



# CBI 学会誌

第 1 卷第 1 号

2013 年 7 月 31 日発行

# **CBI 学会誌**

**第1卷 第1号**

**2013年7月31日発行**

**CBI 学会**

## 目次

(1) 学会誌の発刊に寄せて	
田中 博 (CBI 学会会長、東京医科歯科大学教授、難治疾患研究所 ゲノム応用医学部門 生命情報学分野) .....	1
(2) 各種委員会報告 .....	2
(3) 講演会報告・予告 .....	12
(4) 論文	
「メタボローム解析を用いた線虫の塩による寿命短縮の解明」	
川合 涼貴、星川 桃子、佐藤 瞳、浅野 悟、小知和 裕美、富田 勝 .....	19
「フラグメント分子軌道法によるインフルエンザウイルス表面タンパク質の大規模量子化学計算」	
福澤 薫、望月 祐志、中野 達也、田中 成典 .....	25
「Structure-based drug design を指向した新規フラグメント分割法に基づく 4 体補正フラグメント分子軌道 (FMO4) 計算」	
渡邊 千鶴、福澤 薫、沖山 佳生、望月 祐志、塚本 貴志、加藤 昭史、田中 成典、中野 達也 ...	32
「Cartesian Gaussian の積分の初期積分の計算」	
中野 達也、山下 勝美、沖山 佳生、瀬川 勝智、望月 祐志 .....	42

# 学会誌の発刊に寄せて



## CBI 学会会長

田中 博

東京医科歯科大学教授 難治疾患研究所  
ゲノム応用医学部門 生命情報学分野

CBI 学会も研究会として発足してから早や 30 余年、学会化してからも、すでに 10 余年の日々が経つ。この間、生命医学薬学を取り巻く情報計算学の進展は目覚しく、その動向に対応すべく、本学会も去年は法人化を行い、名実ともに、化学（薬学）、生物学、情報計算学という 3 つの学問分野にまたがる先端的な研究開発の基盤構築を志向する学会としての体制を整えてきた。

このように着実に発展している本学会であるが、学会を取り巻く諸般の情報を会員に提供し、また会員間の情報発信の場としての役割を担う、学会誌なる媒体をこれまで有していなかった。もちろん本学会の定期刊行物としては、2001 年創刊の、論文発表のためのオンラインジャーナルである英文季刊雑誌「CBI Journal」が存在し、論文誌としての実績を積みつつある。しかし、論文掲載誌だけでは、CBI 学会が関連する分野に関して、時期を捉えた情報を総合的に会員に提供し、また会員間で情報を交換するのに不十分である。これまでも和文誌などの刊行も行ってきたが、今回はこれを一新して、和文論文掲載だけに限らず、定期講演会の情報を始め、新しく進展している分野の総説や収録する価値の高い資料なども広く掲載することを目指し、また会員相互の情報交換の場としても利用できるオンライン媒体として CBI 学会誌を創刊することになった。

近年、次世代シーケンサなど様々な先端生命技術のイノベーションが相続き、計算化学やバイオインフォマティクス分野を始め、生命医学薬学に関連する情報計算学の進展は急速で、また高い関心をもって注目されている。CBI 学会がこれら分野の先端を切り拓いていく役割を継続して担っていくために、本学会誌の創刊が貢献できれば幸いである。



# 各種委員会報告

## 【創薬研究会運営委員会】

### 第 1 回創薬研究会（拡大）運営委員会

日時：2012 年 5 月 11 日（金） 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

出席者（敬称略）：石川 誠（日産化学）、上林 正巳（市民電子情報網）、江口 晃史（CTCLS）、大川 和史（持田製薬）、岡部 隆義（東京大学）、小田 晃司（大正製薬）、片倉 晋一（第一三共）、狩野 敦（菱化システム）、上村 みどり（帝人ファーマ）、河合 隆利（エーザイ）、小長谷 明彦（東京工業大学）、佐藤 秀行（オープンアイ）、嶋根 みゆき（中外製薬）、砂田 真志（田辺三菱製薬）、田上 宇乃（味の素）、田口 淳子（大鵬薬品工業）、多田 幸雄（東京大学）、谷村 隆次（東レ）、中嶋 久士（興和）、堀内 正（慶應義塾大学）、松本 俊二（富士通）、緑川 淳（ワールドフュージョン）、小澤 陽子（事務局）  
深川 正夫（アステラス製薬・オブザーバー出席）

資料：(1) 今後の運営体制について

(2) 定款（横浜市提出版）

(3) 細則

(4) 研究会細則

(5) 法人会員入会約款、法人会員入会申込書（案）および法人登録個人会員リスト表

議事：(1) NPO 法人化後の運営体制について

(2) 定款、細則、研究会細則、法人会員入会約款について（資料 (2),(3),(4),(5)）

(3) 法人登録個人会員の人数および特典について

(4) NPO 法人の正会員について

(5) 理事の選出法、会長の選出法に関する事務局案の説明

(6) 事業の仕分け、資金の処分方法に関する事務局案の説明

### 第 2 回創薬研究会運営委員会

日時：2012 年 7 月 2 日（月） 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

出席者（敬称略）：石川 誠（日産化学）、大川 和史（持田製薬）、大元 和之（小野薬品）、岡部 隆義（東京大学）、小田 晃司（大正製薬）、片倉 晋一（第一三共）、狩野 敦（菱化システム）、上村 みどり（帝人ファーマ）、河合 隆利（エーザイ）、小長谷 明彦（東京工業大学）、嶋根 みゆき（中外製薬）、砂田 真志（田辺三菱製薬）、田上 宇乃（味の素）、田口 淳子（大鵬薬品工業）、多田 幸雄（東京大学）、田中 博（東京医科歯科大学）、中嶋 久士（興和）、堀内 正（慶應義塾大学）、山辺 英史（インフォコム）、小澤 陽子（事務局）

- 資料：(1) 情報計算化学生物学会収支報告書  
(2) 情報計算化学生物学会法人賛助組合収支報告書  
(3) 貸借対照表  
(4) 監査報告書 2 件  
(5) 任意団体 CBI 学会理事会 議事録  
(6) 特定非営利活動法人 情報計算化学生物学会 理事会 議事録  
(7) CBI 学会創薬研究会の運営方針について
- 議題：(1) 2011 年度情報計算化学生物学会決算報告  
(2) 任意団体 CBI 学会理事会での討議事項の報告  
(3) CBI 創薬研究会運営方針について  
(4) 講演会企画についてグループ討議

### 第 3 回創薬研究会運営委員会

日時：2012 年 9 月 14 日 (月) 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：石川 誠 (日産化学)、江口 晃史 (CTCLS)、大川 和史 (持田製薬)、西崎 稔 (小野薬品)、小田 晃司 (大正製薬)、片倉 晋一 (第一三共)、狩野 敦 (菱化システム)、上村 みどり (帝人ファーマ)、砂田 真志 (田辺三菱製薬)、高岡 雄司 (アクセルリス)、田上 宇乃 (味の素)、田口 淳子 (大鵬薬品工業)、多田 幸雄 (東京大学)、谷村 隆次 (東レ)、中嶋 久士 (興和)、堀内 正 (慶應義塾大学)、松本 俊二 (富士通)、山辺 英史 (インフォコム)、小澤 陽子 (事務局)  
長野 哲雄 (東京大学・オブザーバー出席)、佐川 亜矢子 (エルゼビア・ジャパン・オブザーバー出席)

- 資料：(1) 大会プログラム  
(2) 第 3 回 CBI 学会 FMO 研究会案内  
(3) 講演会企画進捗状況について  
(4) 新グループ分け案

- 議題：(1) 大会進捗状況に関する報告  
(2) 講演会企画進捗状況について  
(3) 企画グループの再編時期に関する提案

### 第 4 回創薬研究会運営委員会

日時：2013 年 1 月 22 日 (火) 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：石川 誠 (日産化学)、江口 晃史 (CTCLS)、大元 和之 (小野薬品)、岡部 隆義 (東京大学)、小田 晃司 (大正製薬)、片倉 晋一 (第一三共)、上村 みどり (帝人ファーマ)、小長谷 明彦 (東京工業大学)、佐藤 秀行 (オープンアイ)、嶋根 みゆき (中外製薬)、高橋 一敏 (味の素)、高岡 雄司 (アクセルリス)、田口 淳子 (大鵬薬品工業)、多田 幸雄 (東京大学)、谷村 隆次 (東レ)、中嶋 久士 (興和)、堀内 正 (慶應義塾大学)、水間 俊 (東京薬科大学)、緑川 淳 (ワールドフュージョン)、塚田 優子 (事務局)、町田 規子 (事務局)

- 資料：(1) 講演会企画進捗状況について  
(2) 大会プログラム暫定版

- 議題：(1) 講演会企画進捗状況について  
(2) 2013 大会の準備状況について  
(3) 懇親会の開催について (2 月 15 日、3 月 14 日)

## 第 5 回創薬研究会運営委員会

日時：2013 年 3 月 14 日 (木) 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：石川 誠 (日産化学)、大元 和之 (小野薬品)、岡部 隆義 (東京大学)、小田 晃司 (大正製薬)、片倉 晋一 (第一三共)、上村 みどり (帝人ファーマ)、小長谷 明彦 (東京工業大学)、嶋根 みゆき (中外製薬)、高岡 雄司 (アクセルリス)、田上 宇乃 (味の素)、多田 幸雄 (東京大学)、田中 博 (東京医科歯科大学)、谷村 隆次 (東レ)、中嶋 久士 (興和)、堀内 正 (慶應義塾大学)、松本 俊二 (富士通)、水間 俊 (東京薬科大学)、山辺 英史 (インフォコム)、塚田 優子 (事務局)、町田 規子 (事務局)

資料：(1) NPO 情報計算化学生物学会総会資料  
(2) 2013 大会準備状況

議題：(1) NPO 情報計算化学生物学会総会資料に関する説明  
(2) 各講演会企画進捗状況について  
(3) 連合大会に関する進捗報告

## 第 6 回創薬研究会運営委員会

日時：2013 年 5 月 10 日 (金) 10:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館 001 会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：石川 誠 (日産化学)、小田 晃司 (大正製薬)、片倉 晋一 (第一三共)、狩野 敦 (菱化システム)、上村 みどり (帝人ファーマ)、小長谷 明彦 (東京工業大学)、砂田 真志 (田辺三菱製薬)、高岡 雄司 (アクセルリス)、高土居 雅法 (杏林製薬)、田中 博 (東京医科歯科大学)、中嶋 久士 (興和)、服部 一成 (塩野義製薬)、松本 俊二 (富士通)、緑川 淳 (ワールドフュージョン)、塚田 優子 (事務局)

資料：(1) 第 1 回評議員会議事録  
(2) 講演会企画進捗状況について

議題：(1) 評議員会の報告  
(2) 各講演会企画進捗状況について  
(3) 今後の講演会企画について新グループにて討議  
(4) 主査の変更 堀内 正先生退任、新主査 片倉 晋一 (第一三共)  
(5) 退会会員 (2 社) の報告  
(6) 新規加入会員の報告 (杏林製薬 (高土居 雅法)、みずほ情報総研 (福澤 薫))



## 【関西部会】

### 第 1 回関西部会運営委員会

日時：2012 年 7 月 14 日 (土) 15:00 - 17:00

場所：都市活力研究所会議室

出席者：田中 成典 (神戸大学)、坂田 恒昭 (大阪大学)、小長谷 明彦 (東京工業大学)、山崎 一人 (大日本住友製薬株式会社)、  
白波瀬 和裕 (塩野義製薬株式会社)

議題：(1) NPO 法人化までの経過について  
(2) 今後の CBI 学会の運営体制について  
(3) NPO CBI 学会の事業について  
(4) 任意団体 CBI 学会の事業仕分けと資産整理について  
(5) 2011 年度決算報告  
(6) 関西での CBI 研究講演会の企画について  
(7) 関西支部設立に向けて

### 第 2 回関西部会運営委員会

日時：2012 年 9 月 8 日 (土) 13:00 - 14:30

場所：(財) 都市活力研究所 会議室

出席者 (敬称略)：小長谷 明彦 (東京工業大学)、田中 成典 (神戸大学)、坂田 恒昭 (塩野義製薬・大阪大学)、志水 隆一  
(記) ((財) 都市活力研究所)、水口 賢司 (医薬基盤研究所)、吉武 徹 (医薬基盤研究所)、森 一郎 (神戸大学)、塩田  
武司 (塩野義製薬)、正城 敏博 (大阪大学)、早乙女 周 (京都大学)、山崎 一人 (大日本住友製薬)、木下 誉富 (大阪府立大学)、  
奥野 恭史 (京都大学)、藤淵 航 (京都大学)

議題：(1) 小長谷理事長挨拶など  
(2) CBI 学会の現状  
(3) 「アカデミア創薬の現状と課題」(2012/11/30 開催) の状況について  
(4) 2013 年春の研究会について  
(5) 全国大会について  
(6) 関西部会長について

### 第 3 回関西部会運営委員会

日時：2013 年 1 月 26 日 (土) 13:00 - 15:00

場所：都市活力研究所会議室 (梅田・新阪急ビル 9 階)

議題：4 月 19 日の次回 CBI 関西講演会について他

出席者：坂田 恒昭 (大阪大)、小長谷 明彦 (東工大)、森 浩禎 (奈良先端大)、塩田 武司 (塩野義製薬)、藤淵 航 (京都大)、  
早乙女 周子 (京都大)、正城 敏博 (大阪大)、水口 賢司 (医薬基盤研)、田口 隆久 (産総研)、田中 成典 (神戸大)

### 第 4 回関西部会運営委員会

日時：2013 年 4 月 19 日 (金) 11:30 - 13:00

場所：神戸大学統合研究拠点 2 階セミナー室 (神戸市ポートアイランド)

出席者 (敬称略): 坂田 恒昭、奥野 恭史、正城 敏博、藤淵 航、早乙女 周子、鶴田 宏樹、小長谷 明彦、山崎 一人、木下 誉富、森 浩禎、田中 成典、牛尾 律子 (事務局)

討議事項: (1) 会計報告

(2) 次回関西西部会講演会企画

(3) 次々回関西西部会講演会企画

(4) 今後の進め方について

### 第 337 回 CBI 学会研究講演会 (詳細は講演会報告参照)

日時: 2013 年 4 月 19 日 (金) 13:15 - 17:0

場所: 神戸大学統合研究拠点 2 階セミナー室 (神戸市ポートアイランド)

参加者: 44 名

### 次回関西西部会講演会

世話人: 水口賢司委員、藤淵航委員、森浩禎委員

テーマ: 海外の事例に学ぶ、新しい形の産官学連携

日時: 11 月 15 日 (金)

会場: グランフロント大阪 ナレッジキャピタル タワー B 10 階 カンファレンスルーム B05-B07

### 次々回関西西部会講演会

世話人: 坂田委員、鶴田委員

テーマ: 日本版 NIH、アカデミア創薬、再生医療など

日時: 2014 年 4 月を予定

会場: 大阪を予定

### 次回運営委員会

日時: 2013 年 8 月 3 日 (土) 13 時 ~

会場: 都市活力研究所会議室 (グランフロント大阪ナレッジキャピタルタワー C7 階)

<http://urban-ii.or.jp/about.php>



【CBI ジャーナル編集委員会】

平成 25 年度 第 1 回編集委員会

日時：2013 年 6 月 27 日 (木) 10:00 - 12:00

場所：東京大学山上会館 201・202 会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略) :望月 祐志、古明地 勇人、高岡 雄司、多田 幸雄、広川 貴次、美宅 成樹、田中 博、荻島 創一、茂櫛 薫、  
粕谷 敦、菅野 清彦、石田 誠一、石川 智久、湯田 浩太郎、小長谷 明彦、岡部 隆義、萩谷 昌己、塚田 優子 (事務局)、  
小宮山 直美 (事務局)

資料：(1) 2012 - 2013 年度 CBI ジャーナル 論文投稿・刊行状況一覧  
(2) 2012 - 2013 年度 和文誌 論文投稿・刊行状況一覧  
(3) CBI ジャーナル論文募集新分野一覧  
(4) 2013 - 2014 年度 ジャーナル編集委員会・分野長案  
(5) CBI 学会誌創刊号案  
(6) (参考として) J-stage 公開論文一報

議題：(1) 2012 年度 - 2013 年度 論文投稿の状況の報告  
(2) 電子書籍出版 (2012 年 11 月 30 日発刊) の報告  
(3) 編集委員の年次大会における役割 (プログラム実行委員への就任) 説明  
(4) 分野再編について  
新しく分野分けし、5 分野とした。

(5) 2013 - 2014 年度編集委員会・分野長案が承認された。  
(6) CBI 学会誌創刊について承認された。

内容は、講演会記録、委員会記録、和文論文、オピニオン、研究会記録などで企画は編集委員が行う。  
通常は HP で公開、大会・総会時のみ、紙媒体で印刷をし、配布予定。

(7) 和文誌廃刊について (案)

和文誌創刊からの流れと今後 3 年間投稿がなく休刊状態なので廃刊とし、今後、和文論文は学会誌に掲載することが承認された。

なお、現在の和文誌は、廃刊後も HP 上で閲覧可能にしておく。

(8) 次回の委員会予定

- ・第 2 回ジャーナル編集委員会 10 月 29 日 (大会 2 日目) 12:00 - 13:00 (予定)
- ・プログラム委員会 (ポスター賞選定) 10 月 30 日 (CBI 学会 2013 年大会 3 日目) 17:00 - 18:00
- ・大会ポスター分野分け、学会誌等の企画会議 9 月初旬予定



【評議員会】

第 1 回評議員会

日時：2013 年 4 月 22 日 (月) 18:00 - 20:00

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 501 号室 (東京工業大学・田町) (東京都港区芝浦 3 - 3 - 6)

出席者 (敬称略)：田中 博、石川 智久、磯野 克己、岡崎 康司、岡部 隆義、片倉 晋一、河合 隆利、小長谷 明彦、古明地 勇人、  
菅原 秀明、高岡 雄司、多田 幸雄、富田 勝、中井 謙太、西沢 元仁、船津 公人、水間 俊、美宅 成樹

欠席：相田 美砂子、一石 英一郎、岡本 正宏、杉山 雄一、中馬 寛、藤 博幸、中田 吉郎、広野 修一、宮本 秀一、望月 祐志、  
山内 あい子

資料：(1) CBI 学会の NPO 化の経過報告  
(2) NPO 情報計算化学生物学会の役割  
(3) 学会と NPO との関係  
(4) CBI 学会財務状況 (2013 年度予算)  
(5) CBI 学会体制 (案)  
(6) 研究ドメインポートフォリオ  
(7) 評議員会の課題  
(8) 今後のスケジュール (案)  
(9) 新しいロゴの案 3 点

議題：(1) 組織変更に関する経過説明  
(2) 評議員会の役割について  
(3) 今後の活動予定  
(4) ロゴについて



## 【執行部会】

### 第 1 回執行部会

日時：2012 年 4 月 16 日 (月) 18:00 - 20:00

場所：東京医科歯科大学 M&D タワー 18 階 小会議室 1

出席者：田中 博、河合 隆利、堀内 正、片倉 晋一、多田 幸雄、小長谷 明彦、中村 三恵子 (事務局)

資料：(1) 特定非営利活動法人情報計算化学生物学会細則

(2) 役員資格一覧

(3) 会費参加費一覧

(4) 創薬研究会

議題：(1) 法人会員の学会での位置づけについて

(2) 法人会員の特典について

(3) 定款細則の確認 (別表 1: 理事の追加)

(4) 個人会員、学生会員、法人会員の振込先について

(5) 講演会企画の進め方について

(6) 連合大会への JSBi からの申し入れに関する検討

(7) CBI の関心領域の変更について

### 第 2 回執行部会

日時：2012 年 5 月 1 日 (火) 18:00 - 20:00

場所：東京医科歯科大学 MD タワー 16 階 小会議室 2

出席者：河合 隆利、堀内 正、多田 幸雄、小長谷 明彦、小澤 陽子 (事務局)

欠席者：片倉 晋一、養王田 正文、田中 博

資料：(1) 改 NPO CBI 体制

(2) 特定非営利活動法人情報計算化学生物学会細則

(3) 創薬研究会

(4) 会費参加費一覧

(5) 創薬研究会申込用紙

議題：5/11 開催の創薬研究会運営委員会に提案する資料の検討および確認。

### 第 3 回執行部会

日時：2012 年 7 月 25 日 (水) 18:00 - 20:00

場所：東京医科歯科大学 M&D タワー 16 階小会議室 3

出席者：田中 博、河合 隆利、堀内 正、多田 幸雄、岡部 隆義、小長谷 明彦、小澤 陽子 (事務局)

資料：(1) 2012 年度 NPO 情報計算化学生物学会予算案

(2) 2012 年度 情報計算化学生物学会及び賛助組合予 (案)

(3) 2012 年度 任意団体 CBI 学会収支一覧

(4) 2012 年度 研究講演会参加者人数及び収支 (見込)

