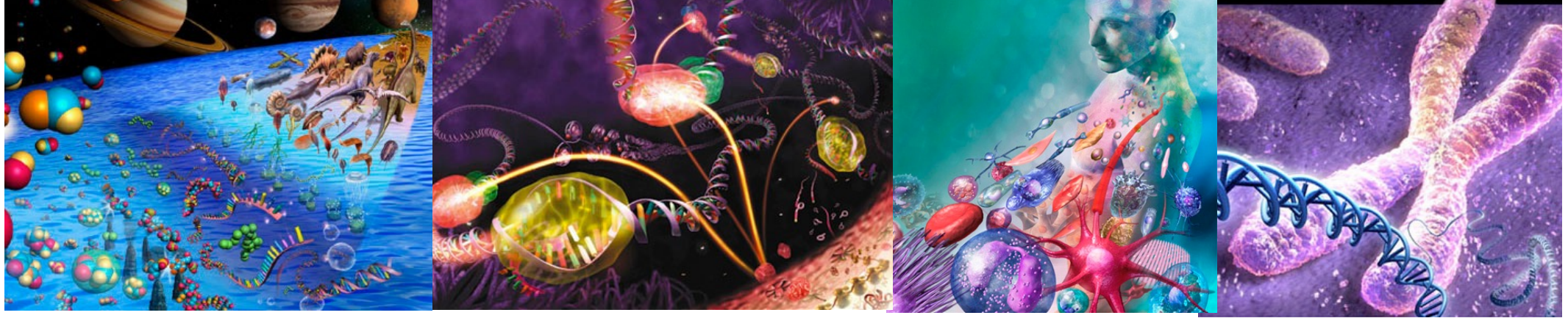




計算メディカルサイエンス事業部 生体分子医科学分野

重田育照・西澤宏晃・下山充紘・K. Hengphasatporn

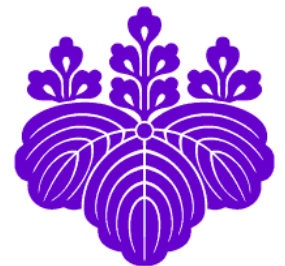
(CCS：筑波大院・数理物質)

原田隆平・森田陸離・稲垣祐司・中山卓郎

(CCS：筑波大院・生命環境)

連携) 広川貴次・吉野龍之介

(筑波大院・医学医療系)



