

中分子創薬を加速させる革新的分子シミュレーション技術の創出

Developments of Innovative in Silico Methods Contributed to Middle-Molecule Drug Discovery

原田 隆平

筑波大学計算科学研究センター

1. 研究目的

生体内に薬剤を取り込み、機能阻害し、排出される過程において、薬剤の膜透過性は重要なファクターである。創薬研究の傾向として、低分子（ペプチド）創薬と高分子（抗体）創薬の中間に位置する「中分子創薬」が注目を浴びている。ペプチド創薬は合成が容易であり低コストであるが、標的タンパク質以外に作用することが多く、副作用が懸念される。一方、抗体創薬は高い薬効を示すが、分子サイズが大きいため膜透過が難しいうえ、生産コストが高い。従来の創薬研究に対して中分子創薬は、分子サイズが低分子と高分子の中間に位置し、末端を連結した環状ペプチドを取り扱う。サイズの大きさから膜透過可能であり、側鎖構造をフリップさせることで親和性を変化させ、親和性の異なる生体膜内外を透過できるからである。現在では実験的手法により、環状ペプチドの膜透過係数を測定できるものの、環状ペプチドが具体的にどのようなプロセスを経て膜透過するのか観測することは依然として困難である。本研究では、実験的に膜透過性が高いとスクリーニングされた環状ペプチドに対して膜透過プロセスを原子レベルの解像度で抽出する計算手法を開発し、膜透過メカニズムを解明すると共に、膜透過性を自由エネルギープロファイルから定量的に評価できる革新的な技術基盤を構築する。課題達成の第一段階として、比較的構造が単純な線形ペプチドに着目し、脂質二重膜の膜透過プロセスとそれに伴う自由エネルギープロファイルを計算する計算手法の開発を実施する。

2. 研究成果の内容

化合物の膜透過プロセスは秒に至る長時間スケールで観測されるため、通常の分子動力学計算（MD）では抽出できない。そこで本研究では、独自に開発を進めている長時間ダイナミクス抽出法（PaCS-MD: Parallel Cascade Selection MD）を適用し、化合物の膜透過プロセスの抽出を試みた。PaCS-MD は重要な構造変化をする確率が高い条件の良い MD スナップショットから短時間 MD を繰り返すことにより、通常の MD では抽出困難な生体機能に関する構造遷移を効率的に誘起できる。化合物の膜透過プロセスを抽出するため、その重心座標に注目してできるだけ膜透過する確率が高い MD スナップショットを複数選択し、それらから短時間 MD を繰り返した。具体的に

