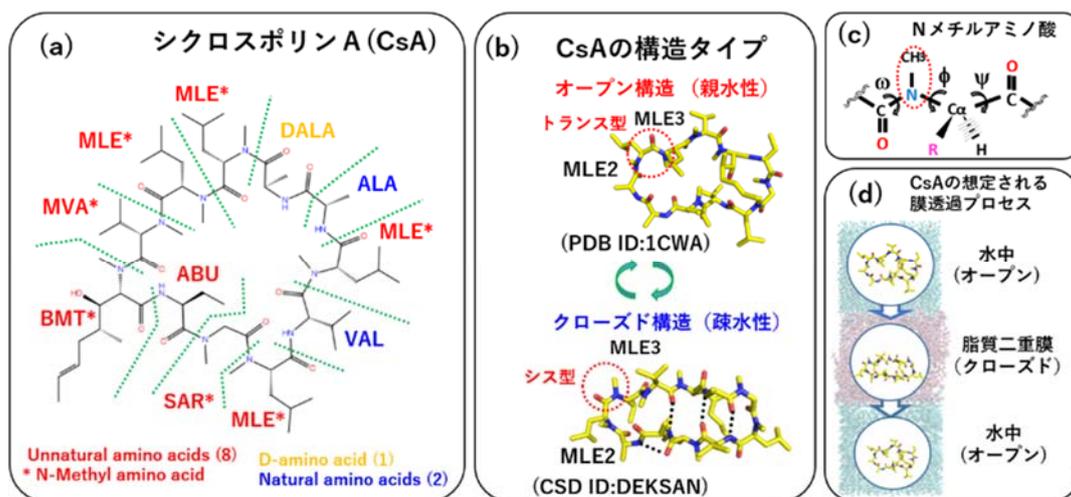


図2 シクロスポリン A (CsA) の構造及び想定されている膜透過プロセス

シクロスポリン A (CsA) も、動的構造がその機能に重要な役割を果たしている分子である。CsA の構造及び想定される膜透過のメカニズムについて図2に示す。CsA は、*Tolypocladium inflatum* 由来の抗生物質で、免疫抑制剤として、上市されている経口薬である。中分子医薬品として知られており、高い膜透過性と、タンパク質-タンパク質相互作用のような浅く広い結合面を阻害できるといった特徴を持っている。CsA は 11 残基からなる環状ペプチド化合物である。11 残基中 8 残基は、非天然アミノ酸であり、その内 7 残基は、天然由来の環状ペプチドに多く存在する N メチルアミノ酸である。CsA の構造は、クロロホルム中で得られた結晶構造 (クローズド構造) と、シクロフィリンタンパク質との複合体構造 (オープン構造) の 2 つの異なるコンフォメーションが知られている。それぞれ、疎水及び親水環境でのコンフォメーションであると考えられており、CsA の膜透過は、水中と膜中でコンフォメーションを変化させながら達成されると想定されている (図 2(b))。オープン/クローズド構造の大きな違いの一つは、2 つの N メチルロイシン (MLE) の間のペプチド結合部位の主鎖二面角 (ω) である。オープン構造ではトランス ($\omega=180^\circ$) であるのに対し、クローズド構造ではシス ($\omega=0^\circ$) である。MLE のような N メチルアミノ酸は主鎖のアミド基の水素がメチル基に置き換わった構造であり (図 2(c))、この違いが、上述の主鎖二面角 ω が 2 つの状態をとることができる構造的要因であると考えられている。このように、溶媒環境の違いから生じるコンフォメーション変化を通して、CsA が高い膜透過性を実現していると考えられている (図 2(d)) が、詳細なメカニズムはいまだに明らかとなっていない。

CsA の膜透過メカニズムを全原子レベルで明らかにするため、膜水系の MD による解析を行った。CsA は非天然の N メチルアミノ酸を持つため、通常のタンパク質用の力場が利用できない。膜系の MD では、全原子力場として定評のある CHARMM 力場を採用したいため、CsA の CHARMM 力場の決定を行った。CHARMM 力場は、3 つの項から成る。結合長・結合角・二面角の共有結合に関わる項、Lennard-Jones ポテンシャル・クーロンポテンシャルの非共有結合に関わる項、そして、主鎖二面角に関わる量子化学計算からの補正項である。補正項は、CMAP 項と呼ばれる。CMAP 項により、CMAP 以外の項で決定される主鎖の ϕ 、 ϕ 空間のエネルギー地形を、精密な量子化学計算により得られた値へ補正される。CMAP 項の決定には、厳密な量子化学計算によって、 ϕ 、 ϕ 空間のエネルギー

一地形を前もって求める必要がある。求めた厳密なエネルギー地形と、CMAP 項以外のポテンシャルから求めたエネルギー地形の差分を求め、その差分を CMAP 項として定義する (図 3)。すなわち、CMAP 項込みのポテンシャル中では、量子化学計算で求めた厳密な主鎖二面角のエネルギー地形が再現される。CsA の CHARMM 力場を作成するには、N メチルアミノ酸の CMAP 項を厳密に求める必要がある。CMAP 項の厳密な力場を利用することで、より精密なエネルギー地形の下で、MD を実施することができる。

N メチルアミノ酸の CMAP 項の決定については、N メチルアラニンと N メチルグリシンのジペプチドモデルを用い、量子化学計算プログラム Gaussian09 により 15° 刻みで主鎖二面角 ϕ 、 ψ の値を変化させた全 576 構造を生成し、その各点について、MP2/aug-cc-pVDZ で構造最適化を行った。その後、得られた各構造について、量子化学計算プログラム QCHEM を用いて、計算精度の異なる、2 つの基底での量子化学計算 (RIMP2/cc-pVTZ, RIMP2/cc-pVQZ) を行い、これらの結果をもとに、より高精度な値 (Complete Basis Set, CBS) でのエネルギー地形を求め、これに基づいて N メチルアミノ酸の CMAP を算出した。

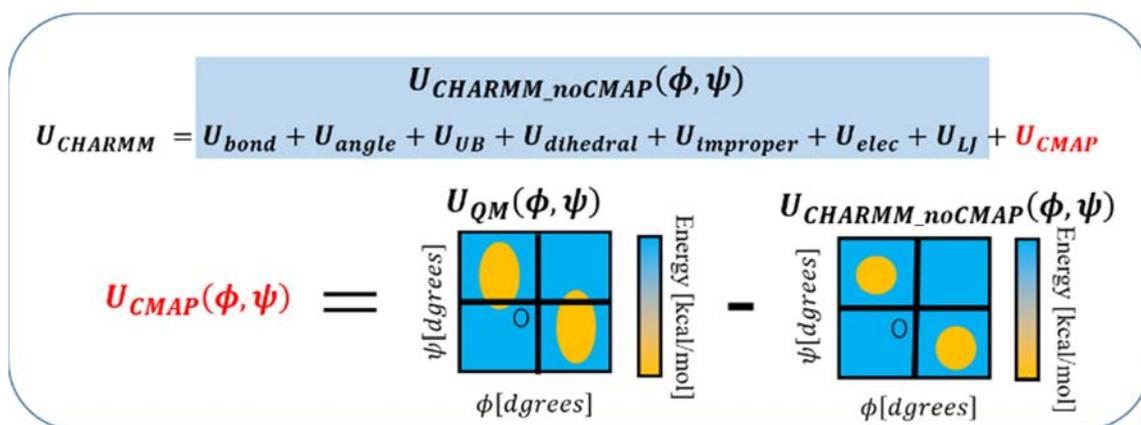


図 3 CHARMM 力場 (CMAP の定義)

量子化学計算から求めたエネルギー地形を解析した結果、N メチルアミノ酸のエネルギー地形は、天然のアミノ酸と大きく異なることがわかった。この差異は、アミノ基の水素がメチル基に置き換わったことにより、周辺原子との間に立体障壁が生じた影響によるものであった。エネルギー地形の妥当性を検証するために、CsA 結晶構造中の N メチルアミノ酸のコンフォメーションをエネルギー地形上にマップした。結晶構造で再現された二面角は、エネルギー地形の安定領域に分布しており、量子化学計算結果と矛盾しないことがわかった。

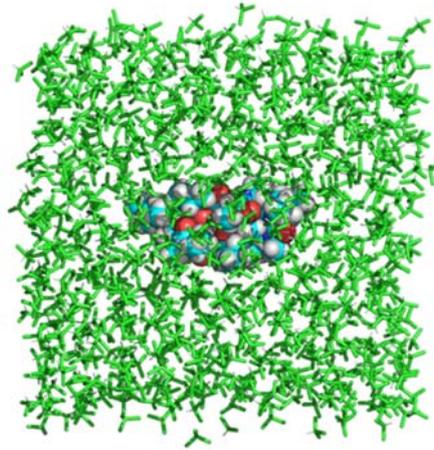


図4 シクロスポリン A (CsA) –クロロホルム溶媒系の MD (スナップショット)

Nメチルアミノ酸の CMAP 項に加え、CsA で用いられている非天然アミノ酸側鎖の CHARMM 力場も作成し、水中及びクロロホルム溶媒中で MD を実施した。図 4 にクロロホルム溶媒系のシミュレーション中のスナップショットを示す。また、広いコンフォメーション空間を効率的にサンプリングするために、力場ポテンシャルの各項を独立に温度でスケールできるレプリカ交換法 (gREST) によるサンプリングを分子動力学計算プログラム GENESIS により実行した。その結果、クロロホルム溶媒中でのサンプリング結果は、現時点で、NMR 実験により得られた原子間の距離情報 (83 個) のうち、大部分のデータ (66 個) が 1 Å 以内の誤差に入っていることがわかった。上記に記述したエネルギー地形の安定領域と結晶構造の構造分布との一致も併せて、本研究で開発した力場の妥当性が検証できた。

②タンパク質間相互作用制御 (再委託先：国立大学法人東京大学 山下雄史)

本課題は分子動力学 (Molecular Dynamics; MD) シミュレーションを用いて、タンパク質間の相互作用が目的タンパク質の機能にどのように関係しているかを解析することによりその制御を目指すものである。

平成 30 年度は 2 つの二重膜を貫通した多剤排出トランスポーター複合体を対象とした。多剤排出トランスポーター複合体は近年社会問題となっている院内感染や末期がん、再発がんにみられる、“薬が効かない”という薬剤耐性化に大きな役割を担っている膜タンパク質で、複数のコンポーネントで構成される巨大超分子である (図 1)。これまでそのポンプ部分の役割を担う AcrB-膜の計算は多くなされてきたが、複合体全体についての MD シミュレーションは、本研究が初めてとなる。これまで開発を進めてきた新しい FUJI 脂質力場を用いて、膜-膜タンパク質系 (約 720 万原子系) の全原子 MD シミュレーションを実行し、大規模な系の安定な 500 ナノ秒の計算に成功した。

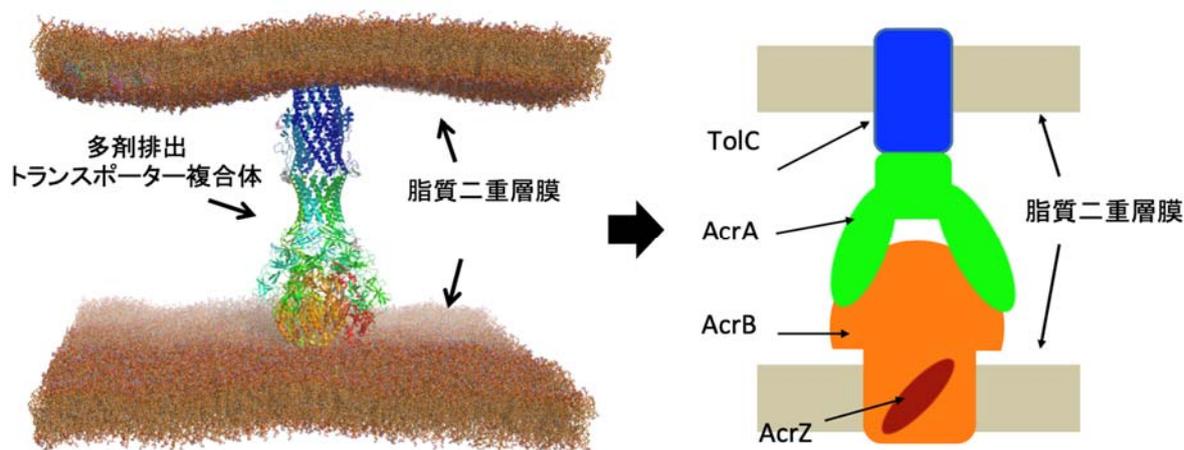


図1 多剤排出トランスポーター複合体-脂質膜系。右図は模式図

多剤排出トランスポーター複合体-POPE膜系（720万原子）の構築は以下のように行った。

基質を結合したとき、AcrBの3つのプロトマーはそれぞれ「アクセス」「結合」「排出」型のコンフォメーションを取ることが知られているが、本研究ではこの構造を基本にモデリングした。多剤排出トランスポーター複合体の構造はWangらによるcryo-EMにより取得された構造(PDBID:5NG5)を元に、AcrBの部分にEicherらによって取得された、より分解能の高いX線結晶構造(PDBID:4DX7)に置き換え、missing residueを補って作成した。脂質分子にはPOPEを用いて6000分子からなる二重膜を作成し、トランスポーターを埋め込む前に、平衡化した構造を得るための500ナノ秒のMDシミュレーションを行った。膜の平衡化はarea per lipidや膜厚などを実験値と比較し確認した。平衡化した二重膜を細胞質側の内膜と細胞質外側の外膜とした。トランスポーター複合体を直接2つの二重膜に埋め込むのではなく、外膜にTolCを、内膜にAcrA-AcrB-AcrZ複合体をそれぞれ別に埋め込んでから統合することによりこの系を構築することができた。Naイオン、Clイオンは150 mM、マグネシウムイオンは約7 mM加えた。

このようにして構築した多剤排出トランスポーター複合体-POPE膜系を、基質(doxorubicin)が結合している系と基質を含まない系でそれぞれ3本ずつ300ns~500nsのMDシミュレーションを実行した。図2に多剤排出トランスポーター複合体のRMSD、脂質分子-TolC、脂質分子-AcrBの相互作用の時間変化、そしてPOPE膜の電子密度を示す。トランスポーター複合体のTolC、AcrA、AcrZは100ナノ秒程度で、AcrBは400ナノ秒程度でRMSDが落ち着いているのがわかる。脂質分子とタンパク質の相互作用も100ナノ秒程度で落ち着いている。外膜と内膜の膜厚3.97nmも実験値の3.98nmと良い一致を得ることができた。このように複数のタンパク質からなる超分子である多剤排出トランスポーター複合体-POPE膜系(約720万原子系)の安定な全原子MDシミュレーションに成功した。

MDシミュレーションから得られたトラジェクトリを用いて、まずAcrAタンパク質とAcrBタンパク質との相互作用を調べた。図3はトランスポーター複合体におけるAcrAとAcrB間の相互作用エネルギーである。これは一つのトラジェクトリの結果である。AcrAはホモ六量体である。これま

で 2 つの AcrA プロトマーが 1 つの AcrB プロトマーと相互作用するという報告 (Wang et al.,2017 eLIFE) があったが、相互作用解析の結果、大きさに大小はあるものの 4 つの AcrA プロトマーと 1 つの AcrB が相互作用していることがわかった。AcrA プロトマー側から見た場合、1 つの AcrA プロトマーは 2 つの AcrB プロトマーと相互作用しているが、各 AcrA プロトマーと AcrB 全体との平均の相互作用は -995 ± 87 kJ/mol で 6 つのプロトマー間に有意差はなかった。

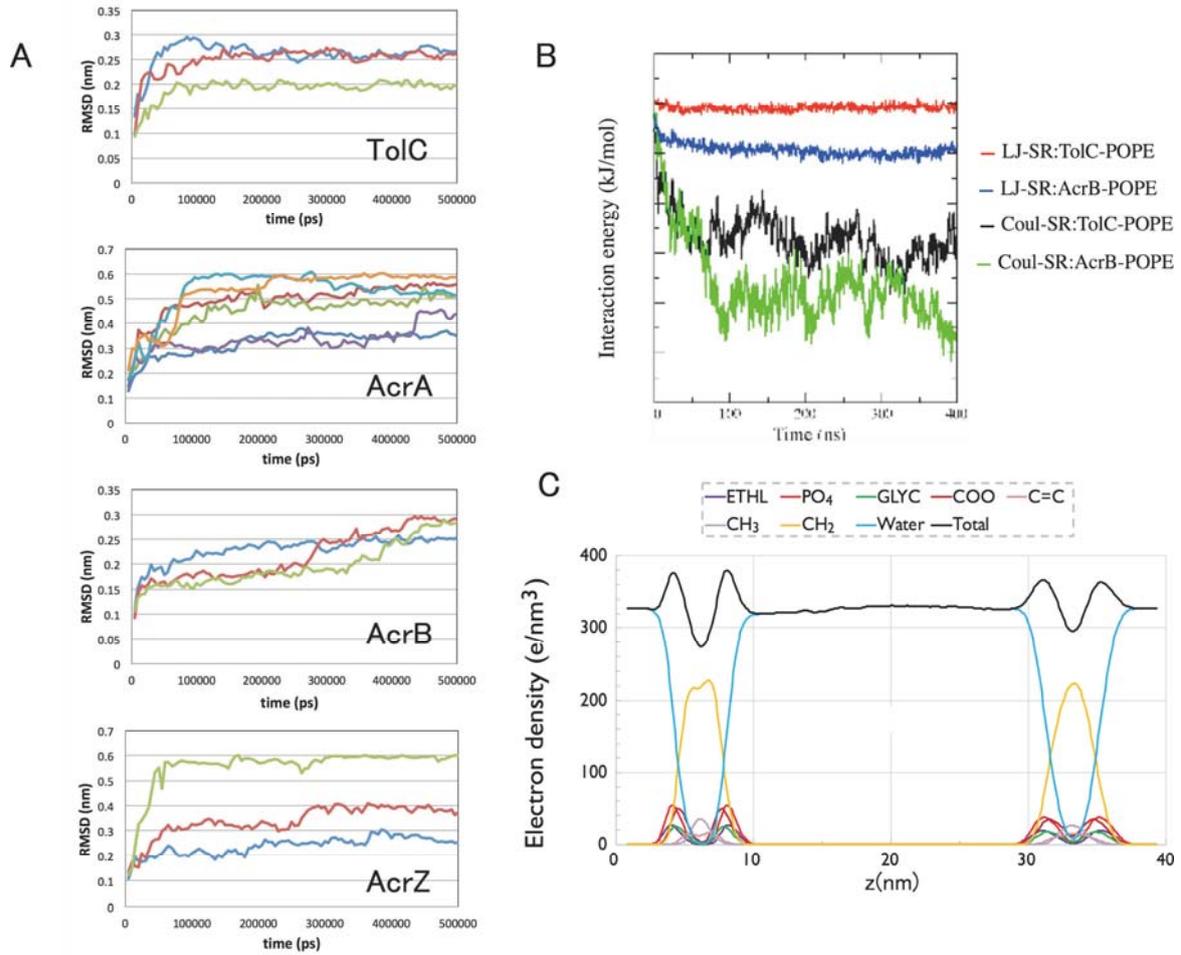


図 2 A : トランスポーター複合体の各タンパク質 (プロトマー) の RMSD。プロトマー毎に色を変えている。B : 脂質分子 (POPE) と TolC、AcrB との相互作用。C : 膜面に対して垂直方向の脂質膜の電子密度。

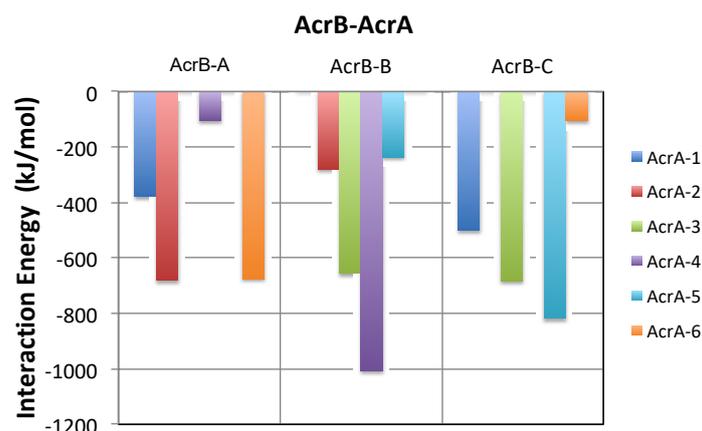


図3 3つのAcrBのプロトマーと6つのAcrAプロトマーとの相互作用エネルギー。

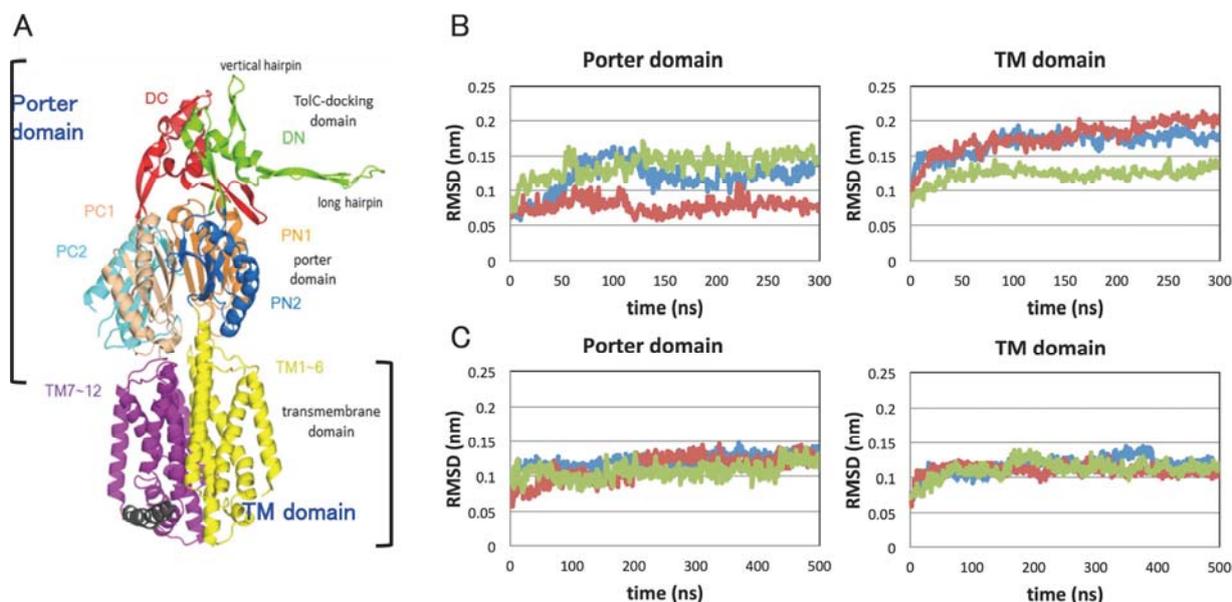


図4 AcrBのporterドメインとTMドメインのRMSD

A: AcrBのporterドメインとTMドメイン B: AcrB-膜系 C: トランスポーター複合体-膜系。赤線はアクセス型、青線は結合型、緑線は排出型の各プロトマーを示す。

図4はAcrBのPorter部分とTM (Trans Membrane) 部分のRMSDである。AcrAの影響がどの程度あるかを見るために前年度実施した排出ポンプAcrB部分と膜の系とを比較した。トランスポーター複合体-膜の系もAcrB-膜の系も振幅はTM部分に比べPorter部分の方がわずかに大きい。これは報告されているMDシミュレーション結果(Yamane et al., 2013, Biochemistry)と一致する。またAcrB-膜の系はトランスポーター複合体の系に比べると、それぞれのプロトマーの値にバラツキがあるのがわかる。これは結晶構造からプロトマーの相対的な位置がズレていることを示す。このこと

から AcrA が AcrB 三量体全体の揺らぎを抑えるような働きをしていることがわかった。図 5 は AcrB の基質結合プロトマーに結合している基質 (doxorubicin) の RMSD である。トランスポーター複合体の系では 150 ナノ秒あたりから落ち着いているのに対し、AcrB-膜の系では一定の時間毎に揺れ動いているのがわかる。2 つの系の比較により AcrA が AcrB を抑え込むことにより間接的に基質の運動に影響を与えていることがわかった。

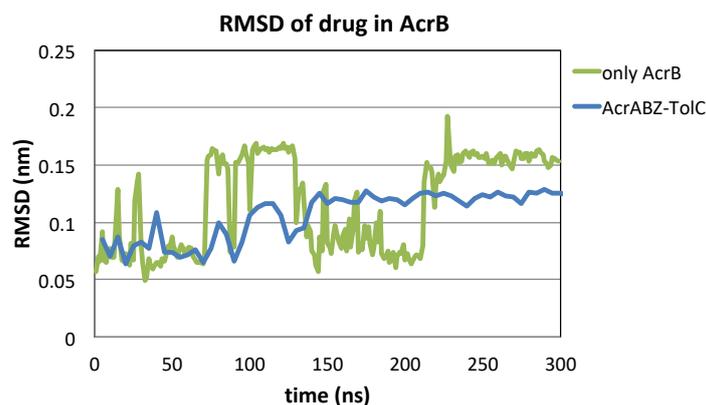


図 5 AcrB の基質結合プロトマーに結合している doxorubicin の RMSD。青色がトランスポーター複合体-膜系で緑色が AcrB-膜系である。

次に AcrA と TolC の接続界面について解析を行った。TolC はホモ三量体である。図 6A に AcrA と TolC の tip-to-tip 界面を示す。AcrA のプロトマーは、1 つの TolC プロトマーの 2 つの helical hairpin モチーフ (青色) の間に位置するタイプ (黄色) と、2 つの TolC プロトマーに挟まれるタイプ (マゼンタ) の 2 種類あることがわかる。AcrA と TolC の各プロトマーの間の相互作用エネルギーを計算したところ (図 6B)、1 つの TolC プロトマーに対して AcrA のプロトマー1 はプロトマー2 の約 2 倍の大きさで相互作用しているが、1 つ 1 つの AcrA プロトマーはほぼ同じ相互作用で TolC 三量体と相互作用していることがわかった (図 6C)。

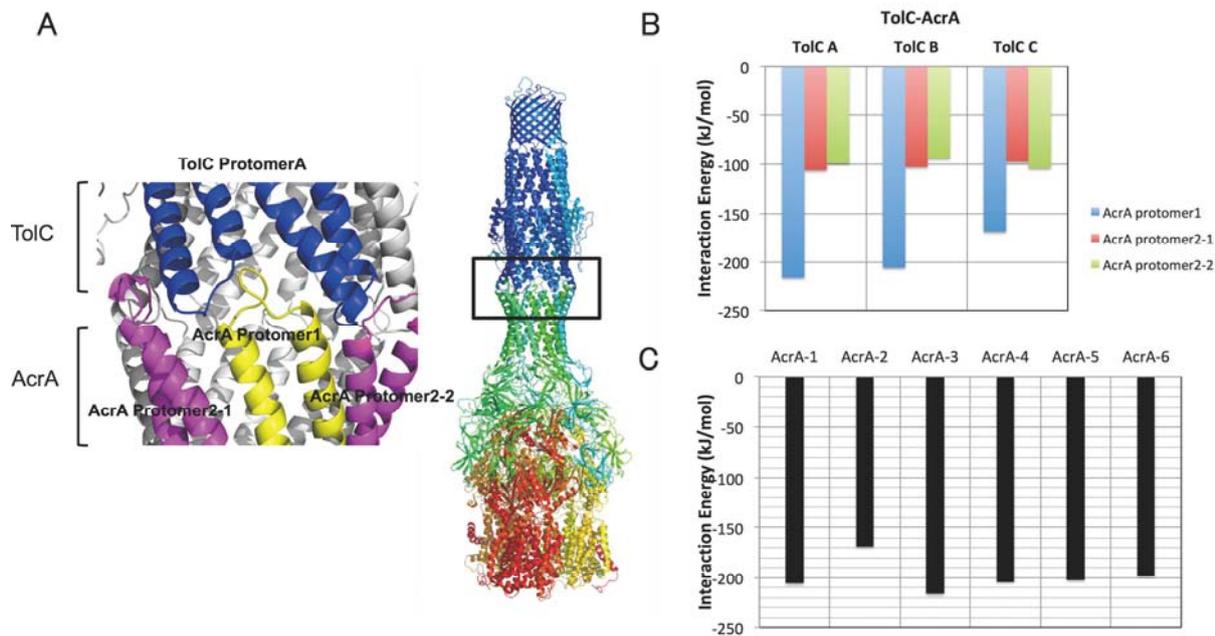


図 6 A : AcrA と TolC の tip-to-tip 界面 (黒線で囲った部分)。黄色で示したのが AcrA のプロトマー1 (1つの TolC プロトマーと相互作用)、マゼンタで示したのがプロトマー2 (2つの TolC プロトマーと相互作用) である。B : 各 TolC プロトマーと AcrA プロトマーとの相互作用エネルギー。C : AcrA プロトマー1つあたりの TolC 三量体との相互作用エネルギー。

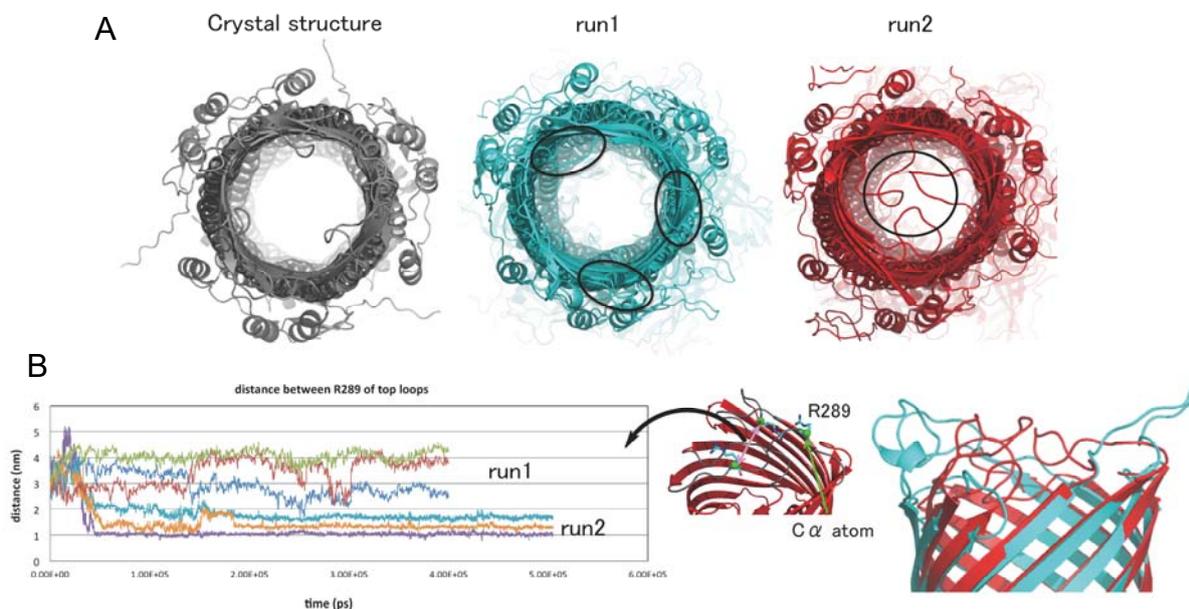


図 7 TolC 頭部のループ構造 (A) とその時間変化のグラフ (B)

図 7 (A) は TolC 頭部のループの様子を示している。run1 ではループがリガンド排出通路に対して縦に伸びているのに対し、run2 ではループが蓋のように塞ぐような構造を取っているのがわかる。

このループの動きを見るために、ループに位置する 289 番目のアルギニンの C α 原子間の距離の時間変化を示したのが図 7 (B) である。500 ns までの計算では、一度蓋のような構造をとるとその構造を安定に維持しているのがわかった。

その次に AcrB の排出型プロトマーのトランスメンブレン領域における Asp408、Asp407、Lys940、Thr978 のコンフォメーション変化について調べた。多剤排出トランスポーターの排出機能の駆動力の一つとして、AcrB のトランスメンブレン領域に位置する 408 番目のアスパラギン酸のプロトン化・脱プロトン化によるその周りの残基との相互作用の変化が知られている。本研究では AcrB-膜の系と多剤排出トランスポーター複合体-膜の系で、脱プロトン化された 408 番目のアスパラギン酸の周りの Asp407、Lys940、Thr978 がコンフォメーションを変化させるかどうかをモニターした。図 8 は 408 番目のアスパラギン酸と 940 番目のリシンの間の最小距離を示したものである。それぞれ 3 つの trajectory について示した。計算に用いた構造は、「アクセス」「結合」「排出」型の 3 つのコンフォメーションを持つ三量体構造であるが、排出型のプロトマーは他の 2 つのプロトマーと比べて 940 番目のリシンが 408 番目のアスパラギン酸ではなく反対側に位置する 978 番目のスレオニンと強く相互作用しているため、アスパラギン酸-リシン間の距離が長くなっている。しかしトランスポーター複合体の系の trajectory-2 では、AcrB の排出型プロトマーが 130 ナノ秒付近から、0.6 nm から 0.2 nm へ大幅な減少が見られ、940 番目のリシンがスレオニンから 408 番目のアスパラギン酸へと側鎖の向きを変えていたことがわかった (図 8B ; グラフ中の黒矢印)。この現象は、昨年実施した AcrB-膜の系における 21 個のシミュレーションでは見られなかったことである。このことは基質排出メカニズムとして提唱されている排出型からアクセス型への変化の一部が AcrA タンパク質との相互作用によってより起こりやすくなっていることを示唆する結果である。本研究の MD 計算ノウハウ・解析ノウハウは、先駆けて行われた抗原-抗体相互作用の研究成果を発展させたものである。

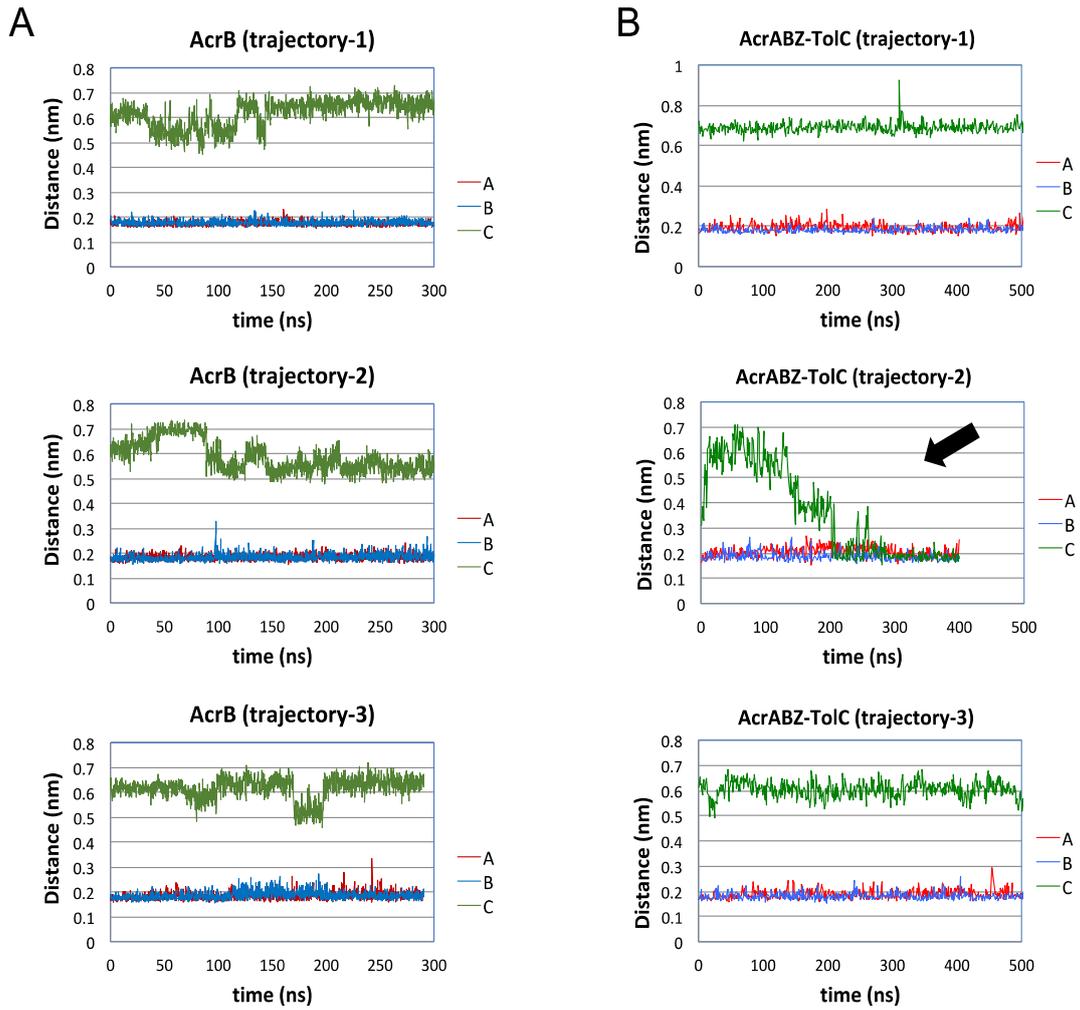


図8 Asp408 と Lys940 の間の minimum distance。A : AcrB-膜の系。B : トランスポーター複合体-膜系。アクセス型 (赤) 結合型 (青) 排出型 (緑) の各プロトマーを示す。

進行ガン治療プラットフォームとタンパク質間相互作用の最適化

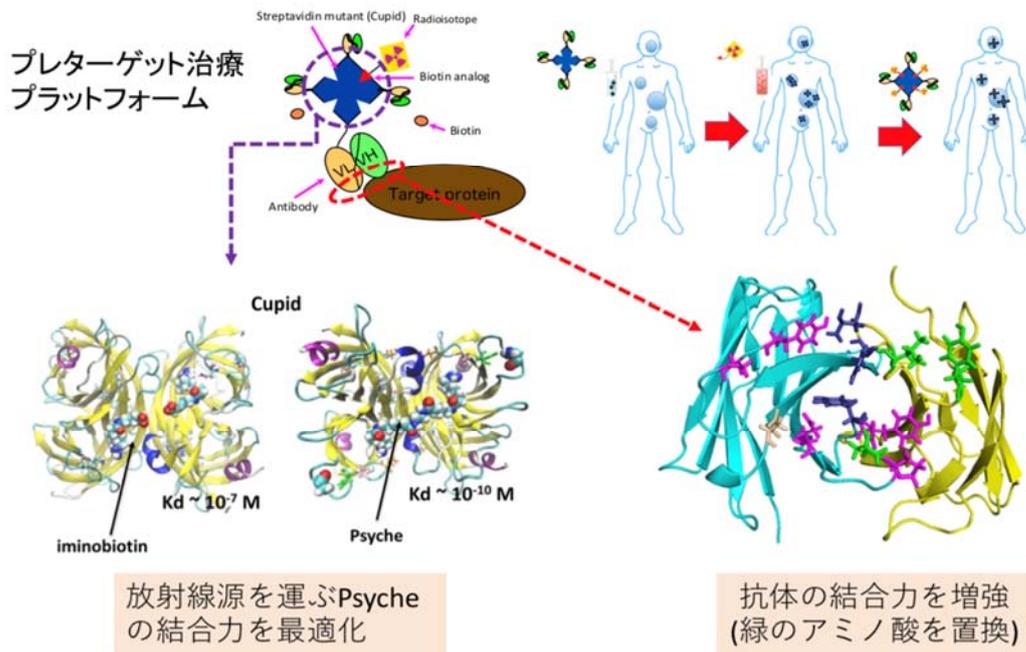


図9 進行ガンのプレターゲット治療法に用いる scFv、Cupid、Psyche

さらに、プレターゲット治療（図9）の核となる抗原抗体間相互作用の向上に関する研究成果を論文化した。（2019年3月、Structure誌に掲載された。）ここでは、肝臓ガンに特異的に発現しているROBO1とその抗体B5209BのscFvを取り上げている（図10）。MD計算のデータに追加の解析を加え、結果と考察をより正確なものとした（図10）。解析の結果を総合すると、P103^HA変異が抗原抗体間の静電相互作用を強化することでエンタルピー的に親和性を向上させたことがわかった。プロリン側鎖とアラニン側鎖の違いを考えると一見不思議な結果であったが、この置換によって離れた場所にある塩橋のイオン結合が強化されていることが見出された。P103^HA変異がエンタルピー的に親和性を高めたことに対し、Y30^LA変異はエントロピー的に親和性を高めていた。この現象を説明できるものは、抗原抗体のコンフォメーションのエントロピーではなく、抗原抗体界面に存在する水分子であることがわかった。界面水は、タンパク質に挟まれ並進エントロピーを奪われている。Y30^LA変異は、この界面水を解放してエントロピー的な親和性向上を達成している。この界面水の分析はさらに、P103^HA変異によるエントロピー的な損を起こさない理由が界面水の数を変えていないことに起因していることを示唆している。本研究では、変異サイトの直接的相互作用ではなく、離れたサイトの相互作用や界面水を介した間接的影響が抗原抗体間の親和性向上の鍵であることを示した。この成果は、従来の抗体改変設計の戦略に大きな改革が必要であることを示唆するものであり、タンパク質間相互作用制御の観点から価値のある知見である。

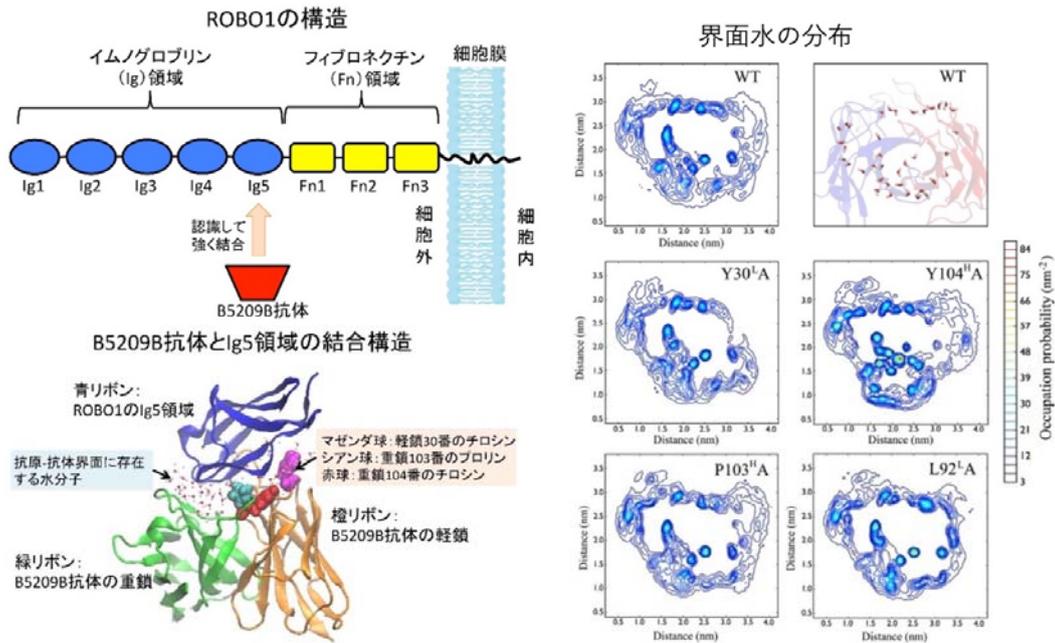


図 10 ガン治療標的タンパク質 ROBO1 とその抗体 B5209B、及び変異による界面水分布の変化

③ウイルス標的創薬計算技術（再委託先：国立大学法人名古屋大学 篠田渉）

ウイルス環境の分子シミュレーションによる再現・構築とウイルスカプシドと抗ウイルス剤の相互作用解析に基づく創薬計算技術の開発を実施している。平成 30 年度は B 型肝炎ウイルス (HBV) カプシドを対象とし、前年度までに平衡化した pgRNA 含有 HBV カプシド構造の大規模全原子分子動力学 (MD) シミュレーション (約 800 万原子系; 図 1) を継続して実行し、温度 310 K、圧力 1 atm の条件で 200ns まで計算時間を延ばした。カプシド半径、平均二乗偏差、水素結合数、塩橋の数などをモニタリングし収束を確認し、100 ns 以降にモニター量の変化がないことを確認したため、最後の 100 ns を平衡後の分子配置と考慮して構造・分子運動の解析を行った。

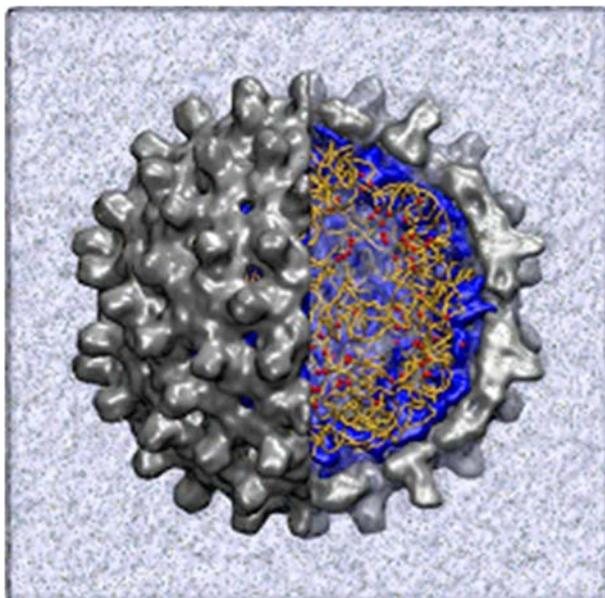


図 1 細胞内イオン濃度を反映した水溶液中で平衡化された B 型肝炎ウイルスのヌクレオカプシドを示している。灰色がカプシドタンパクで、黄色が pgRNA、青がカプシドの C 末端ドメイン部分、周りが細胞内イオン濃度を反映した水溶液である。水溶液中のイオンは小さなドットとして表示され、カプシド内部の赤色のドットは Mg²⁺ である。カプシドの一部は内部の pgRNA を見せる目的で切り出しているが、実際は完全に閉じたカプセルである。総原子数は 7,995,566 である。