(5) CBI 学会関西支部 (仮称) 説明会 議事録

議題：(1) NPO 情報計算化学生物学会 2012 年度予算案策定

(2) CBI 学会関西支部の設立について

(3) 連合大会 2013 の実行委員の推薦について

(4) 連合大会 2014 年以降の候補地について

## 第 4 回執行部会

日時：2012 年 11 月 9 日 (金) 18:00 - 19:40

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 506 号室 (東京工業大学・田町) (東京都港区芝浦 3 - 3 - 6)

出席者：堀内 正、多田 幸雄、片倉 晋一、河合 隆利、岡部 隆義、小長谷 明彦、小澤 陽子 (事務局)

資料：(1) 2012 年大会収支報告 (暫定版)

(2) 出展者のアンケート

議題：(1) 2013 年大会の進め方についての検討

(2) CBI ジャーナルの投稿料の改定について

(3) CBIJ 編集委員長の人事について

## 第 5 回執行部会

日時：2013 年 1 月 22 日 (火) 18:00 - 20:30

場所：松本楼 (東京大学本郷キャンパス構内)

出席者：田中 博、堀内 正、多田 幸雄、片倉 晋一、河合 隆利、岡部 隆義、小長谷 明彦、小澤 陽子 (事務局)

資料：(1) 定款

(2) 役員 (案)

(3) 総会資料 (案) (CBI 学会 2012 年度活動報告案、決算報告・監査報告、組織の変更について、国際学生コンテ  
スト支援事業について、2013 年度予算案)

議題：(1) 事業年度に関する定款変更の取り消しについて

(2) 役員の交代について

(3) CBIJ 編集委員長人事に関して

(4) 総会の議案の確認

(5) 2014 年大会の開催地に関する検討

## 第 6 回執行部会

日時：2013 年 5 月 31 日 (月) 18:00 - 20:00

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 506 号室 (東京工業大学・田町) (東京都港区芝浦 3 - 3 - 6)

出席者 (敬称略)：田中 博、河合 隆利、片倉 晋一、岡部 隆義、本間 光貴、望月 祐志、多田 幸雄、高岡 雄司、田中 成典、  
小長谷 明彦、小澤 陽子 (事務局)

欠席者：水間 俊

資料：(1) 大会プログラム

(2) 2013 年大会準備状況

(3) CBI/Omix 合同予算案

(4) 5/10 運営委員会議事録

(5) 講演会予定

(6) 2013 年度 CBI ジャーナル編集委員 望月先生再構成案

(7) FU Programming Guide

(8) FU User' s Guide

(9) 2013 年度 FMO 研究会今後の方針

議題：(1) 2013 年大会の進行状況の報告

(2) 創薬研究会の今後の運営についての方針説明

(3) CBIJ 編集委員会の今後の方針

(4) 関西部会の報告

(5) FMO 研究会の今後の活動計画に関する報告

(6) 和文誌廃刊と CBI 学会誌刊行に関する提案

(7) 2014 年大会長の内諾に関する報告

(8) 2015 年以降の大会実行委員長選出の件

(9) 文部科学省研究振興局からの文部科学大臣表彰科学技術賞及び若手科学者賞受賞候補者の推薦について

## 【特定非営利活動法人情報計算法学生物学会理事会】

### 第 1 回特定非営利活動法人情報計算法学生物学会理事会

日時：2012 年 6 月 18 日 (月) 12:00 - 12:30

場所：東京大学山上会館大会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：小長谷 明彦、多田 幸雄、堀内 正、岡部 隆義、河合 隆利

(理事総数 6 名 出席者数 5 名)

議長：小長谷 明彦

議事録署名人：多田 幸雄、堀内 正

審議事項：議案 1 田中 博氏の理事就任の件

### 第 2 回特定非営利活動法人情報計算法学生物学会理事会

日時：2013 年 3 月 14 日 (月) 19:15 - 19:30

場所：東京大学山上会館大会議室 (東京都文京区本郷 7 - 3 - 1)

出席者 (敬称略)：小長谷 明彦、多田 幸雄、片倉 晋一、堀内 正、岡部 隆義、河合 隆利、田中 博

(理事総数 7 名 出席者数 7 名)

議長：小長谷 明彦

議事録署名人：多田 幸雄、河合 隆利

審議事項：議案 1 堀内 正氏の理事退任の件

### 第 3 回特定非営利活動法人情報計算法学生物学会理事会

日時：2013 年 4 月 22 日 (月) 20:00 - 20:45

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 506 号室 (東京工業大学・田町) (東京都港区芝浦 3 - 3 - 6)

出席者 (敬称略)：小長谷 明彦、多田 幸雄、片倉 晋一、岡部 隆義、河合 隆利、田中 博

(理事総数 6 名 出席者数 6 名)

議長：小長谷 明彦

議事録署名人：多田 幸雄、河合 隆利

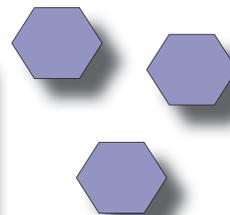
審議事項：議案 1 望月 祐志氏と本間 光貴氏の理事就任の件

議案 2 2014 年大会の開催地と実行委員長候補の件

報告事項：高岡 雄司氏、石川 智久氏、正会員 2 名の追加が報告された。



# 研究講演会 記録



## 第 336 回 CBI 学会研究講演会

### 「薬物動態を基盤にした医薬品候補化合物の選択－バーチャルデータセットによる演習－」

概要：この演習は、仮想データセットを使って *in vitro* および *in vivo* の薬物動態を中心とする情報から、新薬候補品を選択する過程を実際に体験することを主眼にしています。あなたはある重要な中枢神経疾患の経口治療薬の創薬プロジェクトに所属しています。このプロジェクトの候補化合物は、脳内である酵素を阻害することで薬効を現すと考えられています。現在、合成チームは 100 個の候補化合物を提供しており、これらの候補化合物について、限られたリソースのもとに必要なラットの *in vivo* の薬物動態および薬効と安全性の評価試験を実施し、その結果からヒトで優れた薬効を示す薬剤を 3 つ選択し、ヒトにおけるそれぞれの薬効用量を予測するのがあなたの役割です。



日時：2013 年 4 月 18 日（木）9:30 - 18:10

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 501、508、509（東京工業大学・田町）  
（東京都港区芝浦 3 - 3 - 6）<http://www.cictokyo.jp/access.html>



世話人：杉山 雄一（理化学研究所）、樋坂 章博（東京大学医学部附属病院）  
チューター：伊藤 清美（武蔵野大学薬学部）、前田 和哉（東京大学大学院薬学系研究科）、宮内 正二（東邦大学薬学部）、吉田 健太（東京大学大学院薬学系研究科）、北村 嘉章（杏林製薬）、設楽 悦久（Meiji Seika ファルマ）、長谷川 真絹（協和発酵キリン）、浜川 望（アステラス製薬）、東 龍之介（小野薬品工業）、若山 直美（エーザイ）

## プログラム :

- (1) 9:30 -10:30 (a) 講義 60分 (杉山+樋坂)  
 (2) 10:30 -11:30 (b) 全員が個別に (グループに集まらないで) 100 の化合物から 5 個の化合物を選択することを 60 分かけて行なってもらい、その結果をメール等で報告する  
 (3) 11:30 -11:50 (c) グループ分け  
 (4) 11:50 -13:00 (d) ランチタイム (グループごとの自己紹介)  
 (5) 13:00 -14:00 (e) グループ議論をして、15 個の化合物を出してもらう  
 (6) 14:00 -14:40 (f) 主催者側が *in vivo* 実験の回答を整理して、受講者に次の情報を与える  
 (待ち時間には、杉山が参加者に関連事項の講義をする予定である。)



- (7) 14:40 -15:40 (g) グループごとに議論をして、15 個からベスト化合物を 3 個選んで報告する  
 (8) 15:40 -16:40 (h) グループごとに選択した化合物について、ヒトの PK と安全性を予測し、プレゼンテーションの資料を用意する  
 この間に、主催者側は採点をする  
 (9) 16:40 - 17:40 (i) グループごとのプレゼンテーション+議論 (7 + 3分)  
 (10) 17:40 - 18:10 (j) 講評 (樋坂) 30分

## 各賞受賞者 :

各賞は以下の方々に授与されました。(敬称略)

- <金メダル賞> 小川 久美子、飯屋 佑子、酒井 大貴、  
三浦 研二、宮島 真理、吉門 崇  
 <銀メダル賞> 加藤 晴敏、小西 健太郎、永末 央、西山 剛史、  
前田 南、山内 裕治、湯田 浩太郎  
 <銅メダル賞> 小川 哲平、上出 剛久、北村 吏司、  
佐川 亜矢子、清水 聡、松山 涼



## 第 337 回 CBI 学会研究講演会

### 「関西の強みを生かした産官学連携の事例：創薬支援ネットワーク」

#### 開催趣旨：

CBI 学会では昨年より、関西地区での研究講演会の開催を始め、今回はその 2 回目にあたる。関西地区での講演会では特に、関西の特色である医療イノベーション戦略や 創薬支援ネットワーク、産官学の連携、国際化戦略、医療・構造生物学と計算科学の融合などに焦点を当ててプログラムの設定を行う予定である。今回は、「創薬支援ネットワーク」を主たるテーマとし、関西国際総合特区、バイオグリッド、iPS 知財戦略、大学企業連携等に関する事例を、それぞれ現場でご担当されている専門家の方を講師としてお招きしてご紹介いただく。

日時：2013 年 4 月 19 日（金）13:15 - 17:30

場所：神戸大学総合研究拠点コンベンションホール

（兵庫県神戸市中央区港島南町 7 丁目 1-48 神戸ポートアイランド）

<http://www.kobe-u.ac.jp/info/outline/facilities/kuirc/>

世話人：田中 成典（神戸大学）、早乙女 周子（京都大学）

後援：神戸大学大学院システム情報学研究科

#### プログラム：

- (1) 13:15 - 13:20 開催の挨拶
- (2) 13:20 - 14:20 Keynote：「関西イノベーション国際戦略総合特区の取り組み」  
北野 義幸（大阪バイオ・ヘッドクォーター / 大阪府商工労働部）
- (3) 14:20 - 15:10 「スパコン『京』が開く計算創薬の未来～『京』インシリコ創薬コンソーシアムの構築～」  
奥野 恭史（京都大学大学院薬学研究科）
- (4) 15:30 - 16:20 「iPS 細胞技術の進展と知的財産」  
高須 直子（京都大学 iPS 細胞研究所）
- (5) 16:20 - 17:10 「産官学連携による創薬の活性化」  
荒森 一朗（アステラス製薬株式会社）
- (6) 17:10 - 17:30 まとめと総合討論



## 第 338 回 CBI 学会研究講演会

### 「抗体医薬研究の現状」

#### 開催趣旨：

2011 年度に売上 40 億ドルを超えたブロックバスター製品 22 品目の内、バイオ製剤は 7 品目を数え、そのうち 5 品目が抗体医薬である。今後売上上位の低分子薬の特許切れに伴いバイオ製剤の占める比率はさらに上昇していくと予想されており、製薬企業におけるバイオ医薬へ注目は依然高い状況が続いている。CBI 学会においても 2009 年、2010 年と抗体をテーマに取り上げた研究講演会を開催してきたが、その後 2 年以上が経過していることから、抗体研究の現状をレビューする講演会を企画した。抗体の開発に於いても *in silico* 技術に対する期待は高く、通常低分子医薬の研究に携わっている計算科学者にも積極的に議論に加わって頂きたい。

日時：2013 年 5 月 10 日（金）13:30 - 17:40

場所：東京大学山上会館大会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

世話人：高岡 雄司（アクセルリス）、小田 晃司（大正製薬）、河合 隆利（エーザイ）

#### プログラム：

- (1) 13:30 - 13:35 開催の挨拶
- (2) 13:35 - 14:25 「抗原抗体相互作用の熱力学と設計指針」  
津本 浩平（東京大学医科学研究所）
- (3) 14:30 - 15:20 「抗体医薬の構造・表面状態と凝集性の関わり」  
内山 進（大阪大学大学院工学系研究科）
- (4) 15:35 - 16:25 "New Tools for Therapeutic Antibody Drug Discovery - Is Humanness the antibody equivalent of ADME/Tox?"  
Mark Swindells (Ebisu)
- (5) 16:30 - 17:20 「分子動力学を用いた抗体研究」  
藤谷 秀章（東京大学先端科学技術研究センター）
- (6) 17:25 - 17:40 まとめと総合討論



## 第 339 回 CBI 学会研究講演会

### 「創薬を志向した大規模計算の活用」

#### 開催趣旨：

「京」に代表されるスーパーコンピューターの創薬への活用に向けた動きが本格的に稼動し始めた昨今、製薬企業における *in silico* 創薬が新たな局面を向かえようとしている。より精度の高い大規模計算が利用できる環境が実現され、社内外のリソースを使い分けながらより効率的な創薬研究を進められることが期待されている。しかしながら一方で、その実用化に向けては様々なハードルが存在し、産官学連携してその課題解決に取り組まなければならないと考えられる。このような背景から、創薬の現場でより効率的に活用できる、創薬の生産性向上に真に寄与出来る大規模計算の活用について議論する場を提供したいと考え「創薬を志向した大規模計算の活用」というテーマでの CBI 学会研究講演会を企画した。具体的には、現在進められているスパコンでの *in silico* 創薬活用の取り組み事例を通じて、その目指す姿や創薬現場へのインパクト、そして今後解決すべき課題について、産学それぞれの立場からご講演頂き、議論いただきたい。

日時：2013 年 6 月 27 日（木）13:30 - 17:50

場所：東京大学山上会館大会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

世話人：緑川 淳（ワールドフュージョン）、嶋根 みゆき（中外製薬）、塩田 武司（塩野義製薬）

#### プログラム：

- (1) 13:30 - 13:40 はじめに
  - (2) 13:40 - 14:40 「化学空間の可視化を利用した化学構造創出および大規模仮想ライブラリの開発」  
船津 公人（東京大学工学系研究科）
  - (3) 14:40 - 15:40 「分子シミュレーションソフトウェア MARBLE の開発と  
生体超分子シミュレーションへの応用」  
池口 満徳（横浜市立大学大学院生命医科学研究科）
  - (4) 16:00 - 17:00 「GPU による大規模シミュレーションと支援ツール」  
成見 哲（電気通信大学大学院情報理工学研究科）
  - (5) 17:00 - 17:45 「スパコン京により拓かれるインシリコ創薬の可能性」  
山崎 一人（大日本住友製薬株式会社ゲノム科学研究所）
  - (6) 17:45 - 17:50 まとめ
- <懇親会> 18:00 - 20:00



## 第 340 回 CBI 学会研究講演会

### 「e-ADMET 構築に向けて 4 : 毒性予測の現状と今後の展開」

#### 開催趣旨 :

薬物の体内動態は、その薬効および毒性に深く結びついており、本研究講演会では、これまでに「e-ADMET 構築に向けて」という大テーマで、シリーズとして開催して来た。しかしながら、それらは ADME に関するものであり、毒性 (T) に関しては未だ開催の機会が無かった。そこで、シリーズの第 4 回目にあたり今回、毒性 (T) をメインテーマとして開催することとした。毒性、特にその回避のための予測は、医薬品開発における究極の研究テーマの一つである。このテーマに対するアプローチの方法としては、これまでに取り上げたテーマと同様に、wet study と dry study がある。本研究会では、毒性ならびにその予測に関して、総説的内容も含めた、wet study および dry study の講演をお願いした。本研究講演会を通して、毒性予測の現状の把握と今後の展開へのヒントになれば幸いである。

日時 : 2013 年 7 月 10 日 (水) 13:30 - 18:10

場所 : キャンパスイノベーションセンター東京  
国際会議室 (東京都港区芝浦 3 - 3 - 6)  
<http://www.cictokyo.jp/access.html>

世話人 : 水間 俊 (東京薬科大学)、  
粕谷 敦 (第一三共株式会社)



#### プログラム :

- (1) 13:30 - 13:35 「毒性研究は究極の課題」  
水間 俊 (東京薬科大学)
- (2) 13:35 - 14:35 「副作用の発症に関連するゲノムバイオマーカーの探索研究」  
頭金 正博 (名古屋市立大学)
- (3) 14:35 - 15:35 「反応性代謝物と特異体質毒性研究におけるインフォマティクスの活用」  
小林 好真 (第一三共株式会社)
- (4) 15:45 - 16:45 「ベイジアンネットによる反復投与毒性の整理」  
岡田 孝 (関西学院大学)
- (5) 16:45 - 17:45 「医薬品開発における遺伝毒性の予測とリスク評価」  
本間 正充 (国立医薬品食品衛生研究所)
- (6) 17:45 - 17:50 「毒性予測への期待」  
粕谷 敦 (第一三共株式会社)
- (7) 17:50 - 18:10 総合討論





## 今後の研究講演会 予定



### 第 341 回 CBI 学会研究講演会

#### 「イオンチャネル創薬と Allosteric Modulators」

日時：2013 年 8 月 2 日（金） 13:20 - 17:40

場所：東京大学山上会館大会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

世話人：澤田 光平（エーザイ株式会社）、森 泰生（京都大学）

### 第 342 回 CBI 学会研究講演会

#### 「精密なドラッグデザイン 共有結合化合物を題材として」

日時：2013 年 9 月 5 日（木） 13:30 - 17:50

場所：東京大学山上会館大会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

世話人：片倉 晋一（第一三共）、田上 宇乃（味の素）

### 第 343 回 CBI 学会研究講演会

#### 「精密なドラッグデザイン 共有結合化合物を題材として」

日時：2013 年 11 月 15 日（金） 13:25 - 17:45

場所：グランフロント大阪 ナレッジキャピタル タワー B 10 階  
カンファレンスルーム B05-B07

世話人：水口 賢司（医薬基盤研究所）、森 浩禎（奈良先端科学技術大学院大学）、  
藤淵 航（京都大学）

### 第 344 回 CBI 学会研究講演会

#### 「医薬品開発におけるモデリング&シミュレーション(M&S)の有用性」

日時：2013 年 12 月 10 日（火） 13:20 - 18:50

場所：東京大学山上会館大会議室（東京都文京区本郷 7 - 3 - 1）

世話人：杉山 雄一（理化学研究所）、千葉 康司（横浜薬科大学）



## メタボローム解析を用いた線虫の塩による寿命短縮の解明

川合 涼貴<sup>1,3</sup>, 星川 桃子<sup>2,3</sup>, 佐藤 瞳<sup>2,3</sup>,  
浅野 悟<sup>2</sup>, 小知和 裕美<sup>3</sup>, 富田 勝<sup>3</sup>

<sup>1</sup>慶應義塾大学環情報学部 <sup>2</sup>山形県立鶴岡  
中央高校 <sup>3</sup>慶應義塾大学先端生命科学研  
究所

〒997-0017 山形県鶴岡市大宝寺字日本国  
403-1

*E-mail*: mt@sfc.keio.ac.jp

(論文受付日 April 2, 2013; 公開日 July 31, 2013)

**要旨:** 塩は健康の維持, 増進には必要不可欠な栄養素であるが, 高血圧の原因とも言われており, 塩分と健康についてはまだ明確なことはわかっていない. そこで, 塩が健康にどう影響を与えているか線虫を用いて, 又, 寿命に注目して探った. 寿命アッセイの結果, 高塩濃度になると寿命が減少することが確認された. 原因を調べるためメタボローム解析を行った結果, BetaineとGlycerolが顕著に増加していることから, 浸透圧ストレスの関係が示唆された. また, 酸化グルタチオンの増加とペーンスリン酸経路の物質の減少から, 酸化ストレスが原因であることも示唆されたため, 酸化ストレスアッセイを行った. 結果, 高塩濃度の線虫は酸化ストレスに弱いことがわかった. 加えて, 先行研究の高塩濃度の線虫の遺伝子発現量を測定した結果と今回のメタボローム解析の結果を照らし合わせて考えた結果, cystathionine gamma-lyaseに関係のある遺伝子の発現量の増加と代謝物質量の増加が確認されたため, 酸化ストレスとの関係が支持された.

