

平成 27 年度 TSUBAME 産業利用トライアルユース 成果報告書

利用課題名 **創薬研究における大規模 FEP 計算**  
英文: **Large-scale FEP calculations for pharmaceutical applications**

利用課題責任者

木村 俊 ロイ

所属

シュレーディンガー株式会社

www.schrodinger.com/jp

邦文抄録(300 字程度)

自由エネルギー摂動(パータベーション)法は昨今、タンパク質リガンド間の結合自由エネルギーを求めるのに最適の理論的手法であると考えられてきた。しかし、このような計算は分子動力学シミュレーションを大量に必要とし、High Throughput Screening (HTS) などの実験手法と比較して、正確性とコストの観点から、創薬研究に用いるのに実用的ではなかった。近年、Schrodinger 社(「弊社」)は GPU を使うことで、効率的・実践的な FEP (Free Energy Perturbation) を実装するプログラム、FEP/REST を開発してきた。本研究では、TSUBAME2.5 上に FEP/REST を移植し、大量の GPU を用いて熱帯病の標的に対する阻害剤リード化合物群の結合自由エネルギー計算を実施した。これにより FEP/REST の正確性や計算速度が検証され、創薬研究に於いての実用性を示すことができた。

英文抄録(100 words 程度)

Free energy perturbation (FEP) has long been considered the gold standard for accurate ligand-protein binding free energy calculations. However, such calculations have been excessively costly and impractical for drug discovery. In particular, it has been difficult to compete effectively against experimental screening in terms of accuracy and cost. Taking advantage of recent advances in software and hardware technologies, Schrodinger has developed a practical FEP implementation called FEP/REST. In this project, we ported FEP/REST to the TSUBAME 2.5 supercomputer, and calculated binding free energies for a series of lead inhibitors for a particular tropical disease target. Through this exercise, we demonstrated the accuracy, speed, and practicality of using FEP/REST in drug discovery research.

*Keywords:* Free Energy Perturbation, Molecular Dynamics, Drug Discovery, Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibitors, Chagas' Disease

## 背景と目的

自由エネルギー摂動法(Free Energy Perturbation, FEP)とは分子動力学に基づいたタンパク質と小分子の結合親和性予測を可能にする厳密性が極めて高い物理学的理論と計算手法である。FEP 法は学術研究に於いては過去30年以上もの間に結合親和性予測に使われており、数ある計算手法の中でも FEP が「ゴールド・スタンダード」と呼ばれるのは、理論的に正確性が最も高いと知られているからである。その反面 FEP は計算コストがあまりにも高く、製薬業界では最近まで実用性がなかった。近年になって加速アルゴリズムの発達や GPU 演算アクセラレータの利用により、FEP の実用性

が大幅に上がり、ここ数年の間に製薬企業で使われ始めている。本研究では FEP を実装したプログラムを TSUBAME2.5 に移植し、1つの標的と化合物群に対してテスト計算を実施することで、その正確性や計算コストを検証し、創薬研究に対する実用性を示した。

## 概要

本研究ではシュレーディンガー社が開発した FEP/REST プログラムを TSUBAME2.5 に移植し、熱帯病 Chagas Disease のキャリアである寄生虫 *Trypanosoma Cruzi* の酵素タンパク質 Dihydroorotate Dehydrogenase (DHOD) を阻害するリード化合物43個

に対して、親和性予測計算を TSUBAME2.5 上で行った。43化合物のうち標的との複合体結晶構造が39個解明されており、その上全化合物に対して阻害定数 (IC50)の実験値が既に求められていた [1]。

FEP/REST のアルゴリズムは図1に示す熱力学サイクルから相対結合自由エネルギーを算出する。つまり化合物を A から B に変換することで A と B の結合自由エネルギーの差を計算することが出来る。

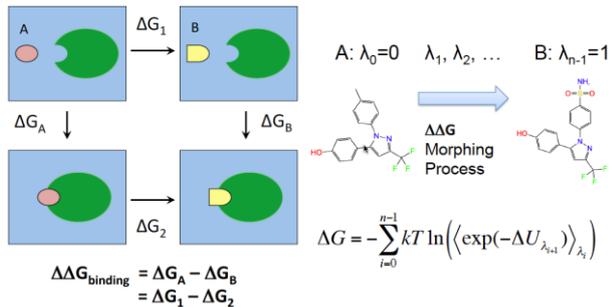


図 1:FEP/REST に用いられる熱力学サイクル

FEP/REST は化合物、タンパクと水の揺らぎから発生する多数の配座を分子動力学 (Molecular Dynamics, MD)を用いて捉える事で エントロピーの寄与を含む。統計的に正しい配座分布を得るには大量のサンプリングが必要であり、従来の分子動力学法では計算時間が掛かり過ぎるため、図2に示された加速アルゴリズム Replica Exchange Solute Tempering [2] (REST) が用いられている。

REST は通常の Replica Exchange とは異なり、系全体の温度を高めた Replica を分子動力学でそれぞれ走らせるのではなく、A から B に変換した時の化合物の変換部位だけを熱した Replica を走らせ、その他は通常の Replica Exchange と同様にメトロポリス・アルゴリズムで配座交換を定期的に提案し、ボルツマンの確立で受け入れる[2]。