HBV カプシドには5回、2回、3回、擬3回回転対称軸上に細孔が存在し、現在最も有効とされるエンテカビルのような逆転写酵素阻害剤はいずれかの細孔を通り、カプシド内に吸収されカプシド内部での逆転写を阻害すると考えられる。上記のHBV系では阻害剤を含まないものの、水やイオンの細孔透過を調べることは、カプシドの基本機能の理解に役立つ。そのため、細孔の大きさと細孔内部のイオンや水の動径数密度分布を解析し、イオンと水がどの細孔を透過するのかを解析した。各軸上の細孔はウイルス重心から動径方向に13-15.5 nmの間に存在する孔である。これら細孔毎に半径サイズの分布を図2に示した。細孔サイズはプログラム hole を用いて見積もり、細孔中で最も狭い部分の半径を細孔半径として定義した。各種類別の細孔の半径は、5回 < 2回 < 3回 ≈ 擬3回回転対称軸上の細孔の順に大きくなった。これらの細孔の大きさの平均値は、それぞれ 0.13 ± 0.08 nm, 0.31 ± 0.09 nm, 0.49 ± 0.07 nm, 0.48 ± 0.09 nm であった。従って、単純な穴のサイズからは、水やイオンは5回 < 2回 < 3回 ≈ 擬3回回転対称軸上の細孔の順に透過しやすいと考えられる。また、ヌクレオチド類縁体である逆転写酵素阻害剤の大きさは水溶液中で約1.0nm程度である。そのため、5回回転対称軸上の細孔は物理的に通らない。細孔半径のバラツキは0.2 nm程度であった。細孔内部のタンパク質の側鎖が揺らいでいることによりこの程度の大きさの揺らぎが生まれている。具体的には、例えば2回回転対称軸上の細孔では linker と呼ばれる部分（残基番号140から149）が細孔を横切る形で揺らぐことがある。3回回転対称軸上の細孔では、細孔内部の揺らぎやすい領域の残基（残基番号1から2と39から45）が細孔中心付近まで揺らいでいたことが、上述のバラツキの原因であった。

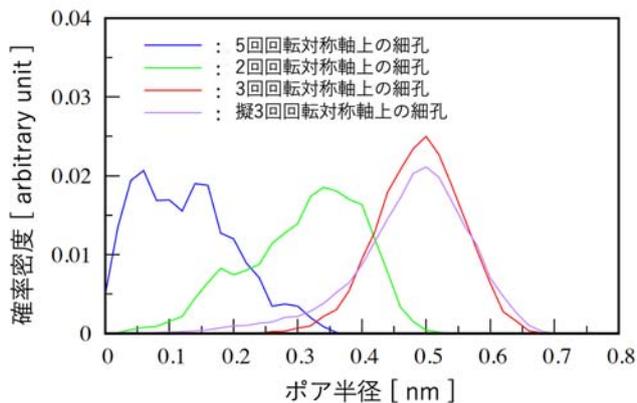


図 2 カプシド上に存在する各回転対称軸上の細孔半径の分布。青色、緑色、赤色、紫色はそれぞれ 5 回、2 回、3 回、擬 3 回回転対称軸上の細孔である。

次に、カプシド重心からの距離 R の関数として水やイオンの動径数密度分布をもとに計算した自由エネルギー差プロフィール ΔG を図 3 に示した。水分子の細孔内部の自由エネルギー障壁の高さは、5 回、2 回回転対称軸がそれぞれ 2.8 kJ/mol, 1.8 kJ/mol、3 回と擬 3 回回転対称軸が 1.1 kJ/mol であった。後者 2 つの細孔のエネルギー障壁が低く、水分子が最も透過しやすい細孔であるが、すべての細孔において熱揺らぎ程度の障壁であり、水分子は全ての細孔を透過している。また、従来 2 回回転対称軸上の細孔が疎水性で、3 回回転対称軸上の細孔が親水性の細孔であると考えられていたが、水分子にとってはその違いがほとんど見られないことがわかる。水分子の透過に対して遷移状態理論を仮定して、5 回、2 回、3 回、擬 3 回回転対称軸上の細孔を通る水分子の速度定数をそれぞれ求めると、 2.2 ps^{-1} , 3.2 ps^{-1} , 4.2 ps^{-1} , 4.2 ps^{-1} と見積もられ、非常に速い透過を示すことがわかる。細孔内部の各イオンの動径数密度分布と数密度分布から計算した自由エネルギープロファイルに注目すると、数密度分布の結果より、 K^+ イオンは 3 回と擬 3 回回転対称軸上では、細孔内部に多く存在している。また、5 回回転対称軸上の細孔では、13 nm に多く存在していた。一方で、2 回回転対称軸上の細孔内部には、ほとんど存在していない。3 回と擬 3 回回転対称軸上の細孔内部は負の電荷を持つアミノ酸残基 (D2, D4, D40, E14, E43) から構成されているため、正の電荷を持つ K^+ が多く存在した。5 回回転対称軸上の細孔の 13 nm にも負の電荷を持つアミノ酸残基 (E8, E117, E113, E145) が存在するため、 K^+ が多く存在した。2 回回転対称軸上の細孔内部は疎水性のアミノ酸残基 (主に PRO) から構成されているため、 K^+ イオンはほとんど存在しなかった。なお、pgRNA は非常に大きな負の電荷を持っているので、

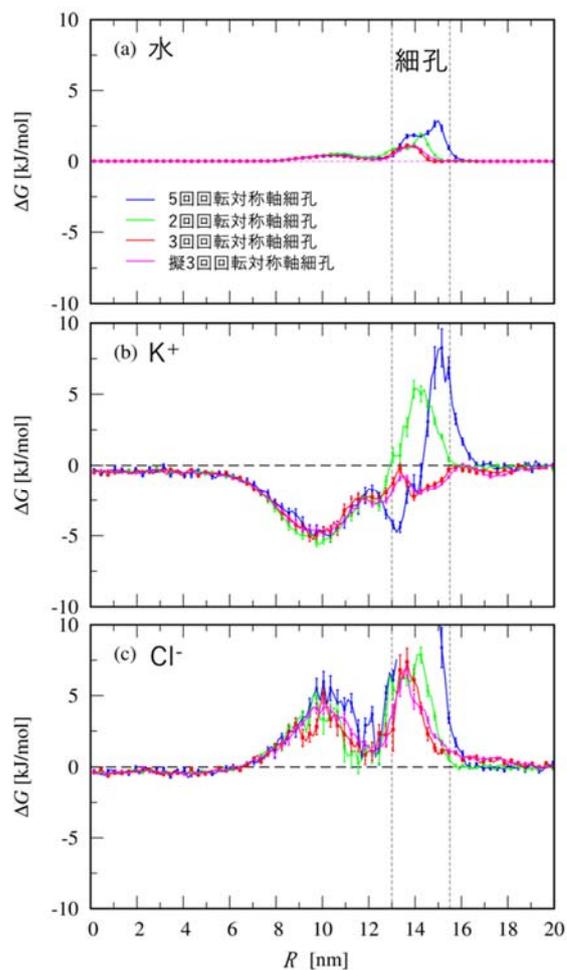


図 3 水分子、 K^+ 、 Cl^- イオンの各細孔に沿っての自由エネルギープロフィール。青色、緑色、赤色、紫色はそれぞれ 5 回、2 回、3 回、擬 3 回回転対称軸について計算。

大量の K^+ イオンが pgRNA の周りに存在している。 Cl^- イオンは、全ての細孔内部と pgRNA 付近にはほとんど存在していない。これは、3 回と擬 3 回回転対称軸上の細孔内部や 5 回回転対称軸上の細孔の 13 nm 付近には負の電荷を持つアミノ酸残基が存在するためである。一方、2 回回転対称軸上の細孔内部には疎水性の残基（主に PRO）が存在しているため、 Cl^- イオンはほとんど存在しない。 Na^+ イオンは K^+ イオンと同じような傾向を示した。以上の解析結果より、 K^+ イオンと Na^+ イオンは、ほとんどの場合、3 回と擬 3 回回転対称軸上の細孔を透過すると考えられる。また、 Cl^- イオンは K^+ イオンに比べてどの細孔も透過しづらいが、同様な細孔の選択性により透過すると考えられる。実際に MD アニメーションの観測から、イオンはほとんど 3 回と擬 3 回回転対称軸上の細孔を透過していることが確認された。また、正負のイオン透過の選択性は、細孔内部に負の残基が多く存在していることが原因と推察される。なお、逆転写を行うことや感染経路など共通点が多い HIV-1 カプシドでは、負の電荷を持つイオンが正の電荷を持つイオンより多く透過しており、逆の結果になっている。これは、HBV カプシドでは負の電荷を持つ残基が存在しているのに対して、HIV-1 カプシドの内側表面には正の電荷を持つ残基が多く存在しているためだと推測される。また、自由エネルギープロフィールの $R < 6\text{nm}$ のカプシド内部に注目する。図 3 より、水分子の自由エネルギー差は、ウイルス内外で正味ゼロ (0 kJ/mol) であった。一方、 K^+ と Cl^- はこの領域で自由エネルギーが -0.5 kJ/mol 程度負となっている。つまり、HBV カプシドの中心付近には非常にわずかであるが、イオン濃度が高くなりやすい環境になっていることが明らかとなった。まだその原因や生物学的な解釈は十分に理解できていないが、カプシド内部には CTD のリン酸化に関わるキナーゼなど、電荷を持ったタンパク質などが狭いカプシド内部に多数存在していることが実験的に知られている。今回の結果は荷電分子のカプシド内部での安定性を示唆しており、三リン酸化された阻害剤分子のカプシド内部への吸収を支持する結果である。さらに、先述の水と同様にイオンの細孔透過の速度定数を計算すると、 K^+ の速度定数は Cl^- より 1 桁ほど大きいことがわかった。また、速度定数の解析よりイオン透過はほぼ、3 回または擬 3 回回転対称軸上の細孔で起こることがわかった。

C 末端を除く HBV カプシドは負の電荷 (-1535e) を帯びており、さらにその内部には、-3396e の負電荷を持つ pgRNA が存在する。単純に静電相互作用を考えれば負電荷同士は近づかないと思われるが、実際にカプシド内部で負電荷を持つ核酸を使って逆転写が行われていることを考えると、それらを取り込むために HBV カプシドは特徴的な環境（場）を持っていると考えられる。そのような場を調べるために、MD 軌跡を使って電場の解析を行った。

HBV カプシドの重心から一定距離 R の球殻上に形成される電場を計算した。図 4 にそれぞれの R の位置がわかるスナップショットを示す。ここで、電場の値は、水分子を構成する原子が受けるクーロン力をその原子が持つ電荷で割ることにより近似的に計算した。さらに統計量を上げるために、カプシドの正二十面体対称性を用いて平均化した。負電荷を持つ物質がカプシドに対してどのような力を受けるのかを明らかにするため、ここでは得られた電場に $-e$ をかけて、負電荷が受ける力を図 5 に示した。赤色と青色はそれぞれ斥力 (outward)、引力 (inward) を表している。白色の部分は力を受けない領域である。

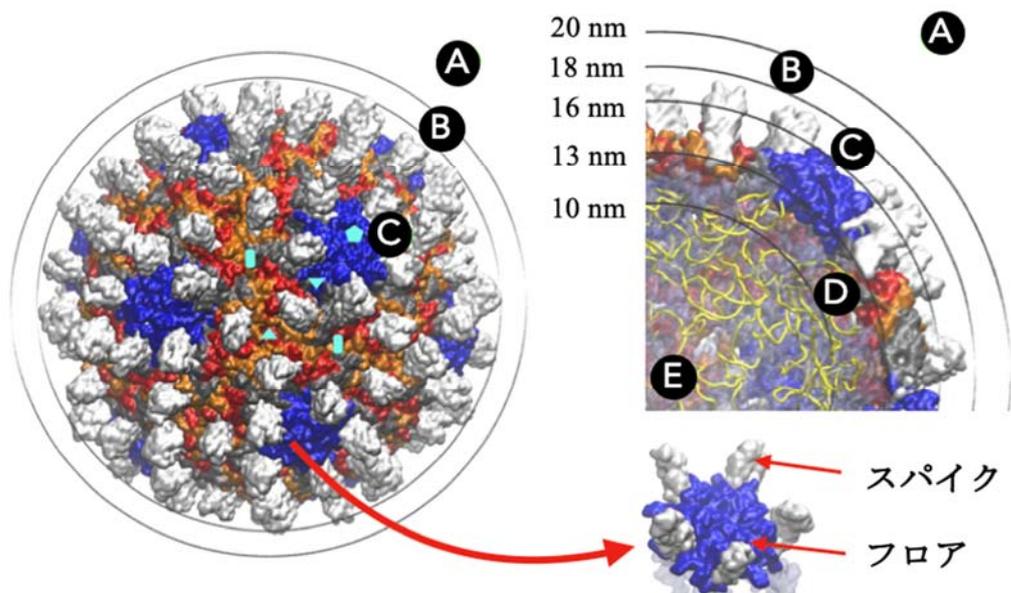


図4 HBVの詳細な構造(左)とHBVの断面図(右)。白色はカプシドのスパイクを表しており、他の赤色、橙色、青色、灰色はカプシドの細孔毎の各Chainを表している。また、左図の水色の5角形、楕円、3角形、逆3角形はそれぞれ5回、2回、3回、擬3回回転対称軸を表している。また、カプシド表面のスパイク以外の部分をフロアと呼ぶ。A-Cは、それぞれ電場を解析した領域を表している。Aはカプシドから十分離れた領域で、Bはスパイクの先端より離れた領域で、Cはフロア付近。

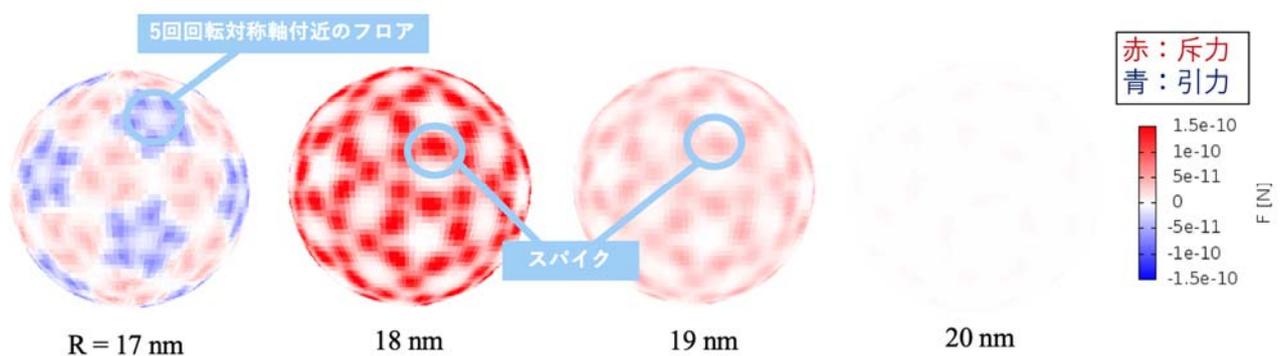


図5 HBVカプシド重心からの距離 R において、 $-e$ の物質が電場から受ける力。赤色は動径方向へ働く斥力を表し、青色は引力を表す。また白色は力の働いていない領域である。 $R=20\text{ nm}$ ではほとんどの領域が白色でカプシドの電場の影響が小さい。

図 5 よりカプシドから十分に離れた $R > 20 \text{ nm}$ の領域では、負電荷の物質がカプシドから受ける力はほぼ 0 とわかる。本研究におけるイオン濃度でのデバイ遮蔽距離を計算すると 0.77 nm であった。

カプシド中心からスパイクの先端部分までの平均距離は 17.2 nm であるため、 20 nm という距離は、スパイク先端距離から遮蔽距離の 3.6 倍離れている。そのため負電荷を持つ物質はカプシドから力を感じず、この領域では電荷分子は HBV カプシドの電場を認識しない。

次に、スパイク先端よりわずかに外側の領域 ($18 < R < 20 \text{ nm}$) では、負電荷を持つ物質はカプシドのスパイク部分から斥力を受けることがわかる。これは、スパイクの先端部分に負の電荷を持った残基 (D77, D78, E83) が存在しているためである。一方、スパイクが存在していない部分では力を受けないことがわかる。このことより、負電荷を持つ物質はスパイクが存在しないところではランダムウォーク的にカプシドに近づくことがわかった。

次に、カプシドのフロア付近 ($R = 17 \text{ nm}$) では、負電荷は 5 回回転対称軸上の細孔周りのフロア付近から引力を受けることがわかる。これは 5 回回転対称軸上周りには正の電荷を持つ ARG 残基 (R127, R133) が存在しているためである。また、5 回回転対称軸上の細孔付近以外のフロアでは引力を受けていない。5 回回転対称軸に負電荷を持つ物質は存在しやすい傾向にあるが、その力の大きさは $-1 \times 10^{-10} \text{ N}$ 以下であり、これは熱揺らぎで受ける程度の小さな力である。さらに、その他の細孔付近では力が 0 であるため、フロア上をランダムウォーク的に拡散することができ、他の細孔にも容易に移動できる。以上を要約すると、負電荷を持っている物質はスパイクを避けながら、5 回細孔付近を含む HBV カプシドフロアまでランダムウォーク的に近づき、フロア上を熱運動で拡散する。先述の細孔選択性を考えると、フロア上を拡散したイオンは 3 回もしくは擬 3 回回転対称軸上の細孔によって、内部に侵入することが示唆される。

また、高速多極子展開計算を用いて荷電薬剤分子のカプシド内外の自由エネルギー差の計算方法を確立し、大規模 HBV カプシド系に適用した。より具体的には、三リン酸化された逆転写酵素阻害剤を対象として、上記の MD 計算によって得られた HBV カプシドの安定構造への吸収自由エネルギー解析を行った。図 6 のように、阻害剤が真空中よりカプシド内部に挿入される際の溶媒和自由エネルギー ΔG_2 と、肝細胞水溶液中に挿入される場合の溶媒和自由エネルギー ΔG_1 をそれぞれ求め、その両者の差 $\Delta G = \Delta G_2 - \Delta G_1$ を取ることで、阻害剤が肝細胞中から HBV カプシド内部に移動する際の自由エネルギー差 ΔG を求めた。 ΔG_2 を計算するために、最初に阻害剤分子を先述の MD によるカプ

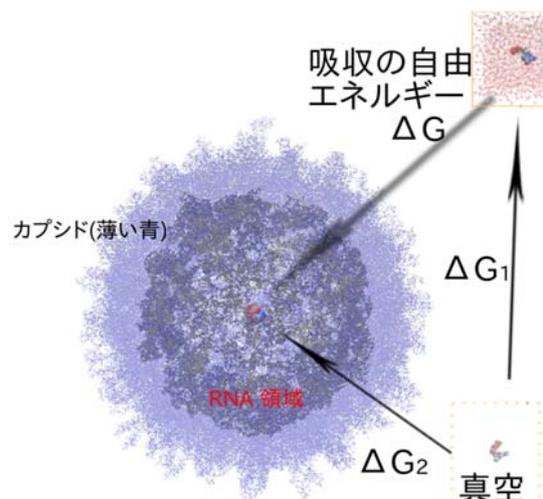


図 6 肝細胞バルク溶液中から阻害剤 (VDW 表示) がカプシド内部へと吸収されたときの自由エネルギー差 ΔG を求める。実際の計算は阻害剤を真空中からそれぞれの環境へと挿入する溶媒和自由エネルギー ΔG_2 及び ΔG_1 を計算する。

シド平衡構造に挿入し初期構造を作成した。阻害剤は細胞中で三リン酸化されており分子全体で電荷-4eを持つので、カプシド内部のカウンター (K^+) イオンを4つ、水分子と置換することで挿入した。これによりカプシド内部に三リン酸化された阻害剤分子 (エンテカビル) とそのカウンターイオンが存在する状態の初期構造を作成した。自由エネルギー計算には約 100 ns の MD 計算が必要であることから、系のサイズが 800 万原子系では困難であるため、静電場解析の結果を元に、カプシド内外部の静電場の変化が無視できる範囲で溶媒領域を縮小し、系を小さくした (約 590 万原子系)。その後、自由エネルギー計算を行うため、まず、平衡化 MD を行った。

昨年度に開発した自由エネルギー計算の手法を大規模系に適用するため、超並列計算の効率化を行った。主に、自由エネルギー計算を行うことで、非共有結合相互作用に関して、近距離計算と遠距離計算に必要な計算手順が増え、計算速度が低下する。約 590 万原子系で 2048 ノード、16384 コアを利用して通常の MD 計算を行った場合、1 ステップあたり約 50 ms であったが、自由エネルギー計算では 1 ステップあたり約 20 倍の時間がかかっていた。そのため、スレッド並列や SIMD 化を再度行えるようにし、1 ステップあたり約 200 ms の計算速度を得た。

自由エネルギー計算 ΔG_2 には熱力学的積分法を使用し、最初に溶質 (阻害剤) - 溶媒 (周辺の分子系) 相互作用のカップリングパラメータ λ を変更して中間状態を 11 点取り、各点でエネルギー最小化、平衡化 MD 450 ps の後、約 2 ns のサンプリングを行っている。また、数値的な安定性のため、静電相互作用と LJ 相互作用は別々に 2 段階でデカップリングした。各点でのサンプリングは 2 ns の時間スケールで平均力が十分に収束することを確認できた。しかし自由エネルギーの算出にはサンプリング点の平均力の数値積分を行う必要があり、自由エネルギーの定量的な議論には、数値積分の誤差を減じるため中間状態の追加計算を行うことを今後予定している。肝細胞水溶液中への自由エネルギー ΔG_1 計算についても同様に熱力学的積分法を用いて行った。未だ高精度な見積もりはできていないが、現在までの計算結果として自由エネルギー差 ΔG は負の値として得られている。これは上記の全原子 MD のイオン分布の結果と同様な傾向であり、三リン酸化された阻害剤はカプシド内環境でより安定であることが示唆された。

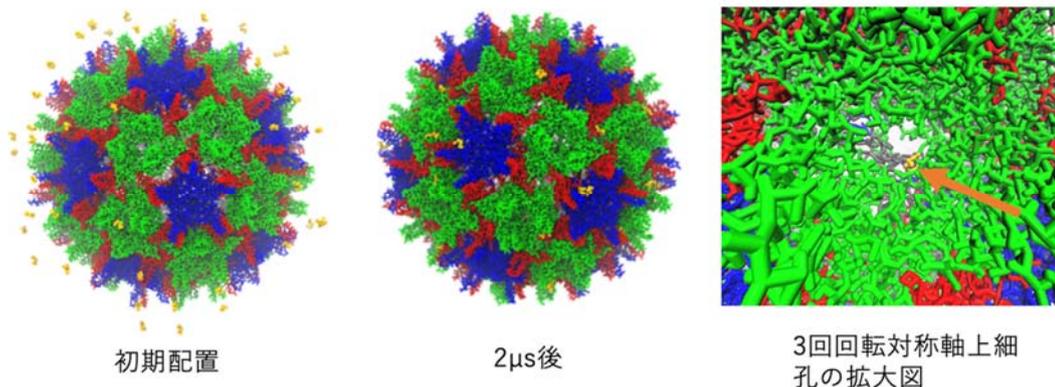


図 7 粗視化 MD の初期配置及び最終座標。右図は最終座標の 3 回回転対称軸上細孔の拡大図。カプシドタンパクは細孔の判別を助けるため、緑、赤、青の三色で表示。黄色が阻害剤（エンテカビル三リン酸）。水やイオンは簡単のため表示していない。拡大図の灰色は RNA で阻害剤が細孔を抜け、RNA に到達していることがわかる。

また、阻害剤のカプシド吸収機構の直接的な観測を行うため、粗視化分子モデル（SPICA 力場：論文 2019 年）を拡張し、RNA の粗視化モデルも構築した。このモデルは脂質、タンパク質について開発が進められてきており、今回の RNA モデルの構築によって、pgRNA 含有 HBV カプシドと阻害剤の吸着挙動を観測することができるようになった。相互作用パラメータは系統的に構築されており、例えば、各ヌクレオチドの膜透過の自由エネルギープロファイル（油水の分配係数）を再現する。なお、タンパク質と RNA の骨格部分は *elastic network model* を採用した。阻害剤（エンテカビル）のモデルは前年度までに開発したモデルを使用した。HBV カプシド系全体が約 80 万粒子で記述されるため、格段の高速化（実効で 3 桁程度の効率化）が実現されている。阻害剤の吸着を見るため、55 分子の阻害剤をカプシド外のバルク溶液中に配置し、2 μs （粗視化時間：物理的な時間スケールは 4-10 倍程度であり、8-20 μs に相当）の粗視化 MD シミュレーションを行った。なお、阻害剤同士が会合することがあるため、阻害剤間に 1.5 nm 程度の距離で働く斥力を追加して計算を行っている。計算開始後 0.5 μs 程度までは溶液中を拡散する阻害剤が見られたが、その後はほぼすべての阻害剤はカプシド表面に吸着した。全原子 MD の電場解析から予見されたように、初期吸着は専らフロアに対して吸着しており、スパイクに吸着する阻害剤はほとんど見られず、あっても短時間でフロアに移動した。カプシド表面での阻害剤の側方拡散は遅く、500 ns 過ぎに阻害剤 1 分子が 3 回回転対称軸上の細孔を抜けて、カプシド内側に入っていき様子を確認したが、2 μs の間にカプシド内側の pgRNA 付近まで到達した阻害剤はこの分子のみであった。観測サンプル数がまだ少ないが、全原子 MD から予見された阻害剤（負イオン）のカプシド吸着・吸収機構と良い一致を示す結果が得られた（図 7）。

また、カプシド形成阻害剤によるカプシドタンパク複合体の構造安定性への影響について、HAPs（heteroaryl pyrimidines）のカプシドタンパク 4 量体の結合ポケットへの自由エネルギー解析を実施した。HAPs の中から 3 つの阻害剤；BAY41-4109, NVR-010001E2, HAP_R10 を選び、これらの結合自由エネルギー計算を試行した。BAR 法で計算した結果 BAY41-4109 の阻害剤の結合自由エネルギーは収束し、異なる 2 つのタンパクダイマー界面のポケットで自由エネルギーに差が見られ、その結

果は実験の結果と一致していた。しかし、他の 2 つの阻害剤は分子内コンフォメーションのサンプリングに課題があり、自由エネルギー計算の収束性に問題が見られた。そのため、拡張サンプリング手法として、aMD (accelerated MD)、FEP/REST2 (free energy perturbation/replica exchange solute tempering) を阻害剤の溶媒和自由エネルギーに対して試行した。aMD によって一部の自由エネルギー計算の収束は改善したが、より分子がかさ高い HAP_R10 では不十分であった。しかし、HAP_R10 も FEP/REST2 によって自由エネルギーの収束が改善することが確認された。一部定量的な比較に課題を残すが、ここで検討した 3 つの阻害剤はいずれもカプシドタンパク 4 量体の安定性の向上に大きく寄与することが明らかとなった。今後、FEP/REST2 を用いて、他の 2 つの HAP 阻害剤のカプシドタンパク系への結合自由エネルギーを解析し、阻害剤の分子構造によるカプシド安定性への影響を定量化する。

④核酸-タンパク質相互作用制御 (再委託先: 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 河野秀俊)

平成 30 年度は、核内の DNA 収納状態の変化を調べるため、大規模な全原子分子動力学計算シミュレーションを実行し、DNA 解離に伴うヒストンコア崩壊の自由エネルギー解析や DNA 配列の異なるヌクレオソーム構造の安定性解析を行った。

DNA 解離に伴うヒストンコア崩壊の計算では、我々が開発している、並列かつ独立に実行した多数の全原子分子動力学シミュレーション計算結果を統合した構造アンサンブルを解析する方法 (メタダイナミクス法的一种である ABMD 自由エネルギー計算法と、物理的並列性を利用した並列計算法であるマルチウォーカー法を組み合わせた手法) を用いた。ヌクレオソームを構成する 2 組のヒストン H2A-H2B のヘテロダイマーの重心間距離を反応座標として計算を行った。最初に複数回の脱離シミュレーションを行った結果、DNA の解離に伴ってヒストンコアから一つの H2A-H2B ヘテロダイマーが脱落する経路がまれにあることがわかった (図 1)。

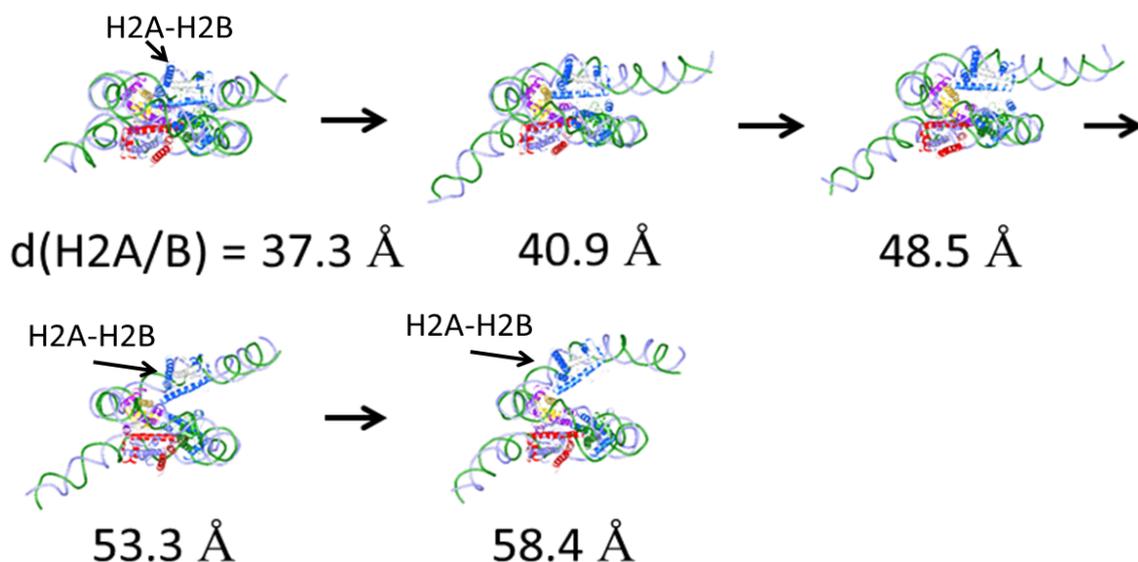


図 1 ヒストン H2A-H2B ヘテロダイマー (矢印で指した青色部分) の脱離の経路。数字は、反応座標 (2 つの H2A-H2B ヘテロダイマー間の重心間距離) を表す。

この経路を詳細に解析すると、ヘテロダイマーの脱離が起こるときには常に H2A ヒストンの C 末端が H3-H4 との相互作用を失っていることがわかった。そこで、H2A ヒストンの C 末端の 7 残基を切ることであらかじめ C 末端の相互作用を無くしたヌクレオソームについて、ヘテロダイマー脱離の自由エネルギー解析を行った。脱離の過程では、ヌクレオソームを構成する 2 組の H2A 同士の相互作用がまずなくなり、次に H2A と H3 の相互作用がなくなり、最後に H2A と H4 の C 末端領域との相互作用がなくなる過程を通ることがわかった (図 1)。予備的な結果ではあるが、この 3 つの相互作用を失ってヘテロダイマーが脱離するのに約 30 kcal/mol 必要であると見積もられた。

ヌクレオソーム結合タンパク質の離脱に伴って連結した 2 つのヌクレオソームの相対配置の変化の解析では、結合タンパク質の約半分の領域が天然変性領域であるため、十分な構造サンプリングが行えず、初期構造に依存したアンサンブル (構造集団) になっている。予備的な結果ではあるが、結合タンパク質の脱離前後で大きな構造変化は見られなかった。このことは、このヌクレオソーム結合タンパク質によって構造が変化するのではなく、結合タンパク質に別のタンパク質が結合することによって 2 つのヌクレオソームの相対的な配置が変わるのではないかと考えている。

DNA 配列に依存したヌクレオソームの構造安定性解析では、AA 配列が連続もしくは断続的に続く配列とそうでない配列を持つヌクレオソームの安定性の違いを明らかにした。酵母のヌクレオソーム配列のインフォマティクス解析から、転写開始点直後のヌクレオソーム (+1 ヌクレオソーム) の塩基配列に偏りがあり、RNA ポリメラーゼがヌクレオソームに侵入する側の配列には AA 配列が優位に多い (図 2)。我々は、これまでに様々な塩基配列の MD シミュレーション計算を行い、AA 配列は曲がりにくい性質があることを見出している。

この性質と合わせて、AA 配列の多い側はヌクレオソームが不安定、つまり、DNA がヒストンから解離しやすいと予測した。この予測を実験的に検証するため、AA 配列に偏りのある配列と偏りのない酵母のゲノム配列を用いて、実際にヌクレオソームを *in vivo* で再構成し、MNase-Seq 解析を行った。結果、AA 配列がヌクレオソームの片側に多く存在する領域では、DNA が MNase によって優位に分解されやすいことがわかった。また、AA 配列の分布に偏りのない配列に、意図的に AA 配列を連続的に挿入した DNA でヌクレオソームを再構成し、同様の解析を行った。結果、AA 配列が挿入された領域では MNase に対する感受性が高くなることが示された (図 3)。このように、AA 配列を持つ DNA は不安定であるという予測が実験的に裏付けされた。以上の結果は、構造的に曲がりにくい DNA 配列がヒストンに巻き付くためには多くのエネルギーを必要とするため、その部分の DNA がヒストンから解離しやすくなっていると考えられることができる。酵母のゲ

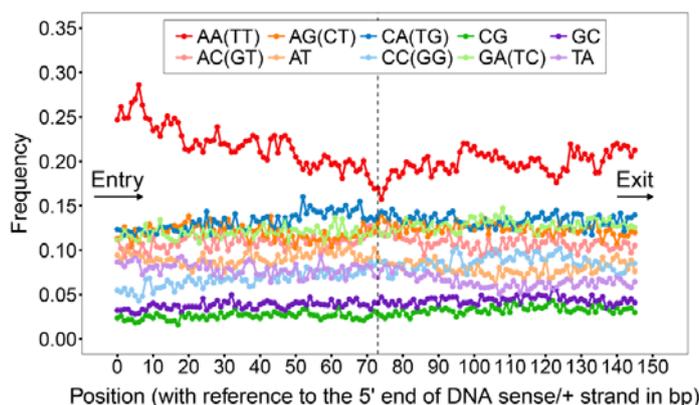


図 2 酵母 +1 ヌクレオソームの塩基配列の偏り。AA 配列が 80 から 150 領域に比べて 0 から 50 の領域に多い。

ノムでは転写開始点の直後に存在するヌクレオソームの転写開始側（図2の0から50の領域）のDNA配列にAA配列が偏って存在していることから、我々はRNAポリメラーゼがヌクレオソームに入りやすくなっている、つまり、ゲノム自体に転写がスムーズに進行するような仕組みが保持されていると解釈している（図4）。実際、転写量が多い遺伝子ほど、AA配列の偏りが顕著であった。

今後は、細胞核内で生じる捩じれや引っ張りといった外力に対するヌクレオソームの応答を調べていくことで、クロマチンの動構造変化と遺伝子発現の仕組みの関係を明らかにしていく予定である。

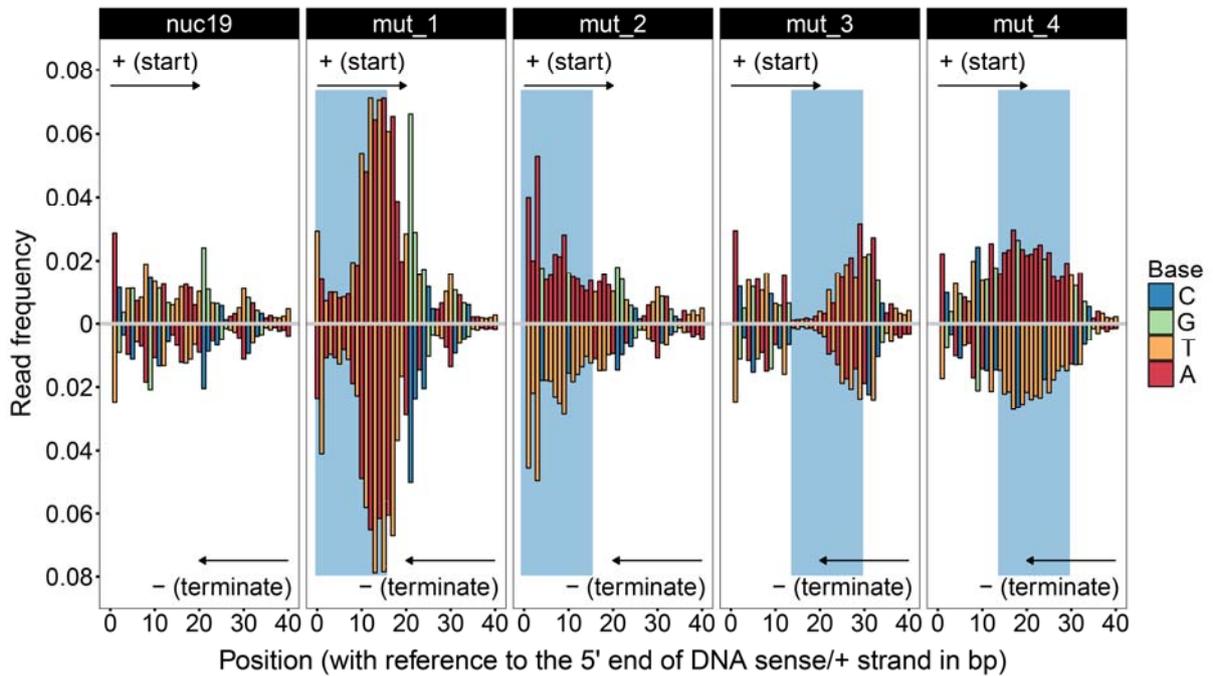


図3 ヌクレオソームのMNase感受性。AA配列を挿入した部分（青色のシェードをかけた部分）の感受性が高くなっているのがわかる。



図4 転写量が多い遺伝子の転写開始点直後のヌクレオソーム。AA配列が多いEntry領域ではDNAはヒストンコアから解離しやすく、RNAポリメラーゼが侵入しやすい。

⑤細胞内環境シミュレーション

平成 30 年度は *Mycoplasma Genitalium* の細胞質モデルに対して、ATP 存在下と非存在下でのタンパク質凝集・拡散・分子間相互作用を検討した。異なる条件でマイクロ秒の分子動力学計算を実施し、ATP の存在がタンパク質凝集を妨げる主要な原因の一つであることを確認した。この結果は、すでに報告されている実験結果と良く一致する。ATP は負に帯電した分子であり、電荷バランスの乱れが凝集を引き起こしている可能性がある。もちろん、その可能性は否定できないのだが、ATP の代わりにイオンを追加した計算においても、やはりタンパク質凝集が見られた。このことはタンパク質凝集の起こる原因は単純に電荷のバランスだけでは説明することができず、細胞内に大量に含まれている ATP の存在が大きな役割を果たしていると考えないと説明ができない。さらに詳しい解析を行うことによって、分子機構の詳細を明らかにして論文としてまとめたい。

さらに、混雑環境がリガンド結合に及ぼす影響についても検討した。具体的には、キナーゼ・阻害剤の長時間分子動力学計算を希薄溶液とウシ血清アルブミン (BSA : Bovine Serum Albumin) 存在下の混雑溶液を用いて行った (図 1)。キナーゼと阻害剤については、gREST/REUS 法を用いた希薄溶液系でのリガンド結合計算に用いたものと同じ Src キナーゼと PP1 阻害剤を用いた。

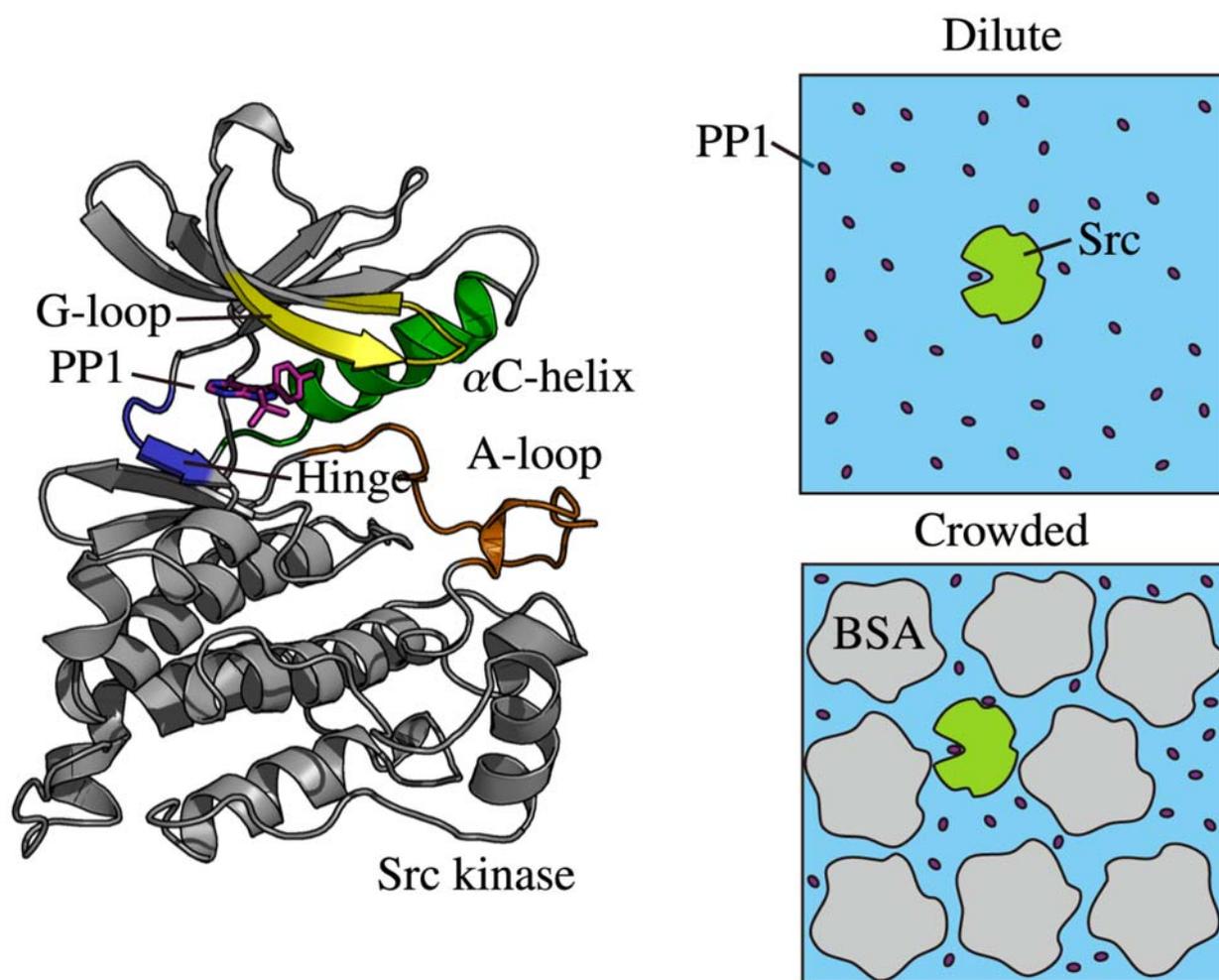


図 1 Src キナーゼの構造 (左) と、希薄溶液及びウシ血清アルブミン (BSA : Bovine Serum Albumin)

存在下の混雑溶液での長時間分子動力学計算に用いたシステムのスキーム (右)。

希薄溶液条件下の計算では、阻害剤として用いた PP1 が Src キナーゼの結合部位にドッキングする過程を複数回観測した。得られた結合構造は、X 線結晶構造と良く一致しており、以前に報告されている計算結果とも良く一致する。BSA 存在下の混雑溶液を用いた計算結果でも、PP1 がキナーゼ結合部位にドッキングする過程を観測することに成功した。

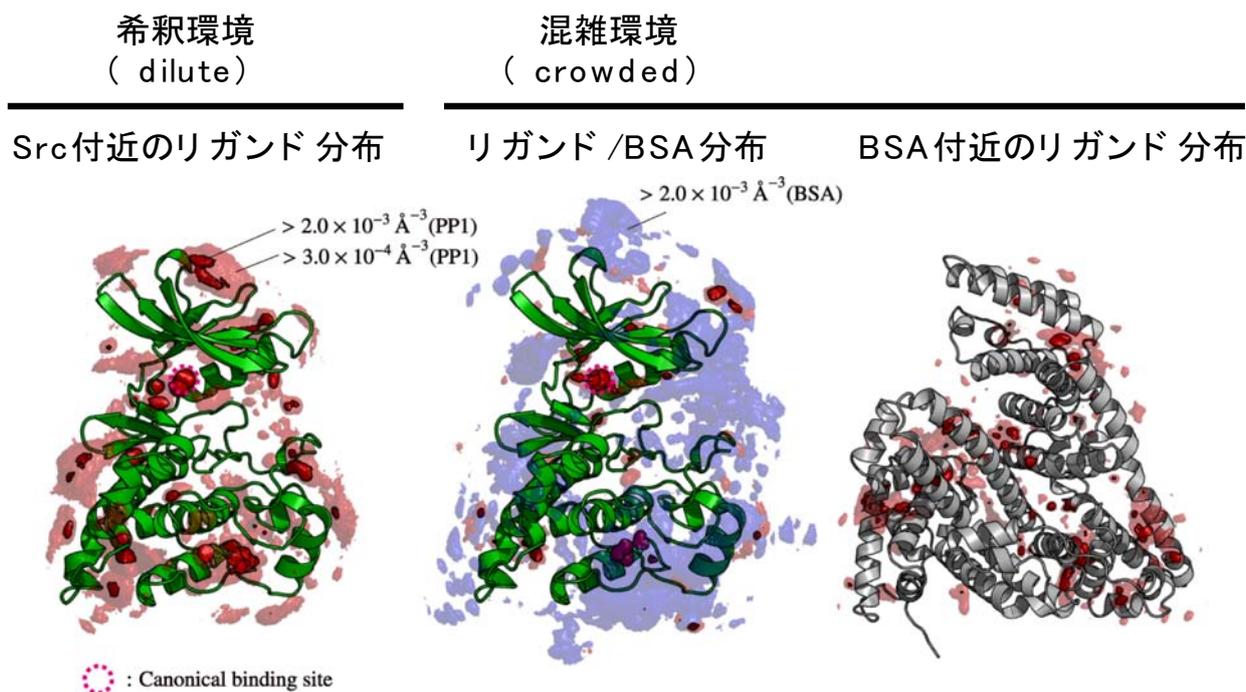


図 2 希釈環境と混雑環境における阻害剤 PP1 の分布の比較。阻害剤分子 PP1 の分布を赤、BSA の分布を青で示した。混雑環境では、希釈環境で見られた阻害剤分子 PP1 の分布 (赤) の多くが BSA の分布 (青) に置き換わっていることがわかる。

