

立教大学学術推進特別重点資金(立教SFR)
共同プロジェクト研究
2020年度研究【経過・成果】報告書

研究代表者	所属部局・職		氏名			
	理学部・教授		望月 祐志 印			
研究課題	脂質およびタンパク質に関するマルチスケールシミュレーション手法の開発整備と応用展開					
研究組織 (研究代表者・研究分担者) 2021年3月現在	所属研究機関・部局・職		氏名			
	(研究代表者)立教大学・理学部・教授		望月 祐志			
	(研究分担者)立教大学・理学部・助教		奥脇 弘次			
(研究分担者)星薬科大学・薬学部・准教授		福澤 薫				
研究期間	2019年度 ~ 2020年度					
研究経費※ (上段:支出金額)	2019年度		2020年度		年度	総計
	3,750,000	円	2,250,000	円	0,000,000	6,000,000
(下段:採択金額)	3,750,000	円	2,250,000	円	0,000,000	6,000,000

※1円単位で記入

研究の概要 (200~300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

フラグメント分子軌道(FMO)計算に基づき、粗視化シミュレーションの手法である散逸粒子動力学(DPD)で必要な有効相互作用(χ)パラメータを算定するFMO-DPD法の整備と応用を行うプロジェクトとして2019年度に採択され、初年度はほぼ計画に沿った進行となりました。しかし、2020年度は理研(R-CCS)からの要請もあり、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の関連タンパク質の大規模FMO計算を最新のスーパーコンピュータ「富岳」などを用いて行い、計算化学的な知見を導出することに主軸を置いた活動となりました。2021年3月時点で、複数の論文が出版済み/プレプリントサーバーで公開/投稿中である他、学会発表も多数となっています。当初予定からは変わりましたが、COVID-19に関する「社会的使命」を伴う活動でもあり、全力で取り組みました。なお、2020年度もFMO-DPD関係で新しい結果の取得、論文発表は行えています。2年間の本プロジェクト全体の成果としては、及第レベルに達しているものと考えています。

キーワード (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

[フラグメント分子軌道法] [散逸粒子動力学] [新型コロナウイルス]

研究【経過・成果】の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

本課題の提案書では FMO-DPD 関係の 2 年間の研究計画として下記の項目を挙げていました。

(I) FMO-DPD 法の改良

- ・ 機械学習を援用する FMO 計算前の配座スクリーニング、相互作用エネルギー予測の仮実装
- ・ DPD プログラム CAMUS の空間分割並列化(OpenMP/MPI 混成条件)の改良
- ・ メゾ→ナノのリバースマッププロトコルの脂質、タンパク質系での確立/仮実装

(II) 脂質/タンパク質の複合系への応用

- ・ 数十残基の小型タンパク質の畳み込みの DPD シミュレーション
- ・ 混合脂質ベシクルの DPD シミュレーション、SAXS 実験データとの比較
- ・ 荷電性の小型タンパク質の脂質膜の貫入/貫通シミュレーション

(III) 有効パラメータの整備とデータの公開

- ・ タンパク質向け FMO ベースの χ パラメータセットの調製のパート 1(標準 pH 条件下)
- ・ 査読付き論文 3 報、関連パラメータセットの開示

「研究の概要」に記していますように、2020 年度は新型コロナウイルス関係の研究活動が主となったため、FMO-DPD に割ける工数が減ることになりました(やむを得ないと考えています)。以下、先ず FMO-DPD 関係の 2 年間の成果をまとめます。

(I)については、2019 年度、Chignolin (10 残基)、Trp-Cage (20 残基)、Ubiquitin (76 残基) の 3 種のタンパク質の古典分子動力学 (MD) シミュレーションによるサンプル構造各 100 個を用い、FMO 計算による残基間のフラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) の機械学習による予測を試行していました。2020 年度は、ハイパーパラメータの自動チューニングツール optuna を用いた処理システム regcat を開発 (M2 の畑田君が作成) して、精度と使い勝手を高めました。当該内容の論文は 2021 年の 5 月にプレプリントサーバーでの公開と正式の論文投稿を行う予定です。regcat は有効パラメータ算定のシステム (FCEWS: Fragment molecular orbital based Chi-parameter Evaluation Workflow System) の中でも使い始めたところですが、未だ設定が十分でない状態です。

DPD コードの CAMUS については、残念ながら 2020 年度は特に記すべき進捗がありませんでした。リバースマッピングについては、DOPC ((R)-2,3-Bis(oleoyloxy)propyl [2-(Trimethylammonio)ethyl] Phosphate) と Cholesterol の複合系の膜/ベシクルの FMO-DPD シミュレーションによる構造に対して適用し、有効性を確認しています。ただ、システム (DSRMS: DPS-based Structure Reverse Mapping System) としてのワークフローの整備は完了しませんでした。2021 年度上期中にはリリースできる見込みです。また、DSRMS に関する速報論文の投稿に向けた準備を現在進めているところです(本報告書の作成時点)。