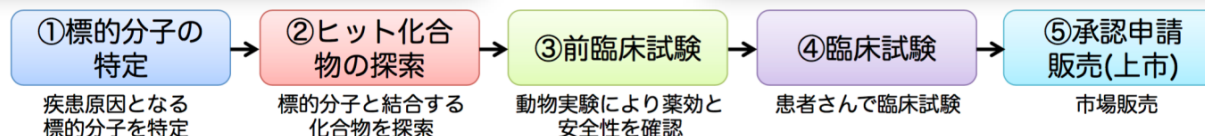
計算メディカルサイエンス（生体分子医科学分野）

生体分子医科学分野のターゲット

- ・ 低分子から中分子(ペプチド・核酸)医薬品へ
- ・ 共有結合型ターゲット医薬
- ・ 一塩基多型(SNIP)・テーラーメイド創薬

計算生体分子医科学分野における問題点

- ・ 構造の多様性（膨大な探索空間）
- ・ 反応・速度論制御(量子論による解析必須)
- ・ 迅速な遺伝情報解析



創薬には長い時間（10～15年）と多くの研究資金（1000億）が必要
しかし、市場に上がる確率は1/20000以下
in silico創薬への期待が高まる

創薬・計算生命の融合研究により
医学医療領域における学際研究を推進

分子進化（生物）



稲垣祐司(CCS教授)
次世代シーケンサ
ゲノム解析・系統樹解析

計算数理生物学



次世代シーケンサ



GPUを用いた系統樹解析の高速化
情報学的手法を用いたミトコンドリアタンパク質予測

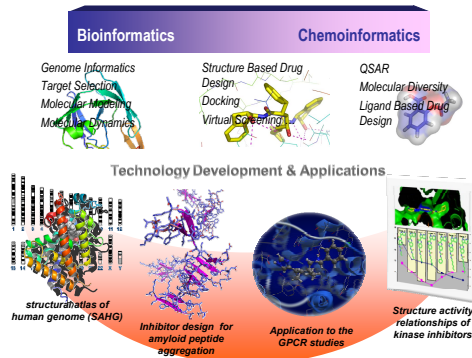
遺伝子解析
テーラーメイド創薬

創薬シミュレーション



広川貴次(CCS共同研究員)
産総研創薬分子プロファイリング
研究センターTL・筑波大医教授

バイオインフォ・シミュレーション