希薄溶液系と混雑溶液系での計算結果を詳細に解析した結果、混雑環境がリガンド結合に及ぼす影響について、いくつかの重要な知見が得られた。まず、ATP 結合部位以外に結合する PP1 の数が混雑環境で大幅に減少することがわかった (図 2)。希薄溶液では、PP1 分子は Src キナーゼの ATP 結合サイトだけではなく、タンパク質表面の様々なサイトに結合する (図 2 左の赤色の分布)。一方で混雑溶液中では、タンパク質表面上の PP1 分布は大幅に減少している (図 2 中央の赤色の分布)。希薄溶液と混雑溶液におけるこの違いは、BSA の二つの効果によってもたらされることを示した。一つは、キナーゼは複数の BSA 分子に取り囲まれており、キナーゼの BSA との相互作用が PP1 結合サイトを立体的に遮断する効果である。図 2 中央に見られるように、希薄溶液中に見られた PP1 分布の多くが BSA の分布 (青色) に取って代わられている。もう一つは、PP1 が BSA 分子にも結合することで、キナーゼ周囲の PP1 濃度が実効的に減少する効果である。図 2 右に示したように、PP1 分子は BSA 表面の複数のサイトに結合しており、その分キナーゼ周囲の有効濃度は低下する。混雑

環境がリガンド結合に及ぼす影響の他の一つとして、混雑環境では、阻害剤とキナーゼ・BSA との相互作用によって、阻害剤の拡散が遅くなることも示した。さらに、阻害剤分子がリガンド結合サイトへ侵入する経路が、希薄溶液中と混雑溶液中で異なることもわかってきた。現在、これらの研究成果を論文として執筆中である。

これらの計算例から明らかになってきたのは、通常の計算や *in vitro* 実験が行われる希薄溶液中と実際の細胞環境の相違である。生体分子が固有の立体構造により固有の機能を発現するという古典的な考えだけでは説明のできない環境要因も今後はきちんと考察していく必要があることがわかった。生命科学の大きな流れの中で、細胞内、細胞膜表面、クロマチン形成などにおける大きな構造体（ドロプレット）の存在が頻りに議論されるようになってきたこととも関係し、より大きなスケールで、かつ、分子レベルの解像度で生命現象を解析していくことがより大きな意義を持つようになってきた。スーパーコンピュータ「京」やポスト「京」を用いた大規模なスケールの分子動力学計算はまさにこれらの問題と連動し、生命現象の新しい理解に貢献していくことができる。

(3) 創薬ビッグデータ統合システムの開発 (サブ課題 C)

① 高精度薬剤デザイン (再委託先：国立大学法人京都大学大学院医学研究科 奥野恭史)

平成 30 年度は、創薬ビッグデータ統合システムのプロトタイプにサブ課題 A、B で開発される各種創薬計算手法の実装を行った。本システムでは、ドッキングシミュレーションと (拡張型) 分子動力学シミュレーションの組み合わせによって、大規模な化合物ライブラリから標的タンパク質に対して高い結合親和性を有する医薬品候補化合物を予測する (図 1)。本年度は、大規模化合物ライブラリの構築に必要な化合物生成手法 (東大・津田チームの成果物) を実装した。

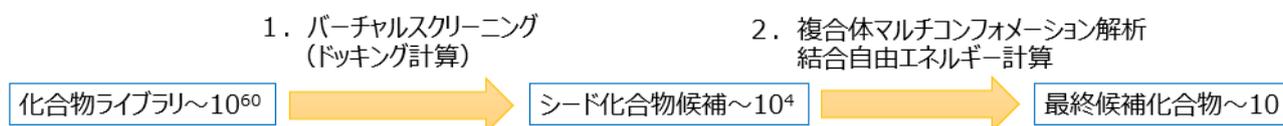


図 1 創薬におけるインシリコスクリーニングの概念図。大規模な化合物ライブラリを対象に、2 種類のステップ (1. ドッキング計算 (計算コスト低)、2. 分子動力学シミュレーションによる複合体マルチコンフォメーション解析・結合自由エネルギー計算 (計算コスト高)) によって最終候補化合物への絞り込みを行う。

1 化合物あたりの計算フローは下記に示す 4 つのパートに分かれる (図 2)。本年度は、計算フローの入力となるタンパク質構造の種類を充実させるために、医薬品結合サイトを加味したタンパク質機能部位データベース (産業技術総合研究所・広川チームの成果物) を実装した。

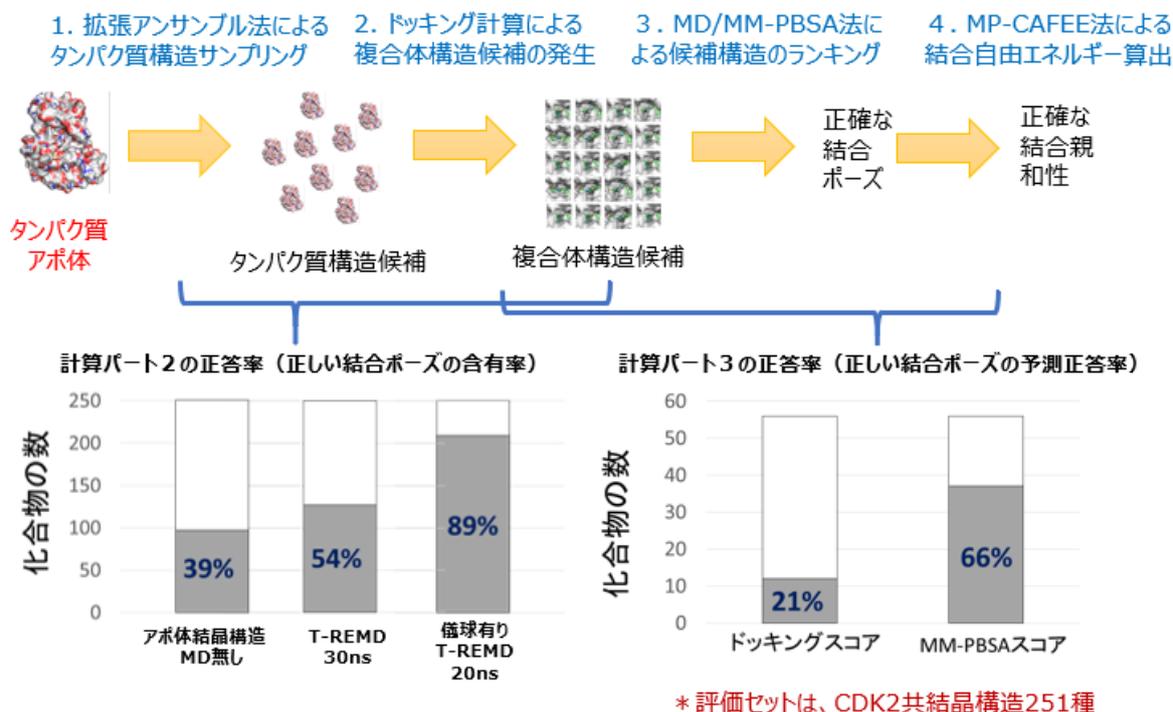


図2 1 化合物あたりの計算フロー

1. 拡張アンサンブル法によるタンパク質構造サンプリング：

サンプリング効率を高めることを目的とした拡張アンサンブル型分子動力学シミュレーションによって、タンパク質の動的性質を捉え、溶液中で取り得るタンパク質構造を複数取得する。医薬品が結合していないタンパク質アポ構造を初期値とした場合には、シミュレーション中に薬剤結合ポケットが閉じてしまう傾向があり、化合物ドッキングの際に結合ポーズのバリエーションを担保することが困難であった。そこで、本研究課題では、バーチャルリガンドを結合させてポケットを広げた状態で構造サンプリングを行う「Virtual Ligand Method (儀球有り T-REMD)」を開発し、論文発表に至った (M. Araki, et al., *J. Comput. Chem.* 39(32):2679-2689, 2018)。

2. ドッキング計算による複合体構造候補の発生：

タンパク質-化合物ドッキングシミュレーションによって、医薬品化合物の結合ポーズ候補を複数発生させる。ドッキングプログラムとしては、無償のタンパク質-化合物ドッキングプログラム：rDock に基づいて「京」コンピュータによる大規模並列計算やタンパク質側鎖を可変的に取り扱うフレキシブルドッキングを可能にするための改良を施したバージョンを搭載している。1.「儀球有り T-REMD」との組み合わせによって、正しい化合物結合ポーズを高確率で発生させることに成功している (左下の棒グラフ)。

3. MD/MM-PBSA 法による候補構造のランキング：

2.で取得したタンパク質-化合物ドッキング構造モデルのそれぞれに対して化合物の結合安定性を評価し、熱力学的に最安定な化合物結合ポーズを予測する。本研究課題では、結合安定性評価の方法として、複合体の分子動力学トラジェクトリに基づいた MM-PBSA (Molecular Mechanics

Poisson-Boltzmann Surface Area) スコアリングを検証し、従来法 (ドッキングスコア) よりも大幅に予測正答率を上昇させることに成功している (右下の棒グラフ)。

4. MP-CAFEE 法による結合自由エネルギーの算出:

3.で取得した複合体構造モデルに対して化合物の結合親和性を高精度に予測する。結合親和性予測には、アルケミカル自由エネルギー摂動法によって化合物の結合自由エネルギーを算出する MP-CAFEE 法 (Massively Parallel Computation of Absolute binding Free Energy with well-Equilibrated states) を使用する。我々はこれまでに、MP-CAFEE 法をスーパーコンピュータ「京」に実装し、結合自由エネルギー計算を高速かつ効率的に実施できる環境を整えている。

平成 30 年度は、AI 創薬手法として、タンパク質-化合物結合ポーズの正誤 (図 1 のパート 2, 3) を判定する convolutional neural networks (CNN) の実装評価を行ったところ、ドッキング計算のみでは結合ポーズの予測に失敗した幾つかのリガンドにおいて、本法によって正しく予測できた事例が見られている。また、結合自由エネルギー (ΔG) 計算手法 (図 1 のパート 4) については、「京」での計算実績を有するアルケミカル自由エネルギー摂動法の一つである MP-CAFEE 法を改良することで高精度化に成功している。

創薬ビッグデータ統合システムのプロトタイプを評価するための具体的な応用事例として、膜タンパク質 FNDC5 によるアミロイド β 産出抑制機構を明らかにするための分子シミュレーションを行い、論文発表に至った。下記に詳細な研究内容を示す。

アミロイド β ペプチドの脳への過剰な沈着によって引き起こされるアルツハイマー病に対して有効な薬剤は未だ開発されておらず、運動療法による予防に期待が寄せられている。近年、京都大学の木下彩栄教授らは、運動に伴い発現が増加する fibronectin type III domain-containing protein 5 (FNDC5) がアミロイド β 前駆体タンパク質 (APP) に結合することを発見し、このことは FNDC5 がアミロイド β ペプチドの産生を重要に抑制することを示唆している。そこで本研究では、FNDC5 と APP の結合構造を計算科学的手法によって推定した。まず、APP 単独の NMR 構造 (図 3 左) を初期値とした温度レプリカ交換分子動力学シミュレーション (T-REMD) によって、FNDC5 (図 3 右) に結合した際の APP 立体構造候補 300 種を発生させた。次に、タンパク質-タンパク質ドッキングプログラム: ZDock を利用してタンパク質-タンパク質ドッキングを実施し、FNDC5-APP 複合体構造候補 2,000 種を発生させた (図 4A)。次に、各々の FNDC5-APP 複合体構造モデルに対して MD シミュレーション (10 ns) を実施し、MM-PBSA 法による結合安定性スコアに基づいて 2,000 種の複合体構造候補の中から熱力学的に最も安定な構造モデルを抽出した (図 4B)。予測した複合体構造モデルによると、FNDC5 の機能ループで形成される窪みによって APP の膜外領域 (残基番号 672-687) が認識され、APP の分解が抑制されると考えられる (図 4C) (Noda Y., *Mol. Brain*, 11(61):1-13, 2018)。

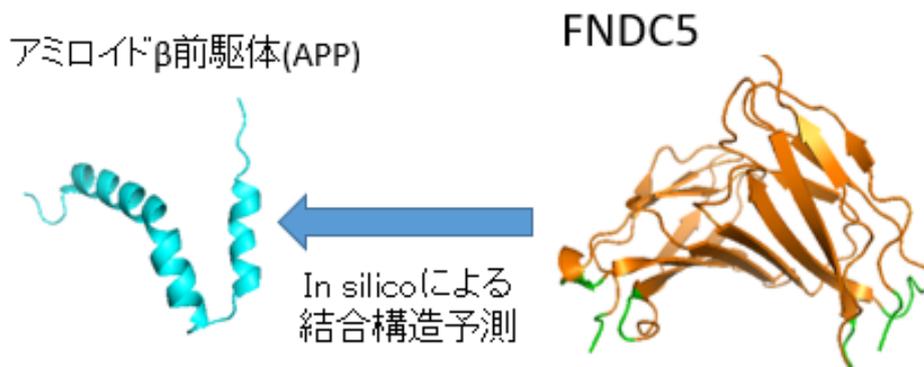


図3 アミロイドβ前駆体 (APP) 単独の NMR 構造と FNDC5 の結晶構造

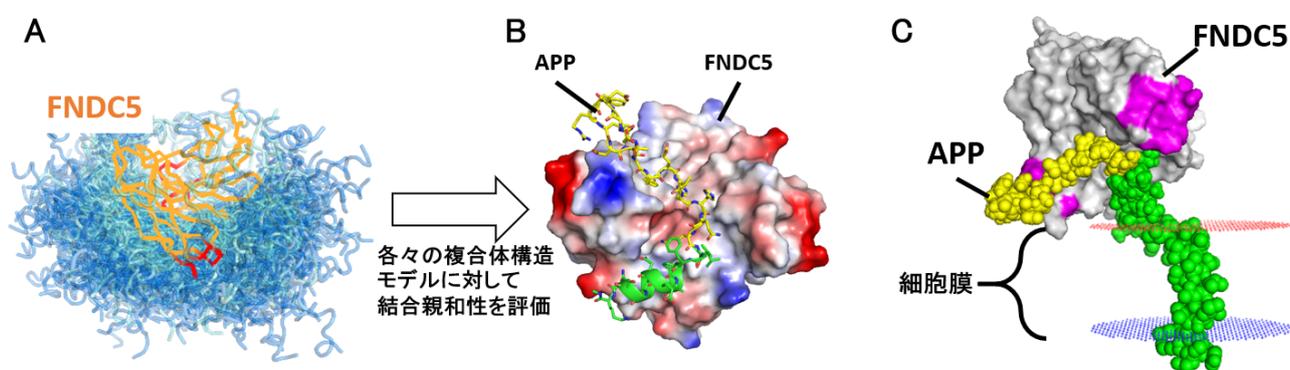


図4 (A) FNDC5 (オレンジ) に対するアミロイドβ前駆体 (APP : 青) の結合構造候補 2000 種。
 (B) MD/MM-PBSA 法によって予測した FNDC5-APP 結合構造。(C) 細胞膜に埋め込まれている APP を FNDC5 が認識するイメージ図。FNDC5 の機能ループ領域をマゼンタでハイライトし、APP の N 末端側 (残基番号 672-687) を黄色、C 末端側 (残基番号 688-728) を緑色で色付けした。

また、各種創薬計算手法を、協力機関と連携し具体的な創薬ターゲットに適用した場合の性能評価を引き続き行ったところ、複数の創薬ターゲットにおいて本システムが高い予測性能を示すことを確認した。具体的には、がん、腎疾患、乾癬といった疾患を対象とした治療薬開発において、図 1、2 に示す計算フロー (の一部) を適用することで標的タンパク質に強く結合する薬剤候補 (群) を予測しており、その中の幾つかにおいては、協力機関によるセルベースドアッセイや生化学的試験によって一定の薬効が確認されている。また、味覚受容体の活性物質予測も行っており、様々な味覚受容体において新規アゴニストの導出に成功している。

さらに、ゲノム医療・創薬への応用を実現する計算基盤の構築として、ALK 遺伝子変異における薬剤耐性シミュレーションを行い論文発表に至った。下記に詳細な研究内容を示す。

薬物治療を継続していると、遺伝子変異によって薬剤耐性を獲得する場合がある。非小細胞肺癌 (NSCLC) の治療に用いられる ALK キナーゼ阻害薬の場合では、薬剤耐性を引き起こす ALK キナーゼ配列上のアミノ酸変異が複数報告されている。本研究では、非小細胞肺癌の薬剤耐性メカニズム

を解明するために、ALK キナーゼ変異体と 3 種類の ALK 阻害薬（クリゾチニブ、アレクチニブ、セリチニブ）の結合親和性を予測した。各々の薬剤との共結晶構造（PDBID=2XP2:クリゾチニブ, 3AOX:アレクチニブ, 4MKC:セリチニブ）に基づいて ALK 変異体約 10 種類の立体構造をモデリングし（図 5）、MP-CAFEE 法によって薬剤との結合自由エネルギー（ ΔG ）を評価した。算出した ΔG を実験的に測定された細胞増殖 50%阻害濃度（ IC_{50} ）に対してプロットしたところ、両者の間に良好な相関関係が見られ、薬剤との結合親和性が低下する ALK 変異体を発現させた細胞では、薬剤が効きにくくなる傾向が見出された（図 6）。これまでに非小細胞肺癌が薬剤耐性を獲得する分子メカニズムは未解明であったが、本研究により、ALK アミノ酸変異に伴う薬剤の結合親和性の低下が薬剤耐性を引き起こす主要な要因の一つであることを示した。さらに、ALK 変異体-薬剤複合体の MD シミュレーションデータを詳細に解析したところ、(i)1210 番目のグルタミン酸と薬剤で形成される水素結合が弱くなるほど、及び(ii)ポケット内部での薬剤の揺らぎが大きくなるほど、結合親和性が低くなる傾向が見られた。特に、L1256F 変異体に対するアレクチニブ結合に関しては、古典分子動力学計算に基づいた MP-CAFEE 法では予測した ΔG 値に差は見られなかったが、タンパク質-薬剤相互作用を量子化学的に精密評価したところ、F1256 側鎖-薬剤間の π - π 相互作用によって薬剤結合を優位に安定化することが示唆され、当該変異体で薬剤感受性化するという実験結果をサポートした。一連のシミュレーションから得られた ALK 変異体-薬剤結合に関わる立体構造情報は、今後、耐性を克服する新規薬剤の分子設計に役立つと期待される（Okada K., et al., *EBioMedicine*, 41:105-119, 2019）。

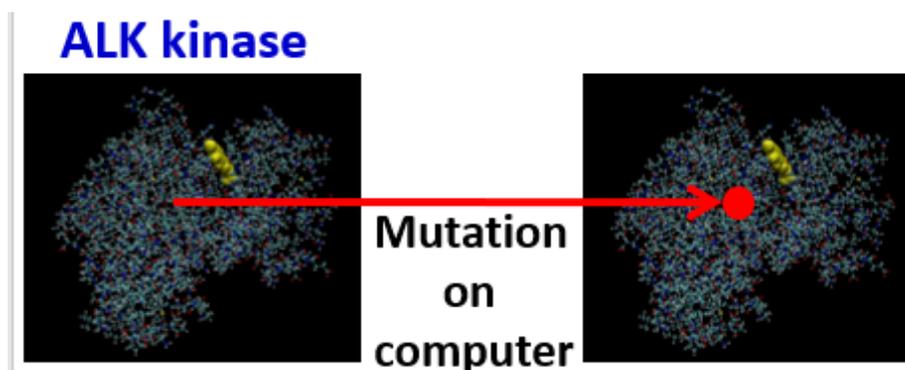


図 5 ALK 変異体の立体構造モデリング。野生型-薬剤共結晶構造（左）に基づいて、薬剤耐性変異体（右）をコンピュータ上でモデリングした。薬剤、変異アミノ酸をそれぞれ黄色、赤色でハイライトした。

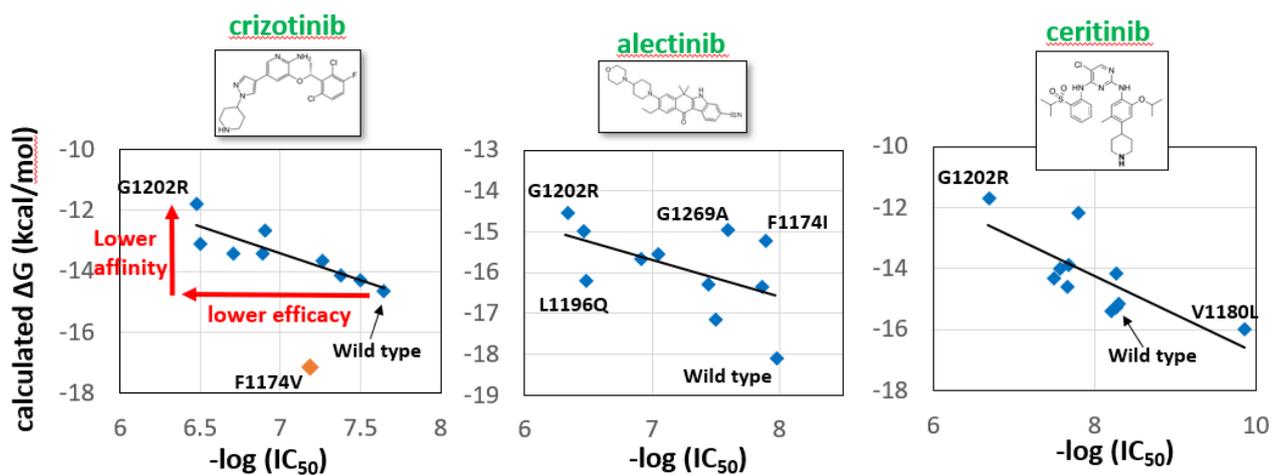


図 6 ALK キナーゼタンパク質と医薬品の結合親和性（結合自由エネルギー）の予測値と実験的に測定した薬効値（50%阻害濃度の対数）のプロット。3 種類の薬剤（クリゾチニブ、アレクチニブ、セリチニブ）の各々に対してプロットを作成しており、各点は ALK 野生型あるいは変異体を示す。

②機能制御部位データベース（再委託先：国立研究開発法人産業技術総合研究所 広川貴次）

平成 30 年度は、(1) アンサンブル構造から、バーチャルスクリーニングやドッキングの精度を高める構造の選定法について、分子動力学計算の設定環境やアンサンブル構築の改良と高精度化をサブ課題 C①と連携して行う、(2) DrugBank の標的タンパク質構造情報に基づく、機能制御部位データベースの実装、(3) 共同研究を通じた機能部位予測結果の検証やバーチャルスクリーニングヒット率の評価、の研究課題を遂行した。以下に成果を述べる。

(1) アンサンブル構造に基づくバーチャルスクリーニングやドッキングの精度を高める構造選定法

アンサンブル構造、つまり動的構造を標的にしたバーチャルスクリーニングでは、その重要な応用例としてアロステリック部位に対する創薬探索が期待されている。アロステリック部位は、活性サイトとは別の部位で、タンパク質の構造変化に影響を与え、最終的に機能を司る部位であり、タンパク質間の配列や構造の保存性が低いため、副作用の少ない薬剤の開発が期待されている。しかし、アロステリック部位による機能の制御は間接的であるため、アロステリック部位は立体構造からは非自明であり、それを応用した創薬の成功例は少ない。そこで、本課題では、アンサンブルサンプリング法を創薬分野に転用し、アロステリック部位に作用する薬剤候補の探索に利用できる構造の選定法を開発した。標的タンパク質は、多くのがんに関わる MAP キナーゼ経路 (RAS/RAF/MEK/ERK) の最下流にある ERK2 とした。ERK2 は MAP キナーゼ経路の最も下流で細胞シグナルを制御しており、上流に薬剤耐性が起こっても、ERK2 を阻害できれば異常な細胞増殖を阻止できる。しかしながら、ERK2 の触媒部位を標的とした抗がん剤は副作用により承認されていない。ERK2 は active-inactive の立体構造が決定されているが、そこでは触媒 (ATP 結合) 部位以外の薬剤結合ポケットは知られていない (図 1)。そのため、触媒部位以外のアロステリックポケットを探る結晶構造以外の状態が必要である。よって、ERK2 を「アンサンブル構造に基づくバーチャルスクリーニングやドッキングの精度を高める構造選定法」の標的とすることは、構造選

定法の開発と同時に、実際にバーチャルスクリーニングで得られた候補化合物にアロステリック部位に作用する新しい“抗がん剤の種”の創製の目的にもなっている。

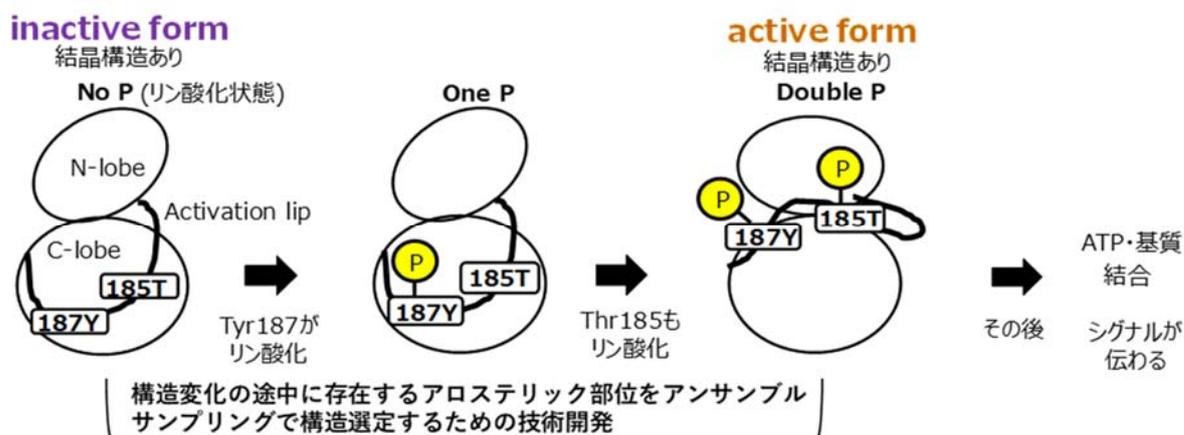


図1 ERK2を標的としたアンサンブル構造からのアロステリック部位構造選定のスキーム

実施内容は、①MD計算とサンプリング法により構造変化のパスウェイを獲得、②サンプリング構造からのアロステリック部位同定と化合物データベースによるバーチャルスクリーニング (in silico スクリーニング) の実施である (図2)。

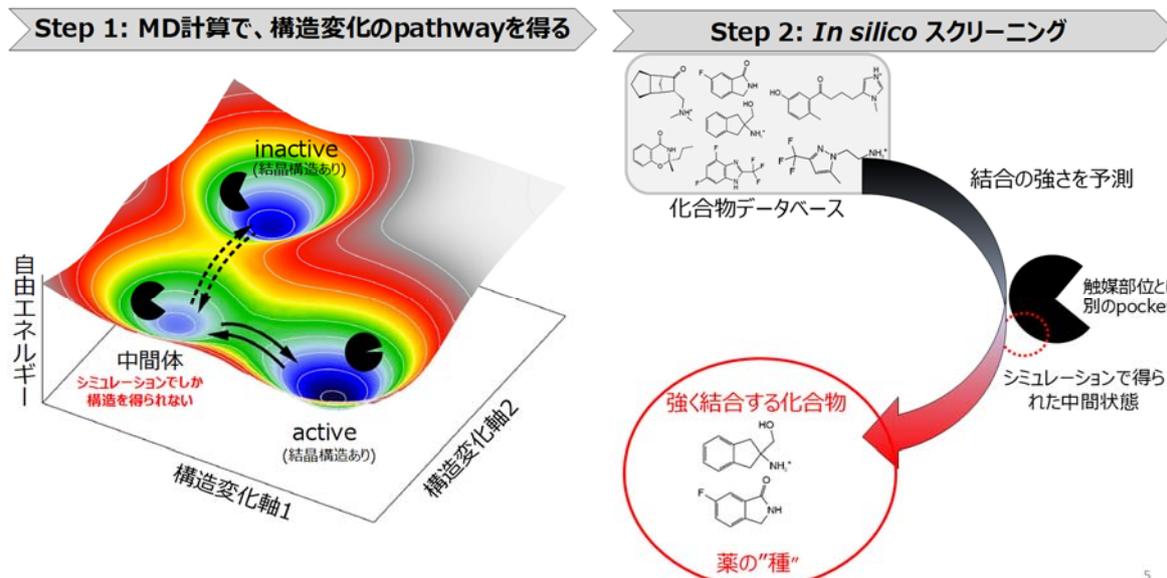


図2 構造選定手法の流れ

MD計算によるERK2のactive-inactive間の構造変化のパスウェイ探索では、最初に、線形法によりactive-inactive間の中間体を41個作成し、それらを初期経路とした。続いて、ストリング法 (サブ課題 B①池口グループとの共同開発) により、エネルギー最小経路の探索を行い、active-

inactive 間で変化の大きい 20 構造を最適化した。その後、Multistate Bennett Acceptance Ratio 法により 20 構造周辺の自由エネルギー地形を作成し、中間体の存在を検証した。その結果、ERK2 が 1 リン酸化の状態のとき、構造変化の経路の中間にエネルギーが低い準安定状態を同定した (図 3)。ERK2 が active 状態になるためには準安定な中間体を経ることは、これまで提唱されておらず、この知見は創薬研究とは別に科学的にも価値がある発見である。続いて、得られた中間体で、アロステリック部位の存在を検証するため、構造アンサンブルに対して、ポケット探索と Druggability 評価を行った。その結果、ATP 結合部位 (活性部位) とは異なる部位で、化合物結合が期待できる Druggability 値が高いポケットが高頻度で形成されていた。この新規ポケットは構造変化に重要な部分にあり、化合物の結合により ERK2 の活性 (構造変化) を阻害できるアロステリック部位である確率が高いと判断した。本年度では、得られたポケットに結合可能な低分子化合物を、ドッキング計算によりバーチャルスクリーニングを実施しており、結合エネルギーにより、結合親和性 $10 \mu\text{M}$ を目安とする化合物を 1015 品目の選出まで完了している。選ばれた化合物の中には図 4 に示すような既に上市されている薬も含まれていた。

本課題の目的に対し、ERK2 を通じて、ストリング法を中心としたアンサンブル構造及びドラッグアブルポケット探索を融合した、新しいアロステリック中間体選定方法のプロトコル構築を達成した。今後、バーチャルスクリーニングで選定した化合物群の実験による活性評価結果を通じて、予測されたアロステリック部位の精度を検証し、開発したプロトコルを他の標的タンパク質へ適用拡大していく予定である。

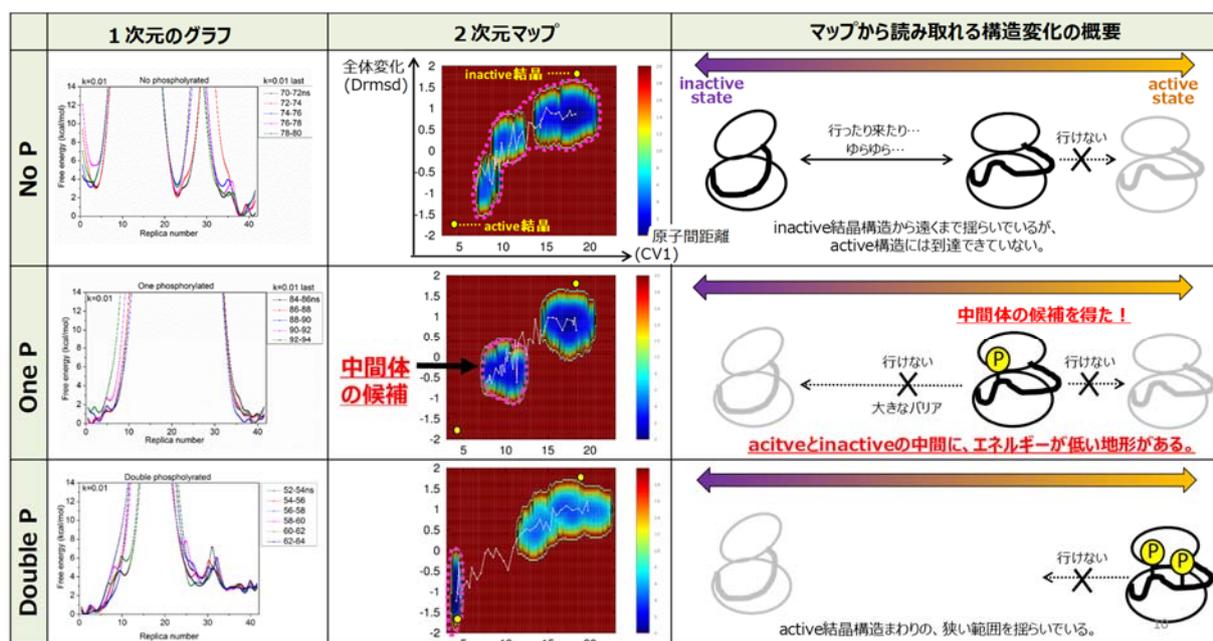


図 3 ストリング法による構造変化パスウェイ解析と中間体の同定

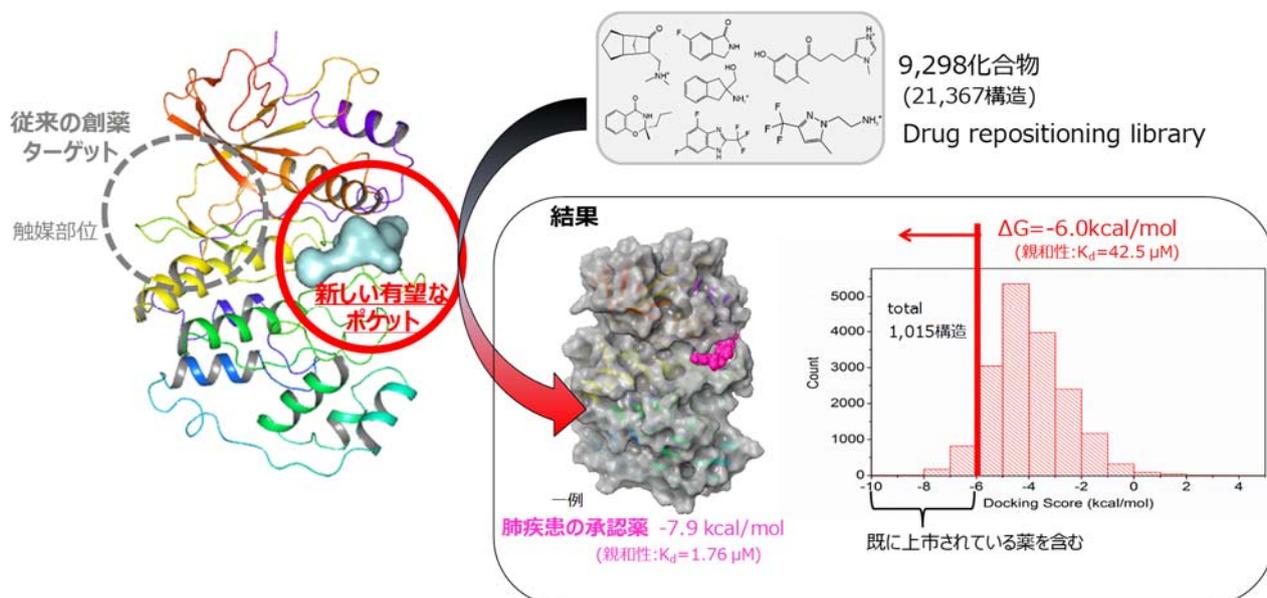


図4 中間体アンサンブル構造に高頻度で存在した新規アロステリック部位（左）及び既存薬ライブラリによるバーチャルスクリーニング実施結果（右）

また、仮想球（サブ課題 C①との連携）や医薬品に用いられる 5 種の官能基プローブ分子 (Mixed-Solvent) を溶媒に付加することで、Apo 結晶構造に比べ、バーチャルスクリーニングの濃縮率やドッキングの精度が向上した。図 5 は、特にドッキング問題で難しいとされるフラグメント分子を p38a MAP kinase に実施する際に、通常の水分子の MD と Mixed-Solvent MD で比較した結果である。水分子 MD で得られた構造を用いた場合、フラグメントが反転した状態でドッキングしてしまうが、Mixed-Solvent MD で得られた構造でドッキングを実施した際、p38a MAP kinase の hinge 構造と Pyridine 間が結晶構造と同様に相互作用するポーズが多く同定された。正しいポーズが得られることは、精度の高いバーチャルスクリーニングに不可欠な要素である。

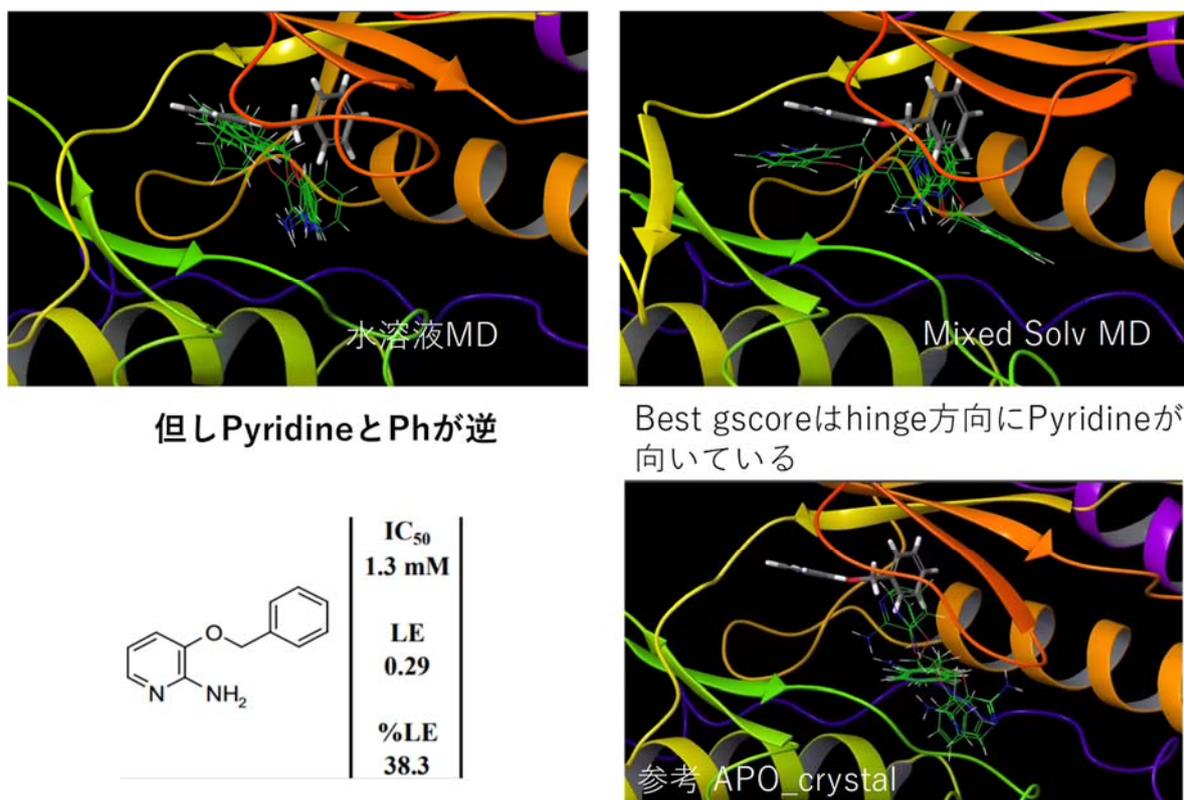


図5 p38a MAPkinase を標的に水分子 MD 及び Mixed-Solvent MD の構造アンサンブルを用いたフラグメントドッキング精度の検証

(2) DrugBank の標的タンパク質構造情報に基づく機能制御部位データベースの実装

昨年度に構築した機能制御部位データベースのプロトタイプを利用して、本年度は、まず、実装の前に DrugBank の最新情報へのアップデート作業を完了した。さらにマウス等の実験動物によるタンパク質構造データをヒトタンパク質データへ変換し、データベースへ追加登録を行った。その後、ホモロジーモデリング法により、野生型配列及び欠損部位の修復と最適化計算を実施し、リガンド結合部位 (SiteFinder 及び PLBindex 法を適用) を同定後、ドラッグビリティスコア (PLBindex 値) が 2 以上のリガンド結合能が高い部位について、Perl 及び SVL 言語を用いたワークフローにより、rDock に必要な入力ファイルの更新作業を完了した。これらのコンテンツ自体は、神戸医療産業都市推進機構の所有するサーバー (IMDA 5-8) へ移管は完了しており、現在は、周辺の外部関連プログラムである MOE (CCG 社) や rDock のインストールとリンク及び全体の動作確認を継続して行っているため、本年度の成果としては、実装のおよそ 8 割が達成されたと判断する。次年度は、CUI (Command User Interface) による計算やドッキング実行のための入出力環境の整備を、ユーザーからのフィードバックをもとに行う予定である。

(3) 共同研究を通じた機能部位予測結果の検証やバーチャルスクリーニングヒット率の評価

本年度は、筑波大学医学医療系の野口雅之研究室との共同研究において初期肺腺癌における標的タンパク質間相互作用阻害薬探索において機能部位予測結果の検証及びバーチャルスクリーニ

ングを行った。実施内容としては、①標的タンパク質間相互作用予測、②ドラッグブル（機能）部位予測、③バーチャルスクリーニングの3段階を行った（図6）。



図6 共同研究で実施した機能部位予測及びバーチャルスクリーニングの流れ

標的タンパク質間相互作用予測では、本疾患の標的タンパク質である SFN と SKP1 の立体構造を PDB より取得し、タンパク質-タンパク質ドッキング計算により SFN-SKP1 複合体を予測した（図7左）。その結果、相互作用エネルギーや出現するポーズのクラスタリング解析から、上位2結合ポーズが有意な複合体構造と判断された。SFN は、二量体構造を形成していることから、両サイドに SKP1 が結合していると考察すると2結合ポーズの結果予測は妥当であるといえる。複合体構造から SFN と SKP1 との相互作用に重要なアミノ酸残基は、変異体実験により IP Western 法で結合実験を通じて、実際に相互作用に関与していることが検証された（図7右）。

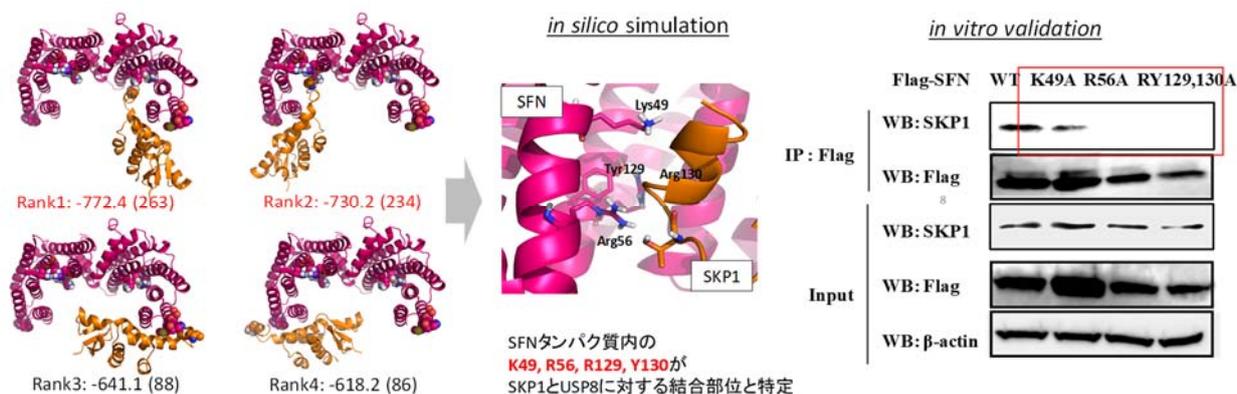


図7 SFN-SKP1 ドッキング計算結果及び変異体を用いた結合評価実験結果：左) SFN 及び SKP1 をそれぞれマゼンタ、オレンジのリボンモデルで表示。各ポーズについて、順位、ドッキングエネルギー、クラスタ数（カッコ内）を記している。ドッキング計算には、ClusPro プログラムを利用した。右) 複合体モデルから推定された結合部位に重要なアミノ酸をアラニンに変異させた SFN による IP Western による結合評価実験

次に、SFN タンパク質内の SKP1 結合部位周辺に存在するポケットのドラッグビリティを本課題で用いている機能部位予測法で評価した。その結果、ドラッグビリティを示す PLB 値が 2.86 であり、判定基準の 2 を上回ったことから、低分子結合が可能であると判断した。この結果に基づき、SKP1 と競合する医薬品候補となりうる小分子化合物を、既存薬データベース DrugBank からドッキング計算によるバーチャルスクリーニングを行い、ドッキングスコア上位化合物より、購入可能な 46 候補化合物の選定を行った (図 8 左)。候補化合物は、共同研究先の筑波大学で様々な生化学実験で評価が行われた。その結果、in vitro の結合阻害実験では、Aprepitant、Ticagrelor、Ezetimibe、Chlorhexidine の 4 化合物に阻害能が確認された (図 8 右)。