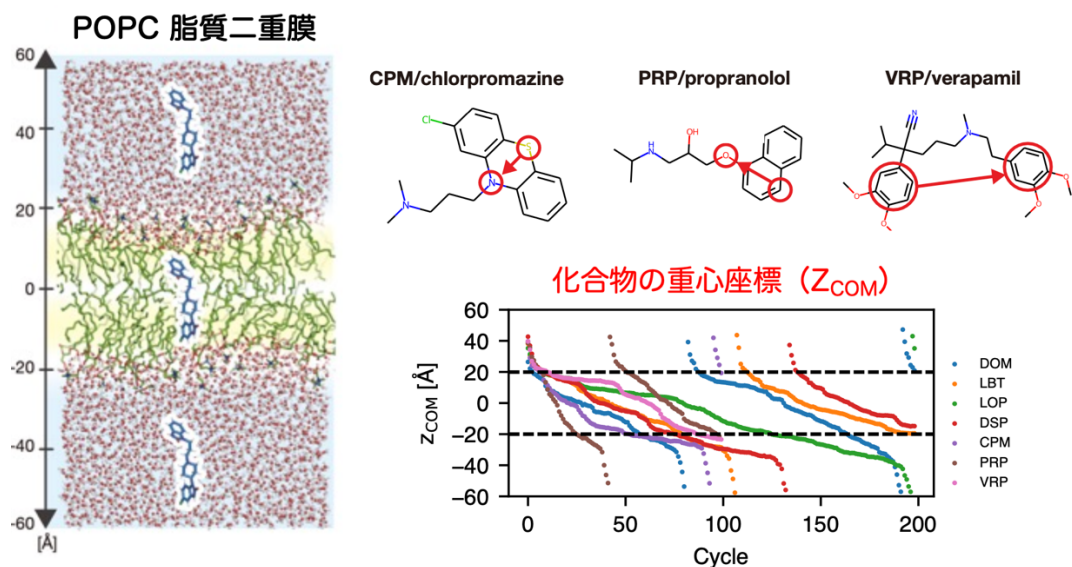


図 1: 線形ペプチドの膜透過プロファイル

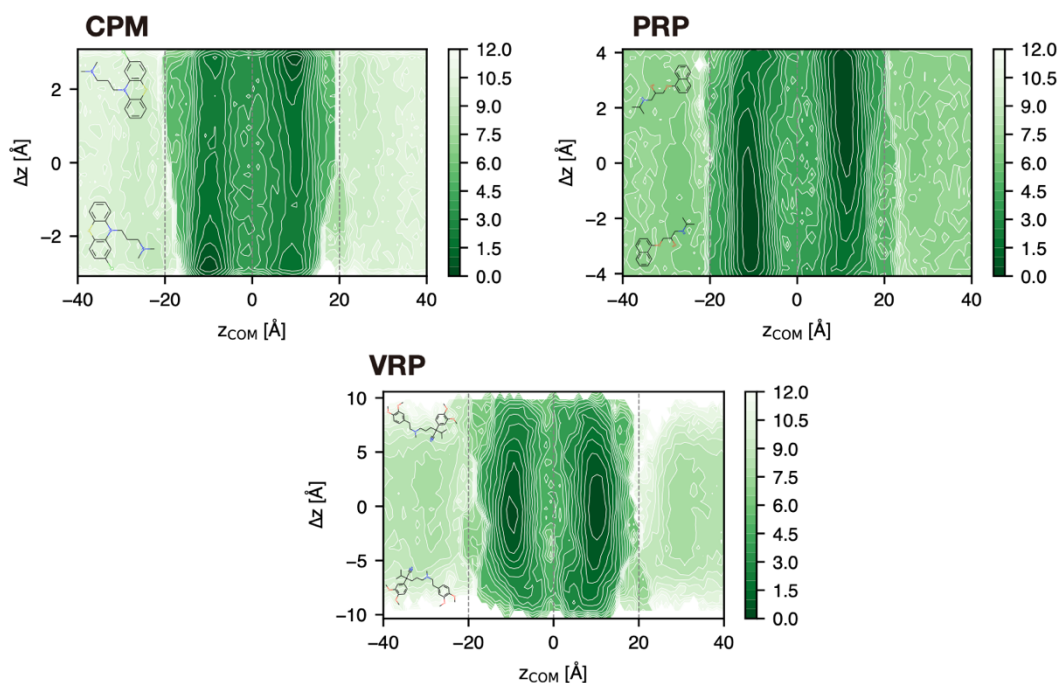


図 2: 線形ペプチドの膜透過プロファイルに伴う自由エネルギープロファイル

は、先行研究で用いられている 7 つの線形ペプチドに対して脂質二重膜の上方から下方へ膜透過プロセスを抽出した (図 1, 構造式は代表的な 3 つの化合物のみ表記)。膜透過プロファイルから明らかなように、どの化合物も脂質二重膜の上方から下方へ膜透過を達成しており、効率的な抽出に成功した。続いてより詳細な膜透過プロセスを解析するため、2 次元の構造空間に得られたプロファイルを射影したところ、局所的な

構造空間に限定された分布となっていた。これは数回の PaCS-MD では十分に広い構造空間を探索することができないことを意味している。そこでより広範囲な構造空間を探索するため、独自開発の OFLOOD (Outlier Flooding Method) 法を併用した。OFLOOD は構造分布の端に対応する分子構造から短時間 MD を繰り返すことにより、より広範囲の構造空間を効率的に探索できる。PaCS-MD と OFLOOD をハイブリッド的に適用することで、高精度かつ広範囲に構造空間を探索できる。最終的に、ハイブリッド探索により生成されたトラジェクトリを用いて自由エネルギープロファイルを計算した結果を図 2 (代表的な 3 つの化合物のみを提示) に示す。自由エネルギープロファイルから明らかなように、膜表面および膜中央でそれぞれの線形ペプチドがどのように構造変化し膜透過しているのかを調べることができる。さらに、自由エネルギー計算の結果から算出した膜透過係数を図 3 に示す。

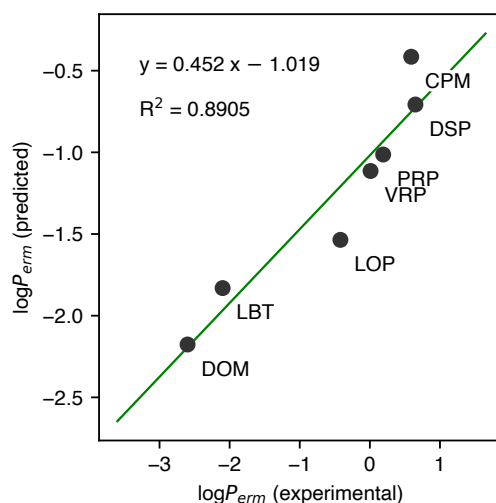


図 3: 膜透過係数の相関 (実験値 versus 計算値)

図 3 は実験と計算から算出された膜透過係数の相関を示すものであり、定性的ではあるものの高い相関を示していることがわかる。以上より、本手法は化合物の膜透過プロセスと膜透過係数を評価するのに適していることが示された。

3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

本手法は多数の短時間 MD を独立な計算ノードで高速に実行するため、Cygnus のような演算加速器を搭載した多数の計算ノードを有する大型計算機が必要である。この点において、研究室レベルの計算機では効率的に研究遂行することが難しく、Cygnus が保有する多くの計算ノードを有効活用して手法開発を進められたことは非常に大きな意義をもつ。

4. 今後の展望

今後は実際の環状ペプチドに適用し、手法の妥当性を評価していく。また、手法適用による大規模アプリケーションを推進していく。

5. 成果発表

(1) 学術論文

R. Harada, R. Morita, Y. Shigeta, “Free-energy Profiles for Membrane Permeation of Compounds Calculated Using Rare-Event Sampling Methods”, *J. Chem. Inf. Model.*, **63**, 259-269 (2023)

T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “Protein Structure Validation Derives a Smart Conformational Search in a Physically Relevant Configurational Subspace”, **62**, 6217-6227, *J. Chem. Inf. Model.* (2022)

T. Yasuda, R. Morita, Y. Shigeta, R. Harada, “The Structural Validation by G-factor Regulates Boost Potentials Employed in Conformational Sampling of Proteins”, *J. Chem. Inf. Model.*, **62**, 3442-3452 (2022)

(2) 学会発表

原田隆平, 森田陸離, 重田育照, “化合物の膜透過プロセスを紐解く自由エネルギー計算手法の開発”, 第 50 回 構造活性相関シンポジウム

(3) その他

筑波大学計算科学研究センター ウェブリリース

<https://www.ccs.tsukuba.ac.jp/release221228/>

使用計算機	使用計算機に ○	配分リソース※	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	14,000	
Wisteria/BDEC-01			
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			