創薬全般の計算科学



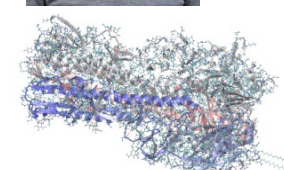
H29年度「創薬等ライフサイエンス研究支援
基盤事業」(インシリコ)採択

機能情報（物理）

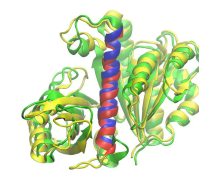


重田育照(CCS教授)
第一原理計算による反応解析
分子動力学計算
構造サンプリング

計算生物物理化学



インフルエンザHA3
タンパク質の第一原理計算



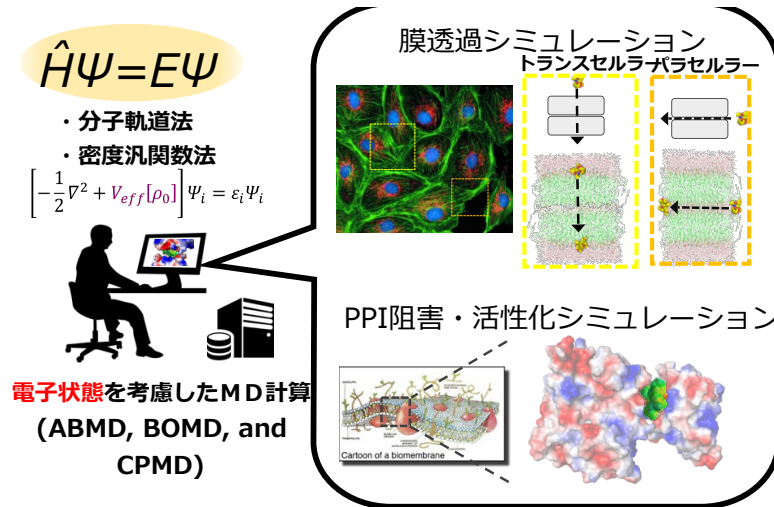
細胞分裂に関わる
タンパク質の構造変化

GPUを用いた第一原理分子動力学計算の高速化
情報学的手法を用いた構造サンプリング手法

ポスト京コンピュータプロジェクト
共有結合ターゲット創薬

タンパク質レベルの解析に基づく計算医工連携研究

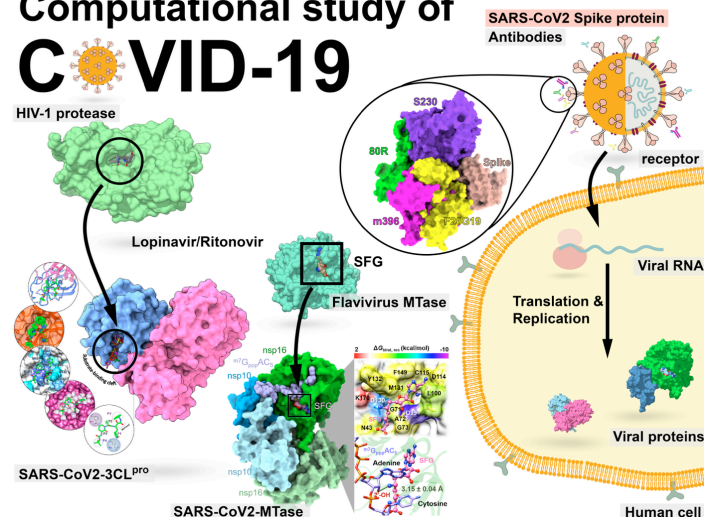
膜透過シミュレーションの手法開発



中分子薬剤が膜を透過する過程のシミュレーション法の開発

北海道大学前仲グループとの共同研究

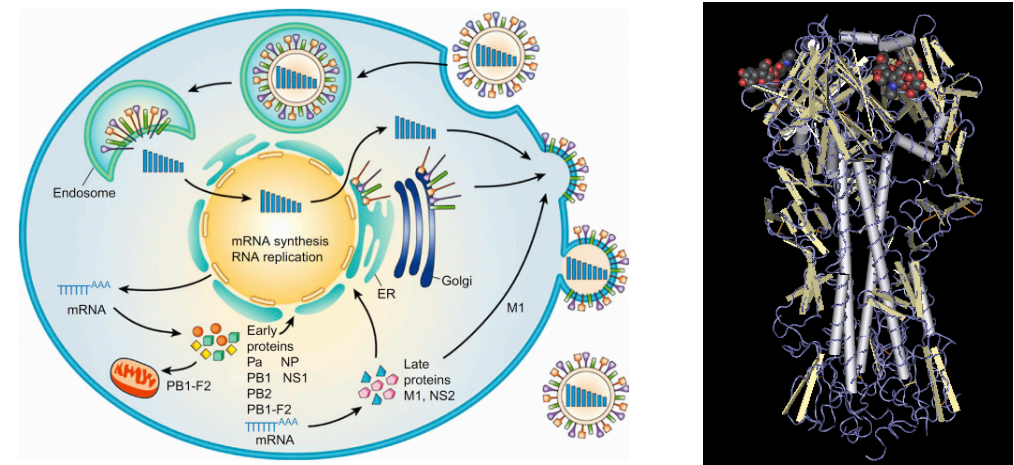
Covid-19関連タンパク質のリポジショニング Computational study of COVID-19