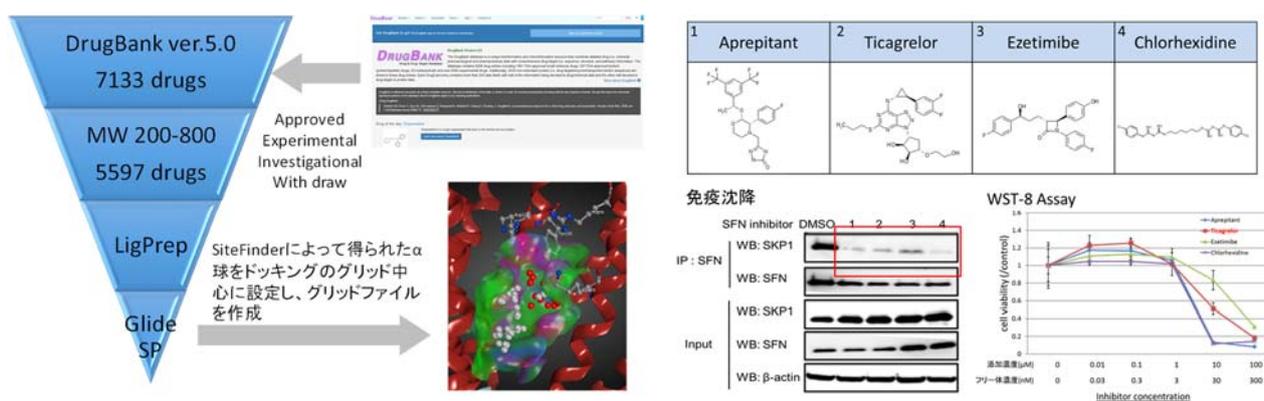


図 8 ドラッグブル機能部位に対する既知医薬品のバーチャルスクリーニング (左) 及び結合阻害評価実験結果 (右)。計算環境は、Schrodinger 社 LigPrep 及び Glide SP ツールを用いた。バージョンは、201504。力場は、OPLS3。DrugBank : <https://www.drugbank.ca/>

これらの 4 化合物について、肺腺癌細胞、A549 をヌードマウス皮下に 0 日目に移植 (5×10^6 cells/individual) し、翌日から毎日強制経口投与 (80 mg/kg/day) を行った結果、Aprepitant、Ticagrelor の 2 化合物について、強い腫瘍抑制効果を有することが確認できた (図 9)。

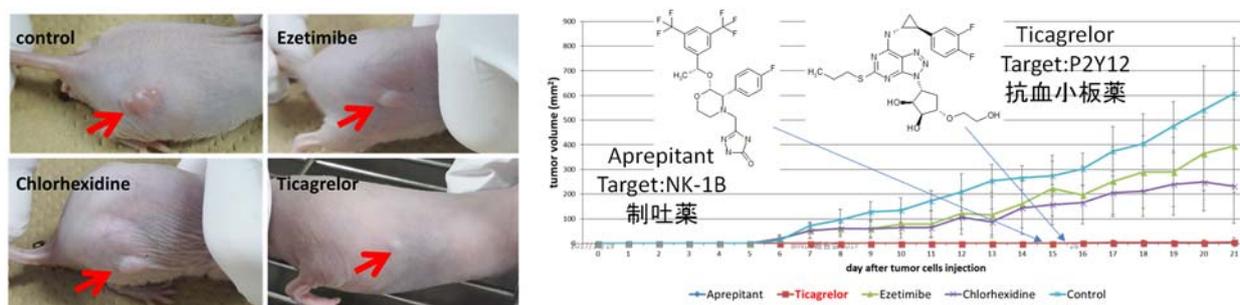


図 9 4 ヒット化合物に対する腫瘍抑制効果評価実験

本成果は、Clin Cancer Res.誌へ発表を行った。また、Aprepitant 及び Ticagrelor については、開発元の製薬会社へドラッグリポジショニングとしての可能性を検討している。本課題の目標である、共同研究を通じた開発技術の検証であるが、複合体モデリング及びドラッグブル機能部位は、共に

IP Western (部位の確認) 及び実際に *in vitro* 及び腫瘍抑制実験で化合物が同定 (ドラッグアビリティ) されたことで、創薬現場で適用可能な精度を示すことができた。またヒット率については、タンパク質間阻害剤探索という難易度の高い課題でありながらも、*in vitro* では、8.7% (4/46)、腫瘍予測性ヒットでは、4.3%と高いヒット率を達成した (一般的な酵素阻害剤探索では、10%程度)。

③創薬関連ビッグデータ (再委託先: 国立大学法人東京大学大学院新領域創成科学研究科 津田宏治)

本研究では、膨大なタンパク質構造と化合物の組み合わせから薬剤候補化合物を高速に探索する機械学習を基礎としたシステムを構築することを目的としている。平成 30 年度は、深層学習を用いて化学化合物を生成する方法である ChemTS を用いて、キナーゼなどのタンパク質構造に対して、rDock を用いたドッキングシミュレーションを行った。また、MD によって得られたタンパク質の動的構造に関して適用するための条件検討を行った。これらの結果に関しては、今後論文として発表する予定である。

ChemTS は、基本的には並列化に対応しておらず、ドッキングシミュレーションを並列に行って、高速にデータ収集を行うことができない。そのため、新たに、Grammatical Evolution (文法進化) に基づく化合物の新規生成手法である ChemGE の開発を行った。このアルゴリズムでは、初期的な化合物の集合から出発し、遺伝的アルゴリズムを用いて、徐々にドッキングスコアの良い集団を得ることができる。ドッキングスコアの計算は rDock を用いて行い、各世代で、スコア下位の個体を取り除き、ランダムに生成した新たな個体と入れ替えることで進化を行うことができる。

ここでポイントとなるのは、化学化合物を染色体と呼ばれる低次元の数値ベクトルで表現する方法と、染色体を化学化合物に射影するアルゴリズム (Mapping Process) である。ChemGE では、化合物の表現として、SMILES を用いる。また、図 1 に示すように、Mapping Process においては、SMILES の生成文法が用いられる。文法に含まれる生成規則に 0 から $n-1$ までの通し番号が振られる。Mapping Process では、まず初期シンボルが用意される。そして、染色体の整数ベクトルが、左から右にスキャンされ、各エントリの整数を n で割った剰余に対応する生成規則が適用される。このプロセスは、最終的に、非終端シンボルが無くなるまで繰り返される。染色体の右端に到達した場合には、再度左端に戻る。

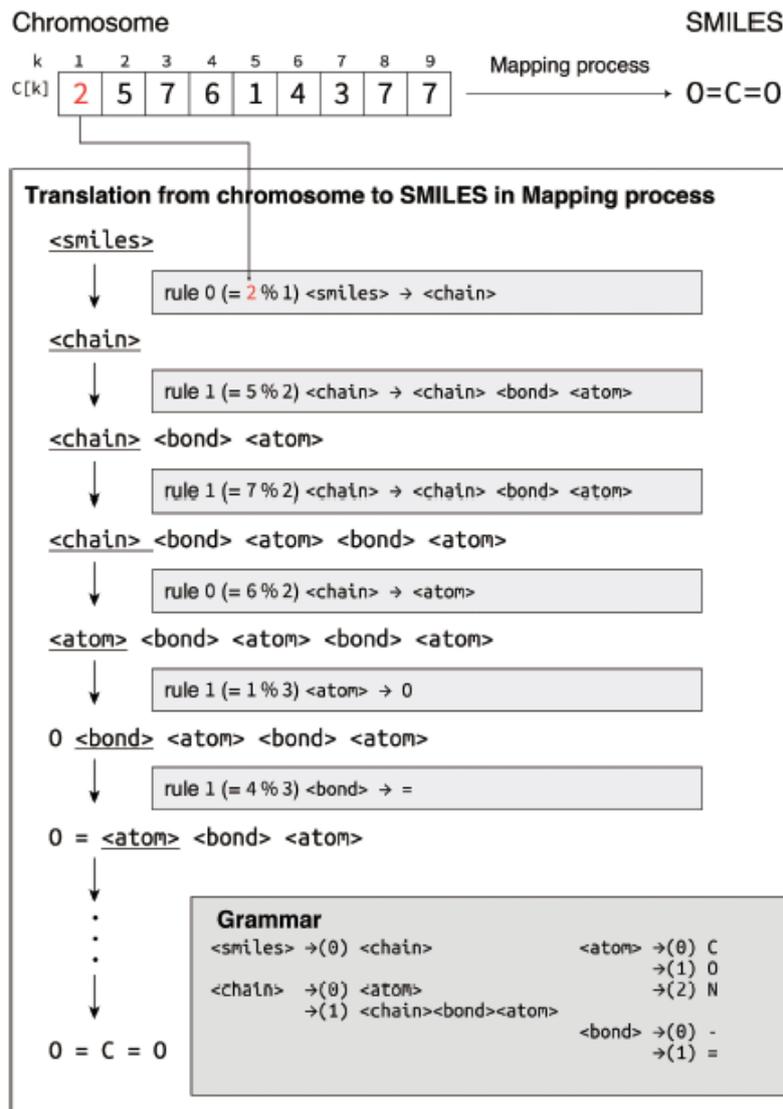


図 1 ChemGE の Mapping Process

本手法を用いてサブ課題 A と B で生み出された標的部位（タンパク質機能制御部位）の動的構造と、多数の化合物の組み合わせに適用することで、性能を評価した。特に、Thymidine Kinase (KITH) に対して高いドッキングスコアを持つ化合物の生成を行った。サイズ 64 の集団を用いて 1000 世代の進化を行った結果、32 コアを並列に用いて 26 時間の計算時間を要した。生成された 9466 個の分子の内、DUD-E データベースに登録されている 57 個の inhibitor よりも高いドッキングスコアを達成したものは 189 個であった。薬剤として用いるには、合成ルートの開発や、ADMET など、多々検討すべき点はあるとはいえ、多数の有望な候補を得ることができた。図 2 に、ZINC データベースにある全分子を ISOMAP で二次元に射影したものを示す。ここで、赤点は、ChemGE によって生成された各世代の分子集団を示す。図 2(a)が初期集団であり、図 2(d)が最後の 1000 世代目の集団である。遺伝的アルゴリズムにより、Chemical Space の中を大きく変動しながら進化していることがわかる。本成果は、Chemistry Letters 誌に掲載された。

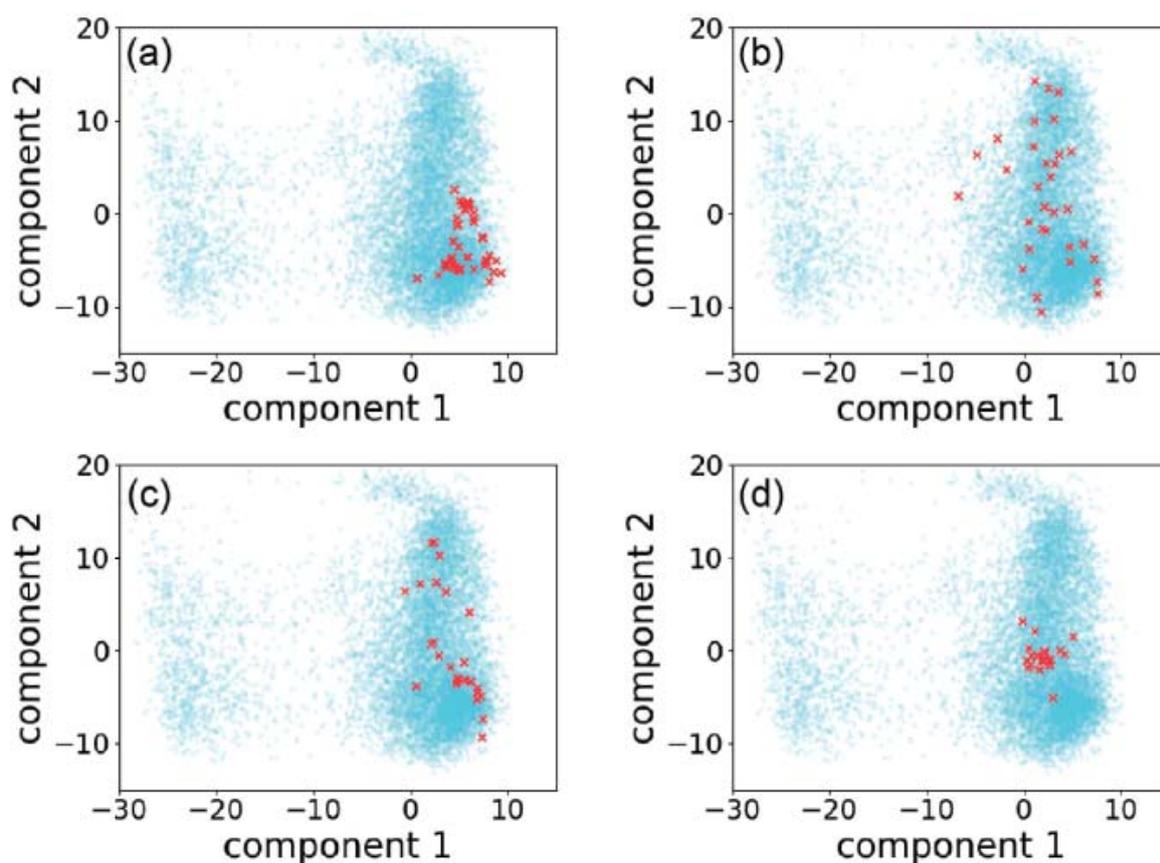


図2 ChemGEによって生成された分子集合の Chemical Space における変遷

④標的分子ネットワーク（再委託先：国立大学法人東京工業大学生命理工学院 北尾彰朗）

平成 30 年度は、これまで開発してきた、創薬ターゲットとなりうるタンパク質-タンパク質複合体のモデル構造を粗視化ドッキングで大量に構築し、全原子構造で精密化した上でそのモデルの中から最適構造モデルを選択するという計算手順を、さらに効率化する開発を行った。具体的には粗視化ドッキングで得られた大量のモデル構造に関して全原子 MD と ER 法を用いてモデル間の結合自由エネルギー差を評価することで、粗視化ドッキングから構築したタンパク質複合体モデルの全原子構造を高速に最適化する計算法である **evERdock** (**evaluation with the Energy Representation method of docking generated decoys**) の予測精度をより高め、計算量を軽減するための改良を行った。evERdock 法では、水分子を露に含めた全原子 MD 計算に基づいて、結合自由エネルギー差を求めるので、従来行われているような簡易的なエネルギー計算に基づく立体構造モデル評価より、高い精度が得られる。

前年度の改良では、複合体界面の最適化が重要であることが明らかになっていた。モデル構造が、実際の複合体構造に RMSD で見て近いというだけでなく、界面におけるタンパク質間の重要な相互作用が形成されていることが重要であることが示されていた。特に、界面には相互作用を安定化している水分子が存在しており、これらの界面水分子の位置を予め予測して水分子を配置

してから ER 計算を行うことで、複合体モデルの評価の精度を向上させることができた。これらの知見を踏まえて、平成 30 年度の改良の第一段階では、以下に述べるように、evERdock 法に全原子の長時間 MD による構造精密化と複数構造に対して ER 法の適用を追加することで、正解により近いモデル構造を選択する精度を高める改良を達成することができた (図 1)。

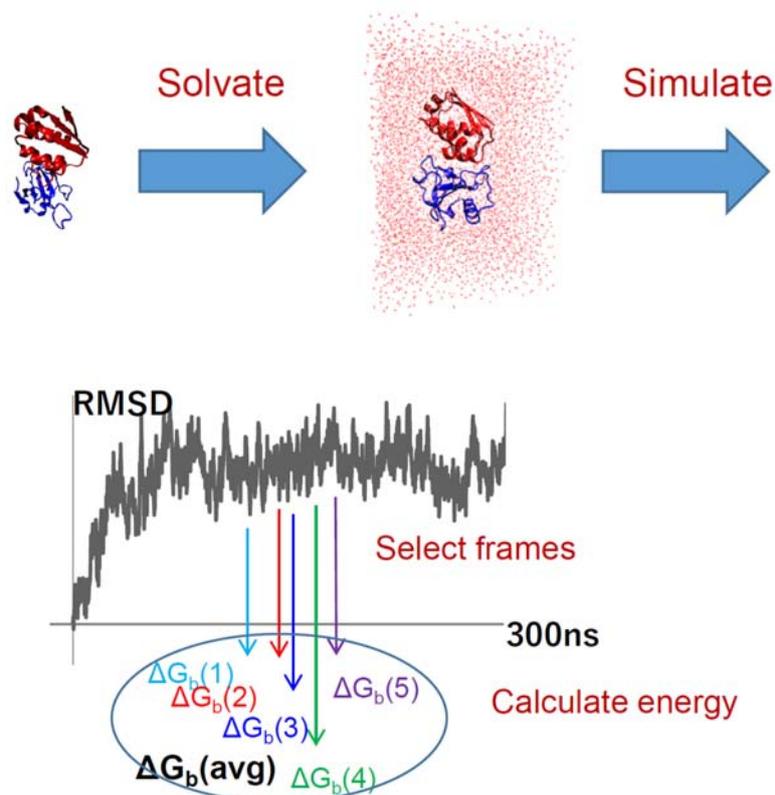


図 1 改良型の evERdock の計算手順。得られたモデル構造は、水和させた後、100 ns の MD 計算で最適化する。さらに複数の構造を選んで、それぞれの構造に関して ER 計算を行う。

具体的には、前年度までの evERdock 法に比べて、下記のような改良点がある。まず従来法では、剛体ドッキングの後、側鎖の最適化、界面水分子の配置の予測を行い、全体構造のエネルギー極小化後に全体を水和させ、MD による短時間 (1 ns) の平衡化の後、ER 計算に用いるサンプリングのための 1 ns の MD を実行していた。この手順は既に剛体ドッキングで得られたモデル構造が比較的良好な場合に適した方法であるが、ER 法にさらなる構造最適化を加えることで初期モデル構造がそれほど良くない場合にもより良いモデル構造が得られる可能性があると考えた。そこで我々は ER 計算の前に 100 ns の MD 計算を実行することにより、複合体モデルをより最適化することにした。また、従来法では ER 計算は 1 つのモデルに対して 1 構造を用いて行っていた。しかし、新しい方法では、最適化の過程で得られた安定構造の中から複数の構造を選び、それぞれに対して ER 計算を行い、平均の結合自由エネルギー差から最適なモデルを選択することにした。

今回の改良型 evERdock の対象としては、既にこれまでベンチマークとして用いてきた 2 つの複合体を用いることにした。具体的には、Barstar と RNase SA の複合体（以下では、PDB ID である 1AY7 を用いて呼称とする）と CMTI-I squash inhibitor と Bovine β -trypsin の複合体（PDB ID: 1PPE）である（図 2）。

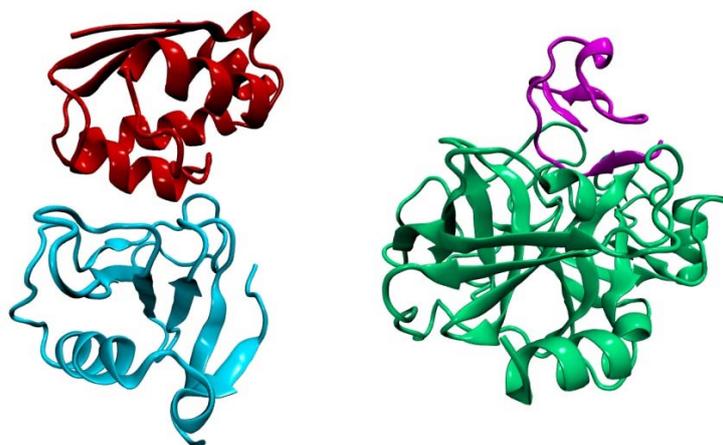


図 2 ベンチマークとして用いたタンパク質-タンパク質複合体の立体構造。Barstar (赤) と RNase SA (シアン) の複合体 (左 ; PDB ID: 1AY7) と CMTI-I squash inhibitor (マゼンタ) と Bovine β -trypsin (緑) の複合体 (右 ; PDB ID: 1PPE)。

また評価には、それぞれの複合体に関して、図 3 に示した 8 構造を用いた。Xray は X 線結晶構造解析で得られた複合体構造そのものであり、NND はドッキングで得られた一番結晶構造に近い構造 (Nearest Native Decoy) を表している。それ以外のモデルは、結晶構造からの RMSD が、2, 3, 4, 6, 8, 10 Å (Ir2 から IR10) となるものを選んだ。

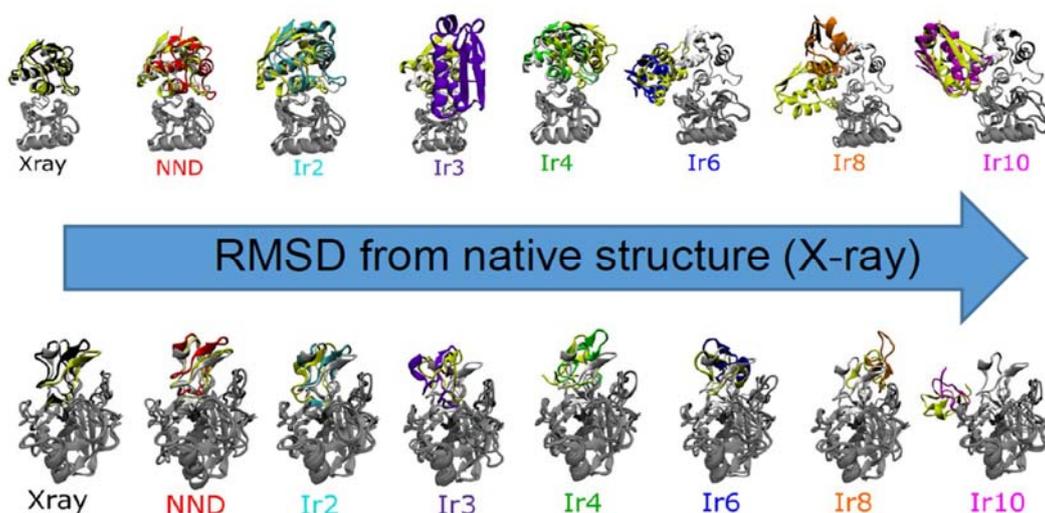


図 3 計算に用いた 1AY7 (上) と 1PPE (下) の複合体モデル

これらの構造を evERdock で評価した結果について以下に述べる。ER 計算の前の MD による平衡化の過程で、良くないモデル構造は不安定化し、解離するものもあった。一方で、天然構造に近いものは最適化 MD 実行中に構造は安定であった。図 4 には、ER 計算の結果を示す。具体的には、X 線構造からのインターフェース RMSD ($\text{RMSD}_{i,\text{xray}}$) の関数として水和自由エネルギー差 ($\delta\Delta\mu_c$)、複合体の構造エネルギー差 (δE_c)、そしてそれらの和である結合自由エネルギー差 ($\delta\Delta G_b$) を示した。最適化前 (黒のシンボルで示したもの) と MD による最適化後 (赤) を比較すると、水和自由エネルギー差は明らかに最適化後に大幅に低くなっていることがわかる。このことは、最適化前は立体構造が水和という面で十分最適化されていないことを示している。逆に複合体の構造エネルギー差は、最適化後の方が高くなっている。この結果は最適化前には複合体の構造エネルギーのみが低くなる構造になっていることを示している。水和自由エネルギー差と構造エネルギー差の和である結合自由エネルギー差は、全体的に最適化後に低くなっていることがわかる。これは MD による最適化の効果であり、最適化によって、よりエネルギー的に安定な立体構造を生成することに成功していることを明確に示している。

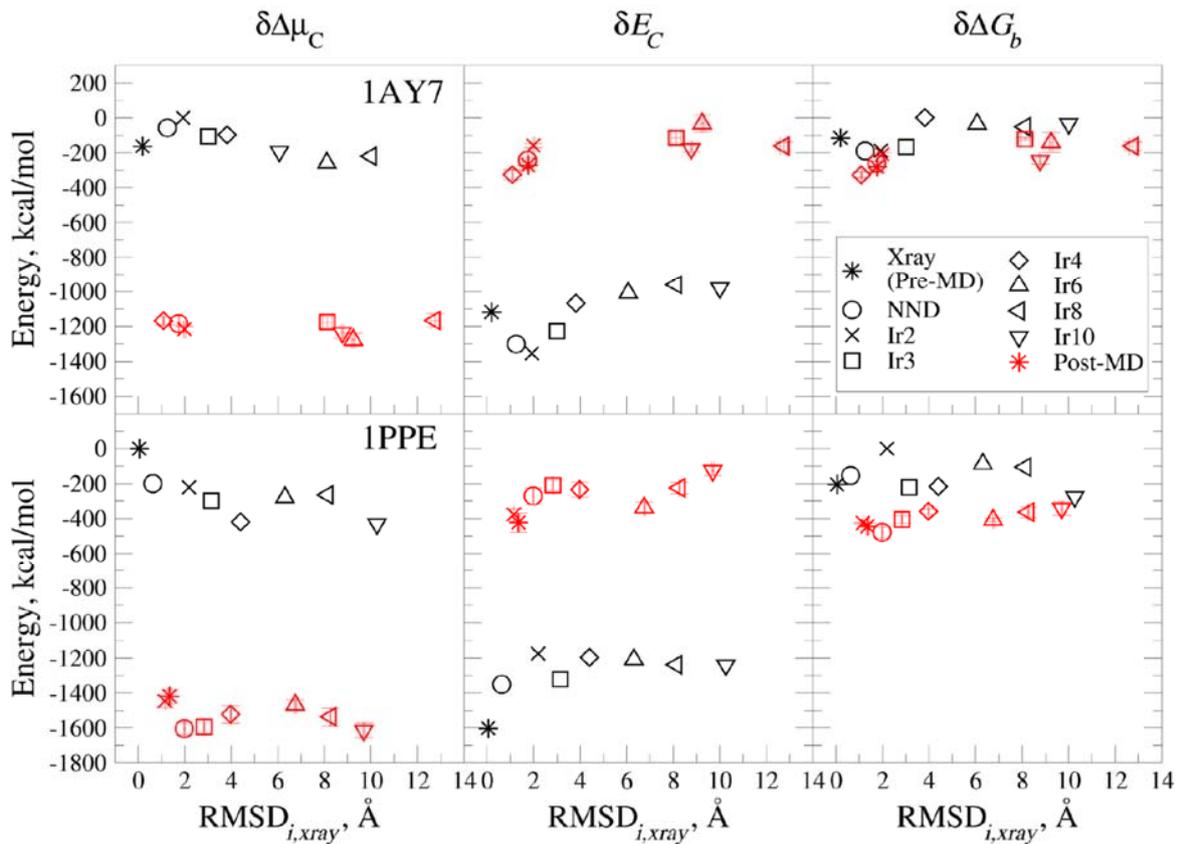


図 4 最適化前 (黒) と MD による最適化後 (赤) のエネルギーの値を X 線構造からのインターフェース RMSD の関数として示したもの。上は 1AY7 の、下は 1PPE の結果を示す。

図 5 には、インターフェース RMSD ($\text{RMSD}_{i,\text{xray}}$) と天然コンタクトの比率 (f_{nat}) の関数として結合自由エネルギー差 ($\delta\Delta G_b$) を示した。エラーバーの大きさで明らかなように、1 構造に関する

ER 計算だけでは無視できない差があるが、複数構造に対する ER 計算を行うことで、結合自由エネルギー差がインターフェース RMSD や天然コンタクト比率と良く比例するようになることがわかった。つまり、複数構造に対して ER 計算を行うことで evERdock による予測精度が向上することを示している。

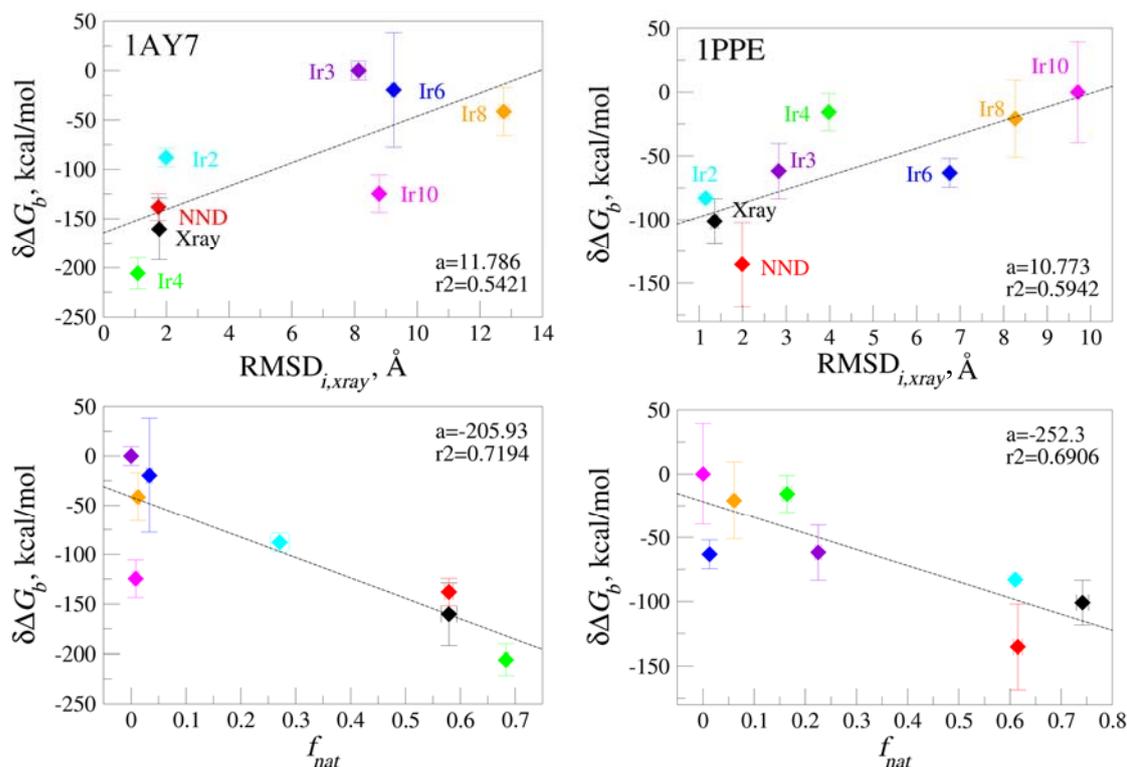


図5 インターフェース RMSD と天然コンタクト比率 (f_{nat}) でみた結合自由エネルギー差。エラーバーは分散を示す。

このように、MD による最適化と複数構造に対する ER 計算によって evERdock による最適複合体モデル構造選択の精度を向上させることができた。この研究で得られた成果を 30 年度に J. Chem. Phys 誌に発表した (A Shinobu, K Takemura, N Matubayasi, A Kitao, J. Chem. Phys 149 (19), 195101, 2018)。

上記の結果を踏まえると、MD 構造による最適化と複数構造による ER 計算は重要であるが、一方で計算量は増加してしまう。そこで第二段階として、サブ課題 C の津田グループと共同で evERdock 法に機械学習の一種であるベストアームアイデンティフィケーション (BAI) 法を導入することで、複数構造モデルで評価するために要する平均計算時間の効率化を行った。具体的には、機械学習による予測を用いることで、最適でない複合体モデルに関しては多数回の MD 計算は行わないで無駄な MD 計算を省略し、計算が高速化できる。既に第一段階で用いた、1AY7 と 1PPE によるテスト計算により、十分計算の高速化が達成できる見込みになったので新たな試みとして、SUBTILISIN BPN と STREPTOMYCES SUBTILISIN INHIBITOR の複合体に関する計算も

進めた。このケースでも、大幅に計算時間を短縮することができた。次年度にはこれらの結果をまとめて、論文発表を行うことを計画している。

⑤生体系マルチスケールモデリング（再委託先：国立大学法人東京大学大学院情報学環 寺田透）

本研究では、心臓シミュレータ UT-Heart を用いた、遺伝子変異や薬剤による不整脈誘発リスクの予測システムの構築を目指して、分子シミュレーションに基づく、電位依存性イオンチャネルの動作モデル構築法の開発と、薬剤と心筋イオンチャネルの相互作用予測法の開発を行っている。

まず、電位依存性イオンチャネルの動作モデル構築法の開発の成果を述べる。平成 30 年度は、心筋カリウムチャネル hERG の電子顕微鏡構造に基づき、電位センサードメインのモデルを構築した。まず、Protein Data Bank (PDB) から hERG の電子顕微鏡構造 (PDB ID: 5VA2) の座標データをダウンロードした。電位センサードメインは 398-545 残基に対応するが、S1 ヘリックスと S2 ヘリックスの間のループ (434-451 残基) と S3 ヘリックスと S4 ヘリックスの間のループ (511-519 残基) の座標が欠損しているという問題があった。電位センサードメインのモデルを構築するためには、これらの残基の座標をモデリングにより補う必要があるが、これらのループがポアドメイン (546-670 残基) と接触している可能性があるため、これらを含む領域 (398-863 残基) のモデリングを行った。具体的には、欠損残基の前後 2 残基を含む、432-453 残基、509-521 残基、576-584 残基、596-604 残基について、Modeller を用いてループモデリングを行った。なお、576-584 残基と 596-604 残基の領域はポアドメインに含まれている。また、二次構造予測サーバ JPred により、450-453 残基の領域と、509-513 残基の領域については、それぞれ α ヘリックスを形成していると予測されたことから、これらの領域に α ヘリックスを形成させる束縛を課した。100 個のモデルを生成し、DOPE スコアが -4000 以下となるモデル 12 個を選択した。ここから、生成したループが無理なく広がっているモデル 1 つを目視により選択した。このモデルから電位センサードメインを含む領域 (398-547 残基) を取り出し、これを CHARMM-GUI サーバを用いて水和した脂質二重層に埋め込んだ。続いて、1 μ s の MD により系を平衡化し、初期モデルとした (図 1)。

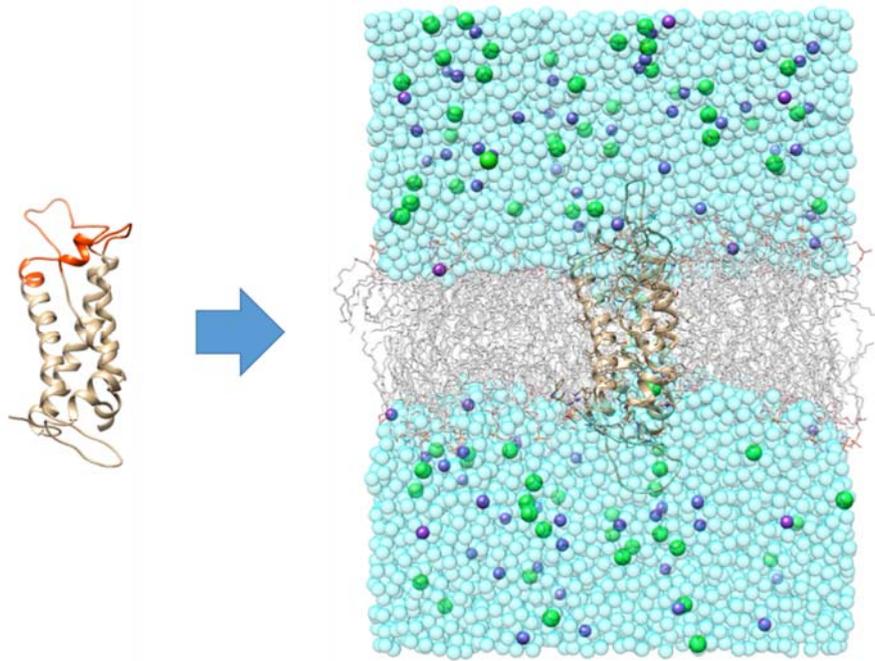


図1 左：心筋カリウムチャネル hERG の電位センサードメインの立体構造。モデリングにより補ったループを橙色で示す。右：これを水和した脂質二重層環境中で平衡化した初期モデル。タンパク質を茶色、脂質分子を灰色、水分子を水色、K⁺イオンを紫色、Cl⁻イオンを緑色で示す。

電子顕微鏡構造では、電位センサードメインは活性化状態にあると考えられている。電位依存的な立体構造変化の経路を推定するために、静止状態のモデリングを行った。ここではまず、PaCS-MDを用いて力をかけずに静止状態に遷移させることを目指した。ここでは、Arg528のC α 原子のz座標の値から、Phe463のC α 原子のz座標の値を差し引いたもの (Δz) を立体構造変化の指標とした。 Δz は活性化状態では正の値をとるが、静止状態では負の値をとると考えられる。100 psのMDを16本独立に実行し、これらの中から Δz がより小さな値をとるスナップショットを選択し、そこからMDをスタートするサイクルを1000回以上繰り返した。さらに初期構造を変えてこれを10回繰り返した。初期構造から10 Å程度の構造変化を実現したが(図2A)、構造変化した構造を維持することができず、短いMDの間に Δz の値が増大してしまうことから、得られた構造はエネルギー障壁を登る過程の途上にあり、自由エネルギー極小状態に対応する静止状態への遷移は起こらなかったと結論付けた。このPaCS-MDでは膜電位をかけておらず、脱分極状態に対応するため、活性化状態が自由エネルギー最小状態となると考えられる。そこで、静止状態が自由エネルギー最小状態となるよう、静止電位に相当する-0.1 Vの膜電位をかけたPaCS-MDを実行した。なお、膜電位なしの平衡化MDの最終構造を初期構造とし、-0.1 Vの膜電位をかけた100 nsのMDを実行することで、系をあらかじめ平衡化している。ここでも11 Å程度の構造変化が観察されたが(図2B)、やはり構造変化した構造を維持できないことから、静止状態への遷移は起こらなかったと結論付け、PaCS-MDによる立体構造変化経路の推定を断念した。

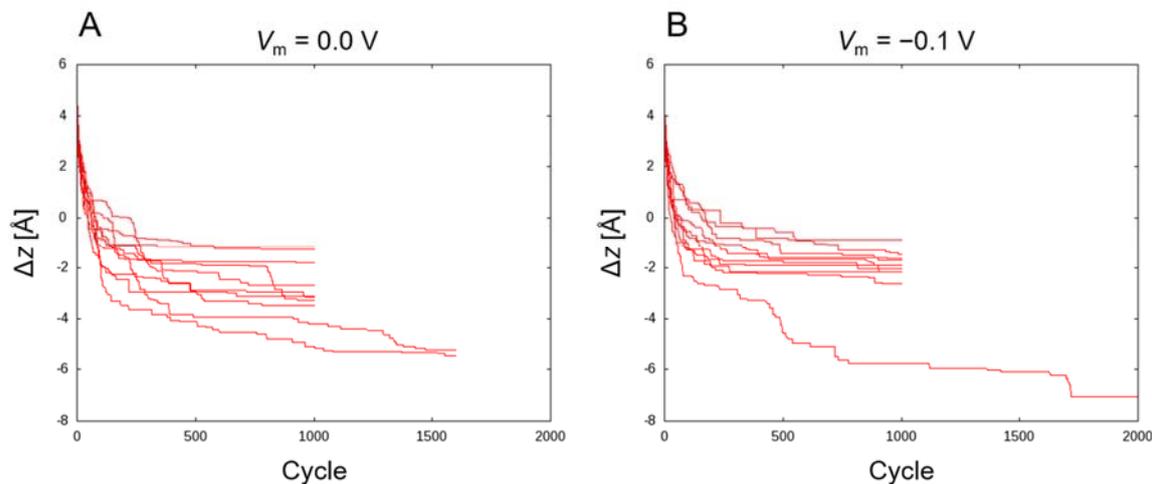


図2 PaCS-MDの繰り返し回数 (Cycle) に対する Δz の変化。A: 脱分極状態 ($V_m = 0.0 \text{ V}$) におけるシミュレーション。B: 分極状態 ($V_m = -0.1 \text{ V}$) におけるシミュレーション。

そこで、平成29年度まで方法論開発のモデル系としていた、神経系で機能している *Shaker* ファミリーの電位依存性イオンチャネルの研究から得られた知見を用いて、静止状態の立体構造を予測した。この知見によれば、S4ヘリックスは、立体構造変化の過程で、 α ヘリックスの軸に沿って2巻き分細胞内側に移動し、さらにこの α ヘリックスの軸の周りに-45度回転すると予測される。このようにして予測された静止状態のモデルと、活性化状態にある初期モデルの間を内挿したモデルを99個生成し、これらをガイドとして初期モデルを静止状態まで牽引するMDシミュレーションを行った。具体的には、位置束縛を課したMDを、参照構造を初期モデルに近いガイドモデルから順に静止状態に近いガイドモデルに1 nsごとに変更しながら繰り返した。これにより、各MDの最終構造として、電位依存的な立体構造変化の推定経路に沿ったモデルを101個生成した(図3)。-0.1 Vの膜電位を課した条件においても同様に実行した。

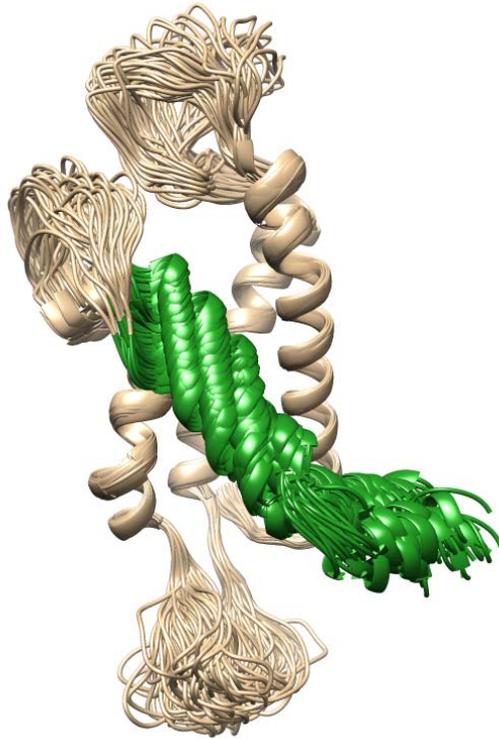


図 3 電位依存的な立体構造変化の推定経路に沿った 101 個のモデルの重ね合わせ。S4 ヘリックスを緑色で示した。

次に、薬剤と心筋イオンチャネルの相互作用予測法の開発の成果を述べる。平成 30 年度は、実験的に立体構造が決定していない心筋ナトリウムイオンチャネル (hNav1.5) のモデリングに取り組んだ。ここではまず、デンキウナギのナトリウムチャネル (eeNav1.4) の電子顕微鏡構造 (PDB ID: 5XSY) を鋳型としてモデリングを行った。eeNav1.4 の配列の hNav1.5 の配列に対するカバー率は 86%、一致度は 58% であり、種や機能は異なるものの、hNav1.5 は eeNav1.4 と類似した立体構造をとると期待される。心筋カリウムチャネル hERG はホモ 4 量体構造をとっているが、hNav1.5 は 1 つのポリペプチド鎖から成り、その配列には hERG のサブユニットに相当する配列が 4 回繰り返す構造が含まれる。ここではこのうち、リピート I に相当する 119-442 残基、リピート II に相当する 698-942 残基、リピート III とリピート IV に相当する 1188-1783 残基のモデリングを行った。モデリングによって得られた hNav1.5 の立体構造を図 4 に示す。

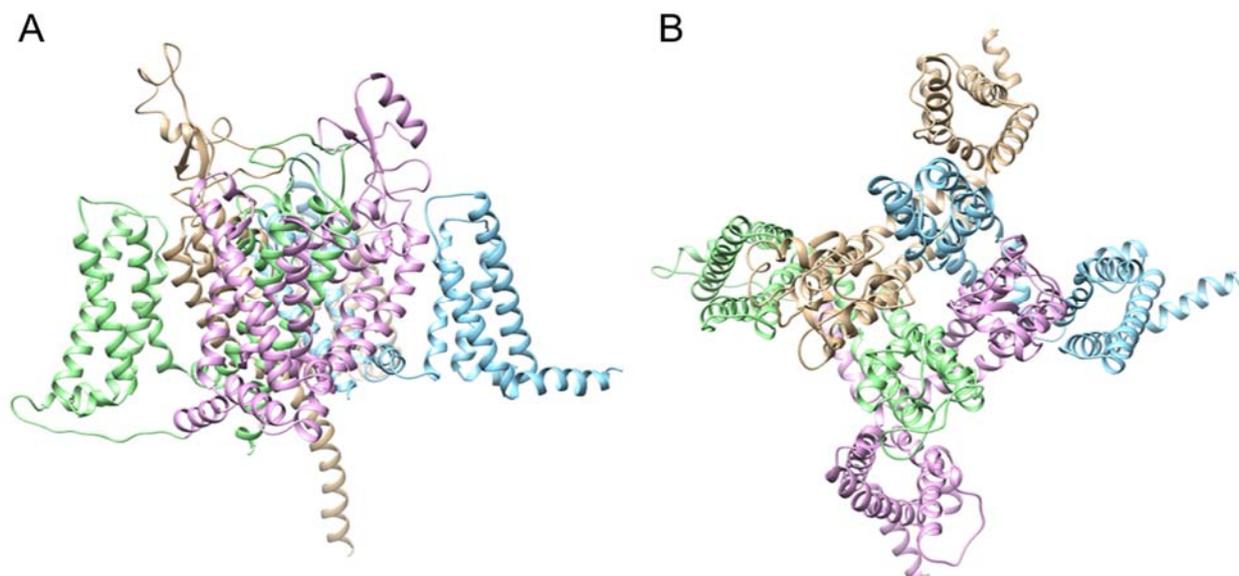


図4 デンキウナギのナトリウムチャンネル (eeNav_v1.4) の電子顕微鏡構造を鋳型とした心筋ナトリウムチャンネル (hNav_v1.5) のモデル。A：横から見た構造。B：細胞外側から見た構造。リピート I を茶色、リピート II を水色、リピート III を桃色、リピート IV を緑色で示した。

続いて、モデルのポア領域のみ、ポア領域+S4-5 リンカ、全長（ポア領域+S4-5 リンカ+電位センサードメイン）をそれぞれ水和した脂質二重層に埋め込み、MD を実施して安定性の評価を行った。ポア領域の初期構造からの RMSD を図 5 に示す。ここから、ポア領域の構造を安定に保つためには S4-5 リンカが必要であることが明らかとなった。このため、ポア領域+S4-5 リンカを用いて薬剤との相互作用を解析することとした。