(II)では、2019 年度に Appl. Phys. Express, 13 (2020) 017002-1-4 (open access) を奥脇氏を筆頭著者として出版(責任著者は望月)しており、ペプチド・タンパク質系への有効性は確立していました。2020 年度は、上出の DOPC/Cholesterol 系のシミュレーションが福澤氏の主導でさらに進められ、X 線小角散乱実験の結果との比較も行われました(論文を準備中)。併せて、星薬科大学の共同研究先である千葉大学の研究室が独自開発している S-S 結合を有する特殊な脂質を使ったベシクルの FMO-DPD シミュレーションも星薬科大学中心に実施されました。当該の理論的な解析は千葉大学にフィードバックされ、高インパクトファクターの雑誌 Adv. Funct. Mat. に実験データを相補する材料として掲載されました(出版文献(1))。

2019 年度に試みていた、荷電性ペプチドの Arginine の 8 量体 (R8) の POPC (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) 膜の貫通に関する FMO-DPD シミュレーションですが、2020 年度は膜を大型化した上で、複数の R8 を同時に存在させる条件での計算を多数の初期値設定条件で行いました。その結果、2 つないし 3 つの R8 の協同効果によって、膜の変形が大きくなって薄くなることで貫通が生じやすくなる状況が分かりました。R8 のため、POPC の正荷電(コリン)部との反発と負電荷(リン酸)部との静電的な相互作用のバランスが脂質分子間で崩れるためと推察していますが、詳細解析は今後の課題です。

研究【経過 **成果**】の概要 (つづき)

2020 年度は、タンパク質・ペプチドと同様にアミド結合による人造ポリマーのペプトイド (Peptoid) に対しても FMO-DPD シミュレーションを使い始めました。MD 計算が参照データになると考え、ナノシート形成の事例 (R. V. Mannige et al., Nature, 526 (2015) 415-421) を対象としました。有効パラメータ算定のための FMO 計算の量が多くなるために、公募申請で確保していた東北大学の金属材料研究所のスパコン「MASAMUNE」を使って進めました。基本のパラメータ算定は終了しており、2021 年度は B4 学生がそのデータに基づいて DPD を行う予定です。

(III)については、前出の Appl. Phys. Express 論文の付録で有効なパラメータセットは公開しています。しかし、20 種のアミノ酸をカバーする汎用パラメータの整備と公開は、新型コロナウイルス関係を優先したため、2020 年度の活動の中では進められませんでした。

これ以下、2020 年度に展開した新型コロナウイルスの関連タンパク質に関する大規模 FMO 計算による解析の成果をダイジェストさせていただきます。

2019 年度の経過報告書に記していた、新型コロナウイルスの増殖に関与するメインプロテアーゼに阻害剤 N3 が結合した複合体の結晶構造 6LU7 (PDB ID) に関する FMO 計算 (退役した名古屋大学の FX100 を利用) による解析は 2020 年 6 月に採択・公開 (出版文献(2)) され、現在までに被引用数は既に 20 超となっています。この論文のプレプリントサーバー ChemRxiv での公開がきっかけで、スパコン「富岳」を管理・運営する理研 (R-CCS: 計算科学研究センター) からお申し越しをいただき、整備中の「富岳」を試行的に使う特別プロジェクトに参画し、「富岳」の極めて大きな計算力を使って「新型コロナウイルス関連タンパク質に対するフラグメント分子軌道計算」を 2020 年 4 月から進めることになりました。毎月の進捗報告を求められる緊張感の中で奥脇氏、福澤氏、学生諸氏と共に精力的に取り組んできました。

出版文献(2)での計算は結晶構造ベースですので、「凍った状態」を対象にしています。しかし、実際の生体内では水の存在下の常温で構造が揺らいでいます。そこで、6LU7 の水和系を準備して古典 MD によって 1000 構造 (100 ns 分) を水分子を纏った液滴として準備し、「富岳」で一度に処理することにしました。その結果、僅か 6 時間でこれら全ての FMO 計算が完了しました。解析の結果、静的な構造では特定の残基が阻害剤 N3 と強く相互作用している描像なのに対し、動的な構造群を統計的に評価すると複数の残基が協奏的に相互作用している描像となりました (出版文献(4))。本系のデータ科学的な技法 (主成分解析、特異値分解) による追加解析の結果は ChemRxiv で公開した後、正式に論文を投稿しています。

メインプロテアーゼに関しては、ネルフィナビルとロピナビルというエイズウイルス用の阻害剤の転用に関する解析も進めました (主に星薬科大学側)。こちらも、動的構造の重要性が示されています。

新型コロナウイルスのヒト細胞への感染では、ウイルス名の由来ともなっているスパイクタンパク質が働きます。特に、受容体結合ドメイン (RBD) が細胞表面のアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に結合することがキーになっています。「富岳」、さらに九州大学のスパコンを用いた世界最大規模・最高近似レベルの FMO 計算によって、RBD がスパイクタンパク質の表面に出た場合と埋まった場合の内部の相互作用状態を解析しました。その結果 RBD が外部に出ることでタンパク質内部の安定化エネルギーが大きく減じ、その分だけ ACE2 や抗体と結合しやすくなることが明らかになりました (出版文献(3))。