TSUBAME2.5 にこのプログラムを移植する際に大量の分子動力学ジョブをホストマシンのキューイングシステムに管理させるインターフェースに変更が必要になったが、それ以外は問題なく移植に成功した。

### 結果および考察

計算対象となる DHOD 阻害剤リード化合物43個を図3と図4に示す。

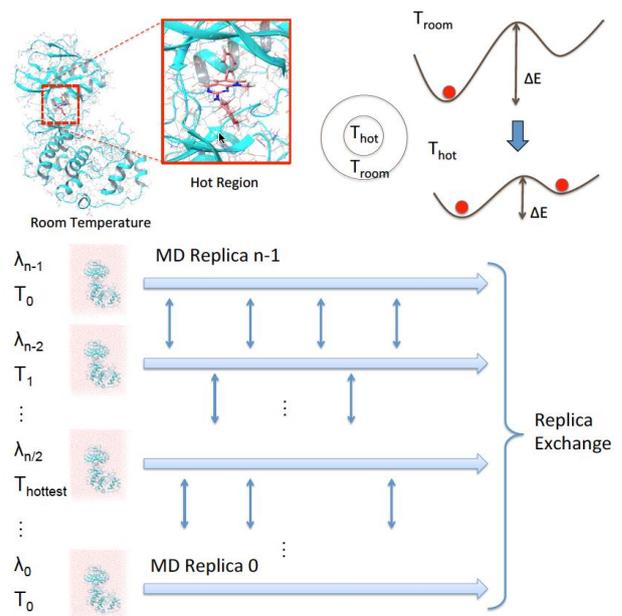


図 2:REST アルゴリズム

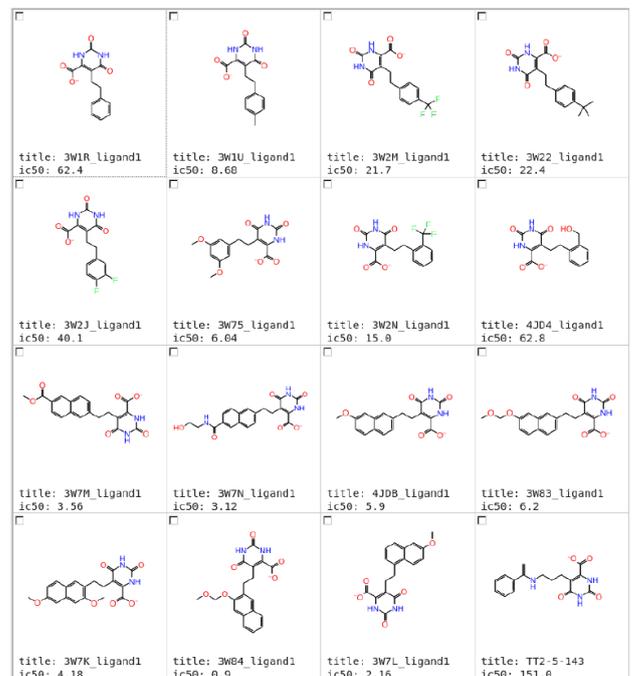


図 3:計算対象の DHOD 阻害剤リード化合物 その1

結晶構造では化合物によってはタンパクのループ部位に触れてる物があり、そのタンパクのループの配座がかなり大きく化合物に寄って変化している事が分かった(図5左)。しかし一つのタンパク構造に MD をかけた所そのループ部位の動きの度合いは常温での揺らぎに相当するものとわかった(図5右)。

この結果に基づいて1つのタンパク構造を用いて全43化合物に対する FEP/REST 計算を実施することにした。

FEP/REST は2つの化合物間の相対エネルギー差を求める手法であるために、化合物変換を定義する FEP Map を作る必要がある(図6)。FEP/REST にはそれを自動的に発生させる機能性があり、さらに手動でそれを訂正することが出来る。本研究では一度自動で発生させた物を後に手動で微調整した。