**キーワード:** 塩 *C. elegans* 寿命 メタボローム解析 酸化ストレス

### 1 はじめに

塩分は生命にかかわる重要な成分である. 塩は血液やリンパ液などの体液の浸透圧を一定に保つ働きがあり, 健康の維持, 増進には必要不可欠な栄養素である. しかし, これまでの研究では, 塩分の過剰摂取は脳卒中や心血管病の発生頻度を増やすことが指摘[1]されており, 塩分摂取量の減少により高血圧などの病気の改善につながる[2]とされている. 一方, 塩分摂取量の減少により血圧が上昇したという報告もあり[3], 塩と健康について現状では明確にいえぬ状態ではないことから, まだ議論の余地があると考えている. また, 塩分の過剰摂取により哺乳類培養細胞の老化を促進することが発見[4]されており, *C. elegans* (*Caenorhabditis elegans*)

では寿命が減少することが確認されている. 加えて, マウスと *C. elegans* の実験において, DNA 修復機構にかかわる遺伝子 Ku86 の機能を欠損させた場合, 高塩濃度による DNA の損傷が促進され, 特に *C. elegans* の Ku86 変異体では, 塩による寿命の短縮効果が大きくなることが発見された[5]. さらに, *C. elegans* の研究では, インスリン/IGF-1 シグナル伝達系が滞ることで約 2 倍の寿命を持つ *daf-2* 変異体は, 高塩濃度に対する耐性があることが確認されている[6]. これらのことから, 塩濃度は寿命に関係するのではないかと考え, *C. elegans* を用いて塩の寿命に及ぼす影響に注目した. 研究対象である *C. elegans* は, 寿命が約 3 週間と短いことに加え繁殖, 維持することが容易であることから, 老化研究ではよく用いられる生物である[7]. *C. elegans* は高塩濃

度にすると, 浸透圧ストレス環境に適応するため, グリセロールを体内で合成し蓄積する[8]ことがわかっている. また, 高塩濃度で変化した遺伝子の中にグリセロール合成遺伝子の発現量が上昇する[9]ことも発見された. 同時に, GATA 転写因子により制御される遺伝子群の発現量も変化しており[9], これらの転写因子は浸透圧ストレス耐性に関わることが示されている. *C. elegans* にグリセロールやグルコースを投与すると短命になる[10]ことから, 塩による寿命の減少にはグリセロールの上昇に伴う代謝の変化が関係しているのではないかと考えた. 生体内に存在する全代謝産物を網羅的に解析し, 比較サンプルの代謝物質の差異を調べる手法としてメタボローム解析がある. メタボローム解析はより直接的な方法で代謝経路の活性を調べることが可能であることから長寿に関する *C. elegans* の研究に用いられている[11]. 他にも, 低分子量のバイオマーカーの発見などに利用されている[12]. そこで私たちは, 高塩濃度による代謝の変化が寿命減少に関わるという仮説を立て, 代謝物質の変化から寿命減少の原因を探るため, メタボローム解析を行った.

## 2 対象と手法

### 2. 1 研究対象

*C. elegans* (N2) を使用. は寒天培地 (Nematode Growth Medium plate) 上で 20°C に維持.

### 2. 2 寿命アッセイ

*C. elegans* を育てる寒天培地 (プレート) は次の 3 つの塩濃度のものを用意した.

A. Control (NaCl 50 mM) Nematode Growth Medium plate(500 mL)

Bacto pepton 1.25 g NaCl 1.5 g Agar 8.5 g 5 mg/ml cholesterol 0.5 mL DW 486 mL 1M potassium phosphate (pH 6.0) 12.5 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 0.5 mL 1M CaCl<sub>2</sub> 0.5 mL FUdR(20 mM) 1.25 mL

B. NaCl 100 mM Nematode Growth Medium plate(500 mL)

Bacto pepton 1.25 g NaCl 2.9 g Agar 8.5 g 5 mg/ml cholesterol 0.5 mL DW 486 mL 1M potassium phosphate (pH 6.0) 12.5 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 0.5 mL 1M CaCl<sub>2</sub> 0.5 mL FUdR(20 mM) 1.25 mL

C. NaCl 200 mM Nematode Growth Medium plate(500 mL)

Bacto pepton 1.25 g NaCl 5.8 g Agar 8.5 g 5 mg/ml cholesterol 0.5 mL DW 486 mL 1M potassium phosphate (pH 6.0) 12.5 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 0.5 mL 1M CaCl<sub>2</sub> 0.5 mL FUdR(20 mM) 1.25 mL

B には A の 2 倍, C には 4 倍の塩が入っている.

用意したプレートそれぞれに *C. elegans* の餌となる大腸菌 (OP50) を 80 μL まき, 1 プレートあたり約 20 匹の *C. elegans* でアッセイする. どの濃度も各 4 プレートで行う.

次に *C. elegans* を 20 °C のインキュベーターで大量培養し, 回収後アルカリブリーチ (NaClO 1.8 mL 5N NaOH 1.0 mL DW 7.2 mL) 処理で卵を回収し, *C. elegans* の発生段階をそろえる. *C. elegans* が adult になったその日からアッセイを開始.

2 日に 1 回生存確認し, 2 日から 6 日 1 回新しいプレートに移した. これを *C. elegans* が死ぬまで行う. *C. elegans* は一種類あたり 80 匹使った. この実験は 5 回行った.

### 2. 3 メタボローム解析

次の塩濃度の異なる 2 種類のプレート (直径 15 cm) で培養し解析した.

A. control(21 mM) Enriched peptone plate (1 L)

Bacto pepton 20 g NaCl 1.2 g Agar 25 g 5 mg/ml cholesterol 1 mL DW 972 mL 1M potassium phosphate (pH 6.0) 25 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 1 mL

B. 100 mM NaCl Enriched peptone plate (1 L)

Bacto pepton 20 g NaCl 5.7 g Agar 25 g 5 mg/ml cholesterol 1 mL DW 972 mL 1M potassium phosphate (pH 6.0) 25 mL 1M MgSO<sub>4</sub> 1 mL

#### 2. 3. 1 *C. elegans* のサンプル準備

作成した 2 種類のプレートに *C. elegans* をまく. 1 週間程度 20°C のインキュベーターで培養する. アルカリブリーチ処理で卵のみの状態にし, 次の日 L1 を回収する. 回収した L1 を 3 日間 20 °C のインキュベーターで培養し, 成虫となった *C. elegans* を回収する. 回収した *C. elegans* は液体窒素で凍らせ, -80 °C で保存.

#### 2. 3. 2 サンプルからメタボロームの抽出

回収した *C. elegans* に直径 0.5 mm ジルコニアビ

ーズ 2 g と内部標準物質の入ったメタノール 1,200  $\mu\text{L}$  を加え 4,000 rpm, 70 秒で 3 回破碎した。その後, 上清を 2 mL チューブに移しクロロフォルム 850  $\mu\text{L}$  と蒸留水 340  $\mu\text{L}$  を加え攪拌後, 15,000 rpm で 15 分間遠心を行い, 水層部分のみを限外ろ過膜チューブに移し, 10,000 rpm で遠心を行った。その内 100  $\mu\text{L}$  はタンパク定量に用いた。遠心終了後, 遠心濃縮機にて 35°C で 240 分間遠心しその後遠心した。サンプルは測定まで -80 °C で保存した。

### 2. 3. 3 メタボロームの解析条件

メタボローム解析には, Agilent 社の CE-TOFMS 装置を使用し, 陽イオン性物質と陰イオン性物質を以下の条件でそれぞれ測定した。グリセロールは Free Glycerol Assay Kit (BioVision Research Products) を使って測定した。

#### 陽イオン性物質の測定条件

キャピラリー電気泳動による代謝物質の分離には, 内径 50  $\mu\text{m}$ , 長さ約 100 cm フェーズドシリカキャピラリーを使用し, 1 M の蟻酸をキャピラリーに送液した。代謝物質のサンプルは, 50 mbar の空気圧で 3 秒間注入し, 電圧は +30 kV に設定した。シース液として, 50 % (v/v) メタノールを 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  でネブライザーに送液した。ESI-TOFMS (Electro Spray Ionization Time of Flight Mass Spectrometry) はポジティブイオンモード (4,000 V) に設定し, 300°C のヒーターで加熱した窒素ガスを 10 psig でネブライザーに供給した。

#### 陰イオン性物質の測定条件

キャピラリー電気泳動による代謝物質の分離には, 内径 50  $\mu\text{m}$ , 長さ約 110 cm COSMO キャピラリーを使用し, 50 mM の酢酸アンモニウム (pH 8.5) をキャピラリーに送液した。代謝物質のサンプルは, 50 mbar の空気圧で 30 秒間注入し, 電圧は -30 kV に設定した。シース液として, 5 mM の酢酸アンモニウム (50% (v/v) メタノール) を 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  でネブライザーに送液した。ESI-TOFMS はネガティブイオンモード (3,500 V) に設定し, 300 °C のヒーターで加熱した窒素ガスを 10 psig でネブライザーに供給した。

### 2. 3. 4 データの解析

CE-TOFMS による測定データは慶應義塾大学先端生命科学研究所によって開発されたメタボローム解析用ソフトウェアによって解析した。サンプル間の代謝物質の差を GraphPad Prism5 で統計的に解析した。

### 2. 3. 5 タンパク定量

サンプルに 1M NaOH を 180  $\mu\text{L}$  加え, 70 °C で 25 分インキュベート。蒸留水を 1,620  $\mu\text{L}$  加え (10 倍希釈) 4 °C で 14000 rpm, 5 分遠心。Pierce BCA Protein Assay Kit (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) により, タンパク質の量を測定。この結果を使い, メタボローム解析の値を補正した。

### 2. 4 酸化ストレスアッセイ

次の塩濃度の異なる直径 5 cm の 2 種類のプレート (寿命アッセイの時と組成は同じものを使用) で培養し実験した。作成した 2 種類のプレートに *C. elegans* をまき, 1 週間程度 20 °C のインキュベーターで培養する。アルカリブリーチ処理で卵のみの状態にし, 次の日 L1 を回収する。L4 の状態で塩濃度の異なるプレートに移し, 2 日に 1 度プレートを換えた。アッセイは Methyl Viologen 450 mg を 7 mL の滅菌水で溶かし (250 mM) 100  $\mu\text{L}$  ずつ 96 穴プレートに入れる。Methyl Viologen の入ったプレートのなかに線虫を入れ 1 時間ごとに生存確認を行う。*C. elegans* は control, 200 mM とともに 32 匹ずつ行った。この実験を 3 回行った。サンプル間の代謝物質の差を GraphPad Prism5 で統計的に解析した。

## 3 結果

### 3. 1 寿命アッセイ

成虫 1 日目の *C. elegans* を 3 種類の濃度のプレートで寿命測定した結果, 塩濃度が高くなるにつれ寿命が減少したことがわかった (図 1)。平均寿命は A コントロールが 20 日, B NaCl 100 mM が 18 日, C NaCl 200 mM が 16 日だった (表 1)。A を基準に考えると B は -11.1%, C は -25% 減少していることになる。

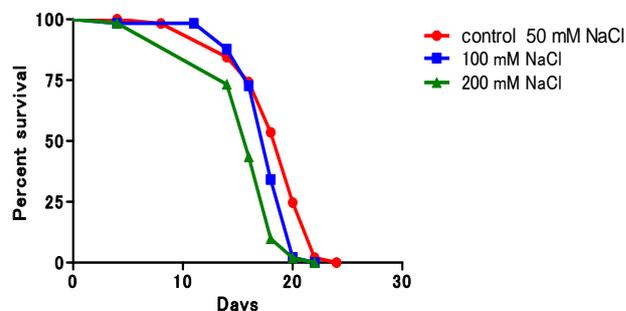


図1 塩濃度の異なるプレートで培養した *C. elegans*

の寿命曲線

● コントロール(NaCl 50 mM) ■ NaCl 100 mM ▲ NaCl 200 mM グラフ横軸の Days 0 は, 寿命アッセイを開始した日を示す.

Log-rank (Mantel-Cox) Test Control vs 100 mM NaCl:  $p=0.0158$  \* Control vs 200 mM NaCl:  $p < 0.0001$  \*\*\*

### 3. 2 メタボローム解析

寿命アッセイの結果, 塩による寿命短縮が確認されたため, 代謝の変化から原因を探るためにメタボローム解析を行った.

NaCl が 21 mM と 100 mM のプレートで培養した *C. elegans* を回収し, メタボローム解析を行った. 結果, 合計165 物質が同定され, そのうち17 物質が増加, 12 物質が減少していた. キットを使って測定したグリセロールも増加していた(図2). 増加, 減少していた物質の中に, 中心炭素代謝系の物質が増加で2 物質, 減少で5 物質の合計7 物質見られた. 中心炭素代謝系のなかで解糖系では Pyruvate が増加, TCA 回路では Malate と Fumarate が減少, ペントースリン酸経路では 6-Phosphogluconate と R5P が減少している(図3) という結果が得られた.

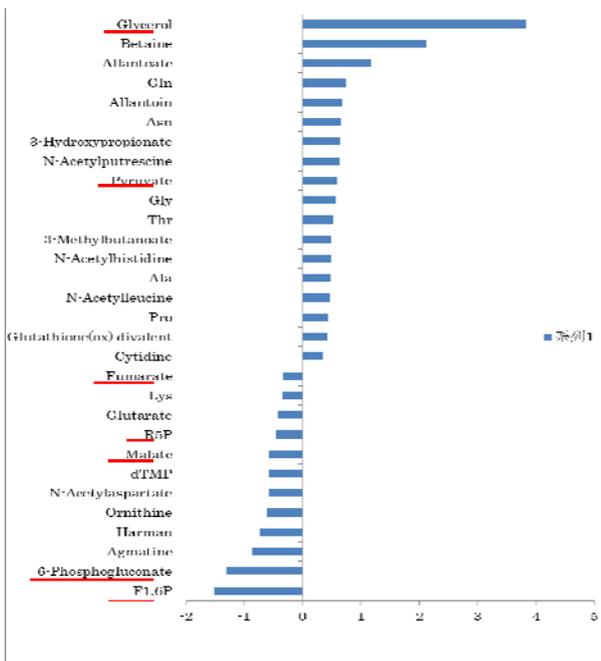


図2 メタボローム測定の結果増加, 減少していた物質 縦軸は物質名, 横軸は log2 の指数を示す. 物質名に下線が引いてあるものは中心炭素代謝系の関係ある物質を示す.

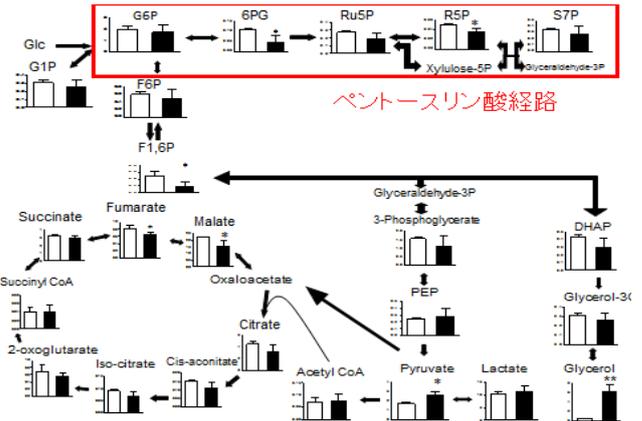


図3 メタボロームの測定の結果を中心炭素代謝系にまとめたもの.

白のバーがコントロール, 黒のバーが NaCl 100 mM を示す. また, グラフの縦軸の単位は nmol/mg.

\*: P 値 < 0.05, \*\*: P 値 < 0.01 の代謝物質質量を示す.

### 3. 3 酸化ストレスアッセイ

メタボローム解析の結果, ペントースリン酸経路の物質が減少と酸化型グルタチオンの増加がみられたため, 酸化ストレスが関係しているのではないかと考え, 酸化ストレスに対する耐性をみるために酸化ストレスアッセイを行った. 成虫 5 日目の *C. elegans* を Methyl Viologen に入れて生存時間を測定した結果, 高塩濃度で培養した *C. elegans* は酸化ストレスに弱いということがわかった(図4). 平均生存時間は control が 4 時間, NaCl 200 mM は 2 時間だった. この結果から, 高塩濃度で育てた *C. elegans* は酸化ストレスに弱いことを示す.

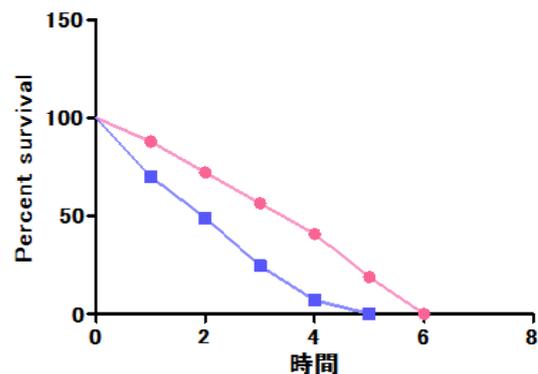


図4 酸化ストレスアッセイ 生存曲線

● コントロール(NaCl 50 mM) ■ NaCl 200 mM グラフ横軸は *C. elegans* を試薬に入れてからの時間を示す. Log-rank (Mantel-Cox) Test Control vs 200 mM NaCl:  $p=0.0008$  \*\*\*

4 議論

4. 1 高塩濃度でペントースリン酸経路が滞ることにより, 寿命が短くなる.

ペントースリン酸経路は過酸化水素を還元させる経路にある NADPH を作っている[13]. そのため, ペントースリン酸経路が変化すると過酸化水素の経路も変化することがわかっている[14]. メタボローム測定の結果, 高塩濃度の *C. elegans* ではグリセロールの上昇に伴いペントースリン酸経路の物質に減少が見られ, 酸化型グルタチオンが増加していた(図 5). また, 酸化ストレスアッセイの結果, 高塩濃度になると酸化ストレスに弱いことがわかった. 寿命が短い *C. elegans* は酸化ストレスに対する生存時間が短いと考えられがちだが, 寿命が長い *C. elegans* の *eat-2* 変異体は, 酸化ストレスに弱い傾向にある[15]. また, *C. elegans* に少量のパラコートを与え酸化ストレスを加えることにより, 寿命が延長する[16]ことも報告されている. したがって, 寿命の長さや酸化ストレスについては一概には言うことはできない. しかし, 今回の酸化ストレスアッセイの結果, 高塩濃度で培養した *C. elegans* は生存時間が短くなったことから, 塩濃度は酸化ストレス耐性に影響を与えることが示唆される. 加えて, 高い塩濃度の培地で培養した線虫の遺伝子を調べた論文があり[9], その結果と今回のメタボローム解析の結果を照らし合わせた結果(表 1), 関係していた遺伝子の機能に cystathionine gamma-lyase に関係するものが 3 つあった. この cystathionine gamma-lyase は細胞の酸化を調節に関係している[17]. また, H<sub>2</sub>S を作り出す経路に関する酵素であり, H<sub>2</sub>S は抗酸化酵素の発現レベルを増加させ, 活性酸素の毒性を減少させることが確認されている[17]. この酵素に関係する遺伝子はどれも増加していたことから, 過酸化水素が蓄積したため, 遺伝子を活性化し排除しようとしたのではないかと考えられる. したがって高塩濃度にした結果, 酸化ストレスが大量に発生し短命になったのではないかと考えた.

つまり, 酸化ストレスを軽減することで, 塩による寿命短縮を改善できる可能性があると考えている. またその方法として, dichloroacetates (DCA) などペントースリン酸経路にある酵素を活性化する[18]試薬を線虫に投与することによって塩による寿命の改善の可能性があると考えており, 今後の課題としていきたい.

遺伝子名	機能	遺伝子発現量	代謝物質	代謝物質量
M02D8.4	ASparagiNe Synthetase	Up	Asn,Gln	Up
T25B9.1	glycine C-acetyltransferase	Up	Gly	Up
R11F4.1	glycerol kinase	Up	Glycerol	Up
R02D3.1	alpha-amino adipic semialdehyde synthase	Down	Lys	Down
F22B8.6	cystathionine gamma-lyase	Up	Pyruvate	Up
C12C8.2	cystathionine gamma-lyase	Up	Pyruvate	Up
ZK1127.10	cystathionine gamma-lyase	Up	Pyruvate	Up

表 1 変化していた遺伝子と代謝物質をまとめたもの.

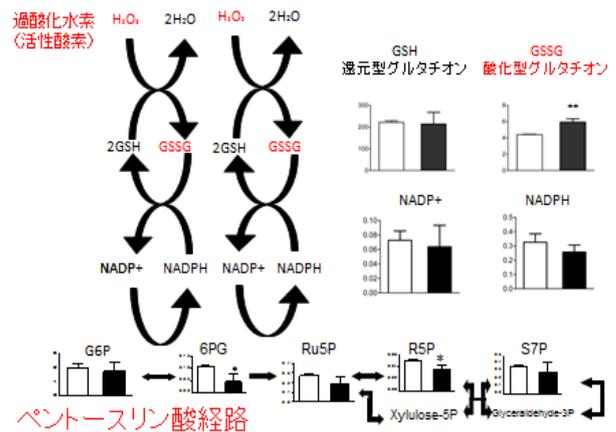


図 5 ペントースリン酸経路と酸化ストレスの関連性

4. 2 浸透圧ストレスが原因の可能性

高塩濃度になるとそれによっておこる浸透圧ストレスに対抗するために線虫は Glycerol を体内に蓄積する[8]. 線虫の他に, 植物でもこの反応は確認されており植物では Betaine も浸透圧ストレスの対抗のため蓄積する[19]ことが確認されている. メタボローム解析の結果, Glycerol と Betaine は顕著に増加していたため多くの浸透圧ストレスがあったのではないかと考える. 浸透圧ストレスが原因で老化が促進することはヒトの細胞でも確認されている[20]ため, 今回の塩による寿命短縮もこれが原因の一つであるのではないかと考える.