Mproに対する既存薬／フラボノイドのリポジショニング

Chulalongkorn大学との共同研究

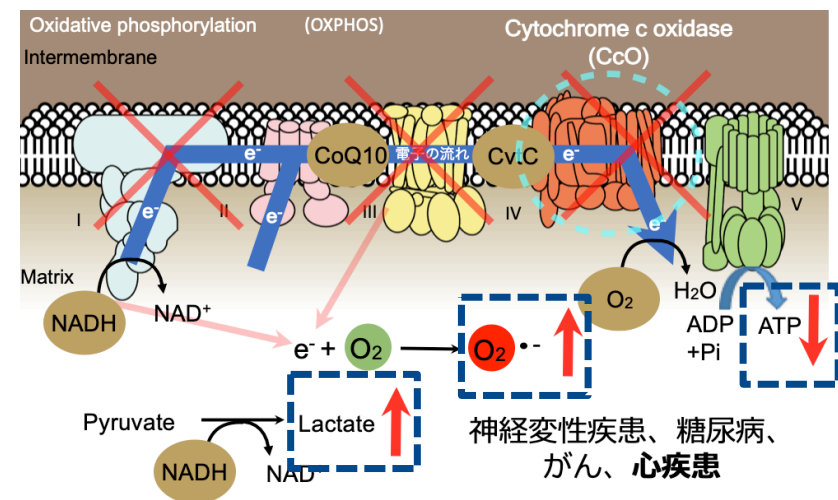
ウイルス感染におけるタンパク質間相互作用解析



シグナル伝達リンパ球活性化分子/ヘマグルチニン間相互作用

国立感染研竹田グループと共同研究

チトクロムc酸化酵素の阻害・活性化機構解明

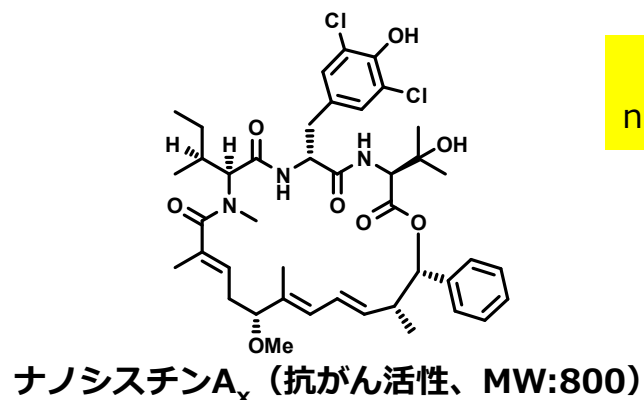


阻害剤・活性化剤の有無による構造機能の変化を解析

兵庫県立大／国立循環器病院との共同研究

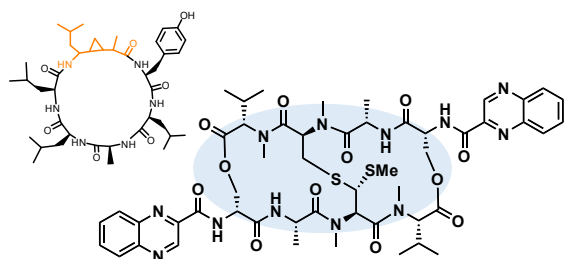
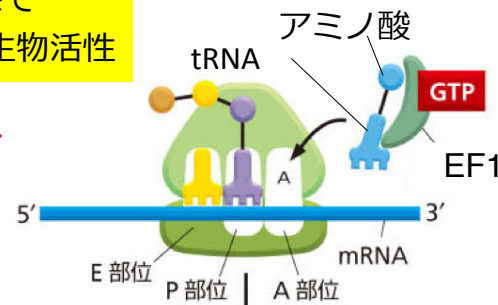
AMED研究課題「中分子シミュレーション」

研究分担 5600万/3年(2018-2020)

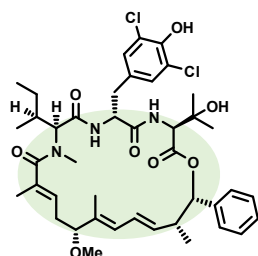


いずれも細胞系で
nM レベルの強力な生物活性

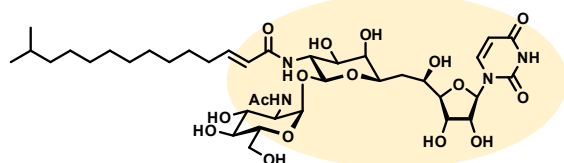
膜透過



環状ペプチド



環状ポリケチド・
ペプチドハイブリッド



ヌクレオシド

$$\hat{H}\psi = E\psi$$

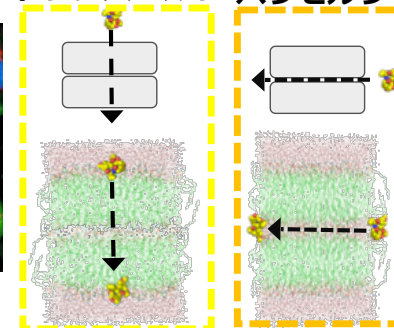
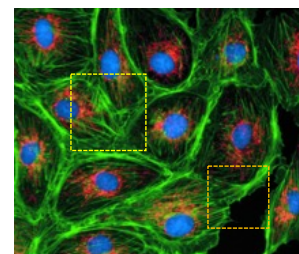
- ・分子軌道法
- ・密度汎関数法

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + V_{eff}[\rho_0] \right] \psi_i = \varepsilon_i \psi_i$$