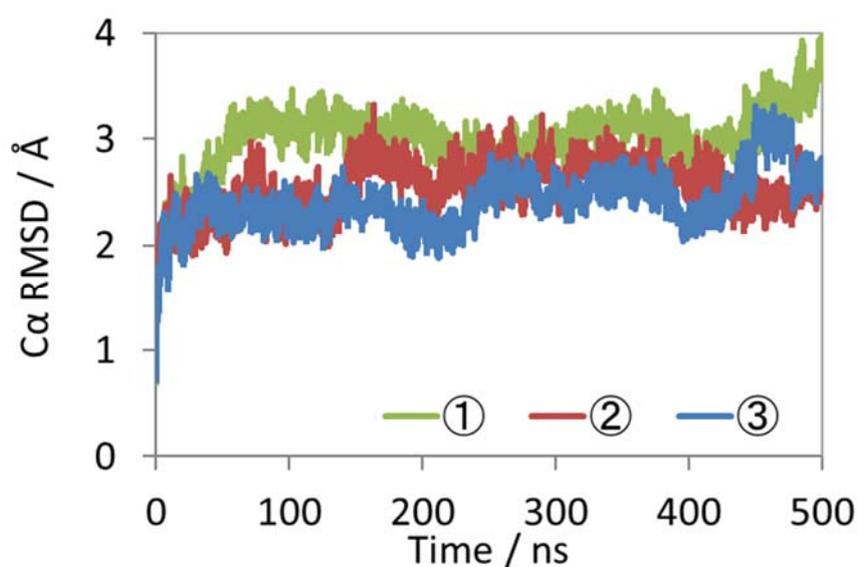


図5 eeNav_v1.4 を鋳型とした hNav_v1.5 のモデルの、①ポア領域、②ポア領域+S4-5 リンカ、③全長（ポア領域+S4-5 リンカ+電位センサードメイン）に対する水和した脂質二重層環境中での MD における、ポア領域の初期構造からの C α RMSD の時間変化。

平成 30 年 10 月にヒトの骨格筋で機能しているナトリウムチャンネル $hNa_v1.4$ の電子顕微鏡構造が公開された。 $eeNa_v1.4$ は配列一致度が 58%、分解能が 4.0 Å であるのに対して、 $hNa_v1.4$ はそれぞれ、67%、3.2 Å であるため（カバー率は 87%）、モデルの精度の向上が期待された。PDB から $hNa_v1.4$ の電子顕微鏡構造（PDB ID: 6AGF）の座標データをダウンロードし、これを鋳型としてモデリングを行った。ここでは、119-429 残基（リピート I）、698-943 残基（リピート II）、1188-1781 残基（リピート III 及びリピート IV）のモデリングを行った。モデリングの結果得られた $hNa_v1.5$ の立体構造を、 $eeNa_v1.4$ を鋳型としたモデルに重ね合わせて図 6 に示す。

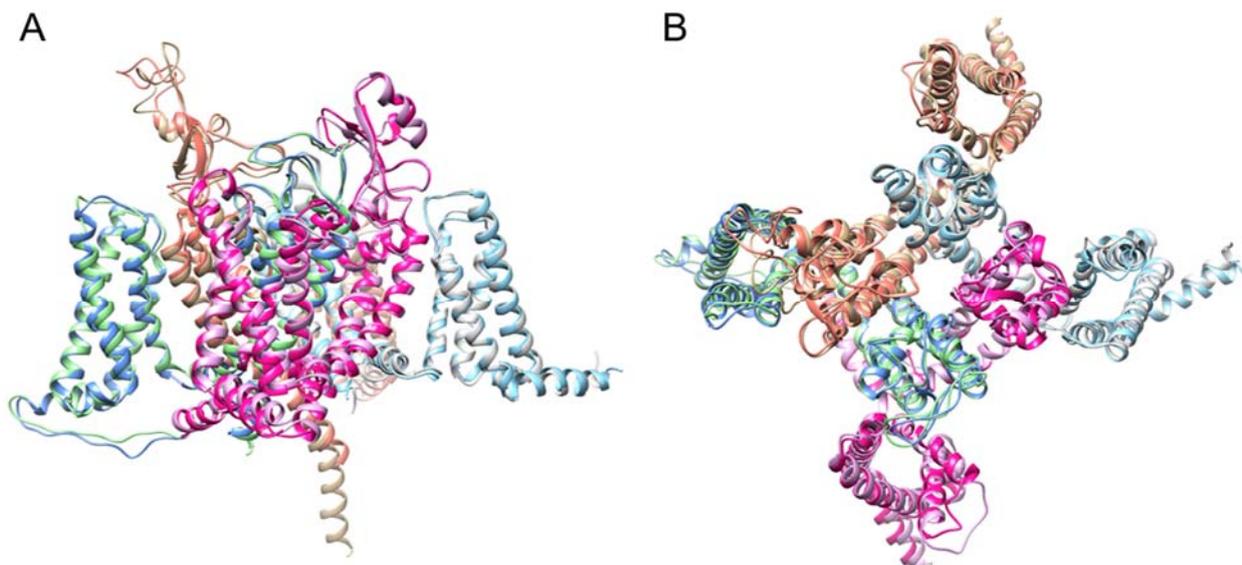


図 6 ヒト骨格筋ナトリウムチャンネル ($hNa_v1.4$) を鋳型とした $hNa_v1.5$ のモデルの、 $eeNa_v1.4$ を鋳型としたモデルへの重ね合わせ。A：横から見た構造。B：細胞外側から見た構造。 $hNa_v1.4$ を鋳型としたモデルのリピート I を橙色、リピート II を灰色、リピート III を赤紫色、リピート IV を青色で示した。 $eeNa_v1.4$ を鋳型としたモデルについては図 4 と同じ。

$eeNa_v1.4$ を鋳型としたモデルと同様に、モデルのポア領域のみ、ポア領域+S4-5 リンカ、全長をそれぞれ水和した脂質二重層に埋め込み、MD を実行した。ポア領域の初期構造からの RMSD を図 7 に示す。 $eeNa_v1.4$ を鋳型としたモデルと同様に、ポア領域の構造を安定に保つためには S4-5 リンカが必要であることが示された。

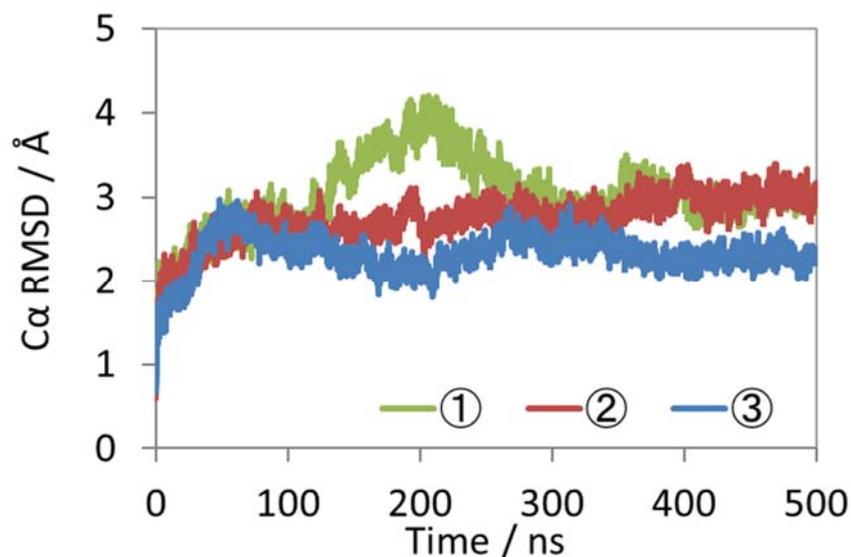


図7 hNav_v1.4 を鋳型とした hNav1.5 のモデルの、①ポア領域、②ポア領域+S4-5 リンカ、③全長（ポア領域+S4-5 リンカ+電位センサードメイン）に対する水和した脂質二重層環境中での MD における、ポア領域の初期構造からの C α RMSD の時間変化。

eeNav_v1.4 を鋳型としたモデルと、hNav_v1.4 を鋳型としたモデルは、全体的な構造は良く似ているものの、一部の残基で側鎖の向きが異なっているなど、局所的な構造の違いが見受けられる。MD における安定性は両者に違いは見られないため、パッチクランプ実験による IC₅₀ 値が得られている 12 種類の薬剤をドッキングし、ドッキングスコアと IC₅₀ 値から推計された結合自由エネルギーの値との間の相関に基づいてモデルを選択することとした。ここでは、併せてドッキング条件の検討を行った。探索中心をポア中心付近に位置する Tyr1767 とし、探索範囲を規定する inner box（薬剤の中心座標がこの中に入る）のサイズと outer box（薬剤のすべての原子がこの中に入る）のサイズの組をデフォルトの（10 Å、30 Å）とした条件と、これを狭めた（8 Å、24 Å）とした条件を比較した。ドッキングシミュレーションには Glide の XP モードを用いた。図 8 にこの結果を示す。

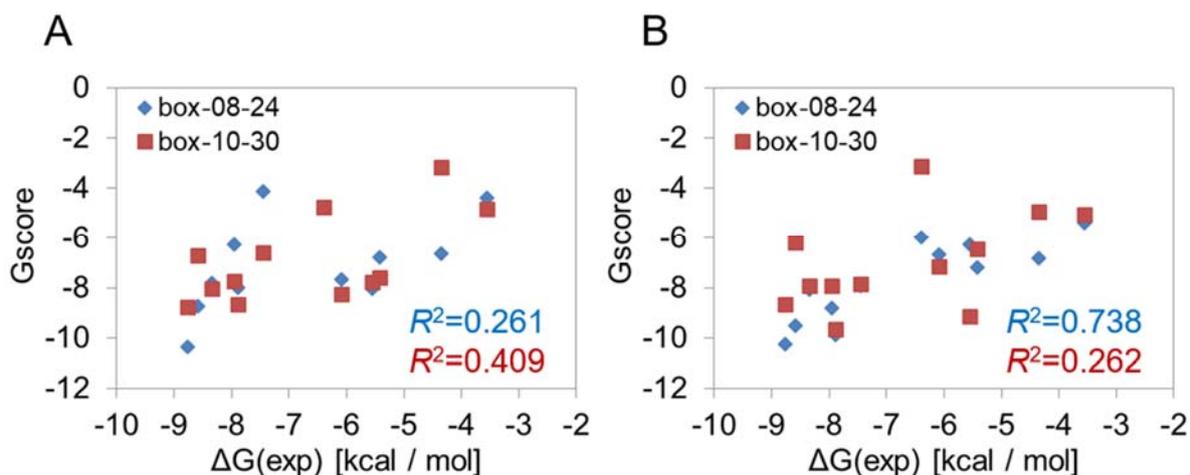


図 8 IC50 値から推計した結合自由エネルギー値 ($\Delta G(\text{exp})$) に対するドッキングスコア (Gscore) の散布図。A : eeNa_v1.4 を鋳型としたモデルに対するドッキング結果。B : hNa_v1.4 を鋳型としたモデルに対するドッキング結果。

ここから、hNa_v1.4 を鋳型としたモデルを用い、inner box と outer box のサイズの組を (8 Å、24 Å) としたときに、ドッキングスコアと IC50 値から推計された結合自由エネルギーの実験値との間の相関が最も良くなることが示された。従って、今後はこの条件でドッキングシミュレーションを行う。相関のさらなる向上を目指して、探索中心を Asn406、Leu1462、Phe1760、Tyr1767 の重心としたドッキングも試みたが、 R^2 値は 0.563 となり向上は見られなかった。hNa_v1.4 を鋳型としたモデルと薬剤とのドッキング構造を解析したところ、このモデルには薬剤との結合の障害となる構造上の問題は見当たらなかったため、モデル自体の改良は必要ないと判断した。

平成 30 年度は、平成 29 年度までに開発した心筋カリウムチャネル hERG に対する相互作用の予測法の改良も行った。MP-CAFEE 法によって計算された 12 種類の薬剤の結合自由エネルギーの計算値と実験値の間の R^2 値は 0.767 と高い相関を示したが、2 つの薬剤で回帰直線からのずれが大きいことが同時に明らかとなった (図 9A)。このうち、薬剤 A は、正に荷電した官能基を持っているが、ドッキング構造では、これがポアの外側に位置していた。これに対して、ドッキングを行った 47 種類の薬剤の大部分で、正に荷電した官能基はポアを中心付近に位置していることが明らかとなった。このため、ドッキング構造の出力数を増やして薬剤 A について改めてドッキングシミュレーションを行ったところ、スコアトップのドッキング構造は正に荷電した官能基がポアを中心付近に位置しており、この構造に対して結合自由エネルギーの値を計算したところ、以前の構造と比べて親和性が増大し、実験値との相関が向上することが示された (図 9B)。一方、薬剤 B については、実験的に直接相互作用しないとされている残基と相互作用していたため、これと相互作用しないよう制約を課したところ、親和性が低下し、実験値との相関が向上することが示された (図 9B)。これらの改良により、結合自由エネルギーの計算値と実験値の間の R^2 値は 0.909 と大幅に向上した。このように、薬剤の親和性を高い精度で予測するためには、多数の薬剤で共通している構造上の特徴や実験データを考慮してドッキングを行うことが重要であるといえる。

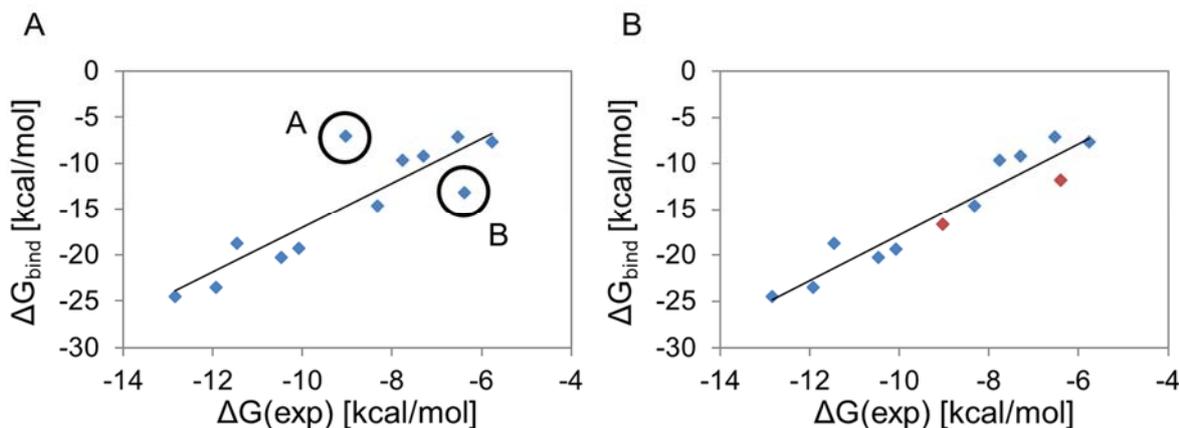


図9 結合自由エネルギーの実験値に対するMP-CAFE法による計算値の散布図。A：平成29年度の結果。回帰直線からのずれが大きい2つの薬剤の点を丸で囲んだ。B：改良後の結果。2つの薬剤の改良後の点を赤茶色で示した。

(4) プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、執行部会議を定期的実施し、プロジェクト運営全般の検討・決裁・指揮を行った。重点課題1ワークショップ（全体会議）を8月及び1月に開催し、サブ課題間・分担機関間での相互連携を推進し、プロジェクト全体の進捗状況を確認しつつ計画の見直し等を行った。プロジェクトで得られた成果については、シンポジウムやウェブサイト、新聞メディアなどの記事掲載、研究紹介コンテンツなどにより積極的に公表した。平成30年度も日本生物物理学会などバイオ計算に関心の高い研究者を数多く集める学会との共催により本課題に関連した発表枠を設け、効果的な討論、意見交換を行った。

また、当初は、国際シンポジウム開催を予定していたが、平成31年度に重点課題2との連携シンポジウムを行うこととし、平成30年度は分野横断的なオープンな学術的会合「計算科学フォーラム」での発表や一般向けの講演会・スパコンを知る集いでの発表を通して、幅広い層へも本プロジェクトのプレゼンスを高めることができた。

また若年層が研究者として将来的な参画を図ることを目的に、高校生対象のイベントや出張講義などのアウトリーチ活動を通して今後の展開に役立てた。

さらに、協力機関との連携活動として、ポスト「京」の利用促進のため創薬計算を容易に行うためのGUIツールを神戸医療産業都市推進機構と共同開発した。また、産業連携コンソーシアムとの連携ワークショップや報告会で討論や意見交換を行い、プロジェクトの成果創出を担う産業界、医療機関との連携、協力を図った。

課題推進にあたり、第三者の視点で進捗状況の把握・評価・改善提言・指導等を行う諮問委員会を1回開催し、連携方針や予算獲得に向けた具体的な助言を得た。

4-3. 活動（研究会等）

(1) 重点課題1ワークショップ

- ・第5回 東京 日本橋ライフサイエンスハブ 8月6日、7日

- ・第6回 神戸理化学研究所計算科学研究センター (R-CCS) 1月28日
- (2) HPCI 人材育成タスクフォース
 - ・3月1日
- (3) 重点課題1 諮問委員会
 - ・1月28日
- (4) アウトリーチ活動
 - ・スーパーサイエンスハイスクール山梨県立韮崎高校 関西科学研修特別講義 7月24日
 - ・生命科学のためのディープラーニングチュートリアル2 9月25日
 - ・神戸大学計算科学教育センター「計算生命科学の基礎IV」10月3日～1月23日毎週水曜
 - ・第5回「京」を中核とする HPCI システム利用研究課題 成果報告会 11月2日
 - ・石川県高等学校文化連盟理科部秋期行事「高校生のための実験・実習セミナー」11月9日
 - ・第15回 スパコンを知る集い in 岐阜 ～「京」からポスト「京」へ～ 3月16日
- (5) 学会・シンポジウム発表
 - ・九大ー理研ー福岡市・ISIT 三者連携シンポジウム 5月15日
 - ・第56回日本生物物理学会年会共催シンポジウム 9月16日
- (6) プレスリリース
 - ・「ALK 融合遺伝子陽性肺癌に対する薬剤耐性変異予測と、既存薬を活用した耐性克服法の発見ー第3世代 ALK 阻害薬耐性の克服を目指すー」奥野恭史 (2019/01/30)
 - ・「既存薬再開発による肺腺癌の新規治療戦略 ～癌悪成化の原因タンパク質を標的とした治療薬の開発～」広川貴次 (2019/02/05)
- (7) 記事掲載
 - ・「新薬開発によく効く 100 社で挑む創薬 AI」(日経コンピュータ、2018年6月：雑誌)
 - ・「理研の最前線 14：科学技術ハブ」(日刊工業新聞、2018年6月：新聞)
 - ・「サイエンス BOX 完成したら当たり前前の技術 それでもいい 創薬コスト AI で半減」(読売新聞、2018年7月：新聞)
 - ・「サイエンス View 次世代スパコン「ポスト京」で変わる社会「使い勝手けた違い」」(読売新聞、2018年7月：新聞)
 - ・「薬開発 AI で早く」(日本経済新聞、2018年8月：新聞)
 - ・「ニュース：創薬 AI 開発の産学連携プロジェクト、「大半が順調」」(日経 XTECH、2018年9月：Web 配信)
 - ・「AI 創薬 イノベーションへ新たな挑戦」(化学工業日報 CCS コンピュータケミストリーシステム第2部、2018年12月：新聞)
 - ・「創薬を加速する心毒性スクリーニングシステムの開発」(ポスト「京」重点課題2 個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学 NEWS LETTER Vol.12、2019年2月：広報誌、重点課題2 サブ課題C との共同研究)
 - ・「AI 活用の未来を考える」(京都府産学連携ものづくり支援セミナー)(京都新聞、2019年3月：新聞)
- (8) イベント

- ・理化学研究所一般公開
和光 4 月 21 日、横浜 9 月 1 日、大阪 10 月 27 日、神戸 (R-CCS) 11 月 23 日
- ・第 42 回全国高等学校総合文化祭 (2018 信州総文) 8 月 8 日
- ・サイエンスフェア in 兵庫 1 月 27 日
- ・見える化シンポジウム 2019 3 月 2 日

4-4. 実施体制

業務項目	担当機関	担当責任者
(1) ポスト「京」での MD 高度化 とアルゴリズム深化 (サブ課題 A)	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 チームリーダー 杉田 有治
①ポスト「京」での MD 高度化	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 チームリーダー 杉田 有治
②拡張アンサンブル法	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 チームリーダー 杉田 有治
③長時間ダイナミクス法	国立大学法人東京工業大学	生命理工学院 教授 北尾 彰朗
④ハイブリッド QM/MM 自由エ ネルギー法	国立大学法人京都大学	大学院理学研究科 教授 林 重彦
⑤粗視化モデリング	国立大学法人京都大学 国立大学法人名古屋大学	大学院理学研究科 教授 高田 彰二 大学院工学研究科 准教授 篠田 涉
⑥自由エネルギー計算法	公立大学法人横浜市立大学	生命医科学研究科 教授 池口 満徳
(2) 次世代創薬計算技術の開発 (サブ課題 B)	公立大学法人横浜市立大学	生命医科学研究科 教授 池口 満徳
①動的分子機能制御	公立大学法人横浜市立大学	生命医科学研究科 教授 池口 満徳
②タンパク質間相互作用制御	国立大学法人東京大学	先端科学技術研究センター 特任教授 藤谷 秀章 及び 特任准教授 山下 雄史

③ ウイルス標的創薬計算技術	国立大学法人名古屋大学	大学院工学研究科 准教授 篠田 渉
④ 核酸-タンパク質相互作用制御	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構	量子ビーム科学部門 関西光科学研究所 量子生命科学研究所 生体分子シミュレーショングループ グループリーダー 河野 秀俊
⑤ 細胞内環境シミュレーション	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 チームリーダー 杉田 有治
(3) 創薬ビッグデータ統合システムの開発 (サブ課題 C)	国立大学法人京都大学	大学院医学研究科 教授 奥野 恭史
① 高精度薬剤デザイン	国立大学法人京都大学	大学院医学研究科 教授 奥野 恭史
② 機能制御部位データベース	国立研究開発法人産業技術総合研究所	創薬分子プロファイリング研究センター 研究チーム長 広川 貴次
③ 創薬関連ビッグデータ	国立大学法人東京大学	大学院新領域創成科学研究科 教授 津田 宏治
④ 標的分子ネットワーク	国立大学法人東京工業大学	生命理工学院 教授 北尾 彰朗
⑤ 生体系マルチスケールモデリング	国立大学法人東京大学	大学院情報学環 准教授 寺田 透
(4) プロジェクトの総合的推進	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 客員主管研究員 奥野 恭史

学会等発表実績

重点課題1:「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」

代表者氏名: 奥野恭史

サブ課題A: ポスト京でのMD高度化とアルゴリズム深化

サブ課題代表者: 杉田 有治

1. 学会等における口頭・ポスター発表(国際会議)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	ColDock: Concentrated ligand Docking method for an efficient protein-ligand complex structure prediction using all atom MD	Kazuhiro Takemura(Tokyo Institute of Technology)	The 23rd Biophysics Conference	2018年5月	国際
2	A Machine Learning Approach for Linking Simulations with Single-Molecule Experiments	Yuji Sugita (RIKEN)	TSRC Workshop on Coarse-Grained Modeling of Structure and Dynamics of Biomacromolecules V	2018年7月	国際
3	Protein-Ligand Binding in Dilute Solution and Cellular Environments	Yuji Sugita (RIKEN)	TSRC Workshop on "Protein and Peptide Interactions in Cellular Environments"	2018年7月	国際
4	Modeling protein-DNA interaction for coarse-grained molecular dynamics	Shoji Takada(Kyoto University)	Coarse-Grained Modeling of Structure and Dynamics of Biomacromolecules	2018年7月	国際
5	Conformational changes between E1P to E2P states of SERCA by MD simulations based on string method and free-energy calculations	Yuji Sugita (RIKEN) and Chigusa Kobayashi (RIKEN)	the 256th ACS National Meeting in Boston on "Membrane Protein Simulations & Free Energy Approaches"	2018年8月	国際
6	Development of the flexible-fitting MD simulation method for cryo-EM images of large macromolecular structures and dynamics	Yuji Sugita (RIKEN) and Takaharu Mori (RIKEN)	the 256th ACS National Meeting in Boston on "SESSION: COMP Meets CRYO: New Frontiers in Flexible Fitting, Image Processing & Refinement of Cryo-EM Data"	2018年8月	国際
7	Computational approach to investigate protein complex formation and dissociation	Akio Kitao(Tokyo Institute of Technology)	Computational Biophysics at the Molecular and Meso scales	2018年10月	国際
8	Protein-Drug Interaction in Dilute Solution and In Cellular Environments	Yuji Sugita (RIKEN)	XIVth ICISE Workshop on Computational Biophysics at the Molecular and Meso Scales	2018年10月	国際
9	Chromatin and transcription factor dynamics via coarse-grained molecular simulations	Shoji Takada(Kyoto University)	14th Rencontres du Vietnam"Computational Biophysics at the Molecular and Mesoscales"	2018年10月	国際
10	Photoactivation Intermediate of AsLOV2 Photoreceptor Protein Investigated by a Hybrid Molecular Simulation	Masahiko Taguchi(Kyoto University), Cheng Cheng(Kyoto University), Chika Higashimura(Kyoto University), Chika Higashimura(Kyoto University)	FUKUI 2018 Satellite Symposium	2018年10月	国際

11	Investigating protein complex formation and dissociation in silico	Akio Kitao(Tokyo Institute of Technology)	WRHI International Workshop on Advanced Laser Spectroscopy for Soft Molecular Systems	2018年11月	国際
12	Mechanisms for Protein-Ligand Binding in Solution and In Cellular Environments	Yuji Sugita (RIKEN)	The 18th KIAS Conference on "Protein Structure and Function"	2018年11月	国際
13	Protein-ligand binding in crowded environments: Molecular dynamics simulation study	Kento Kasahara, Hiraku Oshima, Suyong Re, Yuji Sugita(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Yuji Sugita(RIKEN Center for Computational Science), Yuji Sugita(RIKEN Theoretical Molecular Science Laboratory)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国際
14	Towards integration of high-speed AFM data with biomolecular simulations	Shoji Takada(Kyoto University)	Workshop "Trends in Computational Molecular Biophysics"	2018年11月	国際
15	Data-driven molecular simulations for integrative dynamic structural biology	Yuji Sugita (RIKEN) and Yasuhiro Matsunaga (RIKEN)	The 2nd workshop on Advances in Theory and Computation of Complex Systems - Biological Systems	2018年12月	国際
16	Investigating dissociation and association mechanisms of protein complexes	Akio Kitao(Tokyo Institute of Technology)	The 2nd workshop on Advances in Theory and Computation of Complex Systems - Biological Systems	2018年12月	国際
17	Optimization and Parallelization of GENESIS on GPU platforms	Yuji Sugita (RIKEN)	International Workshop on GPU accelerated Molecular Dynamics Simulations	2018年12月	国際
18	Chromatin and transcription factor dynamics via coarse-grained molecular simulations	Shoji Takada(Kyoto University)	The 2nd workshop on Advances in Theory and Computation of Complex Systems - Biological Systems	2018年12月	国際
19	Simulating dissociation and association processes of protein complexes	Akio Kitao(Tokyo Institute of Technology)	TSRC workshop on Fluctuations and Dynamics in Biomolecular Function	2019年1月	国際

学会等における口頭・ポスター発表(国内学会)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	PaCS-MDIによるタンパク質のダイナミクスと離合集散	北尾彰朗(東京工業大学生命理工学院)	物性研究所スパコン共同利用・CCMS合同研究会「計算物質科学の今と未来」	2018年4月	国内
2	ColDock: 高濃度リガンド条件下での全原子 MD シミュレーションを用いた蛋白質-リガンド複合体構造の効率的な探索手法	竹村和浩、北尾彰朗(東京工業大学生命理工学院)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
3	Molecular simulations of protein dynamics in crowded environments	Yuji Sugita (RIKEN)	WS on "Protein Aggregation and anti-aggregation" in The 18th Annual Meeting of the Protein Science Society of Japan	2018年6月	国内

4	AMPA受容体リガンド結合ドメインの隠れた安定状態	尾嶋 拓(理化学研究所 生命機能科学研究センター), 李 秀栄(理化学研究所 生命機能科学研究センター), 坂倉 正義(横浜市立大学 生命医科学研究科), 高橋 栄夫(横浜市立大学 生命医科学研究科), 杉田 有治(理化学研究所 生命機能科学研究センター)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
5	Refining binding free energies of docked protein-protein complexes by sampling conformations during molecular dynamics simulations	信夫愛、竹村和浩、北尾彰朗(東京工業大学生命理工学院)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
6	カスケード型超並列シミュレーションで見るタンパク質間結合の圧力依存性	畑宏明(東工大・生命理工)、西原泰孝(東大・分生研)、西山雅祥(京大・白眉センター)、川岸郁朗(法政大・生命科学)、北尾彰朗(東工大・生命理工)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
7	Coarse-Grained Force Field for Molecular Simulations of Lipid-Protein System	Diego Ugarte(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
8	ColDock: Concentrated ligand Docking method for an efficient protein-ligand complex structure prediction using all-atom MD	Kazuhiro Takemura, Akio Kitao(Tokyo Institute of Technology)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
9	Differences and similarities in (6-4) Photolyase DNA repair pathways	Hisham Dokainish 1, Daichi Yamada 3, Hideki Kandori 3, Akio Kitao 2 (1 Theoretical Molecular Science Laboratory, Riken, 2 Tokyo Institute of Technology, 3 Nagoya Institute of Technology)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
10	Free-energy landscapes reveal partial agonism at T686A mutation of AMPA receptor	Hiraku Oshima(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Suyong Re(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Masayoshi Sakakura(Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University), Hideo Takahashi(Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University), Yuji Sugita(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research)	The 56th Annual Meeting of The Biophysical Society of Japan	2018年9月	国内
11	Extensive molecular dynamics sampling characterizes ligand binding pathway to Src kinase	Suyong Re (RIKEN), Hiraku Oshima (RIKEN), Motoshi Kamiya (RIKEN) and Yuji Sugita (RIKEN)	第 56 回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
12	Role of Threonine residues in ion permeation for the Na ⁺ driven flagellar motor PomA/PomB: insights from MD simulations	Yasushiro Onoue 1, Masayo Iwaki 2, Ai Shinobu 3, Yasutaka Nishihara 4, Hiroto Iwatsuki 1, Hiroyuki Terashima 1, Akio Kitao 3, Hideki Kandori 2, Michio Homma 1 (1 Nagoya Univ., 2 Nitech, 3 Tokyo Tech, 4 UTokyo)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内

13	レプリカ交換とGaussian accelerated MDを組合せた自由エネルギー計算法の開発	尾嶋 拓(理化学研究所 生命機能科学研究センター), 李 秀栄(理化学研究所 生命機能科学研究センター), 杉田 有治(理化学研究所 生命機能科学研究センター)	日本物理学会2018年秋季大会	2018年9月	国内
14	Ab initio evaluation of redox potential of metalloprotein	Cheng Cheng(Kyoto University), Shigehiko Hayashi(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
15	Chromatin remodelers couple inchworm motion with twist-defect formation to slide nucleosomal DNA	Giovanni Brandani(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
16	Combinatorial DNA Binding of Sox/Oct Transcription Factors Studied with Molecular Dynamics Simulations	Cheng Tan(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
17	Implicit Solvent Coarse-Grained Lipid Model for Molecular Simulations of Multicomponent Membrane Systems	Diego Ugarte(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
18	Investigating Genome Organization and Regulation with Coarse-Grained Molecular Simulations	Cheng Tan(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
19	Molecular simulation on light-activation mechanism of LOV photoreceptor protein	Masahiko Taguchi(Kyoto University), Cheng Cheng(Kyoto University), Chika Higashimura(Kyoto University), Shigehiko Hayashi(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
20	Theoretical study on molecular mechanism of a light-driven ion transport of Halorhodopsin	Ryo Oyama(Kyoto University), Taisuke Hasegawa(Kyoto University), Shigehiko Hayashi(Kyoto University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
21	V字型アントラセンパネルを持つ両親媒性分子の分子動力学シミュレーション	田口真彦(京都大学), 山本裕生(京都大学), 田中大地(京都大学), 林重彦(京都大学)	第12回分子科学討論会	2018年9月	国内
22	ヌクレオソームと転写制御の動構造: 分子シミュレーションによるアプローチ	Shoji Takada(Kyoto University)	大阪大学蛋白質研究所セミナー: 構造生物学と計算科学の融合による動的構造生物学の新しい展開	2018年9月	国内
23	ヘテロクロマチンタンパク質1のジ・ヌクレオソームへの結合: 分子シミュレーションによる解析	Shoji Takada(Kyoto University)	第91回日本生化学会大会	2018年9月	国内
24	ダイナミックドッキングによる結合親和性予測	李秀栄(理化学研究所)	CBI2018年大会	2018年10月	国内
25	Molecular Simulations for Understanding Protein Functions in Cellular Environments	Yuji Sugita (RIKEN)	The 41st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan	2018年11月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

No.	掲載した論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌名等)	発表した時期	国際共著 (○を記入)
1	Kinetic energy definition in velocity Verlet integration for accurate pressure evaluation	Jung, Jaewoon; Sugita, Yuji(RIKEN Cluster Pioneering Res, Theoret Mol Sci Lab, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 3510198, Japan), Jung, Jaewoon; Kobayashi, Chigusa; Sugita, Yuji(RIKEN Ctr Computat Sci, Computat Biophys Res Team, Chuo Ku, 7-1-26 Minatojima Minamimachi, Kobe, Hyogo 6400047, Japan), Sugita, Yuji(RIKEN Ctr Biosyst Dynam Res, Lab Biomol Funct Simulat, Chuo Ku, 6-7-1 Minatojima Minamimachi, Kobe, Hyogo 6500047, Japan)	JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS, Vol.148 Pages164109 (2018)	2018年4月	
2	Dynamic and Structural Modeling of the Specificity in Protein-DNA Interactions Guided by Binding Assay and Structure Data	Cheng Tan(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	Journal of Chemical Theory and Computation, Vol.14, pp.3877-3889 (2018)	2018年5月	
3	Interactions of HP1 Bound to H3K9me3 Dinucleosome by Molecular Simulations and Biochemical Assays	Shuhei Watanabe(Kyoto University), Yuichi Mishima(Osaka University), Masahiro Shimizu(Kyoto University), Isao Suetake(Osaka University), Shoji Takada(Kyoto University)	Biophysical Journal, Vol.114, pp.2336-2351(2018)	2018年5月	
4	ColDock: Concentrated Ligand Docking with All-Atom Molecular Dynamics Simulation	Kazuhiro Takemura(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2 Chome-12-1, Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan), Chika Sato(The University of Tokyo), Akio Kitao(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2 Chome-12-1, Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan)	The Journal of Physical Chemistry B, 122(29), pp.7191-7200 (2018)	2018年7月	
5	Similarities and Differences between Thymine(6-4)Thymine/Cytosine DNA Lesion Repairs by Photolyases	Hisham M. Dokainish(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, M6-13, 2-12-1 Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan), Akio Kitao(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, M6-13, 2-12-1 Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan)	The Journal of Physical Chemistry B, Vol.122(36), pp.8537-8547 (2018)	2018年8月	
6	An Atomistic Model of a Precursor State of Light-Induced Channel Opening of Channelrhodopsin	Cheng Cheng(Kyoto University), Motoshi Kamiya(Kyoto University), Mizuki Takemoto(The University of Tokyo), Ryuichiro Ishitani(The University of Tokyo), Osamu Nureki(The University of Tokyo), Norio Yoshida(Kyushu University), Shigehiko Hayashi(Kyoto University)	Biophysical Journal, 115, 1281-1291(2018)	2018年10月	

7	Population Shift Mechanism for Partial Agonism of AMPA Receptor	Hiraku Oshima(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Suyong Re(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research), Masayoshi Sakakura(Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University), Hideo Takahashi(Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University), Yuji Sugita(RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research)	Biophysical Journal 116, 57-68, 2018	2018年11月	
8	Refining evERdock: Improved selection of good protein-protein complex models achieved by MD optimization and use of multiple conformations	Ai Shinobu(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan), Kazuhiro Takemura(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan), Nobuyuki Matubayasi(Division of Chemical Engineering, Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Toyonaka, Osaka 560-8531, Japan), Akio Kitao(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro, Tokyo 152-8550, Japan)	The Journal of Chemical Physics, Vol.149, pp.195101 (2018)	2018年11月	
9	Chromatin remodelers couple inchworm motion with twist-defect formation to slide nucleosomal DNA	Giovanni B Brandan(Kyoto University), Shoji Takada(Kyoto University)	PLoS Comput Biol 14(11):e1006512.	2018年11月	
10	Multi-strand beta-sheet of Alzheimer Aβ(1-40) folds to beta-strip helix: Implication for protofilament formation	Steven Hayward(University of East Anglia), Akio Kitao(School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology)	Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, pp.1-11 (2018)	2018年12月	○
11	Dissociation Process of a MDM2/p53 Complex Investigated by Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics and the Markov State Model	Duy Phuoc Tran(School of Life Sciences and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan), Akio Kitao(School of Life Sciences and Technology, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1, Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8550, Japan)	The Journal of Physical Chemistry B, Vol.123, pp.2469-2478 (2019)	2019年1月	

様式第2-1

学会等発表実績

重点課題1: 「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」

代表者氏名: 奥野恭史

サブ課題B: 次世代創薬計算技術の開発

サブ課題代表者: 池口 満徳

1. 学会等における口頭・ポスター発表(国際会議)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	MNase, as a probe to study the sequence-dependent site exposures in the +1 nucleosomes of yeast	Di Luo(QST), Hidetoshi Kono(QST)	Cold Spring Harbor Asia conference on Chromatin, Epigenetics & Transcription	2018年4月	国際
2	Molecular dynamics in the antibody-antigen recognition	Takefumi Yamashita(the University of Tokyo)	Symposium on Eukaryotic Regulatory Biology in honor of M. Geoffrey Rosenfeld	2018年8月	国際
3	Molecular dynamics simulations of multidrug efflux transport complex AcrAB-TolC embedded in lipid bilayers	Keiko Shinoda(Research Center for Advanced Science and Technology ,University Of Tokyo), Hideaki Fujitani(Research Center for Advanced Science and Technology ,University Of Tokyo)	256th ACS National Meeting	2018年8月	国際
4	A novel polar coarse-grained water model for molecular dynamics simulations of lipid membrane systems	Yusuke Miyazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国際

5	Elucidation of physical properties of hepatitis B virus containing pregenome RNA by molecular dynamics simulation	Youhei Yamaguchi(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Hajime Imai, Kazushi Fujimoto(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Ryo Urano(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Katsumi Omagari, Yasuhito Tanaka, Tetsuya Ishikawa, Atsushi Nakagawa, Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国際
6	Free energy calculation on the permeation of the ionic drug across the lipid membrane	Miyu Tamura(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国際
7	Coarse-grained molecular simulation study of liposomal stability	Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	6th European Joint Theoretical/ Experimental Meeting on Membranes (EJTEMM2018)	2018年12月	国際
8	Effect of interface structure on the binding affinity of proteins: A molecular dynamics study	Takefumi Yamashita(the University of Tokyo)	IMS symposium "Water at interfaces 2018"	2019年1月	国際
9	ELIMINATION OF FINITE-SIZE EFFECTS ON BINDING FREE ENERGIES BY THE WARP-DRIVE METHOD	Toru Ekimoto(Yokohama City University), Tsutomu Yamane(Yokohama City University), Mitsunori Ikeguchi(Yokohama City University, RIKEN)	Biophysical Society 63th Annual Meeting	2019年3月	国際
10	Sequence-Dependent Asymmetric Unwrapping of nucleosomes of yeast	Luo, D.(Nat. Inst. for Quantum and Radiological Sci. and Tech.), Kato, D.(Waseda Univ.), Nogami, J.(Kyushu Univ.), Ohkawa, Y.(Kyushu Univ.), Kurumizaka, H.(Univ. of Tokyo), Kono, H.(Nat. Inst. for Quantum and Radiological Sci. and Tech.)	The 63rd Annual Meeting of the Biophysical Society	2019年3月	国際

学会等における口頭・ポスター発表(国内学会)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
-----	--------------	-------	--------------	--------	-------

1	高速多極子展開法(FMM)をもちいた荷電系の自由エネルギー計算法	浦野 諒(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 吉井 範行(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田 渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎 進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第21回理論化学討論会	2018年5月	国内
2	シクロスポリンAのCHARMM力場の開発	山根努(横浜市立大学), 渡邊裕太(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
3	ファーマコフォア解析によるビタミンD受容体アゴニスト/アンタゴニスト活性調節機構の研究	工藤崇文(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
4	新規アルケミカル結合自由エネルギー計算手法ワーブドライブ法の開発と有限サイズ効果	浴本亨(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
5	高精度な脂質分子のFUJI力場の開発と多剤排出トランスポーター膜系への適用	篠田恵子(東京大学 先端科学技術研究センター), 藤谷秀章(東京大学 先端科学技術研究センター)	第18回日本蛋白質科学会年会	2018年6月	国内
6	分子動力学計算を用いた抗原抗体界面に存在する塩橋の安定性を決定する要因の研究	岡島亮, 山下雄史(東京大学)	分子科学討論会	2018年9月	国内
7	Free energy profiles of the intra- and inter-nucleosomal interactions by all-atom molecular dynamics simulations	Hisashi Ishida(QST), Hidetoshi Kono(QST)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
8	Investigating the influence of Argine Dimethylation on Nucleosome Dynamics using All-atom Simulation and Kinetic Analysis	Zhenhai Li(QST), Hidetoshi Kono(QST)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
9	シクロスポリンAのCHARMM力場の開発	山根 努(横浜市立大学), 渡邊 裕太(横浜市立大学), 浴本 亨(横浜市立大学), 池口 満徳(横浜市立大学)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
10	ファーマコフォア解析を用いたビタミンD受容体のアゴニスト/アンタゴニスト活性調節機構の研究	工藤 崇文(横浜市立大学), 浴本 亨(横浜市立大学), 池口 満徳(横浜市立大学)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
11	周期境界条件下の分子動力学シミュレーションを使った結合自由エネルギー計算で生じる有限サイズ効果を抑えるアルケミカル摂動法の開発	浴本 亨(横浜市立大学), 山根 努(横浜市立大学), 池口 満徳(横浜市立大学)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内

12	B型肝炎ウイルスの薬剤の吸収に関する自由エネルギー計算	浦野 諒(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 吉井 範行(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田 渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎 進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
13	B型肝炎ウイルスの薬剤の吸収に関する自由エネルギー計算	浦野 諒(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 吉井 範行(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田 渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎 進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第12回分子科学討論会	2018年9月	国内
14	Development of a polarized coarse-grained water model and its application in lipid membrane systems	Yusuke Miyazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
15	Molecular dynamics simulations of domain formation in mixed lipid bilayers	Sangjae Seo(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
16	Quantitative Coarse-Grained Molecular Modeling of Biomembranes	Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
17	膜融合過程における脂質組成の影響: 定量的粗視化分子シミュレーション	篠田 渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), Sangjae Seo(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第69回コロイド及び界面化学討論会	2018年9月	国内
18	Development of the CHARMM force field for Cyclosporine A	山根努(横浜市立大学), 高橋遼(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	情報計算科学生物学会2018年大会	2018年10月	国内

19	In silico binding affinity analysis for phosphodiesterase-10A inhibitors	湯浅千紗(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	情報計算科学学生物学会2018年大会	2018年10月	国内
20	In silico protein-protein interaction analysis of axon guidance molecule semaphorin and receptor plexin	下地恵令奈(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 永友芽里(横浜市立大学), 禾晃和(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	情報計算科学学生物学会2018年大会	2018年10月	国内
21	Protein-ligand binding process studied by Markov state model	浴本亨(横浜市立大学), 荒木望嗣(京都大学), 井阪悠太(神戸医療産業都市推進機構), 山根努(横浜市立大学), 奥野恭史(京都大学), 池口満徳(横浜市立大学)	情報計算科学学生物学会2018年大会	2018年10月	国内
22	Study of regulation mechanism of agonistic/antagonistic activities of vitamin D receptor ligand-binding domain	工藤崇文(横浜市立大学), 浴本亨(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	情報計算科学学生物学会2018年大会	2018年10月	国内
23	B型肝炎ウイルスの薬剤の吸収に関する自由エネルギー計算	浦野 諒(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 吉井 範行(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田 渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎 進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第32回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
24	Effect of PEGylated Lipids on Physical Properties of Lipid Membranes Coarse-Grained Molecular Dynamics Study	Takanori Ono(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国内
25	Free energy evaluation of drug absorption on Hepatitis B virus capsid using all-atom molecular dynamics simulation	Ryo Urano(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Noriyuki Yoshii(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Susumu Okazaki(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	Joint Conference of EMLG/JMLG Meeting 2018 and 41st Symposium on Solution Chemistry of Japan	2018年11月	国内

26	PEG修飾脂質が膜物性に与える影響: 粗視化分子シミュレーション	小野貴憲(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 田中裕貴(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第32回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
27	pKa位置依存性を考慮したイオン性薬物膜透過の多次元自由エネルギー解析	田村美侑(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第32回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
28	全原子分動力学計算によるウイルスが電解液中に生成する表面電場と分子間相互作用	岡崎進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	2018年日本表面真空学会学術講演会	2018年11月	国内
29	分子動力学法を用いた pregenome RNA を内包したB型肝炎ウイルスの物性解明	山口陽平(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 今井甫, 藤本和士(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 浦野諒(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 尾曲克己, 田中靖人, 石川哲也, 中川敦史, 岡崎進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第32回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
30	極性を持つ粗視化水モデルの開発と生体分子系における応用	宮崎裕介(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 岡崎進(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻), 篠田渉(名古屋大学工学研究科応用物質化学専攻)	第32回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
31	分子動力学シミュレーションを用いたビタミンD受容体リガンド結合ドメインの溶液構造解析	浴本亨(横浜市立大学), 工藤崇文(横浜市立大学), 山根努(横浜市立大学), 池口満徳(横浜市立大学)	第46回構造活性相関シンポジウム	2018年12月	国内
32	定量的粗視化分子シミュレーションによる脂質膜の安定性と形態・トポロジー変化の分子論	篠田 渉(名古屋大学)	第66回応用物理学会春季学術講演会	2019年3月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

No.	掲載した論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌名等)	発表した時期	国際共著(○を記入)
-----	--------------	-------	------------------	--------	------------