スパイクタンパク質では ACE2 が複数結合した構造についても「富岳」での計算が完了しており、現在、RBD 部だけでなく「支柱」となる中央ヘリックス部の役割についても解析が進んでいます。さらに、変異株についても RBD 部に英国株、南アフリカ株、ブラジル株に応じた残基置換を導入して ACE2 との相互作用の変化を解析しており、ChemRxiv にて論文草稿を公開しました。変異株の方が、ACE2 との結合安定化は顕著に大きくなります。今後、推敲を重ねて正式論文として投稿します (2021 年 4 月中)。

※この (様式 2) に記入の【経過・成果】の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差控え期間等を記入した調書 (A 4 縦型横書き 1 枚・自由様式) を添付すること。

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①~④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

① 出版済 4, 採択済 1, 投稿中 1, プレプリントサーバー (ChemRxiv) 公開中 1 (*は責任著者)

(1) H. Tanaka*, T. Takahashi, M. Konishi, N. Takata, M. Gomi, D. Shirane, Y. Yamasaki, Y. Sakurai, K. Ueda, K. Higashi, K. Moribe, E. Shinsho, R. Nishida, K. Fukuzawa, E. Yonemochi, K. Okuwaki, Y. Mochizuki, Y. Nakai, K. Tange, H. Yoshioka, S. Tamagawa and H. Akita, "Design of a Self-degradable Ionizable Lipid-like Material for Delivering Messenger RNA based on "Hydrolysis accelerated by the intra-Particle Enrichment of Reactant (HyPER)""", Adv. Func. Mater., 30 (2020) 1910575-1-17 (open access).

(2) R. Hatada, K. Okuwaki, Y. Mochizuki*, K. Fukuzawa, Y. Komeiji, Y. Okiyama and S. Tanaka, "Fragment molecular orbital based interaction analyses on COVID-19 main protease - inhibitor N3 complex (PDB ID:6LU7)", J. Chem. Inform. Model., 60 (2020) 3593-3602 (open access).

(3) K. Akisawa, R. Hatada, K. Okuwaki, Y. Mochizuki*, K. Fukuzawa, Y. Komeiji and S. Tanaka, "Interaction analyses on SARS-CoV-2 spike protein based on fragment molecular orbital calculations", RSC Adv., 11 (2021) 3272-3279 (open access).

(4) R. Hatada, K. Okuwaki, K. Akisawa, Y. Mochizuki*, Y. Handa, K. Fukuzawa, Y. Komeiji, Y. Okiyama and S. Tanaka, "Statistical interaction analyses between SARS-CoV-2 main protease and inhibitor N3 by combining of molecular dynamics simulation and fragment molecular orbital calculation", Appl. Phys. Express, 14 (2021) 027003-1-5 (open access).

② 出版済み 2

(1) 望月祐志*, "新型コロナウイルスのタンパク質に対するフラグメント分子軌道計算による解析事例", 現代化学, 現代化学 596(2020年11月号) 34-35.

(2) 望月祐志*, 奥脇弘次, "新型コロナウイルスのタンパク質に関するフラグメント分子軌道計算の事例", 計算工学会誌, 26 (2021) 4204-4209.

③ なし

④ 発表総数 8 (実際は全てオンラインでの発表)

(1) "フラグメント分子軌道法を用いた SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の相互作用", 秋澤和輝, 畑田峻, 奥脇弘次, 望月祐志, 福澤薫, 古明地勇人, 田中成典, 応用物理学会秋期年会 2020, 京都, 2020/9/10 (応用物理学会から注目講演に選定).

(2) "FMO-DPD シミュレーションによる脂質二重膜、ナノ粒子の詳細解析", 奥脇弘次, 新庄永治, 西田瑠花, 氏家かれん, 望月祐志, 福澤薫, 米持悦生, 田中浩揮, 秋田英万, 応用物理学会秋期年会 2020, 京都, 2020/9/10.

(3) "FMO-DPD 連携シミュレーションによる脂質ナノ粒子、タンパク質の構造解析", 奥脇弘次, 西田瑠花, 氏家かれん, 望月祐志, 福澤薫, 米持悦生, 田中浩揮, 秋田英万, 第 69 回高分子討論会, 盛岡, 2020/9/17.

(4) "タンパク質のアミノ酸残基間の IFIE に関する機械学習", 畑田峻, 八幡研一郎, 藤本真悠, 奥脇弘次, 田中成典, 古明地勇人, 福澤薫, 望月祐志, 第 48 回構造活性相関シンポジウム, 東京, 2020/12/10.

(5) "テンソル分解を用いたタンパク-リガンド間相互作用の時系列解析", 畑田峻, 藤田駿明, 奥脇弘次, 福澤薫, 古明地勇人, 田中成典, 望月祐志, 応用物理学会春期年会 2021, 相模原, 2021/3/18.