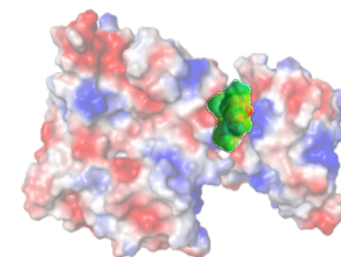
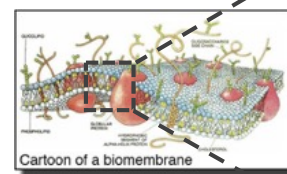


電子状態を考慮したMD計算
(ABMD, BOMD, and
CPMD)

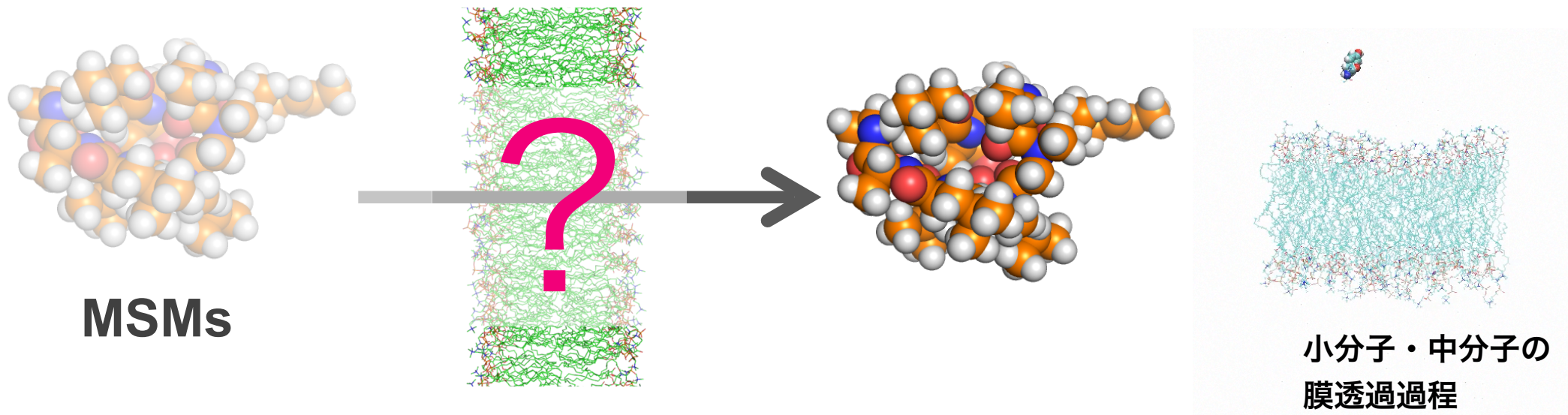
膜透過シミュレーション
トランスセルラパラセルラー



PPI阻害・活性化シミュレーション

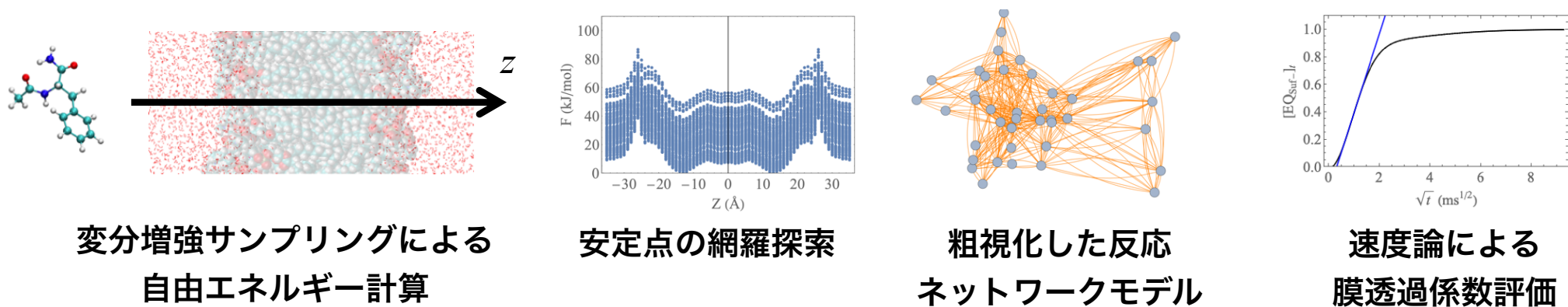


新規膜透過MDシミュレーション手法の開発



1. 外部からバイアス（人為的な力）をかけたStired MDシミュレーション
2. PaCS-MDによるバイアス無しシミュレーション (**AMED : 産学共同研究**)
3. **Free energy reaction network (FERN) 法による膜透過性の定量評価**

Y. Mitsuta, Y. Shigeta, *J.Chem.Theory Comput.* **16**(6), 3869-3878 (2020).



芳香属性ジペプチドの膜透過性の評価

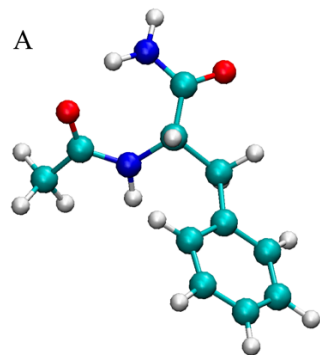
Y. Mitsuta, Y. Shigeta, *in preparation*

	Partition Coefficient (cm/sec)			Mean Passage Time (ms)	
	Experimental*	Free Energy Reaction Network	Umbrella Sampling†	Free Energy Reaction Network	Umbrella Sampling†
Phe	5.6×10^{-6}	11×10^{-6}	1×10^{-4}	3.6	0.05
Tyr	0.62×10^{-6}	0.40×10^{-6}	2×10^{-6}	58	3
Trp	2.7×10^{-6}	1.4×10^{-6}	2×10^{-7}	15	15

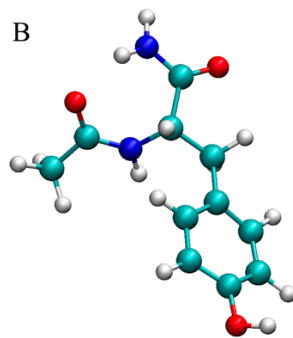
†Lee, Brent L., et al. "Permeation of the three aromatic dipeptides through lipid bilayers: Experimental and computational study." *The Journal of Chemical Physics* 144.24 (2016): 245103.