1	Toward rational antibody design: recent advancements in molecular dynamics simulations	Takefumi Yamashita(The University of Tokyo)	International Immunology, Vol. 30, No. 4, pp. 133-140	2018年4月	
2	Multiscale Molecular Dynamics Simulations of Rotary Motor Proteins	Toru Ekimoto(Yokohama City University), Mitsunori Ikeguchi(Yokohama City University)	Biophys. Rev., 10, 605-615	2018年4月	
3	MNase, as a probe to study the sequence-dependent site exposures in the+1 nucleosomes of yeast	Di Luo(Molecular Modeling and Simulation Group,Department of Quantum Beam Life Science,National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Kizugawa, Kyoto 619-0215, Japan), Daiki Kato(Laboratory of Structural Biology, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, 2-2 Wakamatsu-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan), Jumpei Nogami(Division of Transcriptomics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan), Yasuyuki Ohkawa(Division of Transcriptomics, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan), Hitoshi Kurumizaka(Laboratory of Structural Biology, Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University, 2-2 Wakamatsu-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8480, Japan), Hidetoshi Kono(Molecular Modeling and Simulation Group, Department of Quantum Beam Life Science, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Kizugawa, Kyoto 619-0215, Japan)	Nucleic Acids Research, Vol.46, pp.7124-7137 (2018)	2018年6月	

4	Multiplicity in Long Noncoding RNA in Living Cells	Riki Kurokawa(Saitama Medical University), Reina Komiya(Okinawa Institute Science and Technology Graduate University), Takanori Oyoshi(Shizuoka University), Yoko Matsuno(Niigata University), Hidenori Tani(National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)), Masato Katahira(Kyoto University), Keisuke Hitachi(Fujita Health University), Yuji Iwashita(Hamamatsu University School of Medicine), Takefumi Yamashita(the University of Tokyo), Keiko Kondo(Kyoto University), Ryoma Yoneda(Saitama Medical University), Yudai Yamaoki(Kyoto University), Naomi Ueda(Saitama Medical University), Tsukasa Mashima(Kyoto University), Naohiro Kobayashi(Osaka University), Takashi Nagata(Kyoto University), Ayaka Kiyoshi(Kyoto University), Masayuki Miyake(Kyoto University), Fumi Kano(Tokyo Institute of Technology), Masayuki Murata(The University of Tokyo), Nesreen Hamad(Kyoto University), Kohei Sasaki(the University of Tokyo), Naoyuki Shoji(the University of Tokyo)	Biomedical Sciences 2018; 4(2): 18-23	2018年8月	
5	Investigating the Influence of Arginine Dimethylation on Nucleosome Dynamics Using All-Atom Simulations and Kinetic Analysis	Zhenhai Li(Molecular Modeling and Simulation (MMS) Group, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology (QST), 8-1-7, Umemidai, Kizugawa, Kyoto 619-0215, Japan), Hidetoshi Kono(Molecular Modeling and Simulation (MMS) Group, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology (QST), 8-1-7, Umemidai, Kizugawa, Kyoto 619-0215, Japan)	The Journal of Physical Chemistry B, Vol.122, pp.9625-9634 (2018)	2018年9月	
6	Efficiency strategy for peptide design: A comparative study on all-atom, coarse-grained, and machine learning approaches	Takefumi Yamashita(the University of Tokyo), Ryo Okajima(the University of Tokyo), Naoyuki Shoji(the University of Tokyo)	AIP Conference Proceedings 2040, 020014 (2018)	2018年11月	
7	Liquid structures characterized by a combination of the persistent homology analysis and molecular dynamics simulation	Kohei Sasaki(the University of Tokyo), Ryo Okajima(the University of Tokyo), Takefumi Yamashita(the University of Tokyo)	AIP Conference Proceedings 2040, 020015 (2018)	2018年11月	

8	Elimination of Finite-Size Effects on Binding Free Energies via the Warp-Drive Method	Toru Ekimoto(Yokohama City University), Tsutomu Yamane(Yokohama City University), Mitsunori Ikeguchi(Yokohama City University)	J. Chem. Theory Comput., 14, 6544-6559(2018)	2018年11月	
9	SPICA Force Field for Lipid Membranes: Domain Formation Induced by Cholesterol	Sangjae Seo(Department of Materials Chemistry, Nagoya University), Wataru Shinoda(Department of Materials Chemistry, Nagoya University)	J. Chem. Theory Comput. Vol. 15, pp. 762-774.	2018年12月	
10	Affinity Improvement of a Cancer-Targeted Antibody through Alanine-Induced Adjustment of Antigen-Antibody Interface	Takefumi Yamashita, Takeshi Kawamura, Tatsuhiko Kodama, Hideaki Fujitani(Laboratory for Systems Biology and Medicine, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, 4-6-1, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8904, Japan), Eiichi Mizohata, Taisuke Nakayama, Yuji Kado, Yuki Yokota, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue(Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan), Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto(Department of Bioengineering, School of Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan), Takahiro Watanabe, Kouhei Tsumoto(Department of Medical Genome Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan), Makoto Nakakido, Kouhei Tsumoto(Institute of Medical Science, The University of Tokyo, 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639, Japan), Hiroko Iwanari, Yasuhiro Mochizuki, Takao Hamakubo(Department of Quantitative Biology and Medicine, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, 4-6-1, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8904, Japan)	Structure 27, 1-9, March 5, 2019	2018年12月	

11	Rotational Mechanism Model of the Bacterial V-1 Motor Based on Structural and Computational Analyses	Abhishek Singharoy(Arizona State University), Chris Chipot(Universite de Lorraine, University of Illinois at Urbana-Champaign), Toru Ekimoto(Yokohama City University), Kano Suzuki(Chiba University), Mitsunori Ikeguchi(Yokohama City University, RIKEN), Ichiro Yamato(Chiba University, Tokyo University of Science), Takeshi Murata(Chiba University, Japan Science and Technology Agency)	Front. Physiol. 10:46, 1-12 (2019)	2019年2月	
12	Free energy analysis of membrane pore formation process in the presence of multiple melittin peptides	Yusuke Miyazaki, Susumu Okazaki, Wataru Shinoda(Nagoya Univerity)	Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes Volume 1861, Issue 7, 1 July 2019, Pages 1409-1419	2019年3月	

様式第2-1

学会等発表実績

重点課題1:「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」

代表者氏名:奥野恭史

サブ課題C:創薬ビッグデータ統合システムの開発

サブ課題代表者:奥野 恭史

1. 学会等における口頭・ポスター発表(国際会議)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	Development of in silico Drug Design Suite Combined with HPCs	Ma Biao, Isaka Yuta(IBRI), Araki Mitsugu(Kyoto University), Iwata Hiroaki(Kyoto University), Okuno Yasushi(RIKEN, Kyoto University)	Life Science Association of Chinese in Japan (LSACJ conference (2018))	2018年10月	国際
2	Drug Resistance Induced by Local and Allosteric Conformational Changes in Oncogenic Tyrosine Kinases	Araki, M(Kyoto University), Okuno, Yasushi(RIKEN, Kyoto University)	Biophysical Society 63rd annual meeting	2019年3月	国際
3	Drug resistance acquired by local and allosteric conformational changes in oncogenic tyrosine kinases	Araki, M(Kyoto University), Okuno, Yasushi(RIKEN, Kyoto University)	Spring 2019 ACS National Meeting	2019年3月	国際

学会等における口頭・ポスター発表(国内学会)

No.	発表した成果(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	ゲノム医療にみるAIの現状と可能性	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第106回日本泌尿器科学会総会	2018年4月	国内
2	ビッグデータ・AIが拓く医療・創薬の未来	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第22回日本心血管内分泌代謝学会	2018年4月	国内

3	医療・製薬などライフサイエンス分野へのAIの活用	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	ヘルスケアIT 2018	2018年4月	国内
4	AI・ビッグデータの活用で広がる医療の未来	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	メディカル・デバイス産業振興協議会	2018年5月	国内
5	臨床ゲノム情報統合データベース “MGeND” Medical Genomics Japan Variant Database (MGeND)	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第59回日本神経学会学術集会	2018年5月	国内
6	AIが拓く創薬のイノベーション	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第55回薬剤学懇談会研究討論会	2018年6月	国内
7	LINCの成果活用に向けて	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	LINC成果活用のための講演会	2018年7月	国内
8	Ligand binding site analysis with protein flexibility for drug design	Takatsugu Hirokawa(National Institute of Advanced Industrial Science and Technology)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
9	単粒子コヒーレント回折パターンを用いた粗視化分子モデリングのためのテンプレートマッチング法	Tokuhisa Atsushi, Kanada Ryo, Chiba Suntaro, Matsumoto Shigeyuki(RIKEN), Isaka Yuta, Ma Biao(IBRI), Kamiya Naruhito(University of Hyogo), Terayama Kei, Okuno Yasushi(kyoto University, RIKEN)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
10	Analysis of the dynamics of protein conformational change using Markov state model	Tohru Terada(The University of Tokyo), Tatsuki Negami(The University of Tokyo)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
11	Prediction of hERG-drug binding affinities by free energy calculation	Tatsuki Negami(The University of Tokyo), Tohru Terada(The University of Tokyo)	第56回日本生物物理学会年会	2018年9月	国内
12	AIが引き起こす創薬革命	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第8回CSJ化学フェスタ2018	2018年10月	国内
13	AI創薬の現状と未来(Today and Future of AI-based Drug Discovery)	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	日本レチノイド研究会第29回学術集会	2018年10月	国内

14	ゲノム医療にみるAIの現状と可能性	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第56回日本癌治療学会学術集会	2018年10月	国内
15	ヘルスケア分野におけるAI・ビッグデータの可能性	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	健康科学ビジネス推進機構講演会	2018年10月	国内
16	ビッグデータ・人工知能が拓く医療の未来	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	北海道国民健康保険団体連合会講演会	2018年11月	国内
17	分子シミュレーションによる 薬剤開発	広川貴次(産業技術総合研究所)	日本防菌防黴学会第 45 回年次大会	2018年11月	国内
18	創薬化学にみるAIの現状と可能性	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所科技ハブ産連本部)	第2回化学MOP講演会	2018年11月	国内
19	動径分布関数・エネルギー分布関数をもとにした進化戦略による力場パラメータ決定手法	千葉峻太郎、池口満徳、奥野恭史(理化学研究所)	第32 回分子シミュレーション討論会	2018年11月	国内
20	証明数探索を用いた化合物合成経路列挙アルゴリズム	渋川亮祐(東京大学), 石田祥一(京都大学大学院), 美添一樹(理化学研究所), 津田宏治(東京大学、理化学研究所、NIMS), 寺山慧, 奥野恭史(京都大学大学院医学研究科、理化学研究所)	第21回情報論的学習理論ワークショップ	2018年11月	国内
21	AI創薬の現状と未来	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科)	日本メディカルAI学会第1回学術集会	2019年1月	国内
22	ビッグデータ・AIが拓く医療の未来	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科)	第53回日本成人病(生活習慣病)学会学術集会	2019年1月	国内
23	AIが拓く創薬イノベーション	奥野恭史(京都大学大学院医学研究科)	ファーマIT 2019	2019年3月	国内
24	分子シミュレーションによる分子レジデンス解析	広川貴次(産業技術総合研究所)	日本化学会第99春季年会	2019年3月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

No.	掲載した論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌名等)	発表した時期	国際共著 (○を記入)
1	Fine-grained optimization method for crystal structure prediction	Kei Terayama(RIKEN, Kyoto University), Tomoki Yamashita(Osaka University), Tamio Oguchi(Osaka University), Koji Tsuda(University of Tokyo, RIKEN)	npj Computational Materials volume 4, Article number: 32 (2018)	2018年7月	
2	Hunting for Organic Molecules with Artificial Intelligence: Molecules Optimized for Desired Excitation Energies	Masato Sumita(Center for Advanced Intelligence Project, RIKEN, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan; International Center for Materials Nanoarchitectonics (WPI-MANA), National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba, Ibaraki 305-0044, Japan), Xiufeng Yang(Center for Advanced Intelligence Project, RIKEN, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan; Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan), Shinsuke Ishihara(International Center for Materials Nanoarchitectonics (WPI-MANA), National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba, Ibaraki 305-0044, Japan), Ryo Tamura(International Center for Materials Nanoarchitectonics (WPI-MANA), National Institute for Materials Science, 1-1 Namiki, Tsukuba, Ibaraki 305-0044, Japan; Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan; Research and Services Division of Materials Data and Integrated System, National Institute for Materials Science, 1-2-1 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan), Koji Tsuda(Center for Advanced Intelligence Project, RIKEN, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan; Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan; Research and Services Division of Materials Data and Integrated System, National Institute for Materials Science, 1-2-1 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan)	ACS Central Science, Vol.4, pp.1126-1133 (2018)	2018年8月	

3	Fibronectin type III domain-containing protein 5 interacts with APP and decreases amyloid β production in Alzheimer's disease	<p>Yasuha Noda(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Akira Kuzuya(Department of Neurology, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Kyosuke Tanizawa(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Mitsugu Araki(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Ryoko Kawai(Department of Pharmaceuticals, Kyoto University), Biao Ma(Research and Development Group for in Silico Drug Discovery, Pro-Cluster Kobe, Foundation for Biomedical Research and Innovation(FBRI)), Yoko Sasakura(Research and Development Group for in Silico Drug Discovery, Pro-Cluster Kobe, Foundation for Biomedical Research and Innovation(FBRI)), Masato Maesako(Neurology of Alzheimer's Disease Laboratory, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School), Yoshitaka Tashiro(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Masakazu Miyamoto(Department of Neurology, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Kengo Uemura(Department of Neurology, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Yasushi Okuno(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University), Ayae Kinoshita(Department of Human Health Sciences, Graduated School of Medicine, Kyoto University)</p>	Molecular Brain (2018) 11:61	2018年10月	
---	---	--	------------------------------	----------	--

4	Population-based De Novo Molecule Generation, Using Grammatical Evolution	<p>Naruki Yoshikawa(Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan), Kei Terayama(Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan; RIKEN Center for Advanced Intelligence Project, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan; Graduate School of Medicine, Kyoto University, Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan), Masato Sumita(RIKEN Center for Advanced Intelligence Project, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan), Teruki Homma(RIKEN Systems and Structural Biology Center, Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan), Kenta Oono(Preferred Networks, Inc., 1-6-1 Otemachi, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0004, Japan), Koji Tsuda(Department of Computational Biology and Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwa-no-ha, Kashiwa, Chiba 277-8561, Japan; RIKEN Center for Advanced Intelligence Project, 1-4-1 Nihombashi, Chuo-ku, Tokyo 103-0027, Japan; National Institute for Materials Science, 1-2-1 Sengen, Tsukuba, Ibaraki 305-0047, Japan)</p>	Chemistry Letters, Vol.47, pp.1431-1434 (2018)	2018年11月	
---	---	--	--	----------	--

5	<p>Improving the Accuracy of Protein-Ligand Binding Mode Prediction Using a Molecular Dynamics-Based Pocket Generation Approach</p>	<p>Mitsugu Araki(Graduate School of Medicine; Kyoto University; 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku Kyoto 606-8507 Japan; RIKEN Advanced Institute for Computational Sciences; 7-1-26 Minatojima-Minamimachi, Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan), Hiroaki Iwata(Graduate School of Medicine; Kyoto University; 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku Kyoto 606-8507 Japan; Research and Development Group for In Silico Drug Discovery, Pro-Cluster Kobe; Foundation for Biomedical Research and Innovation (FBRI); 6-3-5, Minatojima-Minamimachi Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan), Biao Ma(Research and Development Group for In Silico Drug Discovery, Pro-Cluster Kobe; Foundation for Biomedical Research and Innovation (FBRI); 6-3-5, Minatojima-Minamimachi Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan), Atsuto Fujita(Research and Development Group for In Silico Drug Discovery, Pro-Cluster Kobe; Foundation for Biomedical Research and Innovation (FBRI); 6-3-5, Minatojima-Minamimachi Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan), Kei Terayama(Department of Computational Biology and Medical Sciences; Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo; Chiba 277-8561 Japan), Yukari Sagae(Graduate School of Medicine; Kyoto University; 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku Kyoto 606-8507 Japan), Fumie Ono(Graduate School of Medicine; Kyoto University; 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku Kyoto 606-8507 Japan), Koji Tsuda(Department of Computational Biology and Medical Sciences; Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo; Chiba 277-8561 Japan), Narutoshi Kamiya(Graduate School of Simulation Studies; University of Hyogo; 7-1-28 Minatojima-Minamimachi, Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan), Yasushi Okuno(Graduate School of Medicine; Kyoto University; 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku Kyoto 606-8507 Japan; RIKEN Advanced Institute for Computational Sciences; 7-1-26 Minatojima-Minamimachi, Chuo-ku Kobe Hyogo 650-0047 Japan)</p>	<p>Journal of Computational Chemistry, Vol.39, pp.2679-2689 (2018)</p>	<p>2018年12月</p>	
---	---	---	--	-----------------	--

6	Ligand binding to human prostaglandin E receptor EP4 at the lipid-bilayer interface	<p>Yosuke Toyoda(Kyoto University Graduate School of Medicine), Kazushi Morimoto(Kyoto University Graduate School of Medicine), Ryoji Suno(Kyoto University Graduate School of Medicine), Shoichiro Horita(Kyoto University Graduate School of Medicine), Keitaro Yamashita(RIKEN SPring-8 Center), Kunio Hirata(RIKEN SPring-8 Center), Yusuke Sekiguchi(Kyoto University Graduate School of Medicine), Satoshi Yasuda(Chiba University), Mitsunori Shiroishi(Kyushu University), Tomoko Shimizu(NB Health Laboratory Co. Ltd), Yuji Urushibata(NB Health Laboratory Co. Ltd), Yuta Kajiwara(Kyoto University), Tomoaki Inazumi(Kumamoto University), Yunhon Hotta(Kyoto University Graduate School of Medicine), Hidetsugu Asada(Kyoto University Graduate School of Medicine), Takanori Nakane(Kyoto University Graduate School of Medicine), Yuki Shiimura(Kyoto University Graduate School of Medicine), Tomoya Nakagita(Kyoto University Graduate School of Medicine), Kyoshiro Tsuge(Kumamoto University), Suguru Yoshida(Tokyo Medical and Dental University), Tomoko Kuribara(Tokyo Medical and Dental University), Takamitsu Hosoya(Tokyo Medical and Dental University), Yukihiko Sugimoto(Kumamoto University), Norimichi Nomura(Kyoto University Graduate School of Medicine), Miwa Sato(Mitsui Knowledge Industry Co), Takatsugu Hirokawa(National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), Masahiro Kinoshita(Kyoto University), Takeshi Murata(Chiba University), Kiyoshi Takayama(NB Health Laboratory Co. Ltd), Masaki Yamamoto(RIKEN SPring-8 Center), Shuh Narumiya(Japan Agency for Medical Research and Development), So Iwata(Kyoto University Graduate School of Medicine), Takuya Kobayashi(Kyoto University Graduate School of Medicine)</p>	Nature Chemical Biology, Vol.15, pp.18-26 (2018)	2018年12月	
7	Dynamic Docking of a Medium-Sized Molecule to Its Receptor by Multicanonical MD Simulations	<p>Gert-Jan Bekker(Institute for Protein Research, Osaka University, 3-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan), Mitsugu Araki(Graduate School of Medicine, Kyoto University, 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan), Kanji Oshima(Biotechnology Research Laboratories, Kaneka Corporation, 1-8 Miyamae-cho, Takasago-cho, Takasago, Hyogo 676-8688, Japan), Yasushi Okuno(Graduate School of Medicine, Kyoto University, 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan), Narutoshi Kamiya(Graduate School of Simulation Studies, University of Hyogo, 7-1-28 Minatogima Minami-machi, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0047, Japan)</p>	The Journal of Physical Chemistry B, Vol.123, pp.2479-2490 (2019)	2019年3月	○

8	Prediction of ALK mutations mediating ALK-TKIs resistance and drug re-purposing to overcome the resistance	Koutaroh Okada(Japanese Foundation for Cancer Research, Graduate School of Fronteir Science, The University of Tokyo), Mitsugu Araki(RIKEN Advanced Institute for Computational Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University), Takuya Sakashita(Japanese Foundation for Cancer Research), Biao Ma(Research and Development Group for In Silico Drug Discovery, Pro-Clucter-Kobe, FBRI), Ryo Kanada(RIKEN Compass to Healthy Life Research Complex Program), Noriko Yanagitani(Department of Thoracic Medical Oncology, The Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research), Atsushi Horiike(Department of Thoracic Medical Oncology, The Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research), Sumie Koike(Japanese Foundation for Cancer Research), Tomoko Oh-hara(Japanese Foundation for Cancer Research), Kana Watanabe(Department of Respiratory Medicine, Miyagi Cancer Center), Keiichi Tamai(Division of Cancer Stem Cell, Miyagi Cancer Center Research Institute), Makoto Maemondo(Department of Respiratory Medicine, Miyagi Cancer Center), Makoto Nishio(Department of Thoracic Medical Oncology, The Cancer Institute Hospital, Japanese Foundation for Cancer Research), Takeshi Ishikawa(Department of Molecular Microbiology and Immunology, Graduate School of Biomedical Science, Nagasaki University), Yasushi Okuno(RIKEN Advanced Institute for Computational Science, Graduate School of Medicine, Kyoto University), Naoya Fujita(Japanese Foundation for Cancer Research, Graduate School of Fronteir Science, The University of Tokyo), Ryohei Katayama(Japanese Foundation for Cancer Research)	EBioMedicine, Vol.41, pp.105-119 (2019)	2019年3月	
9	Stratifin Inhibits SCFFB7 Formation and Blocks Ubiquitination of Oncoproteins during the Course of Lung Adenocarcinogenesis	Aya Shiba-Ishii(University of Tsukuba), Jeongmin Hong(University of Tsukuba), Takatsugu Hirokawa(Molecular Profiling Research Center for Drug Discovery, National Institutes of Advanced Industrial Science and Technology), Yunjung Kim(University of Tsukuba), Tomoki Nakagawa(University of Tsukuba), Shingo Sakashita(University of Tsukuba), Noriaki Sakamoto(University of Tsukuba), Yukinori Kozuma(Kumamoto Health Science University), Yukio Sato(University of Tsukuba), Masayuki Noguchi(University of Tsukuba)	Clinical Cancer Research (2019) doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3631	2019年3月	
10	Structural insights into the differences among lactisole derivatives in inhibitory mechanisms against the human sweet taste receptor	Tomoya Nakagita(The University of Tokyo), Akiko Ishida(The University of Tokyo), Takumi Matsuya(The University of Tokyo), Takuya Kobayashi(Kyoto University), Masataka Narukawa(The University of Tokyo), Takatsugu Hirokawa(Molecular Profiling Research Center for Drug Discovery, National Institutes of Advanced Industrial Science and Technology), Makoto Hashimoto(Hokkaido University), Takumi Misaka(The University of Tokyo)	PLOS ONE, Vol.14, pp.e0213552 (2019)	2019年3月	

11	ビッグデータ創薬	奥野恭史(理化学研究所, 京都大学大学院医学研究科)	最新医学 74(3), 62-66, 2019.	2019年3月	
----	----------	----------------------------	--------------------------	---------	--

「生体分子システムの機能制御による革新的創薬基盤の構築」
実施計画

平成 31 年 2 月 7 日改訂版

国立研究開発法人 理化学研究所

奥野 恭史

平成 29 年 12 月 26 日改訂

平成 30 年 3 月 26 日改訂

平成 31 年 2 月 7 日改訂

【改訂履歴】

版	項目	ページ	主な改訂内容（概要）
1.0 (2017.12.22)	—	—	中間評価指摘事項を受け、版数変更して対応。
	目次	—	「中間評価における指摘事項への対応状況」目次項目追加。
	1.（3）	3～6	指摘事項に対応した内容を追記。
	1.（5）	8～9	表に指摘事項に対応した内容を追記。
	1.（6）	10	図に協力機関を追加。
	1.（6）	11	指摘事項に対応した内容を追記。
	2－1.（5）	17	図に協力機関を追加。
	2－2.（5）	22	図に協力機関を追加。
	2－3.（2）	24	指摘事項に対応した内容を追記。
	2－3.（5）	27	図に協力機関を追加。
	2－3.（5）	28	表に協力機関と連携内容を追記
	4.	31～32	中間評価における指摘事項への対応状況を追記。
別紙1	2	表に実施期間を追加。	
2.0 (2018.3.26)	1.（3）	3～4	指摘事項に対応した内容と図を追記。
	1.（7）	13	H30年度、H31年度の「京」と「京」以外の計算資源量を変更。資源量の変更に関する内容を削除。
	2－3.（2）	26	指摘事項に対応した内容を追記。
	別紙2	3～10	H30年度、H31年度の数値を変更。
3.0 (2019.2.7)	—	—	研究体制の変更。
	1.（3）	5	指摘事項に対応した内容を追記。
	1.（3）	7	ポスト「京」運用後、5年後・10年後のアウトカムイメージを追加。
	2－3.（2）①	26	指摘事項に対応した内容を削除。
	2－3.（2）③	26	指摘事項に対応した内容を追記。

目次

1. 実施概要	1
(1) 目的・意義	1
(2) 研究開発内容	1
(3) 目標・期待される成果.....	3
(4) 周辺領域への波及効果、課題全体における計算科学やシミュレーションの位置づけ	8
(5) 年次計画	9
(6) 実施体制	11
(7) 必要計算資源.....	13
2. 研究開発内容詳細.....	14
2-1. サブ課題A. ポスト「京」でのMD高度化とアルゴリズム深化.....	14
(1) 目的・意義	14
(2) 実施内容	14
(3) 目標・期待される成果.....	16
(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければならないこと.....	17
(5) 実施体制	17
2-2. サブ課題B. 次世代創薬計算技術の開発	19
(1) 目的・意義	19
(2) 実施内容	19
(3) 目標・期待される成果.....	20
(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければならないこと.....	21
(5) 実施体制	22
2-3. サブ課題C. 創薬ビッグデータ統合システムの開発.....	25
(1) 目的・意義	25
(2) 実施内容	25
(3) 目標・期待される成果.....	27
(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければならないこと.....	27
(5) 実施体制	28
3. 採択時の留意事項への対応状況	30
4. 中間評価における指摘事項への対応	32

1. 実施概要

(1) 目的・意義

この十数年、製薬業界では、新薬の承認数が横ばい状態（20品目程度／年）であるのに対し、研究開発費が増え続けているという深刻な問題に直面している。特に、近年では、医薬品開発が容易なターゲット疾患のほとんどは開発し尽され、残された疾患の多くは従来型の創薬アプローチでは治療薬の創出が困難であると考えられている。このことから、「開発費を抑えながら、新薬創出を加速すること」は創薬・医療分野にとっての最重要課題となっている。そこで本研究では、ポスト「京」を基軸とした創薬計算基盤を開発し、製薬会社やアカデミア創薬研究で利活用することで、これらの課題を克服することを目的としている。具体的には、ポスト「京」の演算能力を最大限に活かす分子シミュレーション技術を開発し、生体分子システムの時間的空間的機能解析に資する新たな構造生命科学を開拓することで、次世代の創薬アプローチを切り拓く計算技術の開発を目指す。さらに、これらの要素計算技術を創薬計算フローに沿って連結した創薬ビッグデータ統合システムを開発することで、高精度かつ超高速の革新的な創薬計算基盤を確立する。

本プロジェクトで開発するポスト「京」を基軸とする創薬計算基盤が製薬現場で利用されることで、これまでの創薬の実験プロセスが計算機シミュレーションに置き換わるなどの開発プロセスの効率化につながり、医薬品開発コストの劇的削減、ひいては医療費の削減につながるものと期待できる。さらには、標的タンパク質の動的機能制御創薬、タンパク質-核酸の超分子複合体を標的とするエピジェネティック創薬、超大規模生体分子システムのシミュレーションに基づくシステム創薬などの新たな創薬の革新的アプローチを開拓することで、これまで開発が困難であった新薬の創出や医薬品開発のスピードアップにつながり、結果として新薬を求める患者全体への貢献が期待できる。

(2) 研究開発内容

本研究は、ポスト「京」とのコデザインによって分子動力学（以下、MD）計算の超高速化と創薬計算要素技術の深化を図るサブ課題A、ポスト「京」仕様のMD計算法を新たな構造生命科学の開拓と次世代創薬計算技術に応用するサブ課題B、およびサブ課題Aとサブ課題Bで開発された計算技術を実践的な創薬計算フローとして統合化し製薬会社に提供するサブ課題Cの3つのサブ課題で研究遂行する。なお、研究実施の年次計画としては、調査研究・準備研究フェーズ（H26、27）において研究体制の整備と研究実施の準備を行う。本格実施フェーズの当初2年間（H28、29）においてコデザインによるポスト「京」向けのMDカーネルの高速化と各種計算手法の技術開発（主にサブ課題Aとサブ課題B）と標的分子系のモデリング（主にサブ課題Bとサブ課題C）を行う。続く2年間（H30、31）において、サブ課題Aがフルアプリとしてポスト「京」に最適化され最新の計算手法が導入されたMDプログラムを完成させるとともに、次いでサブ課題Bとサブ課題Cが、利用可能になった計算手法から順次標的分子系への計算適用を行い、性能評価と精密化を図る。これにより、ポスト「京」の運用開始直後から創薬プロセスの革新につながるMDシミュレーションが実施できる。

各サブ課題の主な研究開発概要は次のとおりである。

サブ課題A：ポスト「京」でのMD高度化とアルゴリズム深化

理化学研究所計算科学研究機構を中心に開発しているMD計算ソフトGENESISをターゲットアプリとしてコデザインによるMD計算の超高速化をはかるとともに、高精度かつ超高速の創薬計算基盤を

実現する分子シミュレーションの要素計算技術を開発する。具体的には、拡張アンサンブル法の改良によるタンパク質薬剤複合体構造予測法、熱力学理論を用いた自由エネルギー計算法、多数の独立な MD 計算を組み合わせた長時間ダイナミクス法、粗視化モデル、QM/MM 自由エネルギー法などの開発と生体分子系でのテスト評価を行う。

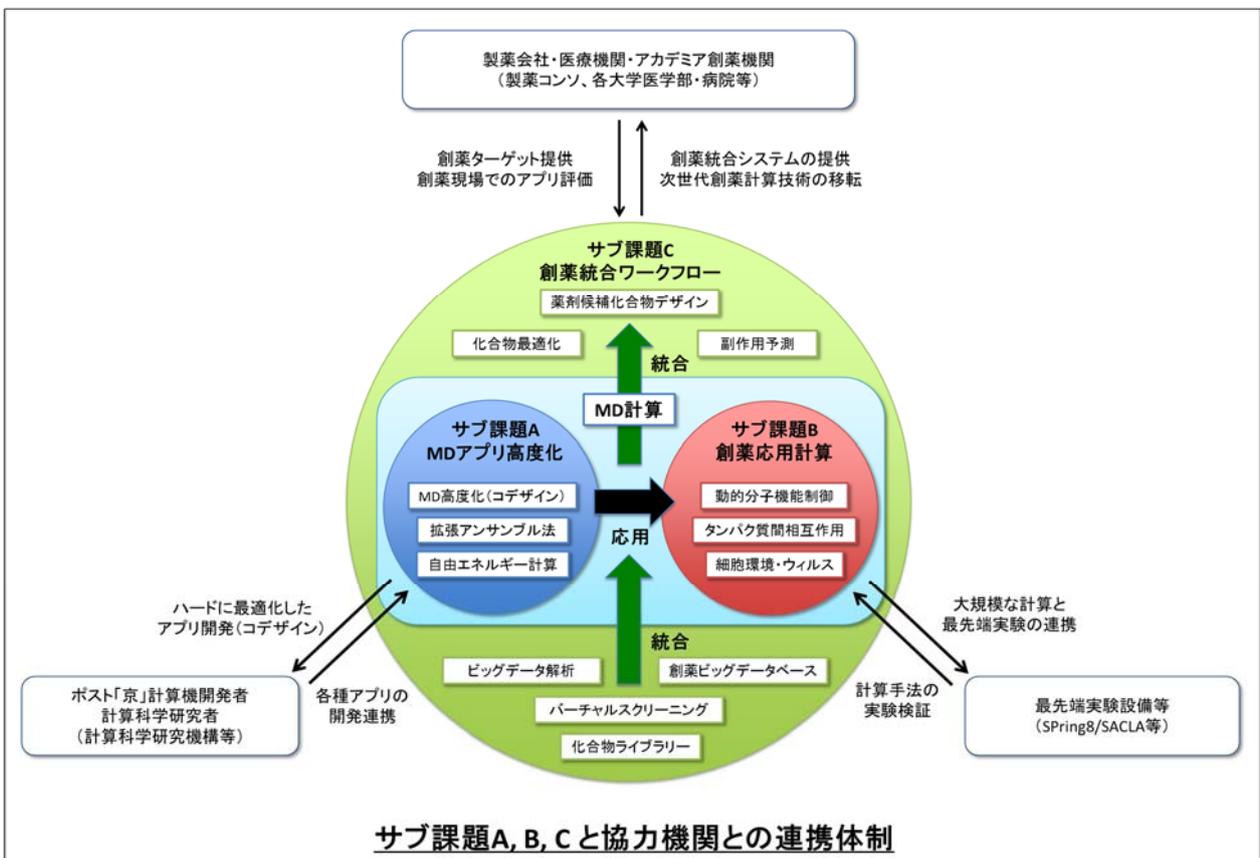
さらに、ポスト「京」の演算性能を最大限に発揮する Capability 計算として超大規模生体分子システムのシミュレーションを実現するための計算技術（全原子 MD による大規模な系での高速化、粗視化モデリング、世界最大規模の長時間ダイナミクス）の開発を行う。

サブ課題 B：次世代創薬計算技術の開発

ポスト「京」を活用した次世代の創薬アプローチを切り拓く計算技術の開発を行う。現在の計算創薬では困難な、標的タンパク質における動的な構造変化の制御、タンパク質間相互作用の制御、さらには巨大分子系である、ウイルス全体、細胞環境、核酸-タンパク質複合体を標的とする計算創薬技術を開発する。また、ポスト「京」によって実現する高度な計算技術と生命科学における様々な実験計測技術との融合手法の開発を行い、新たな構造生命科学の開拓を目指す。

サブ課題 C：創薬ビッグデータ統合システムの開発

サブ課題 A とサブ課題 B で開発される MD 計算法および各種創薬計算手法を創薬計算フローに沿って連結した創薬ビッグデータ統合システムを開発することで、大規模な候補化合物と複数の創薬標的・副作用関連タンパク質の莫大な組み合わせからベストな薬剤候補化合物を高精度かつ超高速に予測できる創薬計算基盤を構築する。サブ課題 A とサブ課題 B で開発される各種創薬計算手法を、協力機関が有する具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価を行う。さらに、重点課題 2 で開発される UT-Heart との連携を目指しイオンチャネルの MD 計算技術を開発する。



(3) 目標・期待される成果

本重点課題では、創薬分野および構造生命科学の進展にとって重要な3つのテーマ「長時間分子シミュレーション」「超大規模生体分子システムシミュレーション」「創薬ビッグデータ統合システム」を3つのサブ課題共通の全体目標として設定した。

- 長時間分子シミュレーション

ポスト「京」を用いることで、タンパク質が機能発現している時間スケールであるミリ秒以上の分子シミュレーションを実現し、動的機能に着目した新たな構造生命科学を革新するとともに、創薬標的分子の動的機能制御を指向したより効果的な新薬の開発を可能にする。本テーマは、サブ課題Aのポスト「京」でのMD高度化、長時間ダイナミクス法、自由エネルギー計算法、サブ課題Bの動的分子機能制御、サブ課題Cの機能制御部位データベース、高精度薬剤デザインが連携して研究開発する。

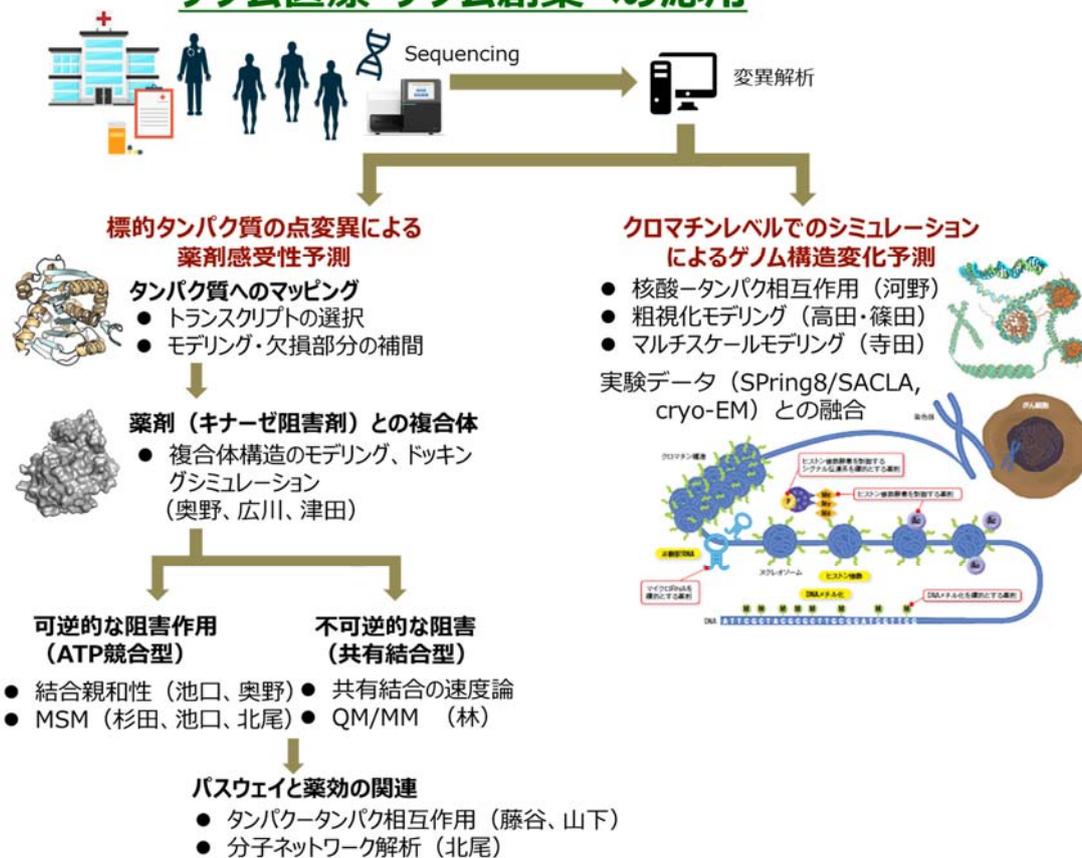
- 超大規模生体分子システムシミュレーション

マルチスケール（全原子および粗視化）MDのCapability計算を最適化することで、「京」ではサブマイクロ秒であった計算時間を、ポスト「京」によって数十マイクロ秒に延長した超大規模生体分子システム（多数のタンパク質および核酸等からなる細胞内環境やウイルスなど）のシミュレーションを実現する。これにより、単独のタンパク質のみの環境とは異なる多種多様な生体分子が複雑に混みあった細胞内環境のダイナミクスを解明するとともに、エピジェネティック創薬やシステム創薬などの次世代の創薬手法の開拓を目指す。本テーマは、サブ課題Aのポスト「京」でのMD高度化、粗視化モデリング、サブ課題Bのタンパク質間相互作用制御、核酸-タンパク質相互作用制御、ウイルス標的、細胞内環境シミュレーション、サブ課題Cの高精度薬剤デザイン、創薬関連ビッグデータ、標的分子ネットワーク、マルチスケールモデリングが連携して研究開発する。

- 創薬ビッグデータ統合システム

ポスト「京」とのコデザインで高度化されたMD計算ソフトを基盤として、各種創薬計算手法を創薬計算フローに沿って連結した創薬ビッグデータ統合システムを開発する。これにより、大規模な候補化合物と複数の創薬標的・副作用関連タンパク質の莫大な組み合わせから、より効果的で副作用の少ない医薬品候補物質を高精度かつ超高速にデザインできる創薬基盤を構築し、製薬会社等に提供する。本テーマは、サブ課題Aとサブ課題Bが開発する全ての要素計算技術をサブ課題Cが中心となって創薬計算フローに沿ってシステム化を図る。全体の共通テーマとしてゲノム医療・ゲノム創薬を応用ターゲットにする。ゲノム医療・ゲノム創薬は、現在世界的に急速に臨床実装、創薬実装が進むテーマであり、本テーマにサブ課題A、B、Cの全員でチャレンジすることでポスト「京」の創薬応用の課題が網羅されると考える。具体的には、ゲノム医療・ゲノム創薬では、「標的タンパク質の点変異による薬剤感受性予測」と「クロマチンレベルでのシミュレーションによるゲノム構造変化予測」にフォーカスを絞り、サブ課題A、B、Cで開発する要素技術を下図のとおり、適用する。

ゲノム医療・ゲノム創薬への応用



定量的、定性的目標について、上記3つの主要テーマに加え、「MD 計算高度化 (コデザイン)」と「分野振興 (人材育成等)」の5項目で、以下に記す。

アウトプット成果 (平成 29 年度終了時) :

- ① MD 計算高度化 (コデザイン) - コデザインにより、ターゲットアプリ GENESIS における MD カーネルをポスト「京」向けのアルゴリズムに変更し、単独の MD として数倍の高速化を図る (具体的な目標値はポスト「京」の性能設計における守秘義務から明記できない。)
- ② 長時間分子シミュレーション - 「京」等を用いて、標的タンパク質について 10 マイクロ秒以上の動的構造解析を実現する。
- ③ 超大規模生体分子システムシミュレーション - サブミクロンサイズに迫るウイルスカプシド系の薬剤相互作用解析を想定し、直径 30nm 程度の B 型肝炎ウイルスカプシド系の分子モデリング (全原子及び粗視化モデル) を行う。また、細胞環境を考慮した混み合い系でのマイクロ秒以上のシミュレーション、100 万原子を超えるタンパク質間相互作用解析、および核酸タンパク質間相互作用における 2 次元以上の多次元自由エネルギー解析を実施する。
- ④ 創薬ビッグデータ統合システム - 創薬計算フローに実装する要素計算技術の調査、各種創薬計算手法の評価を行い創薬ビッグデータ統合システムの設計を完了する。低分子化合物とタンパク質間の結合自由エネルギー計算法について、「京」等を用いて従来法より数倍以上少ない演算量での計算を可能とする新手法を開発する。
- ⑤ 分野振興 (人材育成等) - 20 社以上が参加する製薬コンソーシアム (バイオグリッドセンター

関西主催)により、「京」での利用が進むとともに、ポスト「京」に対する意見集約がなされ、重点課題1での研究計画に反映される。また、大学、研究機関、製薬コンソーシアム等と協力し人材育成プログラムの企画を行い、実施検討する。

アウトプット成果（本格実施フェーズ終了時）：

- ① MD 計算高度化（コデザイン）ーコデザインにより、GENESIS をフルアプリとして「京」で行われた創薬応用 MD と比較して、ポスト「京」において Capacity 計算の総量として数十倍から百倍程度の総演算を行うことを可能にする。さらに超大規模生体分子システムのマルチスケール（全原子および粗視化）MD 計算をポスト「京」のアーキテクチャーに最適化する。ポスト「京」の世界最高レベルの性能をフル活用できる高速な MD シミュレーションをターゲットアプリ GENESIS で実現する。
- ② 長時間分子シミュレーションー「京」等を用いて、薬剤と標的タンパク質との薬剤反応について 10 マイクロ秒以上の動的構造解析を実現する。レプリカ交換 MD などの国際的優位性のある拡張アンサンブルやマルコフ状態モデルなどのアルゴリズムを活かし、効率的動的構造解析を実現する。生命現象の非常に幅広い時間スケールに対応して、詳細な電子状態から臓器レベルに至る幅広い時間スケールに対応したマルチスケールシミュレーション法を開発する。さらに、構造生物学実験と連携し、実験情報を統合する方法を確立する。
- ③ 超大規模生体分子システムシミュレーションー「京」等において、直径 30nm 程度の B 型肝炎ウイルスカプシドへの低分子化合物の取り込み機構（結合、透過）について、自由エネルギー評価を可能とする計算手法を開発する。タンパク質間相互作用制御では、「京」等において 100 万原子数を超える系で短時間(10 マイクロ秒以下)シミュレーションによる低分子の活性予測を可能にする。さらに、核酸-タンパク質間相互作用制御では、翻訳後修飾を受けた DNA 結合タンパク質の認識機構について 2 次元以上の多次元自由エネルギープロファイル解析を可能とする計算手法を開発する。また、細胞内環境を考慮した巨大な生体分子システムでのタンパク質・基質結合の定量的評価法を確立する。全原子と粗視化モデルを接続する独自性の高いマルチスケールシミュレーション手法を確立し、それらを連成することで世界最大レベルの超大規模生体分子シミュレーションシステムの長時間ダイナミクスを計算できる方法を確立する。
- ④ 創薬ビッグデータ統合システムー上記①から③の各種創薬計算手法を具体的な創薬テーマ（造血器悪性腫瘍・固形腫瘍の抗癌剤、腎疾患治療薬、アルツハイマー治療薬、薬剤耐性シミュレーションや製薬会社の個別テーマ等）に適用し、性能評価を実施する。特に、ゲノム医療、ゲノム創薬を共通のターゲットテーマとして上記①から③の各種計算手法を応用、評価する。ここで具体的な標的タンパク質としては、各種がんのドライバー変異や薬剤耐性変異が報告され、がんのゲノム医療に重要な標的タンパク質である ALK, EGFR, RET を中心ターゲットとする。特にこれらの標的タンパク質は、国内のがんゲノム研究者とのコラボレーションの対象にもなっており、実験検証による計算の精度評価も可能である。本計算では、これらの標的タンパク質に様々なアミノ酸変異が生じた際の薬剤との結合自由エネルギーを従来比 2 倍の計算効率で算出することを目指す。さらに上記①から③を統合化することで、ポスト「京」を用いた一連の創薬計算フローが実行できる基盤「創薬ビッグデータ統合システム」の初版を完成させる。さらに、人工知能 (AI)