## 5 謝辞

本研究を進めるにあたり、慶應義塾大学先端生命科学研究所の浜島聖文さん、新原温子さん、金井昭夫教授には実験をはじめ多大なるご指導を頂きました。そして、ほかにもたくさんのご協力があったからこそ本研究を続けていくことができたのだと思います。私の研究生活を支えて頂きました多くの方々に、この場をお借りしまして厚く御礼申し上げます。本研究は山形県および鶴岡市からの教育研究費補助金を受けています。

## 参考文献

- [1] Lewis K. Dahl. *et al.* Effects of chronic of excess salt ingestion 1962 June 1. JEM vol.115 no.6 1173-1190
- [2] Pasquale Strazzullo. *et al.* Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. BMJ. 2009 339: b4567
- [3] 橋本壽夫 食塩と高血圧の関係はどこまで解明されたか 日本醸造協会誌 第91巻 第1号 15~19頁 1996
- [4] Natalia I. Dmitrieva. *et al.* High NaCl promotes cellular senescence. 2007 Dec 5 Cell Cycle vol.6.3108-3113
- [5] Dmitrieva NI. Knockout of Ku86 accelerates cellular senescence induced by high NaCl. Aging (Albany NY). 2009 Feb 12 245-253.
- [6] S. Todd Lamitina and Kevin Strange. Transcriptional targets of DAF-16 insulin signaling pathway protect *C. elegans* from extreme hypertonic stress. Am J Physiol Cell Physiol. 2005. Feb 288 2 C467-74.
- [7] *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. Science, 1998 Dec 11 vol 11, No 282 5396, 2012-8
- [8] Chunyi George Huang. *et al.* Functional analysis of the aquaporin gene family in *Caenorhabditis elegans*. Am J Physiol Cell Physiol. 2007 May vol 292 C1867-C1873
- [9] Anne-Katrin Rohlfing. Genetic and Physiological Activation of Osmosensitive Gene Expression Mimics Transcriptional Signatures of Pathogen Infection in *C. elegans*. 2010 Feb 2 PLoS One.5(2). e9010.
- [10] Seung-Jae Lee. *et al.* Glucose shortens the life span of *C. elegans* by downregulating DAF-16/FOXO activity and aquaporin gene expression. Cell Metab. 2009 Nov 10 379-391
- [11] Silke Fuchs. *et al.* A metabolic signature of long life in *Caenorhabditis elegans*. BMC Biol.2010 Feb 10 vol.8 14
- [12] Tomoyoshi Soga. *et al.* Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption. 2006 Jun 16 J Biol Chem. vol.281 16768-76
- [13] Marc Larochelle. *et al.* Oxidative Stress-Activated Zinc Cluster Protein Stb5 Has Dual Activator/Repressor Functions Required for Pentose Phosphate Pathway Regulation and NADPH Production. Mol Cell Biol. 2006 Sep vol.26 6690-701.
- [14] Takao Kato. *et al.* Analysis of metabolic remodeling in compensated left ventricular hypertrophy and heart failure.
- [15] Brian Onken and Monica Driscoll, Metformin Induces a Dietary Restriction-Like State and the Oxidative Stress Response to Extend *C. elegans* Healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1, PLoS ONE 5(1): e8758, 2010
- [16] Wen Yang and Siegfried Hekimi, A Mitochondrial Superoxide Signal Triggers Increased Longevity in *Caenorhabditis elegans*, PLoS Biol 8(12), 2010
- [17] Jeffrey G. Dickhout. *et al.* Integrated stress response modulates cellular redox state via induction of cystathionine  $\gamma$ -lyase: cross-talk between integrated stress response and thiol metabolism. 2012 Mar 2. Vol.287 7603-7614.
- [18] Schaffer S. *et al.* The effect of dichloroacetate on health- and lifespan in *C. elegans*. 2011 Jun. Biogerontology vol.12 195-209
- [19] Jitender Giri. Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants 2011 Nov. 1 Plant Signal Behav. vol.6 1746-1751.
- [20] S. Todd Lamitina. *et al.* Adaptation of the nematode *Caenorhabditis elegans* to extreme osmotic stress. 2004 Apr Am J Physiol Cell Physiol. vol.286 C785-91

# フラグメント分子軌道法によるインフルエンザウイルス表面タンパク質の大規模量子化学計算

福澤 薫<sup>1,2</sup>、望月 祐志<sup>2,3</sup>、中野 達也<sup>2,4</sup>、  
田中 成典<sup>5</sup>

<sup>1</sup>みずほ情報総研株式会社、<sup>2</sup>東京大学生産技術研究所、<sup>3</sup>立教大学、<sup>4</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>5</sup>神戸大学大学院システム情報学研究科

<sup>1</sup>東京都千代田区神田錦町 2-3、<sup>2</sup>東京都目黒区駒場 4-6-1、<sup>3</sup>東京都豊島区西池袋 3-34-1、<sup>4</sup>東京都世田谷区上用賀 1-18-1、<sup>5</sup>兵庫県神戸市灘区六甲台町 1-1

*E-mail:* kaori.fukuzawa@mizuho-ir.co.jp,  
fullmoon@rikkyo.ac.jp, nakano@nihs.go.jp,  
tanaka2@kobe-u.ac.jp

(論文受付日 April 11, 2013 ; 公開日 July 31, 2013)

**要旨:** インフルエンザウイルスの膜表面に存在するヘマグルチニン(HA)やノイラミニダーゼ(NA)というタンパク質は、それぞれウイルスが宿主に感染する過程、離脱する過程で重要な役割を担っている。これらのタンパク質の分子認識メカニズムを系統的に理解することで、ワクチンや抗ウイルス薬の開発に有益な情報が得られると期待される。本稿では、フラグメント分子軌道法プログラム ABINIT-MP(X)および専用 GUI プログラム BioStation Viewer を用いた、ウイルス表面タンパク質による宿主結合、抗原抗体反応、および抗ウイルス薬との結合などに関する大規模量子化学計算について紹介する。

**キーワード:** インフルエンザウイルス、膜表面タンパク質、分子認識、フラグメント分子軌道法、BioStation、ABINIT-MP、BioStation Viewer

## 1. はじめに

インフルエンザウイルスは、頻繁に変異を繰り返し、その抗原変異のしやすさが毎年の流行の原因となっている。感染してしまうと重症化することもあり、ワクチンによる予防や抗ウイルス薬の開発が緊急の課題である。ウイルスの膜表面にはヘマグルチニン(HA)[1] やノイラミニダーゼ(NA)[2] といったタンパク質がそれぞれ 3 量体、4 量体として存在し、前者はウイルスが宿主細胞に感染する過程、後者は

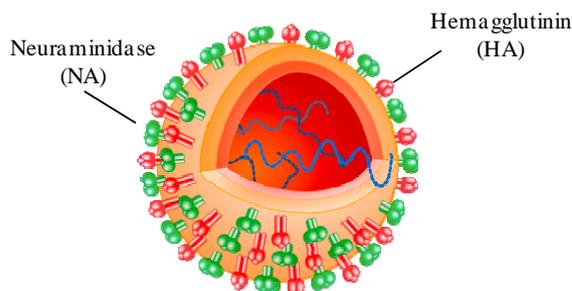


図1 インフルエンザウイルスと表面タンパク質

離脱する過程で重要な役割を果たす (図 1)。これら HA の受容体結合や抗原抗体反応、NA の阻害剤結合の系統的な理解は、ワクチンや薬剤の開発に有益な情報となる。

一方で、生命現象の分子メカニズム解明や論理的な創薬のためには、分子シミュレーションによる理論計算が有益である。中でも経験的パラメータに依存しない電子状態計算は、古典分子動力学法などの経験的手法と比較して膨大な計算量を要する一方で、電子の挙動を扱うことができるため、化学反応や電子移動プロセスなどへの適用が期待できる。タンパク質や DNA などの生体高分子の電子状態計算手法として、オーダーN法や分割法など近年さまざまな方法論が提案されている。神戸大学の北浦教授により開発されたフラグメント分子軌道(FMO)法は分割法の一つで、その名の通り分子を「フラグメント」に分割して、フラグメントのモノマー、ダイマー、トリマーなどの組み合わせで分子全体の電子状態を表現する近似法である[3]-[5]。一般的に、巨大分子の電子状態計算が可能となったとしても、如何に結果を解釈し手軽に活用するのか、という新たな課題が出てくるが、その点 FMO 法は、大規模分子をフラグメント分割することにより、計算コストを大幅に削減するとともに、フラグメント間の相互作用エネルギー(IFIE)を評価することができるという優れた側面を持っている。IFIE を利用することで、エネルギー指標によって分子内・分子間の相互作用をフラグメント単位で定量評価できるため、明解で応用範囲が広い。すなわち FMO 法の出現によって、生体高分子をモデル化せずにそのまま量子化学計算することが可能となり、実用系における分子内・分子間相互作用の定量評価をルーチン的に扱うことが現実的となっている。本稿では、FMO 法プログラム ABINIT-MP(X)を用いて、インフルエンザウイルスの表面タンパク質である、HA および NA の大規模量子化学計算を行った例を紹介する。

## 2. バイオ分子相互作用シミュレータ Biostation

FMO 法のプログラムは国内でも複数開発されており、主な実装系に GAMESS[6], PAICS[7], ABINIT-MP[8] がある。筆者らの研究グループで開発されている ABINIT-MP は、特に生体高分子を意識した構成となっており、専用の GUI システムである BioStation Viewer を備えている (ABINIT-MP と BioStation Viewer を併せたものを、バイオ分子相互作用シミュレータ BioStation と呼ぶ[8])。現在までに Hartree-Fock (HF) 法ばかりでなく、MP2 法[9][10] や CIS(D)法[11][12] などの電子相関法も多数実装されており、特に電子相関を考慮した MP2 法は精度と計算時間とのバランスがよく実用的である。

これまでの最大規模の計算事例はインフルエンザ HA 三量体と Fab 抗体との巨大複合体であり、地球シミュレータの 128 ノード(1024 プロセッサ)を用いて 2351 残基 (36160 原子) の FMO-MP3/6-31G 計算が 5.8 時間 (MP2 レベルならば 4.3 時間) であった [13]。特にスーパーコンピュータでなくても、数台の PC クラスタを用いて十分に計算することが可能である。

ABINIT-MP にはまた FMO 法独自の様々な解析手法が組み込まれている。FMO 計算の大きな特徴の 1 つは、フラグメント間相互作用エネルギー (Inter-Fragment Interaction Energy, IFIE) を計算できることであり、これは全てのフラグメントの組み合わせに対して網羅的に得ることができる。タンパク質や DNA を扱う場合には、残基間相互作用やリガンドと各残基との相互作用、DNA の塩基対やスタッキング相互作用、残基-塩基間相互作用などのフラグメント単位の解析が可能であるし、IFIE を組み合わせることによって分子間の結合エネルギーなども評価できる。BioStation Viewer を用いて、IFIE に基づいた各種解析 (IFIE の立体構造表示、IFIE-map[14], VISCANA[15])、軌道相互作用解析 (CAFI[16], FILM[17])、グリッドデータ解析、CH/π 相互作用解析 (CHPI[18][19]) などを可視化しながら行うことができる。また固定電荷を用いた古典力場計算とは異なり、原子電荷を計算することができるため、電荷分布や電荷の移動に基づいた解析が可能である。

## 3. インフルエンザウイルス表面タンパク質の計算

インフルエンザ HA および NA タンパク質の FMO 計算結果を用いて、ウイルスの感染や増殖に関わる分子認識メカニズムを分子間相互作用の観点から解説する。

### 3.1 ウイルス HA と宿主受容体の結合親和性

インフルエンザウイルスは、トリやヒトなどの宿主に対して感染性が異なるという特徴を持っている。言い換えると、ウイルスの感染に関わる HA タンパク質と宿主受容体との間に特異的な相互作用が存在する。このため、トリインフルエンザウイルスはヒトに感染しにくく、ヒトインフルエンザウイルスはトリに感染しにくい。これは、宿主受容体であるシアロ糖鎖の構造をみると判りやすい。図 2 のように、シアロ糖鎖の末端にあるシアル酸と隣のガラクトースとの間の結合様式が、ヒトは  $\alpha$ -2-6 型、トリは  $\alpha$ -2-3 型と異なっており、そのために受容体を認識する HA との結合性が異なると考えられる [20]。

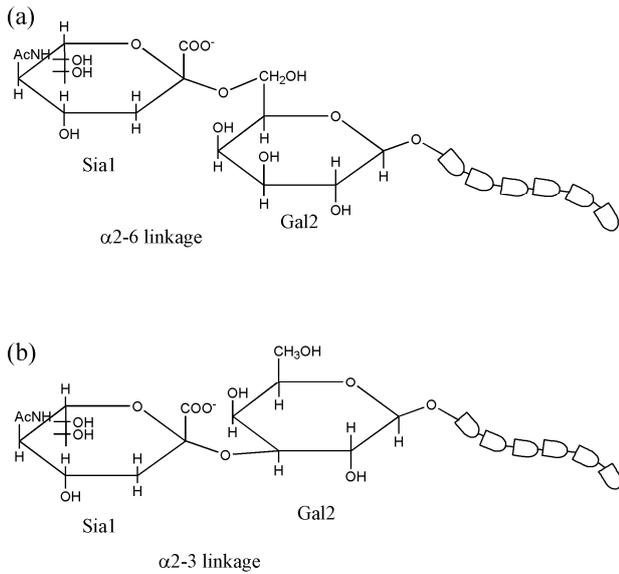


図 2 宿主におけるシアル酸-ガラクトース結合様式：(a) ヒト型 $\alpha$ 2-6 結合、(b)トリ型 $\alpha$ 2-3 結合

そこで、各宿主受容体によるシアロ糖鎖との結合性の違いについて、FMO 法を用いた結合エネルギー計算による定量評価を行った[21]。ここで結合エネルギーは、式 1 の通り、HA-受容体の複合体構造と単体構造とのエネルギー差である。

$$\Delta E = E_{complex} - (E_{HA} + E_{receptor}) \quad (式 1)$$

トリ(avian) H3 型、ヒト(human) H1 型、ブタ(swine) H1 型、トリ(avian) H5 型の各ウイルス HA タンパク質について、 $\alpha$ 2-3、 $\alpha$ 2-6 型受容体との結合エネルギーの比較を表 1 に示す。ヒトウイルスはトリ $\alpha$ 2-3 型よりもヒト $\alpha$ 2-6 型受容体に、トリウイルスはヒト型よりもトリ型受容体に強く結合すること、またブタウイルスはヒト型受容体に結合しやすいことがわかる。

表 1 HA と受容体との結合エネルギー(kcal/mol)[21]

	H3HA avian	H1HA human	H1HA swine	H5HA avian
$\alpha$ 2-3	-352.9	-293.3	-363.3	-299.2
$\alpha$ 2-6	-292.4	-335.9	-390.5	-283.9

次に、ヒト(human) H1 型 HA と各受容体との複合体構造に対して IFIE 解析を行い、受容体と HA の各アミノ酸残基との相互作用を評価した(図 3)。Lys222 および Asp225 との相互作用において大きな変化が見られ、共にヒト型受容体の方が安定な相互

作用をしている。構造との総合評価により水素結合形成による安定化が起こっていると考えられる。

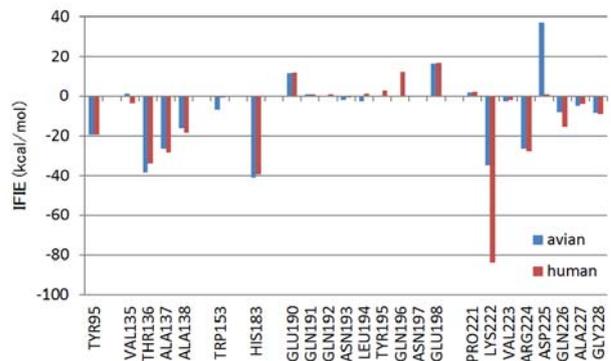


図 3 糖鎖受容体とヒト H1 型 HA の各アミノ酸残基との IFIE。図中の avian は  $\alpha$ 2-3 型受容体との相互作用、human は  $\alpha$ 2-6 型受容体との相互作用を表している。

このように、FMO 計算によりシアル酸認識の宿主結合特異性の理論予測と重要なアミノ酸の特定が可能であることが示された。

### 3.2 新型インフルエンザウイルス

2009 年に大流行を起こしたブタ由来の新型インフルエンザウイルス(2009/H1N1pdm)は、世界をインフルエンザ・パンデミックへの恐怖に陥れた。幸いにして強毒型のウイルスではなく季節型ウイルスとして収束したものの、世界で1万8千人以上の死者を出した。この2009/H1N1pdmウイルスと受容体との結合特異性が過去のH1N1型ウイルスとどのように異なっているのかを調べるために、ヒト $\alpha$ 2-6型受容体との結合性の計算を行い、過去のヒトH1N1亜型(スペイン風邪)およびブタH1N1亜型ウイルスとの比較を行った[[22]。用いたウイルス株は下記のとおりである。

A/California/04/2009 (2009/H1N1pdm)

A/swine/Iowa/1930 (1930swine)

A/Puerto Rico/8/1934 (1934human)

前節と同様の手順で、この3種類のウイルスHAとヒト $\alpha$ 2-6型受容体との結合エネルギーおよびIFIE解析を行ったところ、もっとも結合が強いのは新型ヒトウイルスであり、次にブタウイルス、旧型ヒトウイルス、の順であることがわかった。さらに結合性変化の由来を調べたところ、新型ウイルス特有の、145番目のアミノ酸の変異(Ser145Lys)が結合を強くしていることがわかった。各ウイルスHAの受容体結合サイトの構造をみると(図4)、Ser145では受容

体のシアル酸と水素結合を形成していたところが、Lys145 になるとイオン対を形成しており、より強い結合となる説明がつく。この変異によってヒト型受容体への強い結合性を獲得する可能性を示す結果であった。

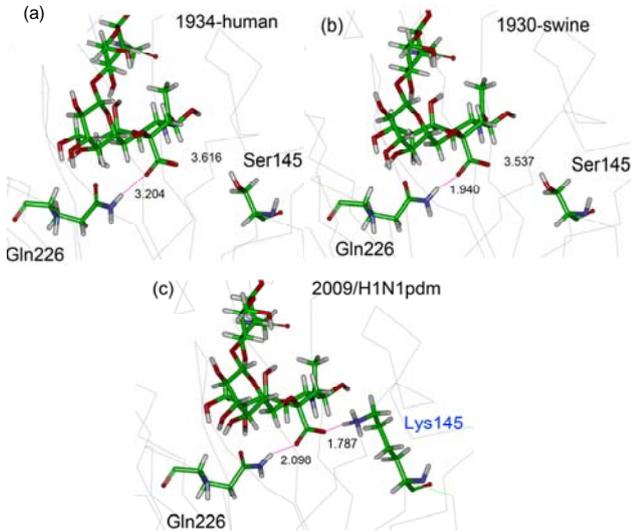


図 4 受容体結合サイトの構造

### 3.3 抗原抗体相互作用から予測するウイルスの変異

ここまでは、宿主受容体と HA タンパク質との相互作用に注目したが、HA は抗原として免疫抗体に認識されるため、抗原抗体反応における分子間相互作用も興味深い。インフルエンザウイルスが頻繁に変異を起こすことは前に述べたが、ウイルスは自身の変異（進化）によって免疫抗体から逃れることができる。抗体に認識されにくいウイルスが生き残ると仮定すると、抗体と強い引力相互作用をするアミノ酸残基の変異が主流変異となる可能性が高いという仮説がたてられる。そこで、HA 抗原と抗体との複合体構造の FMO-IFIE 解析により、抗体と HA 各アミノ酸残基との間の相互作用を数値的に評価した[23]。具体的には、H3N2 A/Aichi/2/68 ウイルス HA と Fab 抗体との複合体構造を用いて相互作用を詳細に解析し、抗体と強い引力相互作用をしている HA のアミノ酸残基を特定した。特に抗原部位である抗原領域 E に注目した。さらに、当該アミノ酸残基の変異が実験的に許容（HA が血球吸着機能を保持する）か非許容かの情報を用いて[24]、候補の絞り込みを行った。許容変異かつ安定な引力相互作用をしているアミノ酸残基と、実際のウイルス年表（表 2）に沿った主流変異とが一致するかどうかを確認した。

表 2 H3N2 A/Aichi/2/68 ウイルス HA の抗原領域 E における主流変異[24]

年号	主流となった変異
1969	V78G
1972	D63N
1973	T83K
1977	I62K
1987	E82K
1989	K83E
1995	K62E
2002	H75Q, E83K