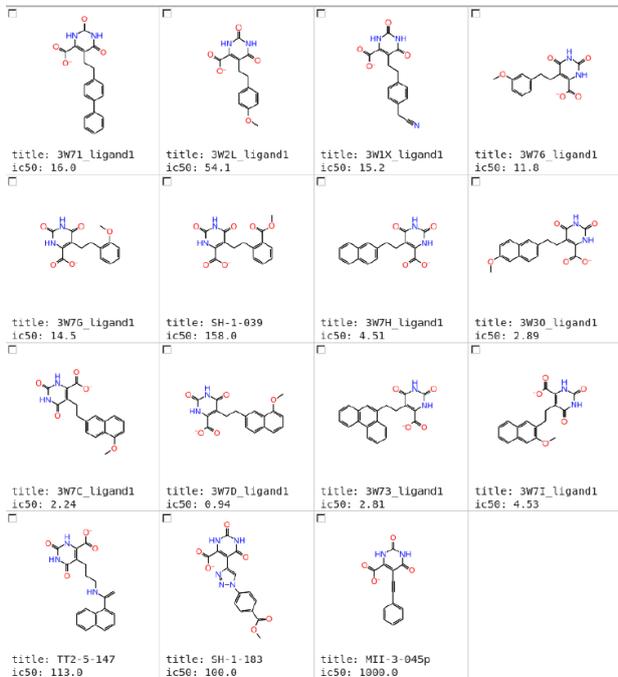


図 4: 計算対象の DHOD 阻害剤リード化合物 その2

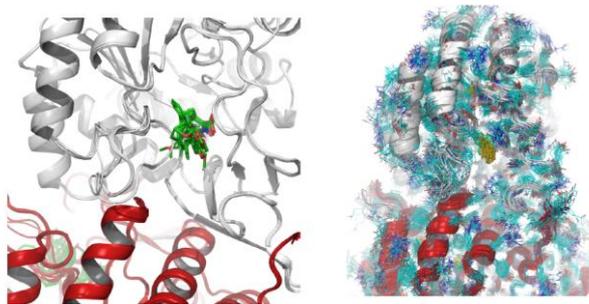


図 5: DHOD との複合体結晶構造の例(左)と MD 計算で見られた構造の揺らぎ(右)

図7左では計算結果と実験データとの相関を示す。相関係数  $R^2=0.66$  と Root Mean Square Error (RMSE) = 0.734 kcal/mol の結果が得られた。この結果は弊社内で過去に実施した検証計算結果とほぼ同等のパフォーマンスである事が確認出来た。

比較のために図7右では MD を利用しない従来の計算手法(MMGB/SA)を利用して同じ予測計算を実施し

た結果を示す。ここでは明らかに FEP/REST の正確性が優位である事が分かる。

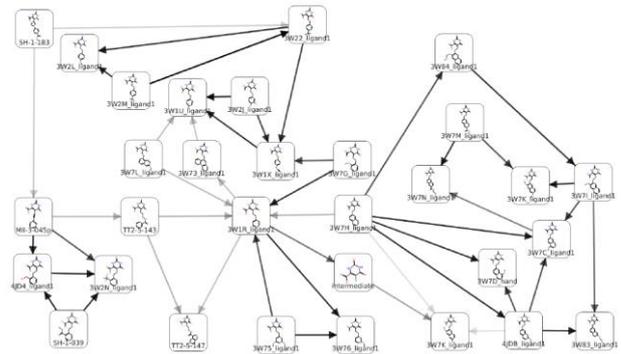


図 6: 化合物変換を定義する FEP Map

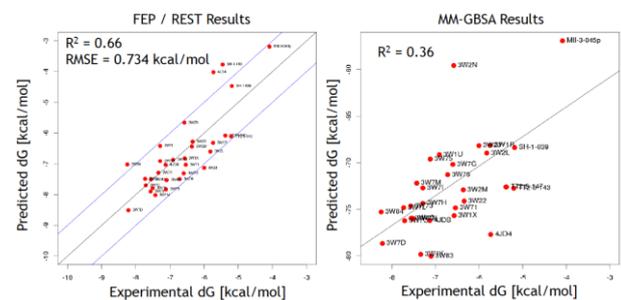


図 7: 計算予測結果と実験値との相関(左)。MD を使わない従来の手法を使った結果

しかし FEP/REST の計算結果の中には 1kcal/mol 以上の誤差を示す化合物が3つあった。これら誤差の原因にはタンパクや化合物の配座サンプリング不足の可能性、或いは力場の精度の問題等が挙げられる。

これらの計算は40ノード(120GPU)を利用することで24時間以内にすべて終了し、製薬企業での創薬プロジェクトに対して実用的なパフォーマンスであることが示唆される。

まとめ、今後の課題

本課題では弊社の FEP/REST プログラムを TSUBAME2.5 に移植することに成功し、DHOD 酵素に対する阻害剤リード43化合物の活性予測を実施した。 $R^2=0.66$  と Root Mean Square Error (RMSE) = 0.734 kcal/mol の結果が得られた。40ノードを利用することで約24時間で計算が完了した。これら結果によればこの手法を TSUBAME2.5 と組み合わせる事で創薬現場での実用性が示唆される。化合物によっては 1kcal/mol 以上のエラーを示すものも存在したがその原因解明の

ため現在解析が続けられている。この課題では2015年初期のソフトウェア・バージョンを利用したが、最新のバージョンでは計算速度が2倍に早まったため、本研究と同じ計算が半日、或いは1日で半分のノード数(20ノード)で完了することが予想出来る。本研究によって将来弊社の FEP/REST を TSUBAME2.5 の有償利用と組み合わせる事で企業との共同研究、受託研究に利用できる環境が整備された。更に製薬企業によっては FEP/REST を創薬に利用したいが GPU 設備が足りない場合に TSUBAME2.5 有償利用の選択も可能になった。

[1] Inaoka, D., Kita, K., 2015, Manuscript submitted.

[2] Wang, et al., J. Phys. Chem. B 2011, 115, 9431