技術を分子シミュレーションと融合させ、大幅な効率化を図る。

- ⑤ 分野振興（人材育成等）－製薬コンソーシアム、大学、研究機関に対して、創薬ビッグデータ統合システムの初版を公開する。また、実施してきた人材育成プログラムにより、製薬コンソーシアム、大学、研究機関に創薬ビッグデータ統合システムを利用できる人材が育成され、システムの利用が開始される。また、人工知能の創薬応用のコンソーシアム（製薬企業、IT 企業、アカデミア 90 団体以上参加）である LINC と連携し、人工知能技術のポスト「京」応用を推進する。

アウトプット成果（ポスト「京」運用開始 5 年後）：

- ① MD 計算高度化（コデザイン）－分子動力学プログラム GENESIS をポスト「京」を用いて評価し、さらなる最適化と並列化を行うことで「京」と比較して数十倍から百倍程度の Capacity 計算を実現する。また、Capability 計算として世界最大級の MD 計算を長時間実行するソフトウェア基盤を評価するとともに、さらなる最適化と高速化を図る。MD 計算ソフトウェアの高度化は、以降のサイエンス上の成果を得る上での基盤技術となる。
- ② 長時間分子シミュレーション－ポスト「京」において、標的タンパク質のミリ秒以上の動的構造解析を実現し、低分子化合物が結合・解離する過程や、それに対応した標的タンパク質の立体構造変化過程など、動的構造の変化を解析する。創薬における薬剤の結合・解離過程のような速度論的シミュレーションはポスト「京」によって初めてなし得る。さらに、生命現象の幅広いスケールに対応したマルチスケールシミュレーションを実施し、酵素反応など、電子状態が関わる詳細な化学反応から、臓器運動のような巨視的運動（重点課題 2 の UT-Heart との連結）まで、非常に幅広い時間スケールのシミュレーションを実現する。さらに、ポスト「京」ならではの長時間分子シミュレーションと日本が誇る高度な構造生物学実験施設と連携することで、静止した実験構造から動的な機能発現過程の構造生物学を展開する新たな分野を開拓する。
- ③ 超大規模生体分子システムシミュレーション－ポスト「京」を用いて、サブミクロンサイズのウイルスカプシド系について大規模分子系シミュレーションを実行し、薬剤との相互作用、送達・作用機構を解析する。タンパク質間相互作用制御では、ミリ秒オーダーで起きる構造変化を持ったタンパク質複合体に作用する低分子化合物の活性予測を可能にする。さらに、核酸-タンパク質間相互作用制御では、多次元自由エネルギープロファイル解析を行い、翻訳後修飾の DNA 結合に対する影響を明らかにする。また、チャレンジングな超大規模生体分子システム・ネットワーク系（多数のタンパク質および核酸等からなる細胞内環境や核内環境など）における薬剤等低分子化合物の結合計算等を実現し、創薬応用に必要な知見を得る。超大規模生体分子システムシミュレーションでは、全原子モデルと粗視化モデルを高度に連成したシミュレーションを実現し、ポスト「京」で初めて実現する長時間ダイナミクスを行い、シミュレーションから生物学実験へ新たな視点と課題を与える新しい分野を開拓する。
- ④ 創薬ビッグデータ統合システム－ポスト「京」を用いて、「京」時代と比較して数十倍から百倍多くのスクリーニングを実現し、創薬ビッグデータ統合システムを構造生命科学研究や創薬研究に応用する。特にゲノム医療・ゲノム創薬を応用ターゲットとして核内のマルチスケールシミュレーションを実現し、世界的に注目される Precision Medicine の予測基盤とする。さらに、製薬会社やアカデミア創薬研究の具体的な創薬テーマに創薬ビッグデータ統合システムを適用すること

で創薬応用を促進する。創薬テーマとしては 100 テーマがポスト「京」で計算されることを目標とする。

- ⑤ 分野振興（人材育成等）－製薬コンソーシアム参加企業を中心とした製薬会社での現場利用を促進し、製薬会社で定期的にシステム利用がなされる状態を目指す。また、人材育成プログラムにより、現場利用に十分な人材が育成される。

アウトカム効果（ポスト「京」運用開始 5 年後）：

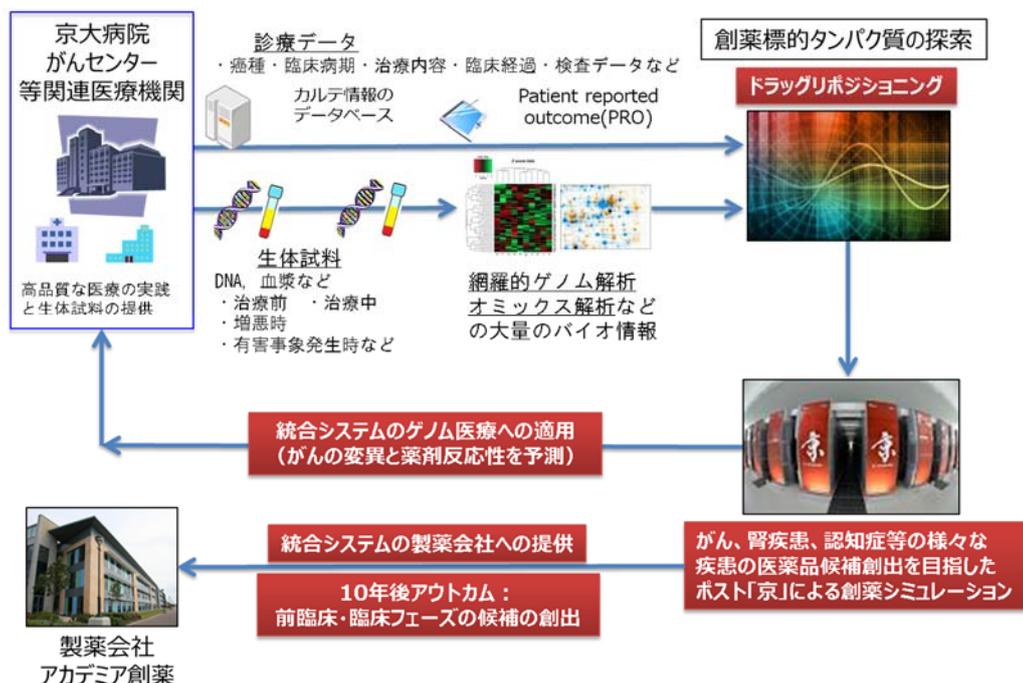
創薬ビッグデータ統合システムを通じて、アカデミア創薬および製薬各社の創薬テーマのリード化合物の創出に成功していること、およびポスト「京」での MD 計算結果や先端計測実験との連携で創出された研究成果が重要な学術論文として世界に発信されていることを目標とする。具体的な、計算ターゲットとしては、転写因子・ヒストン・DNA 等からなる核内生体分子系、生体膜と膜タンパク質からなる生体膜分子系、酵素タンパク等の機能性マルチドメイン分子系を対象とし、創薬テーマとしては、造血管悪性腫瘍・固形腫瘍の抗癌剤、腎疾患治療薬、アルツハイマー治療薬、薬剤耐性シミュレーション、ドラッグリポジショニングや製薬会社の個別テーマ等を対象にする。特に、世界的に急速な進展が進むゲノム医療・ゲノム創薬への臨床実装・社会実装を目指す。

また、タンパク質・薬剤の結合状態の予測精度の改善だけでなく、タンパク質の機能制御という観点から新しい概念を、計算科学を中心に導入し、実験によって検証する。そのために、タンパク質の動的性質と細胞環境（溶媒との相互作用、分子混雑、生体膜との相互作用など）のより信頼性の高いモデリングを実現する。

アウトカム成果（ポスト「京」運用開始 10 年後）：

創薬ビッグデータ統合システムを通じて、前臨床・臨床フェーズに進む候補化合物の創出に成功していることを目指す。計算科学と構造生物学とが融合した新たな構造生命科学に創成に資する。

ポスト「京」運用後、5年後・10年後のアウトカムイメージ



(4) 周辺領域への波及効果、課題全体における計算科学やシミュレーションの位置づけ

医薬品開発の成功確率は約 20,000 分の 1 と低く、製薬業界では、開発コストの高騰と承認新薬数の低迷が重要課題の一つとなっている。例えば、Nature Reviews Drug Discovery 9, 203-214 (March 2010) での報告では、一品目当たりの平均医薬品開発費は約 1,800 億円と見積もられているが、ポスト「京」による分子シミュレーションの直接的効果を示す開発プロセスは初期のリード化合物探索とリード化合物最適化の段階であり、670 億円の開発費と 4.5 年の開発期間を要すると報告されている。したがって、ポスト「京」による創薬ビッグデータ統合システムを開発することで、実験を代替する予測、膨大な実験結果の解析、新規知見の発見が促進され、開発の効率化、低コスト化、新薬創出につながるものと期待されている。さらに、分子シミュレーション技術は、製薬産業以外の領域（化学系、農林水産系、食品系等）にも応用可能であり、バイオ産業全般の活性化に資するものと考えられる。

また、現在、製薬業界では、医薬品開発が容易なターゲット疾患のほとんどは開発し尽くされ、残された疾患はこれまでの創薬アプローチでは新薬の創出が困難なものばかりであると危惧されている。これに対して本研究は、ポスト「京」の演算能力を最大限活かすことで、動的機能制御創薬、エピジェネティック創薬、超大規模生体分子系シミュレーションに基づくシステム創薬などの新たな革新的創薬アプローチを開拓する可能性を有する。また、現在の創薬プロセスの大半は実験を中心に展開されているが、ポスト「京」により高精度かつ超高速な創薬計算を達成することで、創薬の実験プロセスが計算機シミュレーションに置き換わるなどのプロセス革新を誘起し、我が国の製薬産業発展の求心力になるものと考えられる。

保健医療における波及効果としては、ポスト「京」による革新的創薬基盤が普及することで、医薬品開発のスピードアップや新薬の創出が実現されることにより、結果として新薬を求める患者全体への貢献が期待できる。また、従来法では発見できなかった医薬品候補の発見により、難治性疾患の創薬に繋がることも期待できる。さらには、医薬品開発の効率化につながることから、開発コストの劇的削減とそれによる医療費削減が期待され、超少子高齢化を迎える我が国の社会保障問題解消の一助につながるものと考えられる。

更に、ポスト「京」で初めて実現される超大規模生体分子系シミュレーションや長時間スケール分子シミュレーションによって、生体分子システムの時間的空間的機能解析が可能になり、これに実験科学が融合することで、新たな構造生命科学の開拓と生命科学全体の発展に資することが期待される。

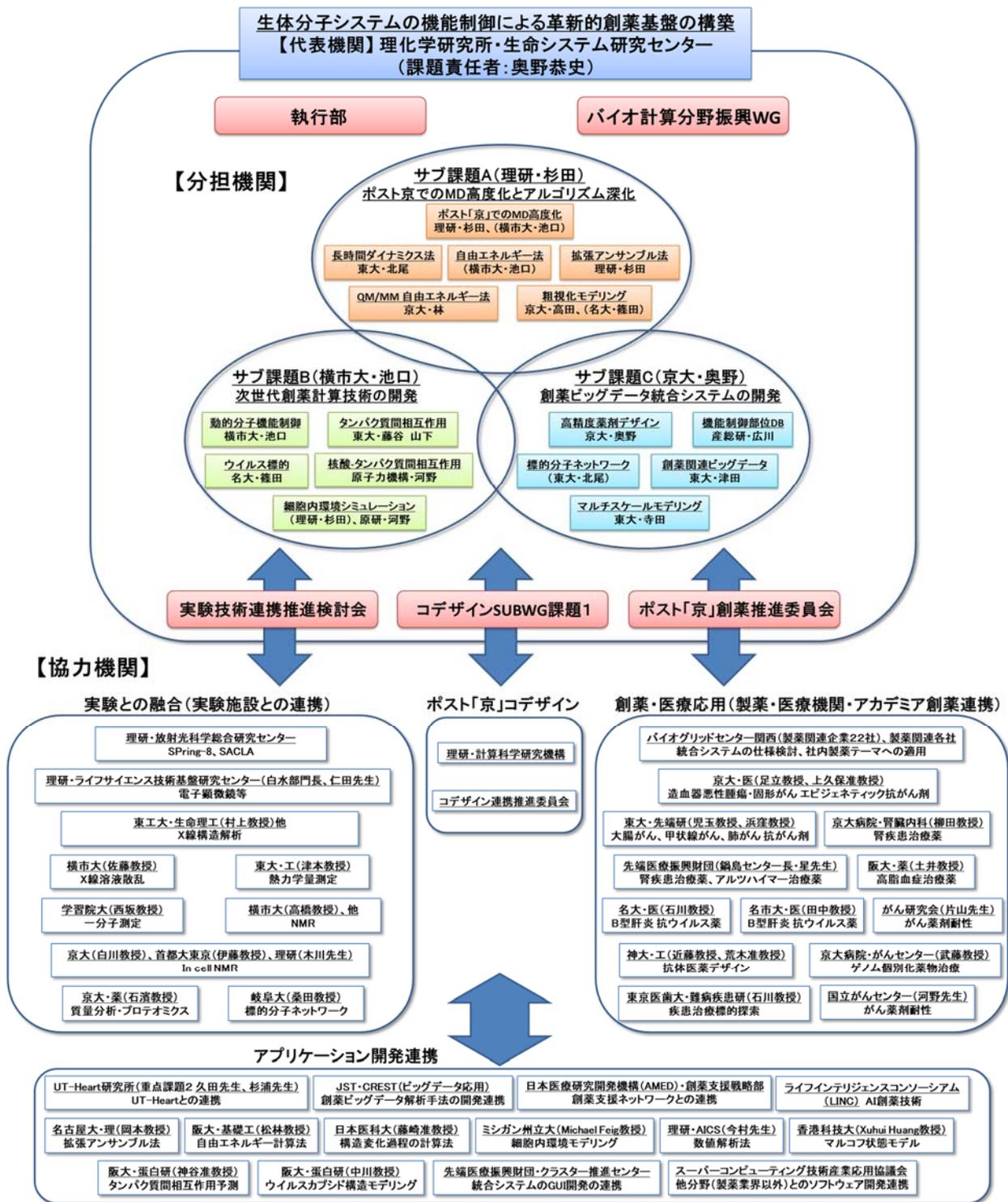
(5) 年次計画

課題全体	中間目標 (平成29年度)	ポスト「京」仕様のMDと各種創薬計算手法を連結した統合システムのプロトタイプを完成する。
	最終目標 (平成31年度)	ポスト「京」仕様のMDと各種創薬計算手法を統合化した創薬ビッグデータ統合システムを完成する。

サブ課題名 (分担機関・責任者)	調査研究・準備研究フェーズ		本格実施フェーズ			
	平成26年度	平成27年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	平成31年度
サブ課題A ポスト「京」でのMD高度化とアルゴリズム深化 (理化学研究所・杉田有治)	(目標) ポスト「京」でのMD高度化の方針を検討 (実施内容) 計算機関係者との連携を開始	(目標) MD高度化を開始し、創薬応用手法を検討 (実施内容) 既存手法のテストとコードのデザインを実施	(目標) 新規な創薬応用手法の開発を推進 (実施内容) 各実施者がアルゴリズム開発とテストを実施	(目標) 大規模生体システムの効率的計算法を開発 (実施内容) 新規手法のテストを行い、既存手法と比較	(目標) コデザインと新規手法を結合 (実施内容) 創薬応用計算を効率化する構造探索・自由エネルギー計算と大規模システムのマルチスケールシミュレーションの開発・改良	(目標) コデザインと新規手法を結合 (実施内容) 長時間ダイナミクスを創薬応用計算において実現し、超大規模な生体分子系シミュレーション法を確立することで国際的優位性をもつ計算手法を確立
サブ課題B 次世代創薬計算技術の開発 (横浜市立大学・池口満徳)	(目標) 課題実施内容の検討 (実施内容) 動的アンサンブル法 (DA法)、タンパク質間相互作用 (PPI)、ウイルス標的について検討	(目標) 課題実施内容の現状技術検討 (実施内容) DA法、PPI、ウイルス標的、核酸・タンパク質相互作用 (NPI) について、現状技術を検討	(目標) 次世代創薬計算技術開発の本格実施開始 (実施内容) DA法、PPI、NPI、ウイルス標的、細胞標的について、本格開発を開始	(目標) 次世代創薬計算技術プロトタイプ完成 (実施内容) DA法、PPI、NPI、ウイルス標的、細胞標的について、計算手法の目処を確立	(目標) 次世代創薬計算技術プロトタイプ改良 (実施内容) DA法、PPI、NPI、ウイルス標的、細胞標的について、国際的優位性のある計算手法を導入・改良	(目標) 次世代創薬計算手法完成 (実施内容) DA法、PPI、NPI、ウイルス標的、細胞標的について、国際的優位性のある計算手法を確立

<p>サブ課題C 創薬ビッグデータ 統合システムの開 発（京都大学・奥 野恭史）</p>	<p>（目標） 統合システム開 発のグランドデ ザイン （実施内容） サブ課題AとBと 議論をしながら、 開発計画を検討</p>	<p>（目標） 統合システムの 仕様決定 （実施内容） 製薬会社との議 論を行い、要素技 術・システム仕様 を調査検討</p>	<p>（目標） 創薬計算フロー の要素アプリの 開発 （実施内容） 創薬計算フロー の各要素アプリ を順次開発</p>	<p>（目標） 統合システムの プロトタイプ完 成 （実施内容） 創薬計算フロー をテスト実行し、 プロトタイプを開 発</p>	<p>（目標） サブ課題AとBの 方法論の組み込 み開始 （実施内容） 統合システムに サブ課題AとBで 開発された方法 論を実装、および ゲノム医療・ゲノ ム創薬への応用</p>	<p>（目標） 統合システムの 完成 （実施内容） 創薬計算フロー をテストし、統合 システムを改良、 およびゲノム医 療・ゲノム創薬へ の応用</p>
--	--	---	---	--	--	--

(6) 実施体制



上図に示すとおり、代表機関・理化学研究所生命システム研究センターのもと、執行部、ポスト「京」創薬推進委員会、実験技術連携推進検討会、バイオ計算分野振興WG、CODEザインサブWGを組織化し、分担機関による研究実施と協力機関との強力な連携を図りながら、プロジェクトを遂行する。協力機関は、4つのグループに大別し、創薬・医療応用を主旨とした製薬会社・医療機関・アカデミア創薬

研究機関のグループ、先端機器計測など実験との融合を主旨とした実験施設・研究機関のグループ、アプリケーション開発や他創薬系プロジェクトとのアプリケーション連携を主旨とした研究機関等のグループ、ポスト「京」とのコデザイン連携を図るグループから成る。

各組織の役割は次の通りである。

執行部：課題責任者奥野（理化学研究所/京都大学）、サブ課題責任者杉田（理化学研究所）、池口（横浜市立大学）と事務（理化学研究所 QBiC 推進室）で構成し、毎月定期的に開催する運営会議のほか、適宜、TV 会議やメール討論を通じて、プロジェクト運営全般の検討・決裁・指揮をする。

重点課題 1 ワークショップ（全体会議）：サブ課題実施者や若手研究者を含むプロジェクト参加者全員を対象とした研究ワークショップを年 2 回開催し、進捗確認とサブ課題間・分担機関間での相互連携を推進する。年に 2 回開催するワークショップにおいて、初回は製薬会社へ公開型で開催し、2 回目は諮問委員会委員の参加型で行う。ワークショップの参加対象企業には、KBDD コンソーシアム（「京」の創薬応用コンソ）、LINC（AI 創薬コンソ）の企業へと参加対象を広げ、製薬現場の広範囲にわたるニーズを受けた開発を展開する。

ポスト「京」創薬推進委員会：製薬会社・医療機関・アカデミア創薬研究機関等の協力機関と連携し、創薬・医療応用を促進するための委員会。製薬会社や医療機関からの有識者を中心に組織化し、創薬ターゲットの選定や創薬ビッグデータ統合システムの産業化利用などの具体的な創薬・医療応用に関する検討を行う。また、サブ課題 C の課題を A, B にも反映するために連携促進担当 2 名（京大 1 名、理研 1 名）を設置する。

実験技術連携推進検討会：先端実験施設や実験研究者との連携を促進するとともに、先端機器計測などの様々な実験技術とポスト「京」による分子シミュレーション技術とを融合を検討し、新たな構造生命科学の創成を目指す。また、サブ課題 C の課題を A, B にも反映するために連携促進担当 3 名（理研）を設置する。

コデザインサブ WG：MD 計算ソフト GENESIS をターゲットアプリとして、ポスト「京」のコデザインを推進する。また、各サブ課題で開発する要素計算技術の数理的枠組みを検討するために、アプリケーション開発連携の協力機関メンバーの協力を得て、数理モデル検討ミーティングを適宜開催する。

バイオ計算分野振興 WG：当該研究の成果普及とバイオ計算人材の人材育成を図る。具体的には、当該研究で開発する各種創薬計算技術やそれらを実装した創薬ビッグデータ統合システムの利用説明会・講習会やバイオ計算分野関連の各種勉強会・講演会の開催などが挙げられる。また、これらの実施に当たっては重点課題 2 等と連携し、相乗効果を生み出していく。

また、当該 WG では、本プロジェクトで雇用する若手研究者の研究・発表活動を奨励し、若手人材育成とキャリアパス形成を促進する。具体的な人材育成計画は、以下の通りである。

1. プロジェクトで雇用する若手研究者全員より希望キャリアパスの個別ヒアリングを実施する。
2. 担当 PI 教員とともに、各若手研究者の希望・適性・年齢・研究内容等を考慮して、キャリアパス確保にむけた育成計画を検討する。（1.と 2. は H27 年度と H28 年度中に実施）
3. 各 PI 教員が所属する大学や他大学で開催されるセミナーへの聴講を若手研究者に紹介し、基礎生命科学・創薬・医療などの異分野の視野と知識の習得を推進する。
4. 各 PI 教員や協力機関を通じたアカデミア・産業界へのネットワークを活用し、求人情報を積極的に収集するとともに、各若手研究者の研究内容・業績等を広く紹介する広報を行う。

本プロジェクトで雇用する研究者予定数は、それぞれのチームについて、奥野 3名、杉田 2名、池口 2名、北尾 2名、林 1名、藤谷 (2018.12月まで) および山下 (2019.1月以降) 1名 (ポスドク以外教員等 2名)、篠田 2名、広川 1名、津田 1名、寺田 1名 (ポスドク以外教員 1名)、河野 1名であり、若手研究者 (ポスドク) の雇用予定数は計 17名となる。これらの若手研究者を対象に上記の人材育成プランを実施し、適時、キャリアアップをはかる。

なお、現在、我が国ではバイオ計算人材が枯渇しており、バイオ系のアカデミア、企業ともに若手人材の需要が高い状況であることから、こうした人材育成は非常に重要視されている。就職先としては、アカデミアでは薬学・医学などの応用系も含むバイオ系の大学研究科や研究機関、企業としては製薬、化学、食品関連企業が有力な就職先となる。

(7) 必要計算資源

必要計算資源は、ターゲットアプリケーション GENESIS、および、各課題で用いられる MP-CAFEE (GROMACS)、MODYLAS、SCUBA (これらのアプリは HPCI 戦略プログラムで活用されており、「京」で実行実績あり) の見積もりから積算した。サブ課題 A では、GENESIS および、その QM/MM 応用である QM/GENESIS の利用で 570 万ノード時間/年 (「京」) 107 万ノード時間/年 (「京」以外) である。この「京」の計算資源は、現在の「京」での GENESIS のベンチマーク値を用いると 10 万原子系 $10\mu s$ 、100 万原子系 $1\mu s$ 、1000 万原子系 $0.1\mu s$ 弱程度に相当する。ストレッチ目標では、超大規模な系を対象として見積もった。コデザインはサブ課題 A と連携しており、その必要資源量も含まれている。サブ課題 B では、GENESIS に加えて、現在 HPCI 戦略プログラムで活用されており、ポスト「京」でも各課題で利用予定である MP-CAFEE, MODYLAS, SCUBA での見積もりを行い、824 万ノード時間/年 (「京」) である。GENESIS は動的分子機能制御、MP-CAFEE はタンパク質間相互作用制御、MODYLAS はウイルス標的総逆計算技術、SCUBA は核酸-タンパク質相互作用制御の各研究開発で用いる。開発サブ課題 C では、GENESIS、GROMACS の利用で、394.4 万ノード時間/年 (「京」) とした。この「京」の計算資源は、おおよそ、結合自由エネルギー計算 (120 ノード時間/ケース) を評価化合物 $33 \times$ 創薬関連タンパク質 $100 \times$ 標的構造数 10 に対して行う計算資源に相当する。

「京」の計算資源量

(単位：ノード時間/年)

	H27 年度	H28 年度	H29 年度	H30 年度	H31 年度
	1,200,000	17,884,000	23,249,200	23,249,200	23,249,200

「京」以外の計算資源量

(単位：ノード時間/年)

	H27 年度	H28 年度	H29 年度	H30 年度	H31 年度
	6,770,000	6,770,000	6,770,000	6,770,000	6,770,000

2. 研究開発内容詳細

2-1. サブ課題A. ポスト「京」での MD 高度化とアルゴリズム深化

(1) 目的・意義

創薬において、構造の柔軟性や溶媒との相互作用を考慮するために、MD 計算の活用が不可欠になってきた。また、生命科学において、様々な実験や計測結果を検証し解釈するためにも MD 計算は重要な役割を果たしている。HPCI 戦略プログラム分野 1（以下、戦略分野 1）では、従来考慮されていなかった細胞環境（細胞質や核内混み合い環境）を露わに考慮した MD 計算、タンパク質の柔軟性を考慮した薬剤結合自由エネルギー計算などを実施してきた。しかし、タンパク質と薬剤候補化合物の莫大な組み合わせ、薬剤によるタンパク質の機能制御を理解するための長時間（ミリ秒）の分子運動、リボゾームやウイルスなどの生体超分子複合体や細胞環境を考慮した巨大な系などを MD により計算するためには、現在の計算機上でのパフォーマンスは十分なものではない。本サブ課題では、ポスト「京」開発主体とのコデザインを通してポスト「京」の演算能力を最大限に生かす事が可能な MD ソフトウェアの開発と高度化を行う。さらに新規性の高いアルゴリズムを開発することで、医薬品開発を加速化し画期的新薬を創出する基盤を構築する。MD 計算による応用計算は、現在行われているタンパク質と薬剤候補化合物に関する莫大な組み合わせ計算と、将来の創薬応用につながると期待される大規模生体分子システムをターゲットとした計算に分けられる。HPC の用語では、前者は小・中規模の計算を大量に行う Capacity 計算に、後者は複雑で大規模な計算の限界に挑戦する Capability 計算に対応する。本課題では、Capacity 計算と Capability 計算のいずれにおいてもポスト「京」の演算性能を最大限に発揮する MD 計算エンジンを開発し、新たな創薬応用計算の可能性を探索する。

(2) 実施内容

MD 計算の高度化研究を行うために、ポスト「京」開発主体と連携したコデザインを実施する。対象とするソフトウェアは、理化学研究所計算科学研究機構を中心に開発している GENESIS である。MD 計算では演算コストの高いのは短距離力の非共有結合相互作用と、クーロン力などの長距離相互作用である。両者とも CPU の特性によって最適化の指針が異なることがわかっているため、ポスト「京」で採用される CPU の特性を生かした最適化を実施する必要がある。短距離相互作用計算では特に、SIMD 化率を向上させる必要があり、理化学研究所計算科学研究機構との緊密な連携が必要である。長距離相互作用については、通常用いられる Particle mesh ewald 法ではノード通信を必要とする FFT 計算が含まれるため、高速な通信ライブラリの利用等の検討が必要である。これらを通して創薬応用 MD を効率的にポスト「京」を用いて実施する基盤を構築する。また、ポスト「京」の演算性能を最大限に発揮する全原子 MD による大規模な系での高速化も必要である。大規模な並列化を実現するため高速な通信ライブラリーを用いて高い並列化率を維持する必要がある。また、超大規模生体分子システムのシミュレーションを実施するためには、粗視化とマルチスケール化が必須であることから京都大学・高田を新たにメンバーに追加し、名古屋大学・篠田や理化学研究所・杉田と連携する

さらに、高度化研究と並行して、生命科学の研究に用いられて来た最先端のアルゴリズム手法を創薬の現場で使いやすい形で活用できるように発展させる。具体的には、拡張アンサンブル法の改良によるタンパク質薬剤複合体構造予測法、熱力学理論を用いた自由エネルギー評価法、多数の独立な MD 計算を組み合わせた長時間ダイナミクス法、粗視化モデル、QM/MM 自由エネルギー法などの開発と生体分子

系でのテスト評価を行う。また、創薬や生命科学に必要な手法は上に挙げた手法に限定されないため、調査研究フェーズにアカデミアと産業界からの要望や意見も募り、ポスト「京」で行う MD 計算に必要なアルゴリズムを多く開発する。

- ① ポスト「京」での MD 高度化（理化学研究所 杉田 有治、横浜市立大学 池口満徳（サブ課題 B 実施者））分子動力学アプリケーション「GENESIS」をポスト「京」において高度化する。GENESIS は戦略分野 1 では大規模な生体分子システム（例えば、分子混雑環境を考慮した 1 億原子系）の MD 計算において高い並列性能を示した。ポスト「京」では創薬応用 MD に適した Capacity computing を効率良く実施するための高度化を行い、Capacity computing を実施した場合に「京」での総演算量と比較し数十倍から百倍多くの創薬応用 MD 計算を実現する。また、Capability computing としても世界最大級の MD 計算を実現するための並列化の効率アップを図る。
- ② 拡張アンサンブル法（理化学研究所 杉田 有治）レプリカ交換分子動力学法（REMD）などの拡張アンサンブル法は従来、タンパク質折れ畳みや凝集機構の解明に用いられてきた。本課題では、創薬応用 MD に利用しやすい形に改良を加え、タンパク質と基質の結合自由エネルギーを高精度に求める。より具体的には、基質が結合することでタンパク質の構造や揺らぎが変化する可能性がありうるが、そのようなタンパク質自身の変化と基質結合の両方の効果を含む拡張アンサンブル計算法を開発する。この手法はコストを下げるためというよりは、ポスト「京」などの利用した大規模長時間の計算を実施した場合に、従来はできなかった計算を実現するものである。
- ③ 長時間ダイナミクス法（東京大学 北尾 彰朗）多数の独立な MD 計算を統合化することによって長時間ダイナミクスを実現する方法論の開発を行う。Markov State Model では将来の状態は現在の状態にのみ依存すると仮定する。この仮定に基づき、異なる初期構造からスタートする多数の独立な MD 計算から異なる状態間の遷移確率を求めることができる。全ての状態変化についての遷移確率を求めることができれば、自由エネルギー表面の解析ができたことと同等の情報が得られたことになり、長時間ダイナミクスを解析できる。この手法を標的タンパク質に応用し、機能的長時間運動や薬剤結合が生じた場合のタンパク質構造変化を予測可能にする。この手法も拡張アンサンブル法と同様で、コストを下げるというよりも大規模計算によって従来不可能であった計算を実現するためのものである。
- ④ ハイブリッド QM/MM 自由エネルギー法（京都大学 林 重彦）ハイブリッド法による薬剤結合自由エネルギー計算法を確立するとともに、創薬応用として量子的相互作用が重要となる薬剤結合に対する計算の精密化をはかる。この手法では、特に薬剤結合部位におけるタンパク質と薬剤の相互作用エネルギーを、第一原理量子化学計算を用いて計算することで、古典分子力場に含まれるモデルパラメータに依存しない正確な予測が可能になる。量子化学計算は粒子数が増加した場合に急激に演算コストが上昇するが、多くの薬剤候補化合物との相互作用に適用可能にするための計算コストの減少を図る必要がある。
- ⑤ 自由エネルギー計算法（横浜市立大学 池口満徳（サブ課題 B 実施者））低分子化合物と標的タンパク質との結合自由エネルギーの各種計算手法について、精度と計算速度の両面から性能評価する。この手法は従来の結合自由エネルギーと異なり、結合状態と非結合状態の間に中間状態を挟むことをせず、結合自由エネルギー予測を行う手法の開発を行う。創薬応用計算においては、多段階のスクリーニングを行うことで標的タンパク質に対して高い結合能を示す薬剤候補化合物を探索する

必要があるが、ここで開発する自由エネルギー計算法を用いることで、従来法と比較して計算コストが少なくなるため、より多くの薬剤候補化合物の探索が可能になる。これにより、サブ課題 C が開発する統合システムに実装する方法を選定するとともに、それらのポスト「京」での実装を行う。

- ⑥ 粗視化モデリング (京都大学 高田 彰二、名古屋大学 篠田 渉 (サブ課題 B 実施者)) 大規模生体分子複合系の構造予測のための粗視化技術および、粗視化・全原子のハイブリッド系の分子シミュレーション技術を開発することで、超大規模生体分子システムのシミュレーションを実現する。粗視化モデリングを行うことで、全原子 MD では到達できない長時間の生命現象に迫ることができる。

(3) 目標・期待される成果

「京」で行われた創薬応用 MD と比較して、Capacity 計算の総量としてポスト「京」では数十倍から百倍程度の総演算を行うことが可能な基盤を、コデザインを通して開発する。それによって様々な計算アルゴリズムを用いた小・中規模のタンパク質・薬剤候補化合物の結合自由エネルギー計算や動的制御の計算が、ポスト「京」を用いて大量に、かつ、高速に計算可能になる。さらに「京」では不可能であった大規模な生体分子システムでの更なる長時間計算を実現するために、ポスト「京」での Capability 計算を最適化する。これにより、「京」ではサブマイクロ秒であった計算時間を超大規模系に対してもマイクロ秒から数十マイクロ秒に延長し、生体超分子複合体の分子ダイナミクスが関わる重要な生命科学の課題を解決する。さらには、将来の創薬応用のシーズを探り、実験家と連携して計算で得られた知見を検証する。

アウトプット成果 (平成 29 年度終了時): ポスト「京」での MD 高度化では、ポスト「京」では数十倍から百倍以上の Capacity 計算を可能にすることを想定し、「京」等において単独の MD 計算として数倍の高速化を図る (具体的な数字はポスト「京」の性能設計に関わるため記述できない)。拡張アンサンブル法と長時間ダイナミクス法の開発においては、タンパク質構造変化と薬剤結合の両方を考慮した新しい手法の開発を行う。ハイブリッド QM/MM 自由エネルギー法や自由エネルギー計算法では、従来用いられている計算手法からコストダウンを図り、数倍以上少ない演算量での計算を可能とする。大規模システムの計算効率アップのためには、時間積分法の改善や長距離相互作用計算におけるパラメタの検討などを行い、同等の計算精度を維持しながら数倍の高速化を実現する。また、粗視化モデリングにおいても並列化技術を検討して、より多くの CPU を用いた並列化を実現し、大規模でかつ長時間ダイナミクスを実現し、生命現象の解明に繋げる。

アウトプット成果 (本格実施フェーズ終了時): 平成 29 年度終了時の研究開発を発展させ、ポスト「京」に最適化された MD 計算エンジンを有する GENESIS 新バージョンに対して、拡張アンサンブル法、長時間ダイナミクス法、QM/MM 自由エネルギー法、自由エネルギー計算法などを導入する。これにより、アカデミアのみならず製薬企業等の研究者が、創薬応用 MD として様々なアルゴリズムを用いてポスト「京」上で研究開発を実施できるようになる。さらに、このソフトウェアを、サブ課題 C で開発する創薬ビッグデータ統合システムに組み込み、課題実施者のみならず産業界にも公開する。また、超大規模生体分子システムのシミュレーションを実現するためのマルチスケール (全原子および粗視化) MD 計算を、ポスト「京」のアーキテクチャーに最適化する。

アウトプット成果 (ポスト「京」運用開始 5 年後): 拡張アンサンブル法や長時間ダイナミクスによって、従来のシミュレーションでは不可能であった薬剤結合ポーズの予測などを実現し、薬剤候補化合物の結合自由エネルギーの予測を向上させる。一方で、QM/MM 自由エネルギー法や自由エネルギー計算のコストを減少させることによって、ポスト「京」を用いて、「京」時代と比較して数十倍から百倍多くのスクリーニングを実現し、より信頼性の高い In silico 創薬を実現する。また、手法のみならず創薬応用に関する学術的な論文、例えば、重要なタンパク質と薬剤候補化合物の自由エネルギーなどに関する新しい知見を報告する。

アウトカム効果 (ポスト「京」運用開始 5 年後): 開発された手法の信頼性がアウトプットとして学術論文などで示されているため、アカデミアのみならず製薬企業なども GENESIS を用いた創薬応用 MD 計算を実施する。これにより、製薬企業と重点課題 1 実施機関との連携研究が進展し始める。

アウトカム成果 (ポスト「京」運用開始 10 年後): 5 年間に行われた大規模計算の結果を踏まえて、手法の練り直しと更なる高度化を図り、次世代創薬計算のスタンダードとしての位置付けを確立する。すなわち、国内のアカデミアや製薬企業のみならず、海外の研究者や企業も創薬応用計算に、重点課題 1 で開発した手法を用いるようになる。

(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければならないこと

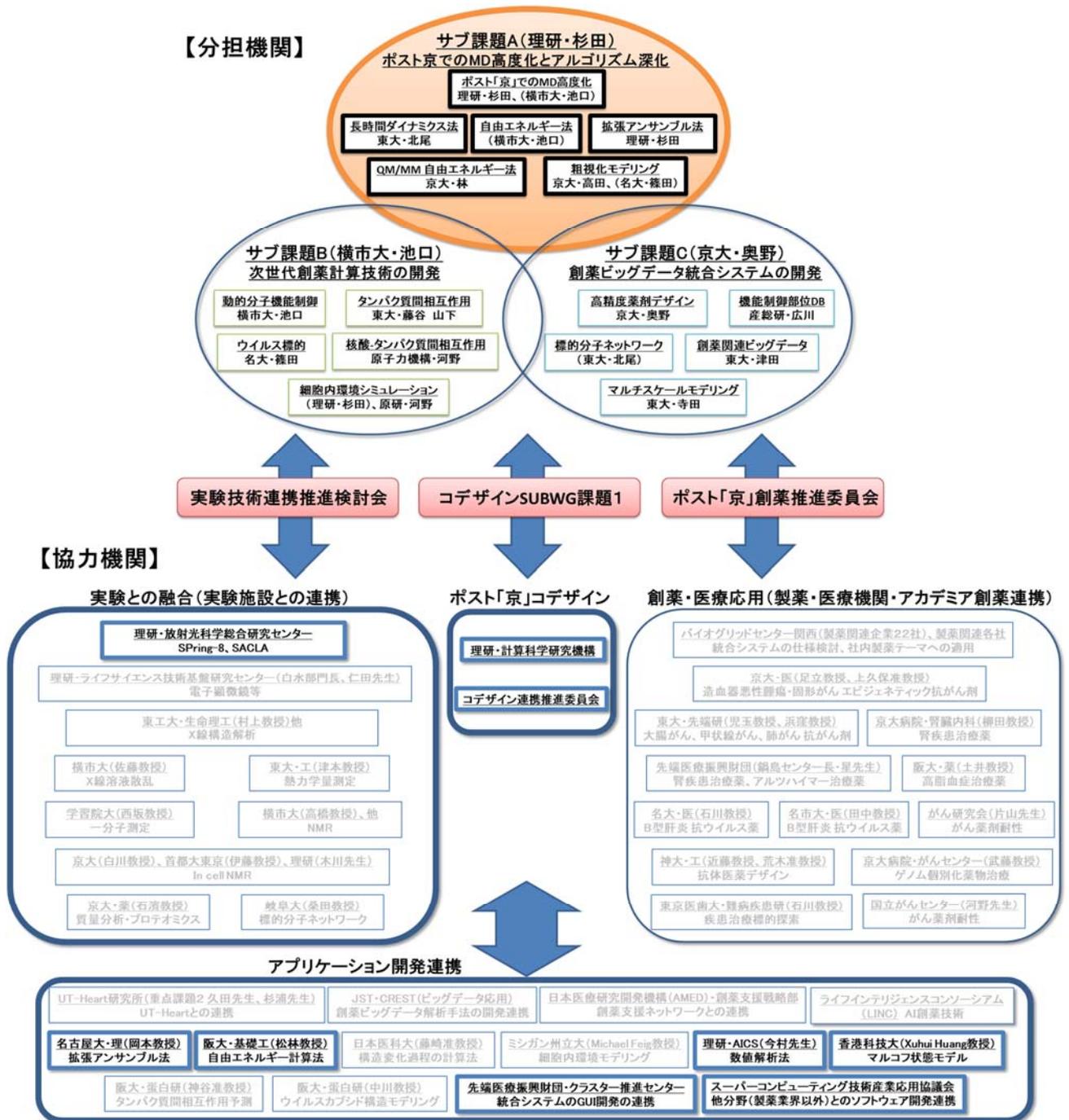
「京」を大規模に利用することで藤谷（東京大学）らは MP-CAFEE 法という MD 計算を用いた自由エネルギー計算でタンパク質と薬剤の相互作用が高精度に評価できることを示した（戦略分野 1）。また、杉田（理化学研究所：戦略分野 1）、岡崎（名古屋大学：戦略分野 2）らは、従来は不可能であった数千万から数億原子を含む巨大な生体系（細胞内分子混雑系、ウイルスなど）の全原子 MD 計算を実現した。しかし、いずれの計算においても「京」上での MD 計算のパフォーマンス限界により計算可能な時間が短く（数百ナノ秒程度）、タンパク質と薬剤の正確な結合構造が実験的に不明な場合などの結合自由エネルギーや、巨大な生体系における長時間の分子運動の予測などが困難であった。

ポスト「京」で初めてできると期待されるのは、「コデザイン」による MD 計算自身の高速化であり、タンパク質等が働く時間スケール（マイクロ秒以上）でのシミュレーションや創薬応用計算が可能になる。また、本重点課題の目的である創薬応用計算を行うために必要な要素を検討した結果として、長時間ダイナミクスによるタンパク質と薬剤の複合体構造の正確な予測、効率的な自由エネルギー計算に基づく低コスト・高速な薬剤候補化合物のスクリーニング、分子力場に含まれるパラメタ依存性に起因する問題を解決するために QM/MM 自由エネルギー計算による正確な相互作用の検討などが実現される。ポスト「京」の利用に向けては、「コデザイン」によって高速化された MD ソフトウェアである GENESIS をベースに新規アルゴリズムを導入することで、高速化と高機能化の両方を実現することができる。課題 C で開発する統合システムに、高速・高機能分子動力学法を導入することによって、信頼性の高い創薬応用 MD を実現するプラットフォームを開発する。

(5) 実施体制

サブ課題責任者・杉田（理化学研究所）の指揮のもと、4 名の当該サブ課題実施者との密接な連携を図りながら研究を遂行する。各研究テーマの進捗管理は、3 ヶ月ごとサブ課題研究進捗会議で確認する。他のサブ課題との連携は、執行部・運営会議を通して促進していく。特に、各種計算アルゴリズム

ムや創薬計算手法の選定や評価はサブ課題間の共同で実施する。協力機関は、下図に示すとおり、アプリケーション開発の連携を主旨とした研究機関等のグループ、ポスト「京」とのコデザイン連携を図るグループ、先端機器計測など実験との融合を主旨とした実験施設・研究機関のグループの3つのグループから成る。詳細の連携内容はリストの通りである。



*当該サブ課題の協力機関は太線で囲ったもののみである。

	協力機関などの連携先	連携内容
実験との融合 (実験施設との連携)	理化学研究所 放射光科学総合研究センター	SPring-8やSACLAなどの放射光施設を用いた生体高分子および生体超分子複合体の立体構造解析を行う。
アプリケーション開発連携	大阪大学 基礎工学研究科	エネルギー表示による自由エネルギー計算法を用いた手法の開発と応用計算を、松林伸幸教授らと連携する。
	理化学研究所 計算科学研究機構	分子動力学計算に必要な数値解析手法の高速化に関する知見を得るために、大規模並列数値計算技術研究チームの今村俊幸チームリーダーと連携する。
	名古屋大学 大学院理学研究科	拡張アンサンブル法による自由エネルギー計算法の開発と応用計算に関する議論を行い、岡本祐幸教授と連携する。
	Hong Kong University of Science and Technology	Markov State Modelを用いた長時間ダイナミクスの手法と応用計算について、Xufei Huang教授と連携する。
	先端医療振興財団 クラスター事業推進課	創薬ビッグデータ統合システムのCUI, GUI開発において岩田浩明主任研究員と連携する。
	スーパーコンピューティング技術産業応用協議会	製薬業界以外の産業界とのソフトウェア開発連携に関する情報交換を行う。

2-2. サブ課題B. 次世代創薬計算技術の開発

(1) 目的・意義

現在、広く用いられている創薬アプローチは分子標的創薬と呼ばれ、単一の標的タンパク質の阻害に主眼をおいたアプローチであり、これにより多くの医薬品が開発されてきた。しかしながら、製薬業界では、この十数年、新薬の承認数が低迷しており、医薬品開発が容易なターゲット疾患のほとんどは開発し尽され、残された疾患はこれまでの創薬アプローチでは医薬品の創出が困難なものばかりであると考えられている。そこで本サブ課題では、ポスト「京」の演算能力を最大限に活かす分子シミュレーション技術を開発し、生体分子システムの動的な機能発現や、巨大な生体分子システムの機能解析に資する新たな計算生命科学を開拓することで、次世代の創薬アプローチを切り拓く計算技術の開発を目指す。また、それらの高度な計算技術を生命科学における様々な実験計測手法と連携して新しい知見をもたらす解析技術へと発展させる。サブ課題Aで開発するポスト「京」に最適化したMD計算ソフトを高度に活用し、サブ課題Cで開発する統合システムへ組み込むべく、次世代創薬におけるHPC計算技術を開発する。

具体的には、ポスト「京」を活用した創薬研究に必要な標的タンパク質の動的機能制御、タンパク質間相互作用制御、ウイルス環境標的、細胞環境標的、核酸-タンパク質相互作用制御のための計算技術の開発を目指す。将来の創薬研究を見越したチャレンジングなテーマである動的機能制御や、巨大な生体システム・ネットワーク系（多数のタンパク質および核酸等からなるウイルス環境、細胞内環境や核内環境など）を対象とした計算を実施する。これらのシミュレーションは、ポスト「京」において初めて達成できる計算機実験であり、新たな構造生命科学の開拓につながることを期待される。また創薬応用においても、現在の主流の創薬手法である分子標的創薬の限界（単独の創薬標的タンパク質の枯渇）を打破する次世代の創薬手法であるエピジェネティック創薬やシステム創薬につながり得るものと期待できる。このように、ポスト「京」によるシミュレーションは、産業面および学術面の両面において国際的に優位性のある革新的でチャレンジングなテーマである。