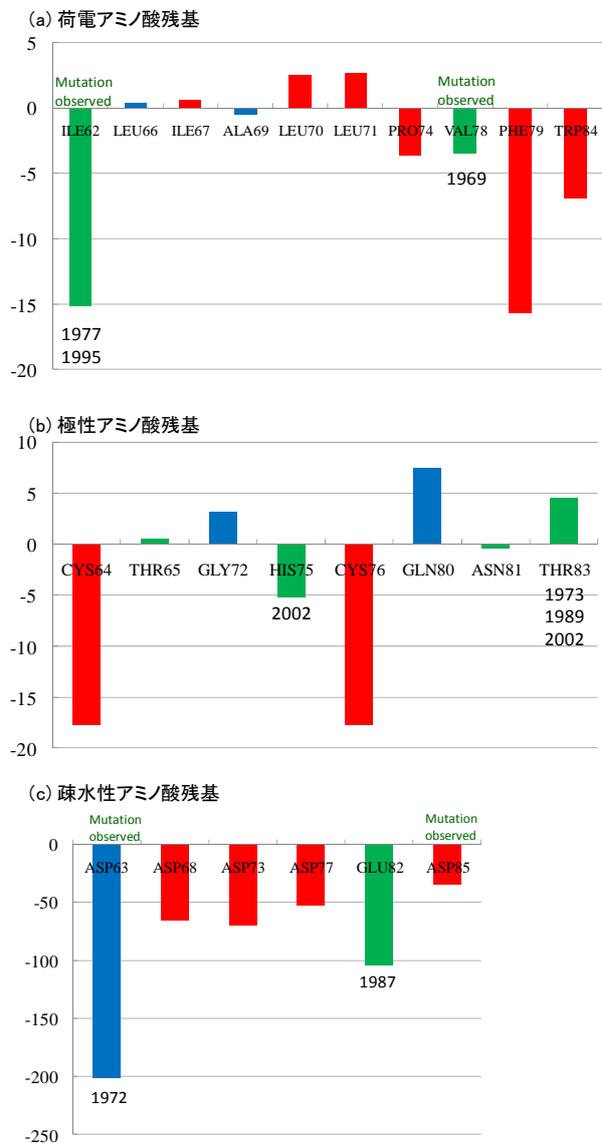


図 5 抗体と各アミノ酸の相互作用[23]

図 5 には、抗原領域 E のアミノ酸残基を(a)荷電残基、(b)極性残基、(c)疎水性残基に分類し、また実験結果の許容変異 (緑)、非許容変異 (赤)、未測定 (青)、に色分けしている。緑かつ安定相互作用 (IFIE が負値を示す) の箇所と表 2 の変異位置とが見事に一致していることがわかる。唯一対応がとれなかった Thr83 についても、フラグメント切断場所とアミノ酸残基の境界を一致させることで解決した[25]。

以上の結果は、抗原抗体反応におけるアミノ酸残基単位の相互作用解析を実験結果と適切に組み合わせることにより、ウイルス変異の予測が可能であることを示唆している。尚、ここでは HA 単量体と Fab 抗体 1 個の例についての結果を紹介したが、HA 三量体と Fab 抗体 2 個との例についても同様の結果が得られている[26]

### 3.4 抗ウイルス薬との相互作用

現在日本で用いられている抗インフルエンザ薬は、もうひとつの膜表面タンパク質である NA をターゲットとした NA 阻害剤である。NA は増殖したウイルスが細胞から遊離する段階でシアロ糖鎖を切断するシアリダーゼ酵素であり、特に有名なタミフル (図 6) は、高病原性 H5N1 トリインフルエンザや新型インフルエンザに対する注目も手伝っていまや誰もが知る薬になっている。タミフルは、いわゆる Structure-based drug design (SBDD)において、コンピューター支援によるドラッグデザインによって開発された薬でもある。

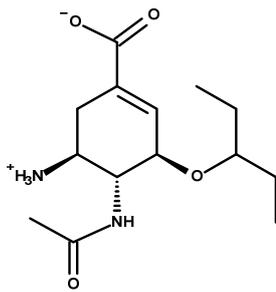


図 6 タミフル活性体構造

FMO 法は、このような酵素と阻害剤のような、タンパク質と化合物との相互作用についても同様に評価することができるため、タミフルと NA の各アミノ酸残基がどのような相互作用をしているのかを調べた。既に複合体の結晶構造がとられている PDBID: 2HU4 (386 残基)について、FMO-MP2/6-31G レベルの計算と IFIE 解析を行った[27]。

特に引力が強いのは Arg118, Arg292, Arg371 などの塩基性残基との相互作用であるが、SBDD で導入されたアミノ基の影響により Glu119 や Asp151 のような酸性アミノ酸残基との相互作用も安定化して

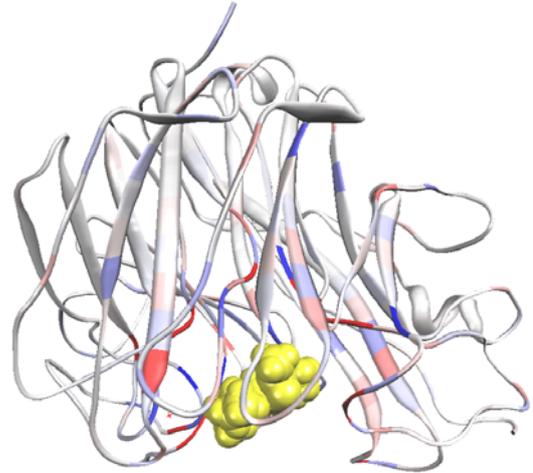


図 7 タミフルと NA 各アミノ酸の相互作用<sup>[27]</sup>

いることがわかった。

このように、FMO 計算による相互作用解析によって、タンパク質と化合物の結合様式を明らかにし、官能基のデザインに対する相互作用の変化などの論理的創薬を行う上で有用な情報が得られることがわかる。

### 4. おわりに

フラグメント分子軌道法による生体高分子の応用研究事例として、特にインフルエンザウイルスタンパク質の特異的な結合についての計算例を紹介した。FMO 計算から得られる IFIE を解析することで、相互作用に対して定量的な指標を与えることがおわかりいただけたと思う。また最近では、多体 FMO 法を用いた高精度化によって、リガンドを分割した官能基ごとの相互作用解析ができるようになっており、創薬分子設計への貢献が期待できる[5][28]。生体分子系は特異的な分子間相互作用によって制御されているシステムであるといえ、これら分子間相互作用を理解して適切に制御したり応用することによって、たとえばウイルス感染症に対しては、ドラッグデザインや薬剤耐性問題への対応、ウイルス変異の予測、ワクチン開発など、さまざまな対策に結びつけることができると考えている。FMO 法は第一原理に基づいた方法であるため、インフルエンザ感染症だけでなく、同様の手法が一般的な生体高分子の相互作用解析に適用できる。今後様々な応用計算が展開され、生命科学研究に貢献すると期待される。

謝辞：本研究を進めるにあたり、多くの助言をいただいた中島捷久先生、信澤枝里先生、尾曲克己博士、渡邊千鶴博士、図をご提供くださった沖山佳生博士に感謝いたします。本研究は、文部科学省次世代 IT 基盤構築のための研究開発プログラム「イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発(RISS)」プロジェクトおよび立教大学学術推進特別重点資金 SFR の支援を受けました。

## 参考文献

- [1] Skehel, J. J., Wiley, D. C.: Receptor Binding and Membrane Fusion in Virus Entry: The Influenza Hemagglutinin, *Annu. Rev. Biochem.*, 69 (2000) 531-569.
- [2] Air, G. M., Laver, W. G.: The Neuraminidase of Influenza Virus, *PROTEINS*, 6 (1989) 341-356.
- [3] The Fragment Molecular Orbital Method: Practical Applications to Large Molecular Systems, edited by Fedorov, D. G. & Kitaura K.: (Taylor & Francis/CRC Press, Boca Raton, FL, 2009)
- [4] Fedorov, D. G. & Kitaura K.: Extending the Power of Quantum Chemistry to Large Systems with the Fragment Molecular Orbital Method, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 6904-6914.
- [5] Nakano, T., Mochizuki, Y., Yamashita, K., Watanabe, C., Fukuzawa, K., Segawa, K., Okiyama, Y., Tsukamoto, T., & Tanaka, S.: Development of the four-body corrected fragment molecular orbital (FMO4) method, *Chem. Phys. Lett.* 523 (2012) 128-133.
- [6] GAMESS: <http://www.msg.ameslab.gov/gamess/>
- [7] PAICS: <http://www.paics.net/>
- [8] ABINIT-MP および BioStation Viewer は東京大学生産技術研究所のホームページからダウンロード可能 <http://www.ciss.iis.u-tokyo.ac.jp/riss/dl/>
- [9] Mochizuki, Y., Nakano, T., Koikegami, S., Tanimori, S., Abe, Y., Nagashima, U. & Kitaura, K.: A parallelized integral-direct second-order Møller–Plesset perturbation theory method with a fragment molecular orbital scheme, *Theor. Chem. Acc.* 112 (2004) 442–452.
- [10] Mochizuki, Y., Koikegami, S., Nakano, T., Amari, S. & Kitaura, K.: Large scale MP2 calculations with fragment molecular orbital scheme, *Chem. Phys. Lett.*, 396 (2004) 473-479.
- [11] Mochizuki, Y., Nakano, T., Amari, S., Ishikawa, T., Tanaka, K., Sakurai, M. & Tanaka, S.: Fragment molecular orbital calculations on red fluorescent protein (DsRed), *Chem Phys Lett.* 433 (2007) 360-367.
- [12] Mochizuki, Y., Tanaka, K., Yamashita, K., Ishikawa, T., Nakano, T., Amari, S., Segawa, K., Murase, T., Tokiwa, H. & Sakurai, M.: Parallelized integral-direct CIS(D) calculations with multilayer fragment molecular orbital scheme, *Theor. Chem. Acc.* 117 (2007) 541-553.
- [13] Mochizuki, Y., Yamashita, K., Fukuzawa, K., Takematsu, K., Watanabe, H., Taguchi, N., Okiyama, Y., Tsuboi, M., Nakano, T. & Tanaka, S.: Large-scale FMO-MP3 calculations on the surface proteins of influenza virus, hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA), *Chem. Phys. Lett.* 493 (2010) 346-.352.
- [14] Kurisaki, I., Fukuzawa, K., Komeiji, Y., Mochizuki, Y., Nakano, T., Imada, J., Chmielewski, A., Rothstein, S. M., Watanabe, H. & Tanaka, S.: Visualization Analysis of Inter-Fragment Interaction Energies of CRP-cAMP-DNA Complex Based on the Fragment Molecular Orbital Method, *Biophys. Chemist.* 130 (2007) 1-9.
- [15] Amari, S., Aizawa, M., Zhang, J., Fukuzawa, K., Mochizuki, Y., Iwasawa, Y., Nakata, K., Chuman, H. & Nakano, T.: VISCANA: Visualized Cluster Analysis of Protein-Ligand Interaction Based on the ab initio Fragment Molecular Orbital Method for Virtual Ligand Screening, *J. Chem. Inf. Model.*, 46 (2006) 221-230.
- [16] Mochizuki, Y., Fukuzawa, K., Kato, A., Tanaka, S., Kitaura, K. & Nakano, T.: A Configuration Analysis for Fragment Interaction, *Chem. Phys. Lett.*, 410 (2005) 247–253.
- [17] Ishikawa, T., Mochizuki, Y., Amari, S., Nakano, T., Tokiwa, H., Tanaka, S. & Tanaka, K.: Fragment interaction analysis based on local MP2, *Theor. Chem Account* 118 (2007) 937–945.
- [18] Umezawa, Y., Nishio, M.: CH/ $\pi$  Interactions as Demonstrated in the Crystal structure of Guanine-nucleotide Binding Proteins, *Src*

- homology-2 Domains and Human Growth Hormone in Complex with their Specific Ligands, *Bioorg. Med. Chem.*, 6 (1998) 493-504.
- [19] 西尾元宏: 有機化学のための分子間力入門、講談社サイエンティフィック
- [20] Suzuki, Y.: Sialobiology of influenza molecular mechanism of host range variation of influenza viruses, *Biol. Pharm. Bull.*, 28 (2005) 399-408.
- [21] Iwata, T., Fukuzawa, K., Nakajima, K., Aida-Hyugaji, S., Mochizuki, Y., Watanabe, H., & Tanaka, S.: Theoretical analysis of binding specificity of influenza viral hemagglutinin to avian and human receptors based on the fragment molecular orbital method, *Comp. Biol. Chem.* 32 (2008) 198-211
- [22] Fukuzawa, K., Omagari, K., Nakajima, K., Nobusawa, E., & Tanaka, S.: The sialic acid recognition of the human pandemic influenza 2009 H1N1 virus: quantum mechanical FMO calculations for the binding mechanism between human receptor and influenza hemagglutinin, *Protein & Peptide Lett.*, 18 (2011) 530-539.
- [23] Takematsu, K., Fukuzawa, K., Omagari, K., Nakajima, S., Nakajima, K., Mochizuki, Y., Nakano, T., Watanabe, H., Tanaka, S.: Possibility of Mutation Prediction of Influenza Hemagglutinin by Combination of Hemadsorption Experiment and Ab Initio Calculation for Antibody Binding, *J. Phys. Chem. B*, 113 (2009) 4991-4994.
- [24] Nakajima, K.; Nobusawa, E.; Tonegawa, K.; Nakajima, S.: Restriction of Amino Acid Change in Influenza A Virus H3HA: Comparison of Amino Acid Changes Observed in Nature and In Vitro, *J. Virol.* 77 (2003) 10088-10098.
- [25] Yoshioka, A., Takematsu, K., Kurisaki, I., Fukuzawa, K., Mochizuki, Y., Nakano, T., Nobusawa, E., Nakajima, K. & Tanaka, S.: Antigen-antibody interactions of influenza virus hemagglutinin revealed by the fragment molecular orbital calculation, *Theor Chem Acc*, 130 (2011) 1197-1202.
- [26] Yoshioka, A., Fukuzawa, K., Mochizuki, Y., Yamashita, K., Nakano, T., Okiyama, Y., Nobusawa, E., Nakajima, K. & Tanaka, S.: Prediction of probable mutations in influenza virus hemagglutinin protein based on large-scale ab initio fragment molecular orbital calculations, *J. Mol. Graph Model* 30 (2011) 110-119.
- [27] Fukuzawa, K., Mochizuki, Y., Mibe, H., Watanabe, C., Tanaka, S. & Nakano, T.: Fragment molecular orbital study concerning influenza virus neuraminidase with antiviral drug, Abstract book for The Seventh Congress of the International Society for Theoretical Chemical Physics (ISTCP-VII).
- [28] Watababe, C., Fukuzawa, K., Okiyama, Y., Tsukamoto, T., Kato, A., Tanaka, S., Mochizuki, Y., Nakano, T.; Three- and four-body corrected fragment molecular orbital calculations with a novel subdividing fragmentation method applicable to structure-based drug design, *J. Mol. Graph. Model.* 41 (2013) 31-42.

# Structure-based drug design を指向した新規フラグメント分割法に基づく 4 体補正フラグメント分子軌道(FMO4)計算

渡邊千鶴<sup>1</sup>、福澤薫<sup>1,2</sup>、沖山佳生<sup>1</sup>、  
望月祐志<sup>1,3</sup>、塚本貴志<sup>1,2</sup>、加藤昭史<sup>2</sup>、  
田中成典<sup>4</sup>、中野達也<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> 東京大学 生産技術研究所、<sup>2</sup> みずほ  
情報総研、<sup>3</sup> 立教大学 理学部、<sup>4</sup> 神戸  
大学大学院 システム情報学研究科、  
<sup>5</sup> 国立医薬品食品衛生研究所

<sup>1</sup> 東京都目黒区駒場 4-6-1、<sup>2</sup> 東京都千代田区神  
田錦町 2-3、<sup>3</sup> 東京都豊島区池袋 3-34-1、<sup>4</sup> 神戸  
市灘区六甲台町 1-1、<sup>5</sup> 東京都世田谷区上用賀  
1-18-1

E-mail: chiduru@iis.u-tokyo.ac.jp

(論文受付日 April 12, 2013; 公開日 July 31, 2013)

**要旨:** 4 体補正フラグメント分子軌道 (FMO4) 法を用いることにより、これまで推奨されてきたフラグメント分割方法 (リガンド単位、アミノ酸残基単位) よりも、さらに細かいフラグメント分割が、化学的な計算精度を落とすことなく可能となった。リガンドを機能部位ごとに分割することによって、リガンドの結合サイトごとの相互作用を解析でき、また、各アミノ酸残基は側鎖でも分割することによって、主鎖と側鎖の寄与を分離することに成功した。このような高解像度の解析を用いることで、CH/ $\pi$ 結合のような弱い力の特異性も容易に行えるようになった。本研究で提唱する新規フラグメント分割法は、Structure-based drug design (SBDD) をはじめとする論理的創薬に広く用いることが期待できる。

**キーワード:** フラグメント分子軌道 (FMO) 法、FMO4 法、Structure-based drug design (SBDD)、Fragment-based drug design (FBDD)、エストロゲン受容体、フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE)、CH/ $\pi$ 相互作用、ABINIT-MP、BioStation Viewer

## 1. はじめに

北浦らによって開発されたフラグメント分子軌道法 (FMO) 法 [1][2] は、生体高分子を小さく分割したフラグメントに対して電子状態計算を行うことで、系全体の性質を明らかにする。これにより、タンパク質や DNA などの巨大分子を量子論的に扱え、フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) 解析、電荷移動エネルギー解析 (CAFI)、軌道レベルのエ

ネルギー解析 (FILM) などのフラグメントベースの解析手法が提案されている。核内受容体の一種であるエストロゲン受容体 (ER) は、DNA の転写因子であり、乳癌などの疾病に対する重要な創薬ターゲットタンパク質 [3][4] となっているが、その転写メカニズムは未だ明らかになっていない (図 1)。FMO 法を用いることで、ER とエストロゲン (17 $\beta$ -estradiol: EST) の結合ネットワーク (図 2) における様々な相互作用 (静電相互作用、分散力、

電荷移動エネルギー、CH/ $\pi$ 相互作用など)の寄与が定量的に見積もられ、転写調節に重要なリガンド結合メカニズムが明らかにされてきた [2][5]。特に、可視化プログラム BioStation Viewer[6]を利用して IFIE 解析を行うことで、容易にリガンド結合に重要なアミノ酸残基の特定ができる。このことから、量子化学計算を用いた創薬支援ツールとして、医薬品開発への利用が広がっている [7][8]。その一方で、実際の創薬現場において Structure-based drug design (SBDD) [9][10]のようにリガンドの結合サイトを特定するような、より詳細な機能単位ごとの相互作用解析を希望する声が挙げられていた[11]が、従来の二体補正 FMO (FMO2) 計算では精度の問題から、リガンド単位、アミノ酸残基単位の分割が推奨されてきたため[11]、リガンド対アミノ酸残基単位の解析にとどまっていた。そこで FMO 計算プログラムの一つである ABINIT-MP[6][11][13]では、最近 4 体補正 FMO (FMO4) 法[6][14]が開発され、従来の FMO2 法では難しかった、アミノ酸残基を主鎖と側鎖に分割することが計算の精度を落とすことなく可能となった。さらにこの FMO4 法を用いれば、リガンドに対しても機能部位毎の分割が行えると考えられる。

本研究では、この FMO4 法を用いて、アミノ酸残基の主鎖、側鎖分割に加えてリガンドの機能部位ごとに分割した際の精度的な検討と、4 体補正を含めた IFIE (FMO4-IFIE) 解析を行い、SBDD を指向した新規フラグメント分割法、並びに 4 体補正の有効性を示す[15]。

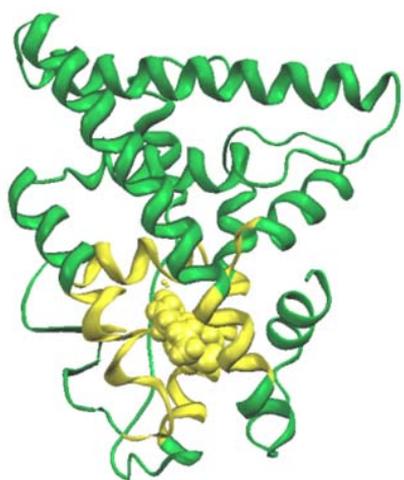


図 1 ER-EST 複合体 (黄色: 50 残基モデル)

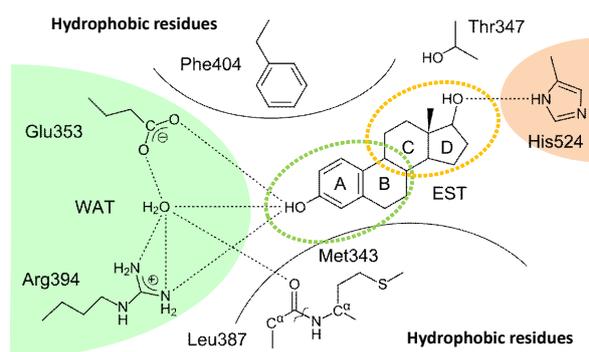


図 2 ER-EST のリガンド結合ネットワーク

## 2. 方法

### 2.1 4 体補正フラグメント分子軌道 (FMO4) 法

多体補正 FMO (FMO2, FMO3, FMO4) 法[14]によって得られる Total energy は、下記の式で表すことが出来る。

$$E_{\text{total}}^{\text{FMO2}} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ}, \quad (1)$$

$$E_{\text{total}}^{\text{FMO3}} = E_{\text{total}}^{\text{FMO2}} + \sum_{I>J>K} \Delta \tilde{E}_{IJK}, \quad (2)$$

$$E_{\text{total}}^{\text{FMO4}} = E_{\text{total}}^{\text{FMO3}} + \sum_{I>J>K>L} \Delta \tilde{E}_{IJKL}. \quad (3)$$

ここで、 $\Delta \tilde{E}_{IJ}$ 、 $\Delta \tilde{E}_{IJK}$ 、 $\Delta \tilde{E}_{IJKL}$  はフラグメント間の 2 体項、3 体項、4 体項のエネルギーである。

FMO 法の特徴である、フラグメント間相互作用エネルギー (IFIE) は、下記の方法で多体補正 (IFIE-FMO(n):  $\Delta E_{IJ}^{\text{FMO}(n)}$  ( $n = 2, 3, 4$ )) を行う[15]。

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO2}} = \Delta \tilde{E}_{IJ}, \quad (4)$$

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO3}} = \Delta E_{IJ}^{\text{FMO2}} + \frac{1}{3} \sum_K \Delta \tilde{E}_{IJK}, \quad (5)$$

$$\Delta E_{IJ}^{\text{FMO4}} = \Delta E_{IJ}^{\text{FMO3}} + \frac{1}{6} \sum_{KL} \Delta \tilde{E}_{IJKL}. \quad (6)$$

高次多体補正 IFIE の精度検証には、EST とそのほかのアミノ酸残基間の IFIE、及びそれらの総和 (IFIE sum) を用いる。 $I$  番目のフラグメントの IFIE sum の定義は、下記の式で表される。

$$\Delta E_I^{\text{FMO}(n)} = \sum_I E_{II}^{\text{FMO}(n)} \quad (n = 2, 3, 4). \quad (7)$$

本研究では、ER の 50 残基モデル (図 1) を用いて、ER-EST 複合体の主鎖-側鎖分割 (図 3)、およびリガンド分割 (図 4) した場合の FM02, FM03, FM04 計算 (HF/STO-3G, HF/6-31G, MP2/6-31G) を ABINIT-MP [6] [14] を使用して行った。2 体項、3 体項、4 体項の環境静電ポテンシャルの整合性を保つため、環境静電ポテンシャル近似 [11] は用いないこととした。可視化プログラム BioStation Viewer [6] を使用して、高次多体補正を含む IFIE (FM02-IFIE, FM03-IFIE, FM04-IFIE) 解析を行った。また、精度検証のため HF/STO-3G レベルで通常分子軌道 (Conventional MO) 計算との比較も行った。

## 2.2 SBDD を指向した新規フラグメント分割法

SBDD を指向した新規フラグメント分割法として、次のような指針を用いた。タンパク質については、従来の主鎖分割 (Main chain) に加え、主鎖-側鎖での分割 (Main/Side chain) を行った (図 3)。これにより、アミノ酸残基の IFIE を主鎖からの寄与か、側鎖からの寄与かを区別することができる。主鎖は、 $\text{C}\alpha$ 炭素と  $\text{C}=\text{O}$  間、側鎖は  $\text{C}\beta$ 炭素と  $\text{C}\alpha$ 炭素間の  $\text{sp}^3$  混成軌道で分割した。そのため、アミノ酸残基フラグメントの主鎖部分 ( $\text{C}\alpha\text{H}-\text{CO}-\text{NH}$ ) は生化学的なアミノ酸残基の構成 ( $\text{NH}-\text{C}\alpha\text{H}-\text{CO}$ ) と異なっている。この時、Gly と Pro は、その構造から主鎖

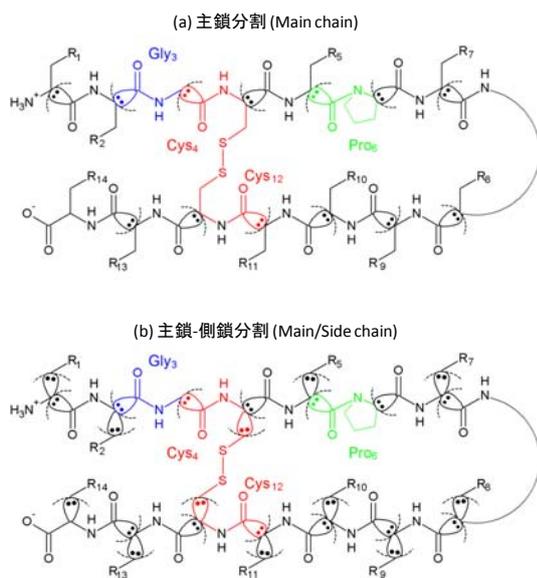


図 3 タンパク質フラグメント分割法

と側鎖に分割することが出来ないため、アミノ酸残基を一つのフラグメントとして取り扱った。また、ジスルフィド結合 (S-S 結合) を形成している二つの Cys に関しては、二つの主鎖フラグメント、一つの側鎖フラグメントとした。

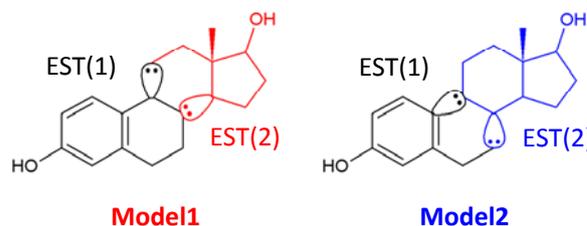


図 4 EST フラグメント分割法 (Model1, Model2)

一方、リガンドである EST は、図 2 で示すように緑で囲った六員環 (A 環) の部位と Glu353, Arg394、オレンジで囲った五員環 (D 環) の部位と His524 との二つの結合サイトを持ち、それぞれが受容体と結合ネットワークを形成している。そこで、これらの機能部位をフラグメント単位とする二つの分割モデル (Model1, Model2) を提案し (図 4)、リガンド分割方法の検討を行った。

## 3. 結果

### 3.1 新規フラグメント分割法の精度検証

ER-EST 複合体 (受容体-リガンド系) における新規分割法を用いた多体 FMO 計算の Total energy の精度検証を行なった。ここでは、従来のフラグメント分割法 (主鎖分割でリガンド分割無し) と新規フラグメント分割法 (本研究では、主鎖分割でリガンド分割有り、主鎖-側鎖分割でリガンド分割無し、主鎖-側鎖分割でリガンド分割有りの三つの組み合わせ) を用いた。

まず、タンパク質である受容体部の詳細分割の影響を見積もるために、HF/STO-3G レベルの Conventional MO 計算との Total energy の比較を行った (表 1)。主鎖-側鎖分割 (リガンド分割無し) を用いた FM02 計算の Total energy の差は 10 hartree 程度だが、FM03, FM04 計算では  $10^{-3}$  hartree 程度の誤差に収まり、従来の分割法の FM04 計算と同程度の計算精度になる。このことから、HF/STO-3G レベルで主鎖-側鎖分割を行う場合には、FM03, FM04 計算を行えば、その Total energy が化学的な議論をするために十分な精度であることがわかる。そして、その精度はリガンド分割を行っても保たれること

が確認できる(表1)。これらの傾向は、表2に示した6-31G基底の多体補正FM0計算において、より顕著に表れる。ただし、HF/6-31G, MP2/6-31Gレベルの計算においては、Conventional M0計算が行えないため、最も分割誤差が少なく高精度であると考えられる従来の分割法を用いたFM04計算に対するTotal energyの差を比較した(表2)。その結果、HF, MP2レベルの両方で主鎖-側鎖分割(リガンド分割無し)を用いたFM02計算では誤差は10hartree程度、FM03計算では $4 \times 10^{-2} \sim 5 \times 10^{-2}$ hartree程度となり、FM04計算では $3 \times 10^{-3}$ hartree以下の誤差に収まり、6-31G基底で主鎖-側鎖分割のFM04計算は、従来の分割法のFM03計算と同程度の計算精度となる。よってHF/6-31G, MP2/6-31Gレベルにおいては、主鎖-側鎖分割を行う場合には、FM04計算することでそのTotal energyは化学的な精度を保った議論が可能となる。

表1 Conventional M0計算に対する各FM0計算のTotal energyの比較

Fragmentation		Difference of total energy (hartree)		
Protein	Ligand	FM02	FM03	FM04
HF/STO-3G (Reference of total energy: -22578.9472 hartree)				
<sup>a</sup> Main Frag.	No	-0.0215	-0.0038	-0.0048
	Model1	-0.0226	-0.0041	-0.0051
	Model2	-0.0235	-0.0042	-0.0052
<sup>b</sup> Main/Side Frag.	No	-10.1284	0.0020	-0.0073
	Model1	-10.1295	0.0018	-0.0076
	Model2	-10.1304	0.0016	-0.0076

<sup>a</sup>主鎖分割、<sup>b</sup>主鎖-側鎖分割。<sup>c</sup>HF/STO-3GレベルにおけるConventional M0計算に対する各FM0計算のTotal energyの差分。

さらに、リガンド分割(Model1)の有・無に対するTotal energyの影響は、各計算レベル(HF/STO-3G, HF/6-31G, MP2/6-31G)において見受けられず(表1、2)、二体補正でも十分な精度が得られた。これはModel2でも同様で、リガンド分割法の違いがTotal energyにもたらす影響は少ないことがわかる。従って、今回のリガンド二分割モデルでは、分割の有・無や分割法の違いでTotal energyの計算精度の差は無く、系全体の計算精度はタンパク質の分割方法に依存することがわかった。

次に、多体補正IFIEの精度検証をMP2/6-31Gレベルで行なった。表3に、従来のフラグメント分割方法におけるESTとその周辺アミノ酸残基との多体補正IFIE値と、その値に対する新規分割法(主鎖-側鎖分割でリガンド分割(Model1, Model2))の多体補正IFIE値の差を示した。このとき、新規分割法のIFIE値は、アミノ酸残基単位(各アミノ酸残基の主鎖フラグメントと側鎖フラグメントのIFIE

を足し合わせる)、リガンド単位(EST(1)とEST(2)のIFIEを足し合わせる)に直したアミノ酸残基対リガンドの値を用いた。

表2 従来の分割法のFM04計算に対する各FM0計算のTotal energyの比較

Fragmentation		Difference of total energy (hartree)			
Protein	Ligand	FM02	FM03	FM04	
HF/STO-3G (Reference of total energy: -22578.9424 hartree)					
<sup>a</sup> Main chain	<sup>c</sup> No	0.0167	-0.0010	-	
	<sup>b</sup> Main/Side chain	<sup>c</sup> No	10.1236	-0.0068	0.0024
		<sup>c</sup> Model1	10.1247	-0.0066	0.0027
	<sup>c</sup> Model2	10.1256	-0.0065	0.0028	
HF/6-31G (Reference of total energy: -22855.8634 hartree)					
<sup>a</sup> Main chain	<sup>d</sup> No	-0.0227	0.0032	-	
	<sup>b</sup> Main/Side chain	<sup>d</sup> No	10.0978	-0.0423	-0.0028
		<sup>d</sup> Model1	10.0988	-0.0421	-0.0027
	<sup>d</sup> Model2	10.1007	-0.0420	-0.0028	
MP2/6-31G (Reference of total energy: -22898.2895 hartree)					
<sup>a</sup> Main chain	<sup>e</sup> No	-0.0026	-0.0001	-	
	<sup>b</sup> Main/Side chain	<sup>e</sup> No	10.3742	-0.0479	-0.0015
		<sup>e</sup> Model1	10.3776	-0.0461	0.0002
	<sup>e</sup> Model2	10.3797	-0.0462	-0.0001	

<sup>a</sup>主鎖分割、<sup>b</sup>主鎖-側鎖分割。<sup>c-e</sup>各計算レベルにおける従来のフラグメント分割法でのFM04計算に対する各FM0計算のTotal energyの差分。

最初に、FM02-IFIEの値を確認すると、Model1では、誤差が0.5kcal/mol以上のアミノ酸残基は、四つ(最も大きいものでLeu346の1.1kcal/mol)、Model2では六つ(最も大きいのはPhe404の1.3kcal/mol)であった。EST周辺のアミノ酸残基の立体構造を確認したところ、主にFM02-IFIEの誤差が0.5kcal/mol以上のアミノ酸残基は、リガンドの分割領域(ESTのB, C環)に近いLeu346, Ala350, Glu353, Leu387, Met388, Phe404等であった。一方で、高次多体補正(FM03, FM04)計算によって、リガンド分割、主鎖-側鎖分割によるIFIEの誤差は、大幅に改善していることが確認できる。例えば、従来の分割方法の場合と比べてみると、誤差が0.5kcal/mol以上のアミノ酸残基は、FM03-IFIEでは、Model1は二つ、Model2では三つに減り、FM04-IFIEではModel1, Model2共に二つとなり、さらにその誤差は1.0kcal/mol以下(ほぼ0.5kcal/mol程度)に収まる。また、ESTとERの間のIFIE sumについても、同様に従来の分割方法の場合と比較すると、IFIE sumの通常のフラグメント分割法からの誤差は、FM02では10kcal/mol以上あったが、FM03とFM04では5kcal/mol程度に収束する。よって、リガンド分割、主鎖-側鎖分割した場合でも、

FM03-IFIE, FM04-IFIE を用いることで、リガンド単位、アミノ酸残基単位の IFIE 解析を、従来の分割方法と定性的に矛盾なく行えることがわかる。

最後に、Model1 と Model2 のリガンド分割法の違いによる精度を比較する。Total energy は、リガンド分割モデルの違いで差が無かったが、先に述べたように MP2/6-31G レベルで新規分割法（主鎖-側鎖分割でリガンド分割あり）と、従来の分割法との FM02-IFIE 値の比較においては Model1 が勝っている（表 3）。一方、FM03-IFIE 値、FM04-IFIE 値においては、リガンドの分割方法の違いによる IFIE の差は十分に改善されている。従って、今回検討を行ったリガンド分割モデル（二分割）においては、IFIE 解析を行うだけであれば、FM03-IFIE 解析で定性的には十分に議論できる。

以上の結果より、主鎖-側鎖分割とリガンド分割を行う場合、Total energy の精度を議論するためには、FM04 計算まで行う必要がある。一方で、IFIE 解析を行うためには、FM03 計算まで行えば十分な精度であり、Model1 と Model2 に有意な差も無く相互作用解析が可能であった。次節の新規分割法を用いた ER-EST 間 FM04-IFIE 解析では、リガンド分割方法は Model1 を例として紹介する。

### 3.2 エストロゲン受容体とリガンドの相互作用解析

ER-EST 複合体の FM04-IFIE 解析 (MP2/6-31G レベル) の結果を図 5、表 4 に示す。図 5 には (a) 従来のフラグメント分割 (リガンド分割無し、主鎖分割) した場合、(b) リガンド分割無し、主鎖-側鎖分割した場合、(c)、(d) リガンド分割 (Model1)、主鎖-側鎖分割した場合の EST の FM04-IFIE 解析の結果を示した。黄色のリガンドフラグメント (EST, EST(1), EST(2)) に対して、周辺のアミノ酸残基で赤いフラグメントは引力相互作用、青いフラグメントは斥力相互作用している。主鎖-側鎖分割 (Main/Side chain) した場合には、主鎖、側鎖フラグメントの区別は、アミノ酸残基名に M、S の添え字で行う。表 4 には、図 5 (b)-(d) のリガンド周辺残基の IFIE 値をまとめた。

図 5 (a) より、従来のフラグメント分割方法の FM04-IFIE 解析の結果を確認すると、EST (黄色) の周辺に存在する Thr347, Glu353, Arg394, Phe404, His524 (赤いアミノ酸残基) などがリガンドとの結合安定化に寄与していることが確認できる。次に、図 5 (b) より、主鎖-側鎖分割することで、これらの結合安定化に対するアミノ酸残基の寄与が Thr347<sub>M</sub> (-4.5kcal/mol) のように主鎖からのものであること、また、Glu353<sub>S</sub> (-41.7.kcal/mol)、Arg394<sub>S</sub> (-6.8kcal/mol)、His524<sub>S</sub> (-10.4kcal/mol) のよ

うに側鎖からのものであることが、区別できた。

表 3 多体補正 IFIE (MP2/6-31G) の精度検証

		FM02-IFIE of EST (kcal/mol)		
		MP2		
Res. #	Res. Name	<sup>a</sup> Reference	<sup>c</sup> Difference	
			<sup>b</sup> Model1	<sup>b</sup> Model2
343	Met	-4.93	0.00	-0.01
346	Leu	-3.35	<b>1.08</b>	<b>0.87</b>
347	Thr	-4.93	0.36	0.42
350	Ala	-3.61	<b>1.08</b>	<b>0.78</b>
353	Glu	-42.10	<b>0.60</b>	<b>0.57</b>
387	Leu	-3.35	<b>0.67</b>	<b>0.74</b>
388	Met	-2.27	0.38	<b>0.91</b>
394	Arg	-7.50	-0.36	-0.24
404	Phe	-3.92	0.00	<b>1.28</b>
421	Met	-2.04	0.18	0.06
524	His	-11.31	0.44	0.24
	Water	-2.02	-0.06	-0.07
	IFIE sum of EST	-98.22	11.04	12.59

		FM03-IFIE of EST (kcal/mol)		
		MP2		
Res. #	Res. Name	<sup>a</sup> Reference	<sup>c</sup> Difference	
			<sup>b</sup> Model1	<sup>b</sup> Model2
343	Met	-4.88	-0.03	-0.02
346	Leu	-3.38	<b>0.53</b>	0.35
347	Thr	-4.98	0.37	<b>0.50</b>
350	Ala	-3.64	0.24	0.02
353	Glu	-40.64	<b>0.72</b>	<b>0.70</b>
387	Leu	-3.13	0.17	0.23
388	Met	-2.27	0.25	0.48
394	Arg	-6.73	-0.36	-0.24
404	Phe	-3.93	-0.06	<b>0.53</b>
421	Met	-2.08	0.17	0.05
524	His	-11.12	0.14	-0.06
	Water	-1.08	-0.06	-0.07
	IFIE sum of EST	-95.15	5.01	5.67

		FM04-IFIE of EST (kcal/mol)		
		MP2		
Res. #	Res. Name	<sup>a</sup> Reference	<sup>c</sup> Difference	
			<sup>b</sup> Model1	<sup>b</sup> Model2
343	Met	-4.88	-0.03	-0.02
346	Leu	-3.39	<b>0.54</b>	0.33
347	Thr	-4.99	0.32	0.47
350	Ala	-3.66	0.23	0.03
353	Glu	-40.83	<b>0.70</b>	<b>0.67</b>
387	Leu	-3.17	0.20	0.26
388	Met	-2.28	0.24	0.44
394	Arg	-6.85	-0.36	-0.24
404	Phe	-3.92	-0.06	<b>0.52</b>
421	Met	-2.08	0.16	0.04
524	His	-11.15	0.14	-0.06
	Water	-1.27	-0.06	-0.07
	IFIE sum of EST	-95.84	5.25	5.85

<sup>a</sup> 主鎖分割でリガンド分割無し、<sup>b</sup> 主鎖-側鎖分割でリガンド分割有り。<sup>c</sup> 従来の分割法に対する新規分割法のリガンド対アミノ酸残基単位の多体補正 IFIE の差。

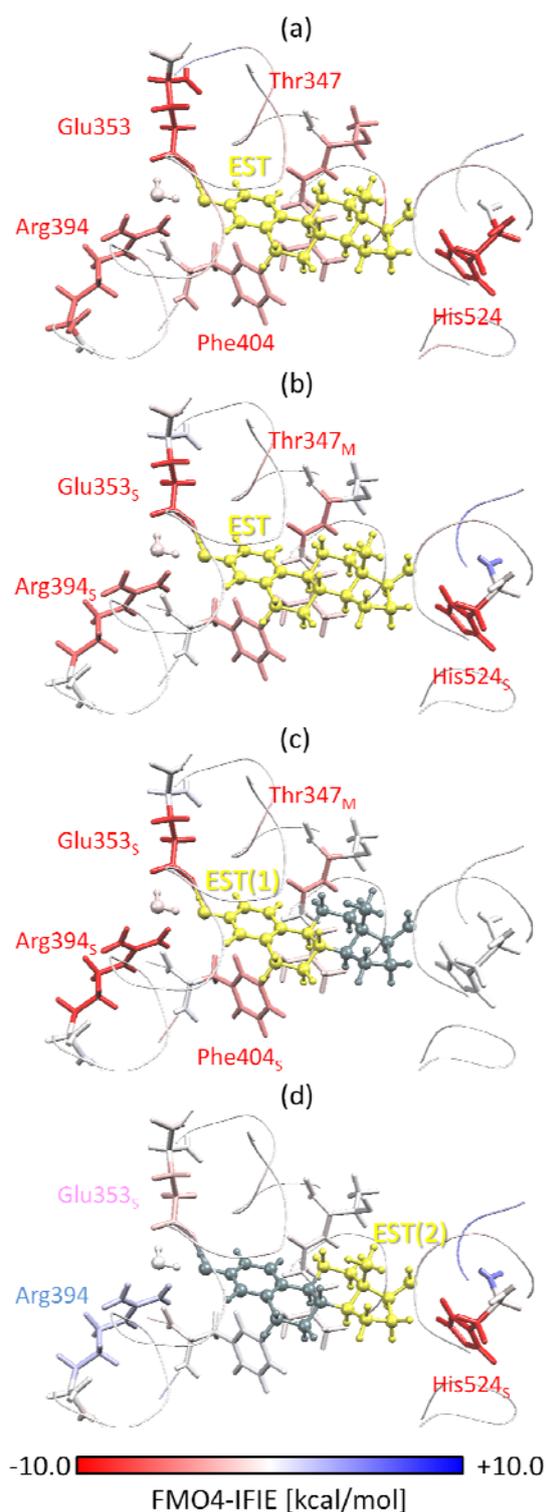


図 5 FMO4-IFIE 解析 ; (a)従来の分割法、(b)リガンド分割無し、主鎖-側鎖分割、(c)EST のリガンド分割 (EST(1))、主鎖-側鎖分割、(d)EST のリガンド分割 (EST(2))、主鎖-側鎖分割。黄色はリガンドフラグメントを示し (EST, EST(1), EST(2))、リガンドフラグメントに対して ER 側のアミノ酸残基は IFIE を可視化したもので、色の濃さは相互作用の強さを表している (赤は引力、青は斥力)。