(2) 実施内容

ポスト「京」を活用した次世代創薬研究の基盤となる技術開発を目標とする。現在の計算創薬では困難な、標的タンパク質における動的な構造変化の制御、タンパク質間相互作用の制御、さらには巨大分子系である、ウイルス全体、細胞環境、核酸-タンパク質複合体を標的とする計算創薬技術を開発する。また、ポスト「京」によって実現する高度な計算技術と生命科学における様々な実験計測技術との融合

手法の開発を行い、新たな構造生命科学の開拓を目指す。

① 動的分子機能制御（横浜市立大学 池口 満徳）

アロステリック制御やアゴニスト・アンタゴニスト作用など、受容体タンパク質に結合し構造変化を誘起する薬剤を合理的に設計することは、製薬業界でのニーズが非常に高いが、これまでの創薬技術では非常に困難な課題であった。そのため、ポスト「京」を用いた超長時間アンサンブル計算により、標的タンパク質の動的性質を理解し、標的タンパク質の構造変化を制御する薬剤の創出のための基盤技術開発を目指す。

② タンパク質間相互作用制御（東京大学 藤谷 秀章（2018.12月まで）山下 雄史（2019.1月以降））

タンパク質間相互作用を制御する薬剤や抗体医薬などのバイオ医薬品は製薬業界でも非常に期待されている。しかしながら、タンパク質の立体構造は低分子と比較して格段に複雑であり、その立体構造の柔軟性も考慮するためには、大規模な計算が不可欠であるため、ポスト「京」を高度に活用したタンパク質間相互作用解析の計算技術を開発する。

③ ウイルス標的創薬計算技術（名古屋大学 篠田 渉）

ウイルスによる感染症を対象とした創薬計算技術の開発を行う。巨大分子系であるウイルスカプシドをモデリングし、ポスト「京」によるシミュレーションを実施することでウイルスカプシド存在下の環境特性の知見を獲得し、そこでの薬剤動態や結合などを評価する技術開発を行う。

④ 細胞環境標的創薬計算技術（理化学研究所 杉田 有治）

リボゾームなどの生体超分子が複数存在し、複雑に混み合った細胞環境下のシミュレーションを行い、そのような環境での薬剤動態や結合などを評価する技術開発を行う。

⑤ 核酸-タンパク質相互作用制御（日本原子力研究開発機構 河野 秀俊）

核内タンパク質やRNA結合タンパク質など、核酸結合タンパク質も重要な創薬ターゲットと考えられている。しかしながら、核酸もタンパク質と同様に非常に複雑な生体高分子であるため、ポスト「京」によるシミュレーションを実施することで、核酸-タンパク質相互作用の詳細解析の計算技術を開発する。

（3）目標・期待される成果

ポスト「京」向けに高度に最適化されたMD計算ソフトを創薬へ繋げる計算技術を実現する。

アウトプット成果（平成29年度終了時）：動的機能分子制御では、ポスト「京」での計算実施時に標的タンパク質の機能制御に関わるミリ秒以上の動的構造解析を可能にすることを想定し、「京」等において10マイクロ秒以上の動的構造解析を可能とする計算システムを開発する。タンパク質間相互作用制御では、ポスト「京」での100万原子数を超えるタンパク質複合体計算の精度を向上させるための力場を開発する。ウイルス標的創薬計算技術では、サブミクロンサイズに迫るウイルスカプシド系の薬剤相互作用解析を想定し、「京」等において、直径30nm程度のB型肝炎ウイルスカプシド系の分子モデリング（全原子及び粗視化モデル）及び構造解析を可能とする計算システムを開発する。細胞環境標的創薬計算技術では、細胞環境を考慮した大規模MD計算を、アプリケーションの高速化によって、「京」等においてマイクロ秒以上のシミュレーションを可能とする計算システムを開発する。核酸-タンパク質相互作用制御では、ポスト「京」での計算実施時に、転写因子など塩基配列特

異的に結合する DNA 結合タンパク質の認識機構について多次元自由エネルギープロファイル解析を可能とすることを想定し、「京」等において 2 次元以上の多次元自由エネルギープロファイル解析を可能とする計算システムを開発する。

アウトプット成果 (本格実施フェーズ終了時) : 動的機能分子制御では、平成 29 年度終了時の成果を発展させ、「京」等において、低分子化合物結合などの複数の条件において、それぞれ 10 マイクロ秒以上の動的構造の変化を解析可能とする計算システムを開発する。タンパク質間相互作用制御では、「京」等において 100 万原子数を超える系で短時間(10 マイクロ秒以下)シミュレーションによる低分子の活性予測を可能にする。ウイルス標的創薬計算技術では、「京」等において、直径 30nm 程度の B 型肝炎ウイルスカプシドへの低分子化合物の取り込み機構(結合、透過)について、自由エネルギー評価を可能とする計算システムを開発する。細胞環境標的創薬技術では、細胞内でのタンパク質の安定性や基質認識を理解するために必要な自由エネルギー計算法を開発して、高速化した分子動力学エンジンをを用いて、定量的な予測を行う方法論を確立する。核酸-タンパク質間相互作用制御では、平成 29 年度終了時の成果を発展させ、翻訳後修飾を受けた DNA 結合タンパク質の認識機構について 2 次元以上の多次元自由エネルギープロファイル解析を可能とする計算システムを開発する。

アウトプット成果 (ポスト「京」運用開始 5 年後) : 動的機能分子制御では、ポスト「京」において、標的タンパク質のミリ秒以上の動的構造解析を実現し、低分子化合物結合等による動的構造の変化を解析する。タンパク質間相互作用制御では、ミリ秒オーダーで起きる構造変化を持ったタンパク質複合体に作用する低分子化合物の活性予測を可能にする。ウイルス標的創薬計算技術では、サブミクロンサイズのウイルスカプシド系について、分子モデリング(全原子及び粗視化)・構造解析を実行し、薬剤との相互作用、送達・作用機構を解析する。細胞環境標的創薬技術では、細胞内環境を考慮した計算において、一つのタンパク質における基質の競合や、一つの基質に対する複数のタンパク質の競合などについての自由エネルギー計算を実現し、創薬応用に必要な知見を得る。核酸-タンパク質間相互作用制御では、ポスト「京」において、多次元自由エネルギープロファイル解析を行い、翻訳後修飾の DNA 結合に対する影響を明らかにする。

アウトカム成果 (ポスト「京」運用開始 5 年後) : 製薬企業等、実業界などでの応用事例を積み上げるとともに、生命科学として、一分子測定、放射光、XFEL など先端計測実験と連携し、生命科学分野に新しい知見と信頼性の高い構造情報をもたらす。

アウトカム成果 (ポスト「京」運用開始 10 年後) : 実業界からのフィードバックによる創薬計算技術の高度化を実施しつつ、産学連携で、大規模 HPC を用いた画期的新薬開発に貢献する。

(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければならないこと

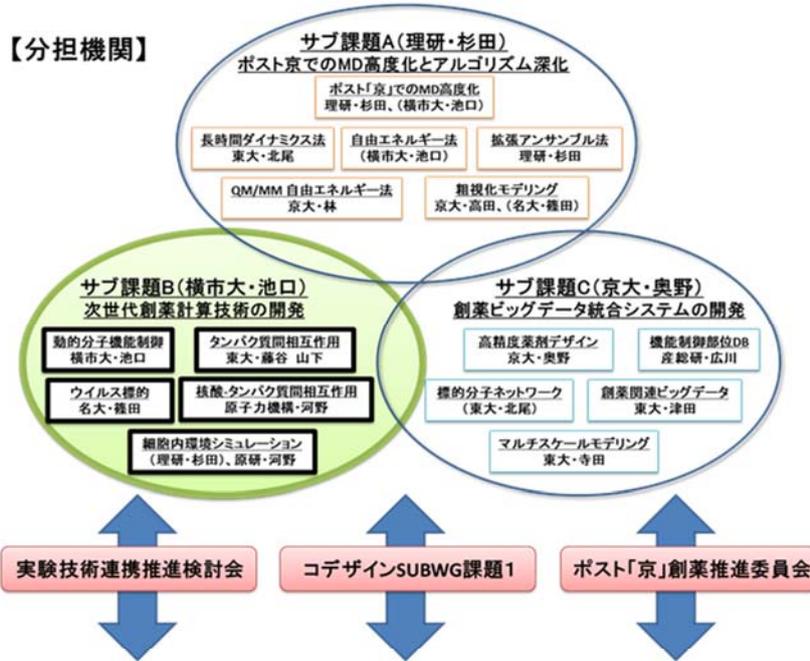
「京」を活用することで、河野(日本原子力研究開発機構)、高田(京都大学)、池口(横浜市大)は MD 計算により DNA 結合タンパク質における動的性質の解析、藤谷(東京大学)は MP-CAFEE 法により標的タンパク質と薬剤候補化合物の結合自由エネルギー計算が高精度に実現できることを示した。さらに、巨大系では、杉田(理化学研究所)、河野(日本原子力研究開発機構)、岡崎(名古屋大学)は、複雑に混み合った細胞環境やヌクレオソームなどの巨大核酸タンパク質複合体、ウイルス全体の計算が可能であることを示した。しかし、現在の「京」を用いたこれらの計算では、それぞれ数百ナノ秒の計算が限界であり、標的タンパク質が大幅な構造変化を示す場合やタンパク質間相互作用、細胞やウイル

スなど巨大系における十分なアンサンブルの実現は困難であった。ポスト「京」では、数十倍～百倍のアプリ性能向上を背景として、これらの難しい対象においても、十分なアンサンブルの収束を実現することを目指す。これら種々の巨大分子系のシミュレーションは、ポスト「京」において初めて達成できる計算機実験であり、新たな構造生命科学の開拓および次世代の創薬手法であるエピジェネティック創薬やシステム創薬につながり得るものと期待できる。

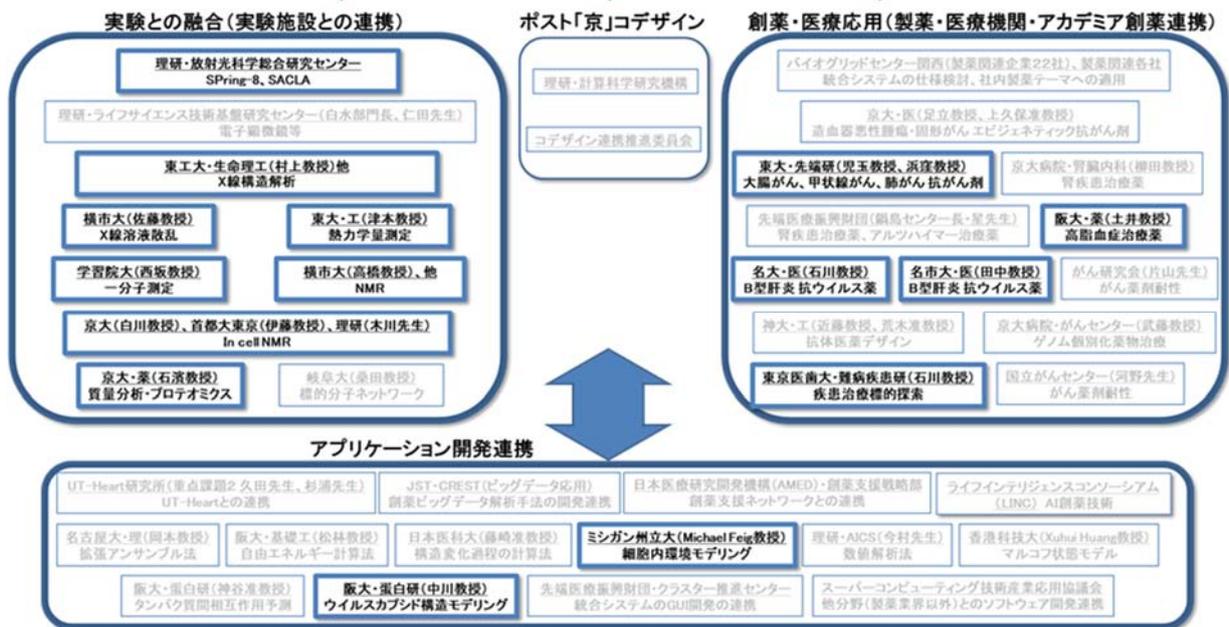
(5) 実施体制

サブ課題責任者・池口（横浜市立大学）の指揮のもと、4名の当該サブ課題実施者との密接な連携を図りながら研究を遂行する。各研究テーマの進捗管理は、3ヶ月ごとサブ課題研究進捗会議で確認する。他のサブ課題との連携は、執行部・運営会議を通して促進していく。特に、各種計算アルゴリズムや創薬計算手法の選定や評価はサブ課題間の共同で実施する。協力機関は、下図に示すとおり、先端機器計測など実験との融合を主旨とした実験施設・研究機関のグループ、創薬・医薬応用を主旨とした製薬会社・医療機関・アカデミア創薬研究機関のグループ、アプリケーション開発の連携を主旨とした研究機関等のグループの3つのグループから成る。詳細の連携内容は次頁リストの通りである。

【分担機関】



【協力機関】



*当該サブ課題の協力機関は太線で囲ったもののみである。

	協力機関などの連携先	連携内容
実験との融合 (実験施設との連携)	理化学研究所 放射光科学総合研究センター	SPring-8やSACLAなどの放射光施設を用いた生体高分子および生体超分子複合体の立体構造解析を行う。
	東京工業大学 生命理工学研究科	多剤排出トランスポーターなどのX線結晶構造解析について、村上聡教授と連携する。
	横浜市立大学	SAXS測定について佐藤衛教授と、NMR測定について高橋栄夫教授と連携する。
	京都大学 工学研究科	細胞環境中の動態のシミュレーション結果を、白川昌宏教授のin cell NMR実験と比較検討する。
	首都大学東京 理工学研究科	細胞環境中の動態のシミュレーション結果を、伊藤隆教授のin cell NMR実験と比較検討する。
	東京大学 工学系研究科	タンパク質間相互作用などの分子結合の熱力学測定について、津本浩平教授と連携する。
	学習院大学 理学部	生体分子の1分子測定について、西坂崇之教授と協力する
	京都大学 薬学研究科	石濱泰教授(製剤機能解析学分野)と連携し、質量分析によるプロテオミクスにおける実験検証の協力を得る。
創薬・医療応用 (製薬・医療機関・アカデミア 創薬との連携)	名古屋市立大学 大学院医学研究科	B型肝炎ウイルスの抗ウイルス剤の開発を田中靖人教授らと共同で行う。
	名古屋大学 大学院医学系研究科	B型肝炎ウイルスの抗ウイルス剤の開発を石川哲也教授らと共同で行う。
	東京大学 先端科学技術研究センター	大腸がん、甲状腺がん、肺がんの抗がん剤開発に関して、実験協力者としては児玉教授、浜窪教授と連携する。
	大阪大学 薬学研究科	高脂血症治療薬の開発に関して、実験協力者として土井健史教授と連携する。
	東京医科歯科大学	ゲノム病理に関する情報提供や疾患標的の探索とシミュレーション結果の検証に関する協力
アプリケーション開発連携	Michigan State University	細胞環境のモデリングについて、Michael Feig教授と協力する。
	大阪大学 蛋白質研究所	ウイルスカプシド構造の分子モデリングについて中川敦史教授らに助言を得る。

2-3. サブ課題C. 創薬ビッグデータ統合システムの開発

(1) 目的・意義

医薬品開発プロセスにおいて、計算技術の利活用が最も期待されている工程は、「化合物ライブラリーから疾患原因タンパク質に結合し制御する化合物を探索するスクリーニング段階」と、「スクリーニングで特定した候補化合物の活性向上と副作用回避を目指して化学構造を変換するリード最適化段階」である。製薬現場では市販のソフトなどを用いて候補化合物の探索や分子デザインがなされているが、予測精度の低さや評価できる化合物数・標的タンパク質数の限界などの課題が未だ残されている。本サブ課題では、これらの課題を克服するために、サブ課題AとBで開発される要素計算技術を創薬計算フロー（スクリーニングからリード最適化）にそって連結し、ポスト「京」の演算能力を活かし医薬品の候補化合物の探索や分子デザインを実現する創薬ビッグデータ統合システムの開発を行う。

具体的には、ポスト「京」のスケールメリットを最大に活かし、多数の創薬関連タンパク質（副作用関連タンパク質を含む）やそれらの分子ネットワークと化合物ライブラリーとの膨大な組合せから最適解を高速に計算し、ベストな薬剤候補化合物を自動でデザインできる創薬計算基盤を構築し、製薬会社に提供することを目指す。また、サブ課題AとBで開発される各種創薬計算手法を協力機関が有する具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価も行う。

(2) 実施内容

サブ課題Aとサブ課題Bで開発されるMD計算法および各種創薬計算手法を創薬計算フローに沿って連結した統合システムを開発することで、大規模な候補化合物と複数の創薬標的・副作用関連タンパク質の莫大な組み合わせからベストな薬剤候補化合物を高精度かつ超高速に予測できる創薬計算基盤を構築する。またサブ課題Aとサブ課題Bで開発される各種創薬計算手法を、協力機関と連携し具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価を行う。現時点で決定している創薬ターゲット、造血器悪性腫瘍・固形腫瘍におけるエピジェネティック抗癌剤の開発（京都大学医学部 足立教授・上久保准教授との連携）、腎疾患治療薬の開発（京都大学病院腎臓内科 柳田教授、先端医療振興財団 鍋島先生との連携）、アルツハイマー治療薬の開発（先端医療振興財団 鍋島先生・星先生との連携）、抗癌剤の薬剤耐性予測（京都大学病院がんセンター 武藤教授、がん研究会 片山先生、国立がんセンター 河野先生、京都大学薬学部 石濱教授との連携）、ドラッグリポジショニング、GPCR機能制御化合物探索等である。また、適宜、製薬会社と共同研究を結び、各種創薬計算手法を製薬会社の実践的創薬テーマに応用する。さらに、奥野チームと津田チームが中心となり各種創薬シミュレーション技術とAI技術の融合を図るとともに、AI創薬コンソーシアム（製薬企業、IT企業、アカデミア90団体以上参加）であるLINCと連携し、ビッグデータ統合システムにAI創薬技術を導入することで世界に類を見ない創薬計算基盤を実現する。具体的には、最適化アルゴリズムによるMD回数の劇的削減、モンテカルロ木探索による効率的化合物生成、AIスコア導入によるドッキングスコアの高精度化、AIによる力場補正、長時間MDトラジェクトリーのAI分類などのAI技術開発を行い、分子シミュレーションアプローチの限界を補完することを目指す。

① 高精度薬剤デザイン（京都大学 奥野 恭史）

新規化合物（バーチャル化合物）を計算機上でデザインする化合物生成手法やHit to Leadを行うための化学構造変換手法の開発を行う。新規化学構造を計算機上で自動発生させる計算法はデ

ノボデザイン法と呼ばれているが、既存の方法論はいずれも薬理活性を有する化合物を高精度にデザインする性能に至っていない。そこで、サブ課題 A と B で開発される要素計算技術を適用することで、高精度に薬剤候補化合物をデザインできる新規なデノボデザイン法を開発する。また、サブ課題 A と B で開発された各種 MD 計算法および創薬計算手法を統合化し、化合物のスクリーニングからリード最適化において製薬現場利用ができる創薬計算フローを構築する。さらに、サブ課題 A と B で開発される各種創薬計算手法を協力機関が有する具体的な創薬ターゲットに適用し、性能評価も行う。

② 機能制御部位データベース (産業技術総合研究所 広川 貴次)

創薬標的タンパク・副作用関連タンパクに関するホモロジーモデリング法、マルチコンフォメーション生成法、機能制御部位推定法を開発する。さらに、これらの計算法を統合化し、タンパク質標的の部位データベースを構築する。これまでの創薬計算では X 線結晶構造の活性部位ポケットに結合する化合物をデザインすることが主流であったが、当該研究では、MD 計算で生成される動的なタンパク質構造を対象にして機能発現を制御する部位を推定する計算法を開発し、それによって推定された創薬関連タンパク質の機能制御部位をデータベース化する。

③ 創薬関連ビッグデータ (東京大学 津田 宏治)

サブ課題 A と B ではポスト「京」の演算能力を活かしタンパク質の長時間 MD を可能にするが、このことは同時に膨大なタンパク質の動的構造を生成することを意味する。そのため、多数の創薬関連タンパク質について、長時間 MD によって生成される複数の標的部位 (タンパク質機能制御部位) と大規模な化合物数との組み合わせが膨大になることから、当該研究では、膨大なタンパク質構造と化合物の組合せから薬剤候補化合物を高速に探索する組合せ最適化アルゴリズムの開発を行う。具体的には、ベイズ最適化や多腕バンディット等の最適化アルゴリズムを適用し、結合自由エネルギーを簡易に算出する MM-PBSA を評価関数として、最小の MD 計算時間で最小自由エネルギー結合構造を推定する方法論を開発し、MD 計算時間の従来比 8 分の 1 の削減を目指す。

④ 標的分子ネットワーク (東京大学 北尾 彰朗 (サブ課題 A 実施者))

生体系において単一で機能しているタンパク質はほとんど無く、複数のタンパク質が互いに相互作用することで生体内での機能を発現している。従来型の創薬手法は分子標的創薬と呼ばれ単一のタンパク質を標的とする創薬が主流であり、複数のタンパク質からなるタンパク質複合体を標的として創薬を合理的に行うことは非常に困難であると考えられている。当該研究では、タンパク質複合体を対象にした創薬を目指した要素計算技術として、分子ネットワークやタンパク質複合体の立体構造予測と作用機構解明を行う。さらに、複合体立体構造と作用機構から最適な創薬ターゲットを選択する技術を開発する。

⑤ 生体系マルチスケールモデリング (東京大学 寺田 透)

心臓シミュレータ UT-Heart では、膜電位依存的なイオンチャネルの動作モデルとして、閉状態と開状態間を遷移する Markov state model を採用している。現状では、状態間の遷移速度は、実験に基づいて与えられている。これを分子シミュレーションに基づく動作モデルに置き換えれば、個人ゲノムにおけるイオンチャネル配列の変異 (一塩基多型等) が致命的な不整脈を引き起こすメカニズムを明らかにすることが可能になると期待される。当該研究では、心筋イオンチャネルのモデルとして、立体構造が決定している別の膜電位依存性イオンチャネルを用いて、方法論の

開発と精度の評価を行う。ここでは長時間 MD 等を用いて、膜電位依存的なイオンチャネルの構造変化を予測し、さらにマルチコピー・マルチスケール MD 法に基づいて、その間の構造変化パスウェイとこれに沿った構造変化速度を予測する。さらに、ホモロジーモデリング法を用いて心筋イオンチャネルの粗視化モデルを構築し、これを用いて不整脈を誘発することが知られている薬剤がイオンチャネルに結合して阻害する過程を再現する粗視化 MD 法を開発する。

(3) 目標・期待される成果

本サブ課題でポスト「京」を基幹とする世界唯一の創薬ビッグデータ統合システムを開発するとともに、当該システムを製薬会社が現場利用できる運用体制を構築し、医薬品開発の加速化を目指す。

アウトプット成果（平成 29 年度終了時）：

創薬計算フローに実装する要素計算技術の調査、評価等を行い創薬ビッグデータ統合システムの設計を完了する。また、バーチャル化合物の化合物生成手法、標的タンパク質の機能制御部位推定法、タンパク質複合体の立体構造予測法、タンパク質-化合物相互作用予測のための最適化アルゴリズムを開発する。さらに、心筋イオンチャネルの膜電位依存的な構造変化のシミュレーションを実現する。

アウトプット成果（本格実施フェーズ終了時）：

3 つのサブ課題で開発されるすべての要素計算技術を実装した創薬ビッグデータ統合システムの初版を完成させる。初版の統合システムでは、標的タンパク質の入力に対し、ポスト「京」を中核とした一連の創薬計算フローが実行され、最適な薬剤候補化合物が自動デザインできる仕様を目指す。

アウトプット成果（ポスト「京」運用開始 5 年後）：具体的な創薬テーマに創薬ビッグデータ統合システムを適用することで当該システムの改良と精密化をはかるとともに、製薬会社での現場利用を促進し、製薬会社で定常的にシステム利用がなされる状態を目指す。

アウトカム成果（ポスト「京」運用開始 5 年後）：創薬ビッグデータ統合システムを通じて、アカデミア創薬および製薬各社の創薬テーマのリード化合物の創出に成功していることを目標とする。

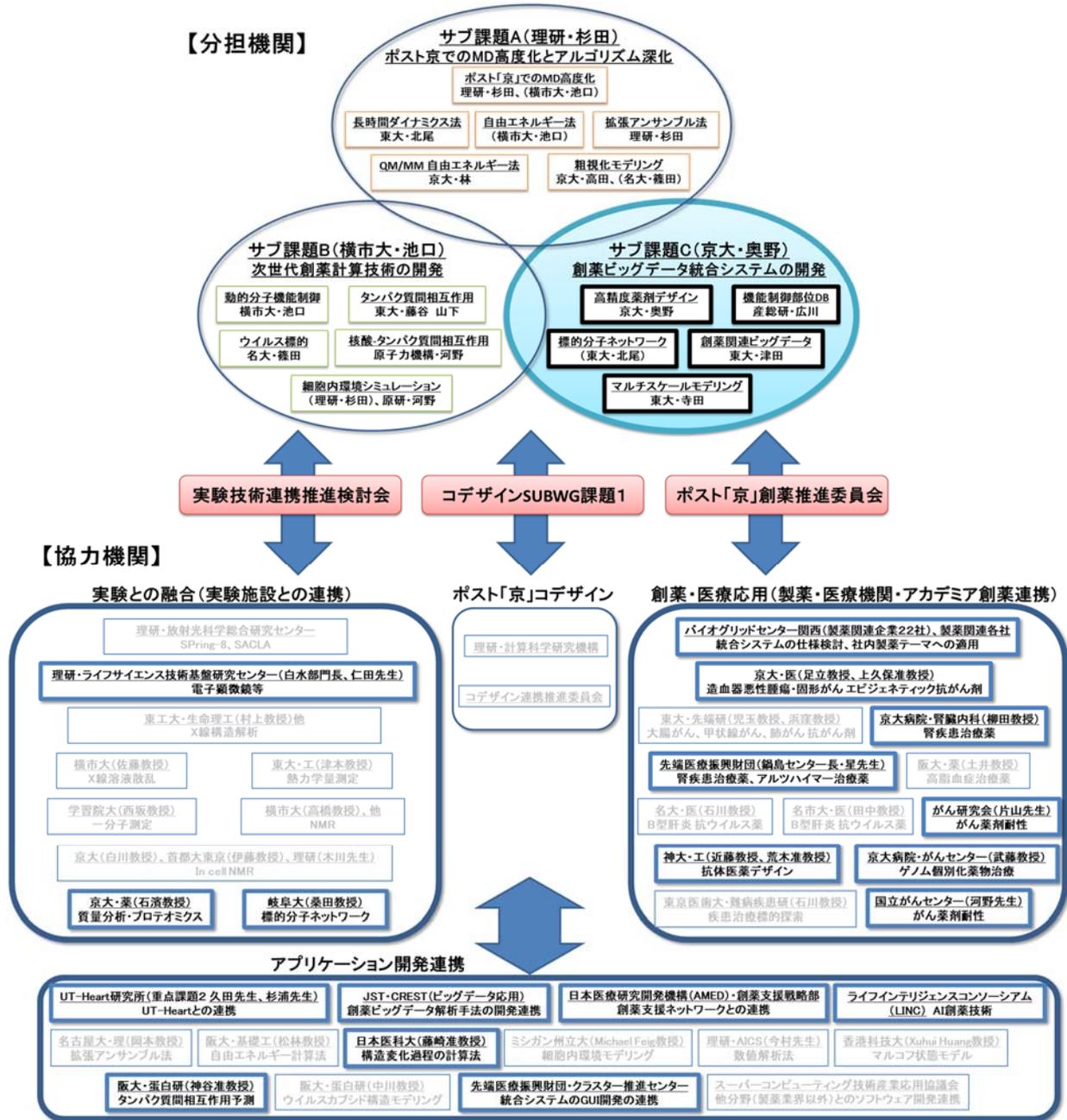
アウトカム成果（ポスト「京」運用開始 10 年後）：創薬ビッグデータ統合システムを通じて、前臨床・臨床フェーズに進む候補化合物に創出に成功していることを目指す。

(4) 「京」でできていること、ポスト「京」でなければできないこと

「京」では、タンパク質と化合物との高精度な結合自由エネルギー計算ができる MP-CAFEE 法の実時間実行が可能となった。しかし、タンパク質の機能を制御する薬物をデザインするためには、タンパク質などの分子運動を長時間観測する必要があるが、「京」ではマイクロ秒程度の MD 計算しか出来なかった。これに対してポスト「京」ではミリ秒程度の MD 計算が可能になることから、タンパク質の動的制御を指向した薬物デザインが期待できる。また、「京」の全ノードを利用できたとしても、MP-CAFEE 法では 1 週間で 150 化合物程度の計算しかできないが、ポスト「京」では 1 週間で 15,000 種の化合物が計算できることになる。したがって、ポスト「京」によって、化合物ライブラリーと多数の創薬関連タンパク質との大規模な組合せの結合予測が可能となる。さらに、化合物とタンパク質との大規模な組合せの結合計算が可能となることから、「京」では不可能であった実効性のある一連の創薬計算フローの構築がポスト「京」によって初めて実現できる。

(5) 実施体制

サブ課題責任者・奥野（京都大学）の指揮のもと、4名の当該サブ課題実施者との密接な連携を図りながら研究を遂行する。各研究テーマの進捗管理は、3ヶ月ごとサブ課題研究進捗会議で確認する。他のサブ課題との連携は、執行部・運営会議を通して促進していく。特に、各種計算アルゴリズムや創薬計算手法の選定や評価はサブ課題間の共同で実施する。協力機関は、下図に示すとおり、創薬・医薬応用を主旨とした製薬会社・医療機関・アカデミア創薬研究機関のグループ、アプリケーション開発の連携を主旨とした研究機関等のグループ、先端機器計測など実験との融合を主旨とした実験施設・研究機関のグループの3つのグループから成る。詳細の連携内容は次頁リストの通りである。



* 当該サブ課題の協力機関は太線で囲ったもののみである。

	協力機関などの連携先	連携内容
創薬・医療応用 (製薬・医療機関・アカデミア 創薬との連携)	NPOバイオグリッドセンター関西	製薬会社22社、IT会社2社からなる製薬コンソーシアム(当該機関が代表)と連携し、産業界への技術移転をはかる。
	京都大学 医学研究科人間健康科学専攻	造血器悪性腫瘍・固形がんの治療薬、特に、エビジェネティック抗がん剤の開発に関して、実験協力者として足立教授、上久保准教授と連携する。さらに、臨床の視点から創薬ターゲットの選定に関する助言を頂く。
	京都大学医学部附属病院 腎臓内科	腎疾患における標的タンパク質の探索やその治療薬の開発に関して、実験協力者として柳田素子教授(腎臓内科)と連携する。さらに、臨床の視点から創薬ターゲットの選定に関する助言を頂く。
	京都大学医学部附属病院 がんセンター	武藤学教授(がん薬物治療科)より、抗がん剤の薬理作用、創薬、ゲノムを含む医療情報に関して知見提供と、計算結果の実験検証の協力を得る。さらに、臨床の視点から創薬ターゲットの選定に関する助言を頂く。
	先端医療振興財団 先端医療センター研究所	腎疾患やアルツハイマーを治療薬開発に関して、実験協力者として鍋島陽一センター長と星美奈子先生と連携する。
	がん研究会 がん化学療法センター	抗がん剤の薬理作用やゲノム変異による薬剤耐性について、片山量平研究員(基礎研究部)より実験検証の協力を得る。
	国立がん研究センター	抗がん剤の薬理作用やゲノム変異による薬剤耐性について、河野隆志研究分野長(ゲノム生物学研究分野)より実験検証の協力を得る。
実験との融合 (実験施設との連携)	神戸大学 自然科学系先端融合研究環/工学研究科	近藤昭彦教授、荒木通啓准教授より抗体医薬品の分子設計における実験検証と産業界への技術移転の協力を得る。
	理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター	白水美香子部門長、仁田亮上級研究員の協力を得て、電子顕微鏡を用いた生体高分子および生体超分子複合体の立体構造解析を行い、実験との融合を図る
	京都大学 薬学研究科	石濱泰教授(製剤機能解析学分野)より、質量分析によるタンパク質ネットワーク解析における実験検証の協力を得る。
アプリケーション開発連携	岐阜大学 大学院連合創薬医療情報研究科	桑田一夫教授より標的分子ネットワークに関する実験検証の協力および助言を得る。
	JST・CREST「ビッグデータ応用」船津プロジェクト	創薬ビッグデータ解析手法の開発について、船津公人教授(東大・工)、泰地真弘人副センター長(理研QBIIC)との連携および共同開発を行う。
	日本医療研究開発機構(AMED) 創薬支援戦略部	創薬支援ネットワークとの連携について中西理部長より助言を得る。
	(株)UT-Heart研究所	久田俊明締役、杉浦清了明締役から分子シミュレーションの心臓シミュレータUT-Heartとの連成法および薬剤を用いた心筋イオンチャネル阻害に関する助言および情報を得る
	先端医療振興財団 クラスター推進センター	創薬ビッグデータ統合システムのCUI、GUI開発において岩田浩明主任研究員と連携する。
	大阪大学 蛋白質研究所蛋白質解析先端研究センター	タンパク質間相互作用予測や拡張アンサンブル法について、神谷成敏准教授(蛋白質情報科学研究室)の協力を得る。
	日本医科大学	立体構造変化の過程とその速度定数の計算法について、藤崎弘士准教授から助言を得る。
ライフインテリジェンスコンソーシアム	AI創薬コンソーシアム(製薬企業、IT企業、アカデミア90団体以上参加)である当コンソーシアムと連携し、ビッグデータ統合システムにAI創薬技術を導入する。	

3. 採択時の留意事項への対応状況

以下、指摘事項は斜体で記載し、回答を>以下に記載している。

- (1) 課題全体として達成すべき成果を明確にするとともに、その成果実現に向けた定量的・定性的な目標（年間目標及び最終目標）を明確にすること。その際、現在実現されている計算手法からの発展だけでなく、国際的な優位性のある革新的でチャレンジングな目標についても明確にすること。

>課題全体として達成すべき成果：1－（1）、1－（5）に反映済み

>国際的な優位性のある革新的でチャレンジングな目標：1－（2）に反映済み

- (2) 成果の展開先（製薬企業等）の要求を考慮した目標値を明確にすること。その際、インシリコの研究者だけでなく、実験系の研究者の要求も十分に取り込めるようにすること。

>成果の展開先（製薬企業等）の要求を考慮した目標値を明確にすること：各サブ課題の実施内容に反映済み。各サブ課題の研究項目は、H26年度にNPO バイオグリッドセンター関西の製薬コンソーシアム（国内製薬会社（22社））のスパコン創薬のニーズ調査を受けて選定したものである。さらに、当該プロジェクト開始時点より、ポスト「京」重点課題1の開発内容に関する製薬各社への個別ヒアリングを開始し、現在13社の製薬会社の現場ニーズヒアリングを済ませ、これらの要求も十分に反映した研究計画にしている。目標値としては、本研究で開発する全てのアプリを統合化する創薬ビッグデータ統合システムを完成することを設定した。

>実験系の研究者の要求も十分に取り込めるようにすること：1－（6）に反映済み。実験技術連携推進検討会を設置し、実験研究者との密な連携を推進する。

- (3) 研究対象とするターゲットタンパク質を選定する仕組みを明確にするとともに、ターゲットタンパク質の妥当性について助言を得る方法（例えば医療機関を実施体制に加えるなど）を明確にすること。

>1－（6）に反映済み。製薬会社や医療機関からの有識者を中心に構成するポスト「京」創薬推進委員会を設置し、創薬ターゲットの選定や創薬ビッグデータ統合システムの産業化利用などの具体的な創薬・医療応用に関する検討を行う。（構成員には、現在、塩野義製薬・坂田氏、バイオグリッドセンター関西・理事志水氏の内諾済み。京都大学病院関係者にも参画依頼中。）

- (4) 積極的に成功事例を出していくため、特に重点的に成果を創出するテーマをしばって設定すること。

>反映済み。予算（人件費）配分に傾斜をつけることで、重点的に成果を創出するテーマを促進するようにした。具体的なテーマは、MD 高度化、動的機能制御、創薬ビッグデータ統合システム、UT-Heart による心毒性予測である。また、創薬ターゲットについては、現在臨床現場において治療薬が不十分なターゲットを優先することになっている。

- (5) サブ課題Aからサブ課題B、サブ課題Cという成果創出の流れだけではなく、逆向きのフィードバ

ックや、製薬企業・実証実験からのフィードバックを取り込んで、成果の最大化を図れるようにすること。

> 1 - (6)、各サブ課題の実施体制欄に反映済み。毎月の運営会議や年2回の重点課題1ワークショップ（全体会議）サブ課題間・分担機関間での相互連携を推進するとともに、各種計算アルゴリズムや創薬計算手法の選定や評価をサブ課題間の共同で実施する。

(6) 相乗効果が期待される他プロジェクト等と効果的に連携して取り組むとともに、役割分担を明確にすること。

> 1 - (6)、各サブ課題の実施体制欄に反映済み。

(7) 人件費の占める割合が大きいが、本プロジェクトで雇用する研究者（ポスドク等）の人員計画を明確にするとともに、将来のステップアップまで見据えた登用、人材育成の取組の計画を明確にすること。

> 1 - (6)に反映済み。バイオ計算分野振興WGを設置し、人材育成や若手研究者のプロモーションを強力に推進する。

(8) 当該全体提案は、全体提案の方針に沿った形で、手法高度化の相乗効果を見込むものとして、当該部分提案の一部である分子シミュレーションに関する取組部分（分担機関：東京大学大学院農学生命科学研究科・寺田透）を取り込むように調整すること。

> 反映済み。サブ課題Cに東京大学・寺田先生（生体系マルチスケールモデリング）をサブ課題実施者に追加した。

4. 中間評価における指摘事項への対応

以下、指摘事項は斜体で記載し、回答を>以下に記載している。

(1) 課題全体として達成すべき成果を明確にするとともに、その成果実現に向けた定量的・定性的な目標（年間目標及び最終目標）を明確にすること。その際、現在実現されている計算手法からの発展だけではなく、国際的な優位性のある革新的でチャレンジングな目標についても明確にすること。
>計画書4ページから5ページの「アウトプット成果（本格実施フェーズ終了時）」部分および8ページから9ページの「年次計画」部分に加筆した。

(2) 情報科学技術分野における研究開発の論文数、学会発表数は、事業の成果を議論する上で1つの指標となりうるため、分野の特性を考慮の上、論文数、学会発表数の達成目標値を設定すること。

>

論文発表目標数は、1年間あたり25件とする。

学会発表目標数は、1年間あたり70件とする。

(3) 予備計算などを通じて、サイエンス的な目標を明確にすること。その目標に対して、ポスト「京」でいつまでに何をどこまで明らかにすることを目指すのかを明確にすること。その時点でポスト「京」で初めてできる画期的な利活用について具体的に説明すること。

>計画書5ページから6ページの「アウトプット成果（ポスト「京」運用開始5年後）」部分に加筆した。

(4) 成果の論文発表数が少ない。論文を含め成果の発信が望まれる。

>報告書に記載した論文発表数（16件）を改めて集計したところ、本事業開始から現在に至るまでに37件の論文発表をしており、着実に成果発表が出来ているものとする。

(5) 採択時の指摘事項（サブ課題Aからサブ課題B、サブ課題Cという成果創出の流れだけではなく、逆向きのフィードバックや、製薬企業・実証実験からのフィードバックを取り込んで、成果の最大化を図れるようにすること。）への対応が必ずしも十分ではない。サブ課題A、Bの深化とサブ課題Cの創薬出口戦略の間のより有機的な連携とそれらの間のより高い整合性が得られるよう、サブ課題間の連携について再検討すること。

>毎年2回開催するワークショップにおいて、初回は製薬会社へ公開型で開催し、2回目は諮問委員会委員の参加型で行っている。本ワークショップでは参加した製薬企業・実験研究者からポスト「京」の創薬現場利用における有意義な示唆があり、それらをサブ課題全体の次期開発に反映している。今年度は、ワークショップの参加対象企業を、KBDDコンソーシアム（「京」の創薬応用コンソ）を対象にしたが、次年度以降ではLINC（AI創薬コンソ）の企業へと参加対象を広げ、製薬現場の広範囲にわたるニーズを受けた開発を展開する予定である。

さらに、サブ課題全体の共通テーマとしてゲノム医療・ゲノム創薬を応用ターゲットにすることに決

定した。ゲノム医療・ゲノム創薬は、現在世界的に急速に臨床実装、創薬実装が進むテーマであり、本テーマにサブ課題 A、B、C の全員でチャレンジすることでポスト「京」の創薬応用の課題が網羅されると考えられる。

連携を促進するために、サブ課題 C の奥野チームに連携促進担当 5 名をアサインし、サブ課題 C からサブ課題 A と B との連携を促進する体制を図る。(計画書 11 ページに反映)

(6) 連携を促進する具体的な運営体制・方法を再検討すること。

> 上記 (5) の回答中に記載。

(7) AI の取り込みなども含めて、将来の利活用を検討し、ダイナミックに製薬業界が進んでいる中でそれに対応した基盤技術となるよう留意すること。それを示すため、他の方法と比較して、優位性を示すこと。

> 奥野チームと津田チームが中心となり各種創薬シミュレーション技術と AI 技術の融合を図るとともに、AI 創薬コンソーシアム(製薬企業、IT 企業、アカデミア 90 団体以上参加)である LINC と連携し、ビッグデータ統合システムに AI 創薬技術を導入することで世界に類を見ない創薬計算基盤を実現する。具体的には、最適化アルゴリズムによる MD 回数の劇的削減、モンテカルロ木探索による効率的化合物生成、AI スコア導入によるドッキングスコアの高精度化、AI による力場補正、長時間 MD トラジェクトリーの AI 分類などの AI 技術開発を行い、分子シミュレーションアプローチの限界を補完することを目指す。(計画書 24 ページの反映)

(8) 採択時の指摘事項(積極的に成功事例を出していくため、特に重点的に成果を創出するテーマをしぼって設定すること)への対応が必ずしも十分ではない。課題として優れた成果が期待できる点を明確にし、そこに向けて努力を集中することを再度検討すること。

> 全体の共通テーマとしてゲノム医療・ゲノム創薬を応用ターゲットにすることに決定した。ゲノム医療・ゲノム創薬は、現在世界的に急速に臨床実装、創薬実装が進むテーマであり、本テーマにサブ課題 A、B、C の全員でチャレンジすることでポスト「京」の創薬応用の課題が網羅されると考える。

(計画書 3 ページに反映)

(別紙1) 実施機関一覧

	実施機関	備考
	理化学研究所(奥野 恭史)	代表機関(課題責任者)
サブ課題A	理化学研究所(杉田 有治)	分担機関(サブ課題責任者)
	東京工業大学 生命理工学研究科	分担機関(北尾 彰朗)
	京都大学 大学院理学研究科 化学専攻	分担機関(林 重彦)
	京都大学 大学院理学研究科 生物科学専攻	分担機関(高田 彰二)
	理化学研究所 放射光科学研究センター	協力機関
	大阪大学 大学院基礎工学研究科	協力機関
	理化学研究所 計算科学研究センター	協力機関
	名古屋大学 大学院理学研究科	協力機関
	Hong Kong University of Science and Technology	協力機関
	先端医療振興財団 クラスタ事業推進課	協力機関
	スーパーコンピューティング技術産業応用協議会	協力機関
サブ課題B	横浜市立大学(池口 満徳)	分担機関(サブ課題責任者)
	東京大学 先端科学技術研究センター	分担機関(藤谷秀章・山下雄史)
	名古屋大学 大学院工学研究科	分担機関(篠田 渉)
	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構	分担機関(河野 秀俊)
	理化学研究所 放射光科学研究センター	協力機関
	東京工業大学 生命理工学研究科	協力機関
	横浜市立大学	協力機関
	京都大学 大学院工学研究科	協力機関
	首都大学東京 大学院理工学研究科	協力機関
	東京大学 工学系研究科	協力機関
	学習院大学 理学部	協力機関
	京都大学 薬学研究科	協力機関
	名古屋市立大学 大学院医学研究科	協力機関
	名古屋大学 大学院医学系研究科	協力機関
	東京大学 先端科学技術研究センター	協力機関
	大阪大学 薬学研究科	協力機関
	東京医科歯科大学	協力機関
	Michigan State University	協力機関
	大阪大学 蛋白質研究所	協力機関
	サブ課題C	京都大学(奥野 恭史)
産業技術総合研究所 創薬分子プロファイリング研究センター		分担機関(広川 貴次)
東京大学 大学院新領域創成研究科		分担機関(津田 宏治)
東京大学 情報学環・学際情報学府		分担機関(寺田 透)
NPOバイオグリッドセンター関西		協力機関
京都大学 医学研究科人間健康科学専攻		協力機関
京都大学 医学部附属病院 腎臓内科		協力機関
京都大学 医学部附属病院 がんセンター		協力機関
先端医療振興財団 先端医療センター研究所		協力機関
がん研究会 がん化学療法センター		協力機関
国立がん研究センター		協力機関
神戸大学 自然科学系先端融合研究環/工学研究科		協力機関
京都大学 大学院薬学研究科		協力機関
岐阜大学 大学院連合創薬医療情報研究科		協力機関
JST・CREST「ビッグデータ応用」船津プロジェクト		協力機関
日本医療研究開発機構(AMED) 創薬支援戦略部		協力機関
(株)UT-Heart研究所		協力機関
先端医療振興財団 クラスタ事業推進課		協力機関
大阪大学 蛋白質研究所蛋白質解析先端研究センター		協力機関
日本医科大学		協力機関
ライフインテリジェンスコンソーシアム		協力機関