さらに、EST のどの部位がアミノ酸残基と相互作用しているか、結合サイトごとの詳細を調べるため、リガンド分割 (Model1) した結果を、図 5 (c), (d) に示す。EST(1) は、Glu353<sub>S</sub> (-37.9kcal/mol)、Arg394<sub>S</sub> (-9.6kcal/mol)、Phe404<sub>S</sub> (-4.8kcal/mol) などの側鎖と、また Thr347<sub>M</sub> (-4.5kcal/mol) の主鎖と引力相互作用する。もう一方の EST(2) は、主に His524<sub>S</sub> (-10.6kcal/mol) の側鎖とだけ引力相互作用することが定量的に確認でき、図 2 に示すような EST の結合サイトごとの相互作用を特定することができた。

表 4 EST の FMO4-IFIE 解析

			FMO4-IFIE of EST (kcal/mol)		
			HF		
			Fragmentation of ligand		
			<sup>a</sup> No	<sup>b</sup> Model1	
Res. #	Res. Name	Main/side chain	EST	EST(1)	EST(2)
343	Met	Main	-0.48	0.04	-0.57
		Side	<b>-2.62</b>	0.39	<b>-3.00</b>
346	Leu	Main	-0.63	0.00	-0.37
		Side	0.28	-0.25	0.54
347	Thr	Main	<b>-3.34</b>	<b>-3.20</b>	0.10
		Side	0.84	0.19	0.54
350	Ala	Main	<b>-2.50</b>	-1.69	-0.82
		Side	1.26	0.80	0.61
353	Glu	Main	1.05	0.89	0.14
		Side	<b>-38.54</b>	<b>-34.83</b>	<b>-3.16</b>
394	Arg	Main	-0.12	-0.31	0.18
		Side	<b>-5.29</b>	<b>-8.14</b>	2.55
404	Phe	Main	0.45	0.64	-0.16
		Side	<b>-0.06</b>	<b>-0.86</b>	0.67
524	His	Main	-0.63	0.09	-0.70
		Side	<b>-6.61</b>	0.37	<b>-6.90</b>
Water			-0.09	-0.40	0.24
FMO4-IFIE sum of EST			-41.66	-38.77	-1.80
			MP2		
			Fragmentation of ligand		
			<sup>a</sup> No	<sup>b</sup> Model1	
Res. #	Res. Name	Main/side chain	EST	EST(1)	EST(2)
343	Met	Main	-0.57	0.04	-0.64
		Side	<b>-4.33</b>	0.33	<b>-4.64</b>
346	Leu	Main	-1.10	-0.26	-0.58
		Side	-2.06	-1.45	-0.56
347	Thr	Main	<b>-5.42</b>	<b>-4.51</b>	-0.63
		Side	0.58	0.14	0.33
350	Ala	Main	<b>-3.58</b>	-2.64	-0.94
		Side	0.00	-0.18	0.34
353	Glu	Main	1.00	0.84	0.14
		Side	<b>-41.74</b>	<b>-37.96</b>	<b>-3.16</b>
394	Arg	Main	-0.12	-0.31	0.18
		Side	<b>-6.79</b>	<b>-9.63</b>	2.55
404	Phe	Main	0.35	0.55	-0.16
		Side	<b>-4.27</b>	<b>-4.79</b>	0.41
524	His	Main	-0.83	0.09	-0.89
		Side	<b>-10.35</b>	0.37	<b>-10.58</b>
Water			-1.26	-1.57	0.24
FMO4-IFIE sum of EST			-92.89	-67.84	-22.75

<sup>a</sup>主鎖-側鎖分割でリガンド分割無し、<sup>b</sup>主鎖-側鎖分割でリガンド分割 (Model1) 有り。

分子間の結合には、水素結合などを起因とする静

電力だけでなく、CH/ $\pi$ 相互作用などの弱い力(分散力)も非常に重要である[16]-[18]。しかしながら、これまでCH/ $\pi$ 相互作用などを評価するには、アミノ酸残基対リガンドの IFIE 解析では十分でなく、軌道相互作用[2][19]を使った複雑な FILM 解析が必要であった。CH/ $\pi$ 相互作用を容易に特定するための新たな方法として、次の方法を紹介する。IFIE 解析に用いた可視化ツール BioStation Viewer では、梅沢、西尾らの CHPI プログラム[6][7][16]を使うことができる。この解析プログラムは、分子の構造情報から CH/ $\pi$ 相互作用を網羅的に探索することが可能である。ここでは、ER と EST 間の CH/ $\pi$ 相互作用について、CHPI 解析による探索と、新規分割法による FM04-IFIE 解析を用いた定量的な相互作用エネルギーの見積もりの両面から特定する。

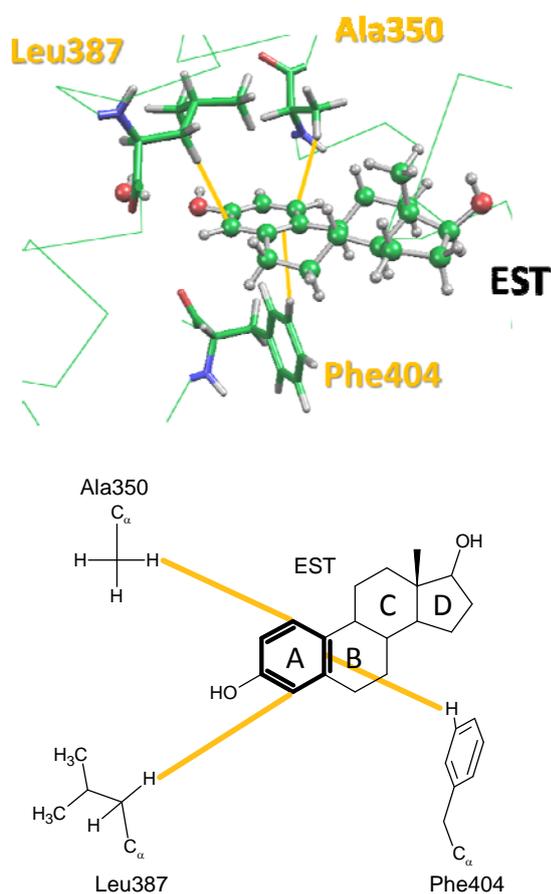


図6 CH/ $\pi$ 相互作用解析

はじめに、ER-EST 複合体の PDB ファイルを用いて ER と EST 間の CHPI 解析を行ったところ、Ala350、Leu380、Phe404 の側鎖の CH が、EST(1)の六員環(A環)の $\pi$ 軌道と CH/ $\pi$ 相互作用する候補として挙げられた(図6)。そこで、リガンド分割 (Mode11)、主

鎖-側鎖分割を行った場合の EST(1)と Ala350、Leu378、Phe404 との FM04-IFIE 解析 (HF/6-31G, MP2/6-31G) を行った。比較のため、従来の分割法を用いた IFIE 解析の例も示す。MP2 レベルの計算を用いると、静電力だけでなく、分散力も取り込むことができる。ここでは、HF レベルの IFIE  $\Delta E_{II}^{FM04-HF}$  を静電力による寄与を表すものと仮定し、電子相関である MP2 とレベルの IFIE と HF レベルの IFIE との差  $\Delta E_{II}^{FM04-corr} = \Delta E_{II}^{FM04-MP2} - \Delta E_{II}^{FM04-HF}$  を CH/ $\pi$ 相互作用などの分散力による寄与を表すものと仮定して議論する。

従来の分割法で EST の FM04-IFIE 解析 (図7(a), (b)) を行うと、Ala350 は EST と静電力による引力相互作用 (-1.3kcal/mol) しており、分散力 (-2.4kcal/mol) によってさらにリガンドの結合安定化に寄与することが分かる。また、Leu387、Phe404 は静電力では EST と斥力関係にあるが、MP2 計算することで引力相互作用を示す。このことから、EST に対して Leu387 と Phe404 は、主に分散力によってリガンドとの結合安定化に寄与していることが分かる。しかしながら、その分散力が主鎖からの寄与か、側鎖の CH/ $\pi$ 結合による寄与か区別できず、定量的に CH/ $\pi$ 相互作用を特定することは困難である。よって、相互作用の帰属を明らかにするため、新規分割法を用いた FM04-IFIE 解析 (図7(c), (d)) を行った。

図7(c), (d)より、Ala350 では主に主鎖と EST(1)の間で静電力による引力相互作用 (-1.7kcal/mol) しており、側鎖は EST(1)と静電力や分散力による引力相互作用を全くしていなかった。Leu387 は、EST(1)と主鎖の静電力 (-0.8kcal/mol) と、側鎖の CH/ $\pi$ 結合を起因とする分散力 (-3.3kcal/mol) の両方によって EST(1)と引力相互作用していた。また、Phe404 の主鎖は EST(1)と全く相互作用しておらず、Phe404 の側鎖と EST(1)の間で引力相互作用しており、それは主に CH/ $\pi$ を起因とする分散力 (-3.9kcal/mol) によるものであった。ここで、タンパク質系における CH/ $\pi$ 結合ひとつあたりのエネルギーの安定化は、およそ 1.0kcal/mol であること [17][18]から、IFIE による分散力の数値的評価と分子の立体構造から、フラグメント間でいくつ CH/ $\pi$ 相互作用しているかを見積もることも可能である。例えば、Phe404 の側鎖と EST(1)の分散力は -3.9kcal/mol であり、Phe404 のフェニル基の位置と EST(1)の六員環(A環)の位置から、一つの CH/ $\pi$ 相互作用だけでなく、三、四個の CH/ $\pi$ 、もしくは $\pi$ - $\pi$ 相互作用(T型)を形成していることが推定できる。この結果は、FILM 解析による軌道レベルの解析結果 (CH/ $\pi$ 相互作用二つ、 $\pi$ - $\pi$ 相互作用が一つ確認された) と一致する[2]。CHPI 解析の結果と照らし合わ

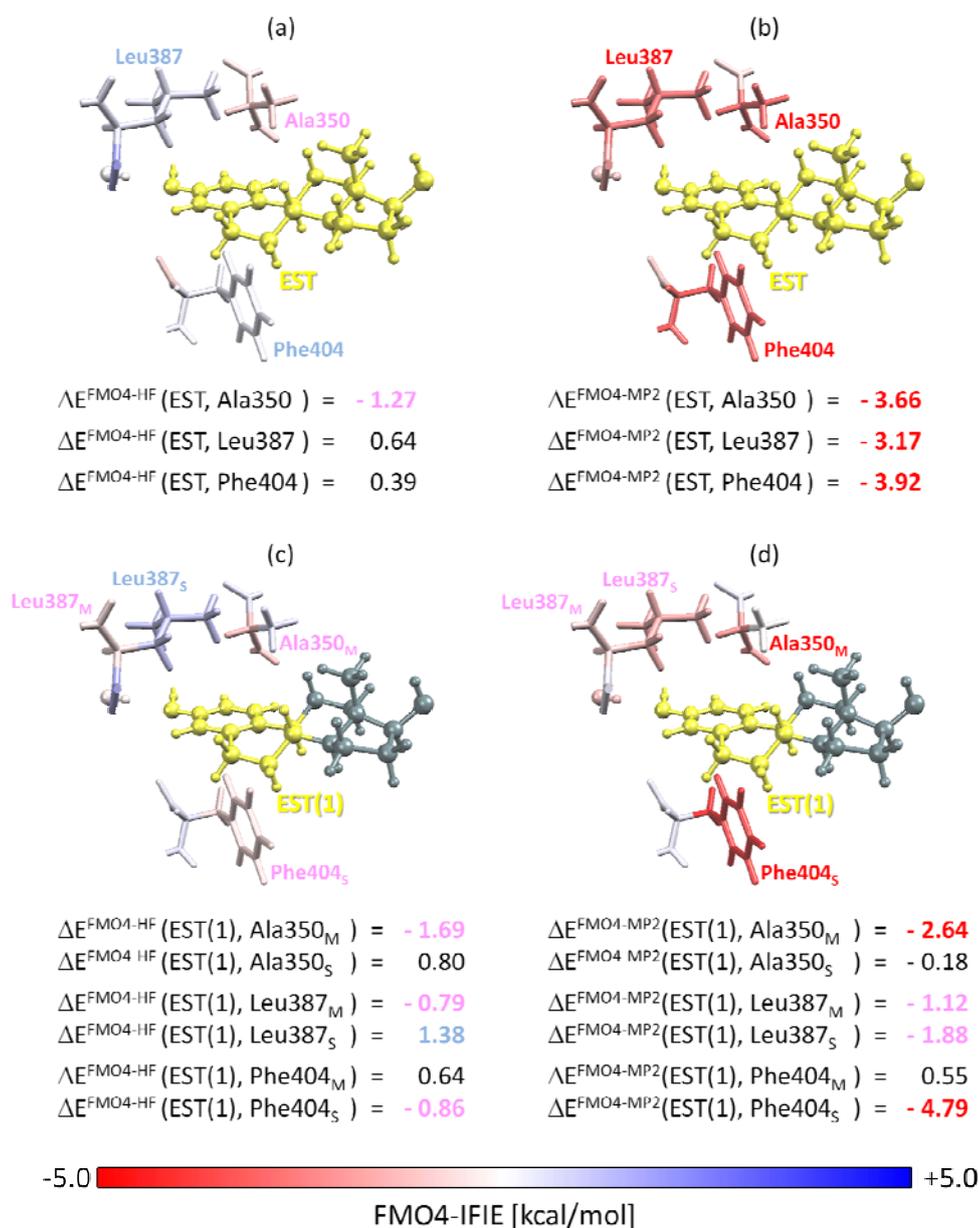


図7 ESTのFMO4-IFIE解析によるCH/π相互作用の特定；(a)従来の分割法でFMO4-HF/6-31Gレベル、(b)従来の分割法でFMO4-MP2/6-31Gレベル、(c)ESTのリガンド分割(EST(1))、主鎖-側鎖分割でFMO4-HF/6-31Gレベル、(d)ESTのリガンド分割(EST(1))、主鎖-側鎖分割でFMO4-MP2/6-31Gレベル。黄色はリガンドフラグメントを示し(EST, EST(1))、リガンドフラグメントに対してER側のアミノ酸残基はIFIEを可視化したもので、色の濃さは相互作用の強さを表している(赤は引力、青は斥力)。

せると、ESTとCH/π結合するアミノ酸残基の候補として挙げられたAla350は、主鎖の分極による静電相互作用によりEST(1)の結合安定化に寄与しており、CH/π相互作用していないことが定量的に確認された。また、Leu387は主鎖の分極による静電力と、CH/π結合による分散力の両方でEST(1)の結合安定化に寄与する。Phe404は複数のCH/π相互作用やπ-π相互

作用などの分散力によりEST(1)の安定化を促す役割を担うことがわかる。

以上の結果より、新規フラグメント分割法を用いたFMO4-IFIE解析によって、受容体-リガンド間の相互作用をリガンドの結合サイトごとに、従来の分割法よりも高解像度で解析を行うことができた。また、従来はFILM解析[2][19]による軌道相互作用を

使わないと特定が困難であった、CH/ $\pi$ 相互作用なども容易に特定できるようになった。

#### 4 まとめ

FM04 法と、本研究で提案した SBDD を指向した新規フラグメント分割法 (リガンド分割、主鎖-側鎖分割) を用いることにより、SBDD で活用されるような結合サイトごとの相互作用解析が計算精度を落とすことなく可能となった。例えば、EST の六員環 (A 環) のフラグメントと Thr347 の主鎖や Glu353 の側鎖が引力相互作用することや、EST の五員環 (D 環) のフラグメントと His524 の側鎖が引力相互作用するというように、結合サイトを特定するような機能部位ごとの高解像度な解析ができた。それに伴い、CH/ $\pi$ 相互作用などの弱い力の特定も容易に行えるようになった。さらなる発展のため、より複雑な結合サイトを持つ受容体-リガンド系においてリガンドを三分割以上した場合、ER-EST 複合体と同様に結合サイトごとの相互作用解析が可能かどうか、FM03-IFIE による解析で計算精度は十分であるかどうかなどの検証を行なう予定である。このような新規フラグメント分割法を用いた FM04-IFIE 解析は、今後 SBDD をはじめとする論理創薬に大きく貢献できると考えられる。本研究では ER のファーマコホアモデル (50 残基モデル) を例に紹介したが、このような切り出しモデルを用いることで計算コストの低減につなげられる。そのため、ER の全体構造 (241 残基) においても同様の解析を行い、ファーマコホアモデルの有用性について検証を行う必要がある。コレスキー分解を用いた MP2 計算の高速化の導入も計算コストの大幅な削減が期待される [20]。さらに、詳細フラグメント分割以外にも、FM02 法では計算精度に問題のあったタンパク質側のフラグメント分割を生化学的なアミノ酸残基単位で行う [21] ことなどは、今後の課題である。

#### 謝辞

本研究を行うに当たり、CH/ $\pi$ 相互作用について議論いただいた CHPI 研究所の西尾元宏先生、微生物化学研究所の梅沢洋二先生に感謝致します。本研究は、文部科学省次世代 IT 基盤構築のための研究開発「イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発」プロジェクトにおいて実施されました。また、本研究の一部は、The 2011 Joint Conference of CBI-Society and JSBi にて発表し、Award for the Best poster に選出されました。

#### 参考文献

- [1] K. Kitaura, E. Ikeo, T. Asada, T. Nakano, M. Uebayasi, Fragment molecular orbital method: an approximate computational method for large molecules, *Chem. Phys. Lett.*, **313**, 701-706 (1999).
- [2] D. G. Fedorov, K. Kitaura, The Fragment Molecular Orbital Method: PRACTICAL APPLICATION TO LARGE MOLECULAR SYSTEM, CRC Press, (2009)
- [3] J. T. Moore, J. L. Collins, K. H. Pearce, The nuclear receptor superfamily and drug discovery, *ChemMedChem*, **1**, 504-523 (2006).
- [4] T. Kaminuma, Pathways and networks of nuclear receptors and modeling of syndrome X, *Chem-Bio Informatics Journal*, **3**, 130-156 (2003).
- [5] K. Fukuzawa, Y. Mochizuki, S. Tanaka, K. Kitaura, and T. Nakano, Molecular Interactions between Estrogen Receptor and Its Ligand Studied by the ab Initio Fragment Molecular Orbital Method, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 16102-16110 (2006).
- [6] BioStation 6.0 (ABINIT-MP および BioStation Viewer) は下記サイトからのダウンロードできます。  
<http://www.ciss.iis.u-tokyo.ac.jp/dl/index.php>  
ABINIT-MP、及び BioStation Viewer に関する技術的なお問い合わせは、“[abinitmp-office@ciss.iis.u-tokyo.ac.jp](mailto:abinitmp-office@ciss.iis.u-tokyo.ac.jp)”にご連絡お願い致します。
- [7] T. Ozawa, K. Okazaki, and K. Kitaura, Importance of CH/ $\pi$  Hydrogen Bonds in Recognition of the Core Motif in Proline-Recognition Domains: An Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study, *J. Comp. Chem*, **32**, 2774-2782 (2011).
- [8] O. Ichihara, J. Barker, R. J. Law, and M. Whittaker, Compound Design by Fragment-Linking, *Mol. Inf.*, **30**, 298-306 (2011).
- [9] M. von Itzstein, W.-Y. Wu, G. B. Kok, M. S. Pegg, J. C. Dyason, B. Jin, T. van Phan, M. L. Smythe, H. F. White, S. W. Oliver, P. M. Colman, J. N. Varghese, D. M. Ryan, J. M. Woods, R. C. Bethell, V. J. Hotham, J. M. Cameron, C. R. Penn, Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza

- virus replication, *Nature* **363**, 418-423 (1993).
- [10] K. Raha, M.B. Peters, B. Wang, N. Yu, A.M. Wollacott, L.M. Westerhoff, K.M. Merz Jr., The role of quantum mechanics in structure-based drug design, *Drug Discovery Today* **12**, (2007) 725-731.
- [11] S. Hitaoka, M. Harada, T. Yoshida, and H. Chuman, Correlation Analyses on Binding Affinity of Sialic Acid Analogues with Influenza Virus Neuraminidase-1 Using ab Initio MO Calculations on Their Complex Structures, *J. Chem. Inf. Model.*, **50**, 1796-1805 (2010).
- [12] T. Nakano, T. Kaminuma, T. Sato, K. Fukuzawa, Y. Akiyama, M. Uebayasi, K. Kitaura, Fragment molecular orbital method: use of approximate electrostatic potential, *Chem. Phys. Lett.*, **351**, 475-480 (2002).
- [13] Y. Mochizuki, K. Yamashita, T. Murase, T. Nakano, K. Fukuzawa, K. Takematsu, H. Watanabe, S. Tanaka, Large scale FMO-MP2 calculations on a massively parallel-vector computer, *Chem. Phys. Lett.*, **457**, 396-403 (2008).
- [14] T. Nakano, Y. Mochizuki, K. Yamashita, C. Watanabe, K. Fukuzawa, K. Segawa, Y. Okiyama, T. Tsukamoto, S. Tanaka, Development of the four-body corrected fragment molecular orbital (FMO4) method, *Chem. Phys. Lett.*, **523**, 128-133 (2012)
- [15] C. Watanabe, K. Fukuzawa, Y. Okiyama, T. Tsukamoto, A. Kato, S. Tanaka, Y. Mochizuki, T. Nakano, Three- and four-body corrected fragment molecular orbital calculations with a novel subdividing fragmentation method applicable to structure-based drug design, *J. Mol. Graph. Model.* **41**, 31-42 (2013)
- [16] Y. Umezawa, M. Nishio, CH/ $\pi$  Interactions as Demonstrated in the Crystal structure of Guanine-nucleotide Binding Proteins, Src homology-2 Domains and Human Growth Hormone in Complex with their Specific Ligands, *Bioorg. Med. Chem.*, **6**, 493-504 (1998)
- [17] M. Brandl, M. S. Weiss, A. Jabs, J. Suñel, R. Hilgenfeld, C-H $\cdots\pi$ -Interactions in Proteins, *J. Mol. Biol.* **307**, 357-377 (2001)
- [18] M. Nishio, The CH/ $\pi$  hydrogen bond in chemistry. Conformation, supramolecules, optical resolution and interactions involving carbohydrates, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 13873-13900 (2011)
- [19] T. Ishikawa, Y. Mochizuki, S. Amari, T. Nakano, H. Tokiwa, S. Tanaka, K. Tanaka, Fragment interaction analysis based on local MP2, *Theor. Chem. Acc.* **118**, 937-945 (2007)
- [20] Y. Okiyama, T. Nakano, K. Yamashita, Y. Mochizuki, N. Taguchi, S. Tanaka, Acceleration of fragment molecular orbital calculations with Cholesky decomposition approach, *Chemical Physics Letters* **490**, 84-89 (2010).
- [21] A. Yoshioka, K. Takematsu, I. Kurisaki, K. Fukuzawa, Y. Mochizuki, T. Nakano, E. Nobusawa, K. Nakajima, S. Tanaka, Antigen-antibody interactions of influenza virus hemagglutinin revealed by the fragment molecular orbital calculation, *Theo. Chem. Acc.* **130**, 1197-1202 (2011).

## Cartesian Gaussian の積分の初期積分の計算

中野達也<sup>1,3</sup>, 山下勝美<sup>2</sup>, 沖山佳生<sup>3</sup>,  
瀬川勝智<sup>1</sup>, 望月祐志<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>国立医薬品食品衛生研究所,  
〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

<sup>2</sup>NECソフト株式会社,  
〒136-8608 東京都江東区新木場 1-18-6

<sup>3</sup>東京大学生産技術研究所,  
〒153-8505 東京都目黒区駒場 4-6-1

<sup>4</sup>立教大学理学部化学科,  
〒171-8540 東京都豊島区西池袋 3-34-1

E-mail: nakano@nihs.go.jp (T. Nakano)

(論文受付日 June 13, 2013 ; 公開日 July 31, 2013 )

要旨: 基底関数に Cartesian Gaussian を用いた場合、核引力積分や電子反発積分といった積分を計算するためには、初期積分を計算する必要がある。初期積分は電子反発積分の計算において多数回計算する必要があるため効率よく計算することが重要になる。今回提案する初期積分の計算方法は、4 項 Taylor 展開を中心とし、四則演算の他に、一回の平方根計算と分岐一回で計算できる。標準的な初期積分の計算手法である McMurchie-Davidson (L. E. McMurchie and E. R. Davidson, *J. Comput. Phys.* 26, 218-231 (1978).) 法と比較して、約 2.4 倍の高速化が得られた。

キーワード: Cartesian Gaussian, 初期積分

### 1. はじめに

#### 1.1 Cartesian Gaussian の初期積分の計算

基底関数に Cartesian Gaussian を用いた場合、核引力積分や電子反発積分といった積分を計算するためには、

$$F_m(T) = \int_0^1 t^{2m} \exp[-Tt^2] dt$$

$$m: 0, 1, 2, \dots \quad (1)$$

$$T \geq 0$$

で定義される初期積分を計算する必要がある[1]。初期積分は、不完全ガンマ関数を用いて、

$$\gamma(a, x) = \int_0^x t^{a-1} e^{-t} dt \quad \text{for } a > 0 \text{ and } x \geq 0$$

$$F_m(T) = \frac{1}{2} \left( \frac{1}{T} \right)^{m+1/2} \gamma(m+1/2, T) \quad (2)$$

と計算できる[2]。

$F_m(T)$  は、電子反発積分の計算において多数回(縮約殻の個数の約 4 乗回)計算されるため、効率良く計算することが重要になる。このため、 $F_m(T)$  の計算方法については、これまでに多くの研究がなされ、現在も高速化のための研究が行われている[1-13]。ここでは、Taylor 展開と漸近展開を組合せた方法について解説する。この方法では、 $0 \leq T \leq T_f$  の領域は 4 項の Taylor 展開を、 $T > T_f$  の領域は漸近展開[2]を用いて計算している。プログラムでは  $T_f$  の値に、 $T_f = 2m + 36$  を使用している[3]。

$F_m(T)$  を  $T$  で微分すると、

$$F_{m+1}(T) = -\frac{d}{dT} F_m(T) \quad (3)$$

が得られる。式(2)を用いると  $F_m(T)$  の 4 項の Taylor 展開は

$$F_m(T) \cong \sum_{k=0}^3 F_{m+k}(T^*)(T^*-T)^k/k! \quad (4)$$

と表される。 $F_m(T^*)$  は、 $1/2^9$  刻みであらかじめ計算しておく。 $T^*$  は  $T$  に一番近い値を採用する。 $F_m(T^*)$

は、 $T^*=0$  の場合には簡単に積分できて、  

$$F_m(0) = 1/(2m+1) \quad (5)$$

となる。 $T^*>0$  の場合は、整級数

$$F_m(T^*) = \exp(-T^*) \sum_{i=0}^{\infty} \frac{(2T^*)^i}{(2m+1)\cdots(2m+2i+1)} \quad (6)$$

を用いて計算する[1]。

$T > T_f$  の場合、

$$F_0(T) \cong \frac{1}{2} \pi^{1/2} / T^{1/2} \quad (7)$$

と近似できる[3]。 $F_m(T)$  に部分積分を行うと、降方向の漸化式

$$F_m(T) = (\exp[-T] + 2T F_{m+1}(T)) / (2m+1) \quad (8)$$

が導かれる。式(7)を変形すると昇方向の漸化式

$$F_{m+1}(T) = ((2m+1)F_m(T) - \exp[-T]) / (2T) \quad (9)$$

が得られる。この式(8)は、 $T > T_f$  の領域では、

$$F_{m+1}(T) \cong (2m+1)F_m(T) / (2T) \quad (10)$$

で近似できる[3]。

## 2. プログラム

初期積分計算プログラムの概要を以下に示した。メインプログラムから初期化サブルーチン

```
call initialize_constants
```

```
call initialize_auxiliary_integral
```

を呼び出した後、電子反発積分等のルーチンから初期積分ルーチン `fmt(f, m, t)` を呼び出す。

```
subroutine fmt(f, m, t)
!
! Fm(T)
!
! 4-term Taylor expansion method
!
```

```
! 2001/10/04
! T. Nakano
!
use constants
use auxiliary_integral_table
implicit none
integer, intent(in)::m
real(8), intent(in)::t
real(8), intent(out)::f(0:m)
integer ts, i
real(8) delta, t_inv, nu
if (t <= (2*m+36)) then ! Tf=2*m+36
  ts=0.5_8+t*fmt_inv_step_size
  delta=ts*fmt_step_size-t
  do i=0, m
    f(i)=((fmt_table(i+3, ts)*inv6*delta &
      +fmt_table(i+2, ts)*inv2)*delta &
      +fmt_table(i+1, ts))*delta &
      +fmt_table(i, ts)
  end do
else
  t_inv=inv2/t
  f(0)=sqrt(pi_div2*t_inv)
  nu=1.0_8
  do i=1, m
    f(i)=t_inv*nu*f(i-1)
    nu=2.0_8+nu
  end do
end if
end
```

図 1 初期積分計算ルーチン

```
module auxiliary_integral_table
!
! Fm(T)
!
! 4-term Taylor expansion method
!
! 2001/08/29
! T. Nakano
!
implicit none
save
real(8), parameter::inv2 =1.0_8/2.0_8
real(8), parameter::inv6 =1.0_8/6.0_8
integer, parameter::fmt_m =22
integer, parameter::fmt_inv_d =2**9
! d=1/2**9
integer, parameter::fmt_max_m =fmt_m+3
! 4-term expansion
```

```

real (8), parameter :: fmt_t      =2*fmt_m+36
! Tf=2*m+36
integer, parameter :: fmt_n_step=fmt_t*fmt_inv_d
! fmt_n_step=Tf/d
real (8) fmt_table(0:fmt_max_m, 0:fmt_n_step)
real (8), parameter :: fmt_step_size      &
=fmt_t/fmt_n_step
real (8), parameter :: fmt_inv_step_size=  &
1.0_8/fmt_step_size
end

```

図 2 初期積分用配列

```

subroutine initialize_constants
!
! 2001/03/23
! T. Nakano
!
use constants
implicit none
pi=4.0_8*atan(1.0_8)
pi_div2=pi/2.0_8
pi_div4=pi/4.0_8
end

```

図 3 定数初期化サブルーチン

```

subroutine initialize_auxiliary_integral
!
! Fm(T)
! 4-term Taylor expansion method
!
! 2001/08/29
! T. Nakano
!
use auxiliary_integral_table
implicit none
real (8), parameter :: thr_zero=1.0e-17_8
integer index, range, i, j, m, nu
real (8) eps, t, expt, t2, term, func
!
! Fm(0)=1/(2*m+1)
!
do m=0, fmt_max_m
  fmt_table(m, 0)=1.0_8/(2*m+1)
end do
!
! Fm(T), T > 0
!
m=fmt_max_m
do j=1, fmt_n_step
  t=fmt_step_size*j

```

```

  expt=exp(-t)
  nu=2*m+1
  t2=t*2.0_8
  eps=(expt/t2)*thr_zero
  term=1.0_8/nu
  func=term
  i=nu
1 continue
  i=i+2
  term=term*t2/i
  func=func+term
  if (term.gt.eps) goto 1
  fmt_table(m, j)=expt*func
  do i=m-1, 0, -1
    nu=nu-2
    fmt_table(i, j)=(expt+t2*fmt_table(i+1, j))/nu
  end do
end do
end

```

図 4 Taylor 展開用の表の計算

実際のプログラムでは、高速化のために、補助積分ルーチンをインライン展開している。呼出し側で

```

use constants
use auxiliary_integral_table
integer ts
real (8) delta, t_inv, nu

```

と宣言した後、以下のルーチンをインライン展開する。

```

if (t <= 36.0_8) then ! Tf=2*m+36 (m=0)
  ts=0.5_8+t*fmt_inv_step_size
  delta=ts*fmt_step_size-t
  f(0)=((fmt_table(3, ts)*inv6*delta &
    +fmt_table(2, ts)*inv2)*delta &
    +fmt_table(1, ts))*delta &
    +fmt_table(0, ts)
else
  f(0)=sqrt(pi_div4/t)
end if

```

図 5  $m = 0$  の場合

```

if (t <= 38.0_8) then ! Tf=2*m+36 (m=1)
  ts=0.5_8+t*fmt_inv_step_size
  delta=ts*fmt_step_size-t
  f(0)=((fmt_table(3, ts)*inv6*delta &
    +fmt_table(2, ts)*inv2)*delta &
    +fmt_table(1, ts))*delta &

```

```

      +fmt_table(0, ts)
f(1)=((fmt_table(4, ts)*inv6*delta &
      +fmt_table(3, ts)*inv2)*delta &
      +fmt_table(2, ts))*delta &
      +fmt_table(1, ts)
else
  t_inv=inv2/t
  f(0)=sqrt(pi_div2*t_inv)
  f(1)=t_inv*f(0)
end if

```

図 6  $m=1$  の場合

### 3. ベンチマークテスト

#### 3.1 計算精度と計算速度の検証

計算精度の検証として、 $0 \leq T \leq 100$ 、 $0 \leq m \leq 22$  の領域について、 $T$  を 1000000 等分し、高精度な数値計算ライブラリである IMSL と標準的な初期積分の計算方法である McMurchie–Davidson (MD) の方法と比較を行った。計算機には、DELL Precision M6500 (Windows 8 64bit 版, Intel Core i7, 1.06GHz、メモリ 8GB) を使用した。コンパイラには、インテル Visual Fortran コンパイラ 11.1 Windows 版プロフェッショナル・エディション IMSL 同梱日本語版を使用した。

MD 法と比較した場合、相対誤差の最大値は、 $m=22$ 、 $T=4.9990000000000001E-002$  の場合、 $-6.096027721275751E-008$  (IMSL =  $2.118370181295204E-002$ ) であった。絶対誤差の最大値は、 $m=0$ 、 $T=30.0114100000000$  の場合に、 $3.691491556878645E-015$  (IMSL =  $0.161771398776513$ ) であった。

IMSL と比較した場合の、相対誤差の最大値は、 $m=22$ 、 $T=2.9600000000000000E-003$  の場合に、 $-6.012219052260860E-014$  (IMSL =  $2.215933281820789E-002$ ) であった。絶対誤差の最大値は、 $m=0$ 、 $T=100.0000000000000$  の場合に  $3.191891195797325E-016$  (IMSL =  $8.862269254527548E-002$ ) となった。これら、三つの方法の中では IMSL が最も計算精度が高いと考えられることから、今回提案した初期積分の計算方法は、IMSL とほぼ同程度の計算精度を持っていると考えられる、

計算速度は、上記の計算を 10 回繰り返して測定した。

Present	6.7	sec
MD	16.0	sec
IMSL	247.0	sec

これから、今回提案した方法は、MD 法よりも約 2.4 倍高速であることが示された。

### 4. まとめ

基底関数に Cartesian Gaussian を用いた場合、核引力積分や電子反発積分といった積分を計算するためには、初期積分を計算する必要がある。初期積分は電子反発積分の計算において多数回計算する必要があるため効率よく計算することが重要になる。今回提案する初期積分の計算方法は、4 項 Taylor 展開を中心とし、四則演算の他に、一回の平方根計算と分岐一回で計算できる。これによりベクトル計算機でも高速な初期積分のルーチンを実装できた [12]。

### 参考文献

- [1] V. R. Saunders, in Computational Techniques in Quantum Chemistry and Molecular Physics, edited by G. H. F. Diercksen, B. T. Sutcliffe, and A. Veillard (Reidel, Dordrecht, 1975).
- [2] F. E. Harris, Int. J. Quantum Chem. 23, 1469-1478 (1983).
- [3] L. E. McMurchie and E. R. Davidson, J. Comput. Phys. 26, 218-231 (1978).
- [4] L. Jakab, J. Chem. Phys. 70, 4421-4422 (1979).
- [5] J. Grotendorst and E. O. Steinborn, J. Chem. Phys. 84, 5617-5623 (1986).
- [6] S. Obara and A. Saika, J. Chem. Phys. 84, 3963-3974 (1986).
- [7] S. Yahiro and Y. Gondo, J. Comput. Chem. 13, 12-16 (1992).
- [8] 高島 一 et al., JCPE J. 13, 241-250 (2001).
- [9] 小原繁, 分子構造総合討論会, 1Pp043 (2003).
- [10] 小原繁, 分子構造総合討論会, 3P107 (2004).
- [11] 本田宏明, 小原繁, J. Comput. Chem. Jpn. 4, 165-174 (2005).
- [12] Y. Mochizuki et al., Chem. Phys. Lett. 457, 396-403 (2008).
- [13] T. Nakano et al., in The fragment molecular orbital method: practical applications to large molecular systems, edited by D. Fedorov, K. Kitaura (CRC, Boca Raton, 2009).

## 付録

## Windows 64bit 版への IMSL のインストール

インテル Visual Fortran コンパイラー

11.1 Windows 版 プロフェッショナル・エディション  
IMSL 同梱日本語版には、IMSL という高精度な数値計算ライブラリが付属している。ここでは、64bit 版の IMSL をスタティックにリンクする場合の使用方法について、簡単に説明する（詳細については、WINDOWS 版 IMSL Fortran ライブラリ Ver. 7.0 インストールガイド

[http://www.roguewave.jp/books/dod/pdf/InstGuide/Inst\\_FNL70\\_win.pdf](http://www.roguewave.jp/books/dod/pdf/InstGuide/Inst_FNL70_win.pdf) を参照）。

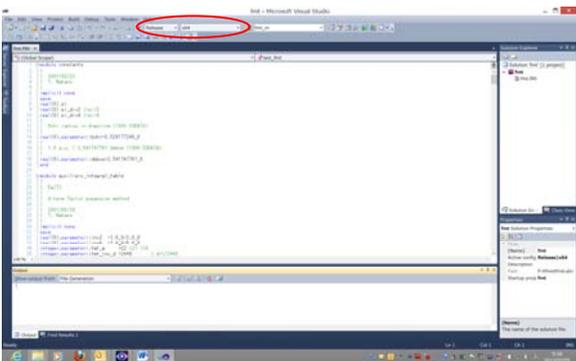
スタート > コントロール パネル (Windows 8 の場合、Windows キー+x キー) > システム > システムの詳細設定 > 詳細設定 > 環境変数 で、システム環境変数の Path に、IMSL へのパスが含まれていない場合は追加する。

例 : Path の最後に、

```
C:\Program Files (x86)\VNI\imsl\fnl600;
```

を追加する。

Microsoft Visual Studio 2010 を起動し、新規にプロジェクトを作成する。モードを Release、プラットフォームとして x64 を選択する。



Tools > Options > Intel Composer XE > Visual Fortran > Compilers をクリックし、プラットフォームとして x64 を選択し、Includes に

```
C:\Program Files
(x86)\VNI\imsl\fnl600\intel64\include\static
```

を、Libraries に、

```
C:\Program Files
(x86)\VNI\imsl\fnl600\intel64\lib
```

を追加する。

Project > Properties > Fortran > Language > Process OpenMP Directives を 並列コードの生成 (/Qopenmp) に設定する。

Project > Properties > Fortran > Floating Point > Floating-Point Exception Handling を、「Produce NaN, signed infinities, denormal results」に設定する。

Project > Properties > Fortran > Command Line > Additional Options に、/F60000000 を設定する (スタックサイズの設定)。

Project > Properties > Linker > Input > Ignore Specific Library に、msvcrt を追加する。

Project > Properties > Linker > Command Line の Additional Options に、/MACHINE:x64 を追加する。

構成 で Debug を選択し、同様に設定する。

後は、プログラムのソースコードに

```
include 'link_fnl_static.h'
```

を追加すれば、IMSL ライブラリを include 文を追加したルーチンから使用できるようになる。(例えば不完全ガンマ関数:dgami)

実行形式 (exe ファイル) を移植する場合は、実行形式をコピーしたフォルダに、

```
C:\Program Files (x86)\Intel\Composer XE
2013\redist\intel64\compiler\libiomp5m
d.dll
```

も併せてコピーする。

---

## CBI 学会誌 第 1 卷 第 1 号

2013 年 7 月 31 日 発刊

制作責任：小長谷 明彦

制作：小澤 陽子 塚田 優子 高橋 まき 町田 規子

湯川 真澄 小宮山 直美

発行：CBI 学会

本著作物の著作権は著者にあり、CBI 学会は、本著作物に関する  
冊子および電子媒体による複製、配布、改変、再出版の権利を持つ。