それぞれ2.5 μ sの
増強サンプリング法で
自由エネルギー計算

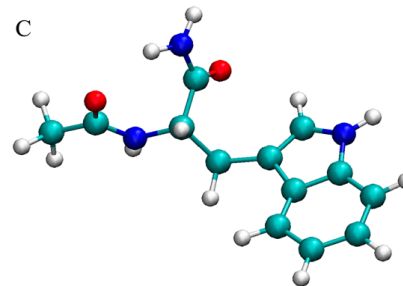
msの現象を再現



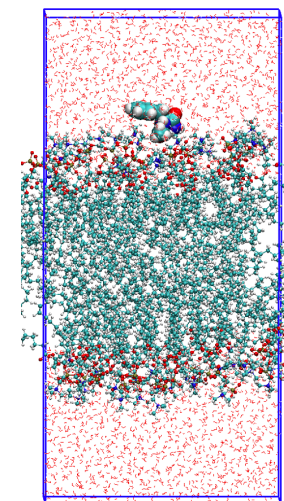
Phe



Tyr

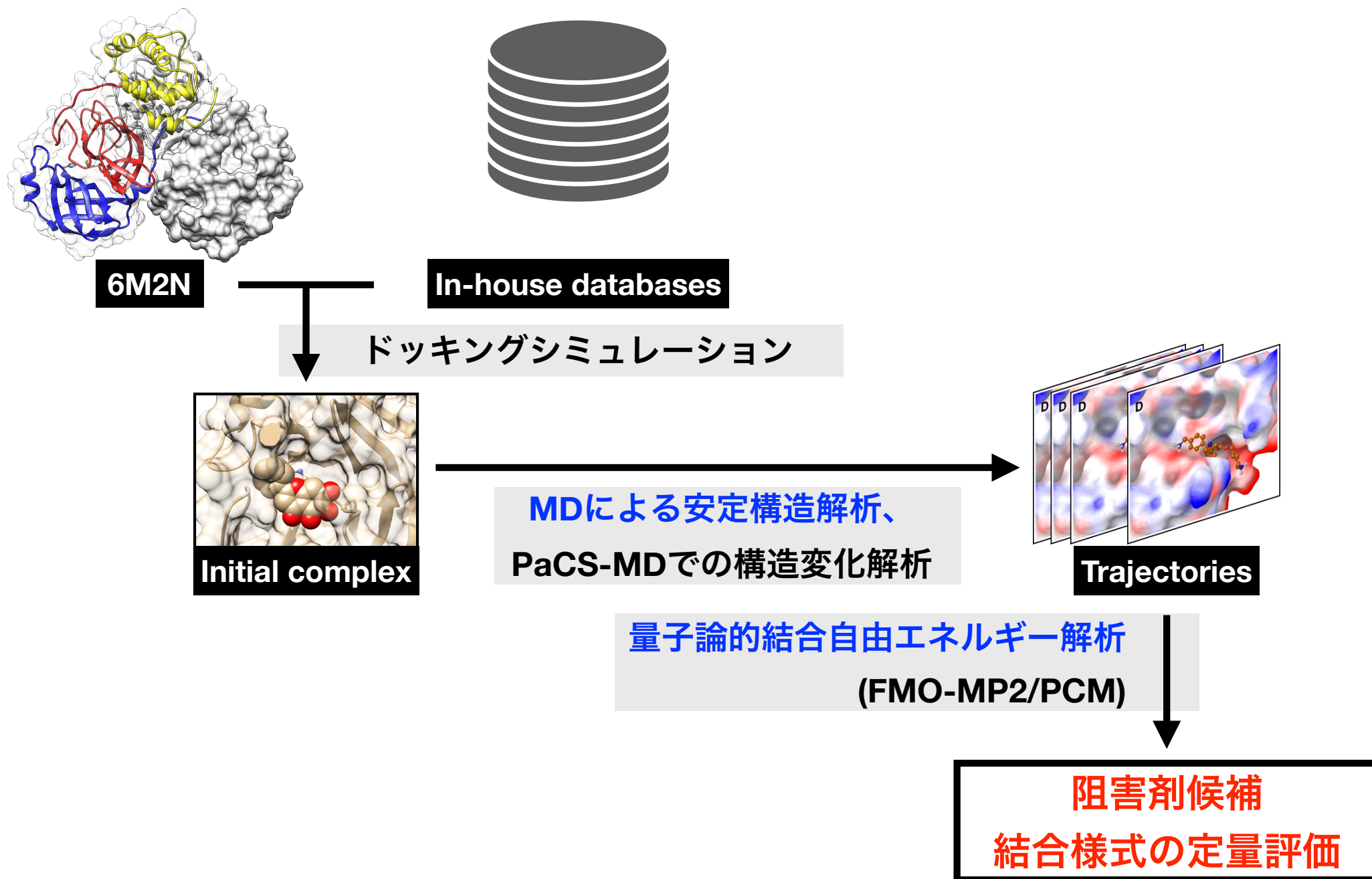


Trp



低分子で定量的な膜透過性評価が初めて可能に！

複数の計算手法を用いた統合的創薬計算

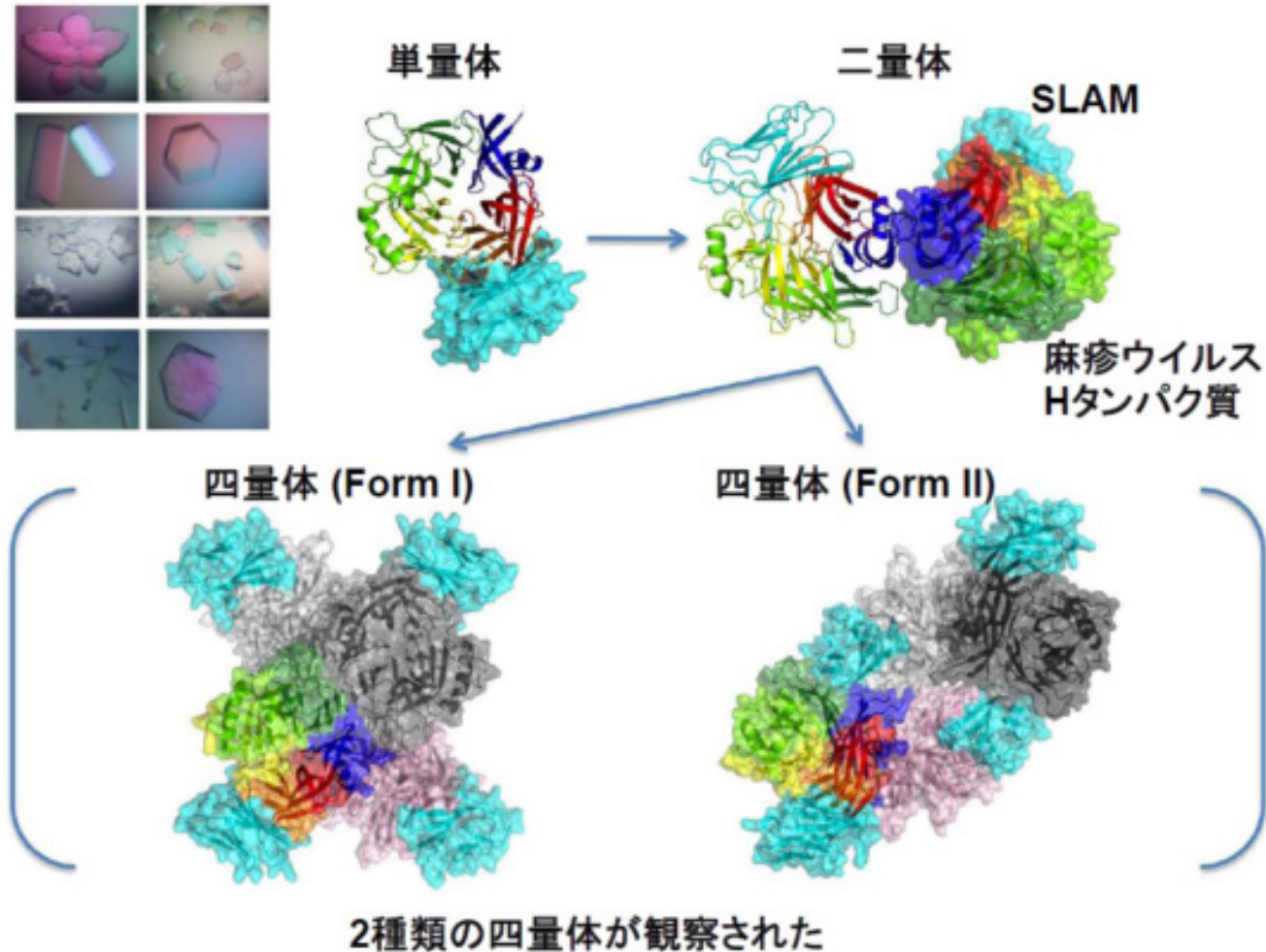


麻疹ウイルスのレセプターSLAMとHタンパク質

Hashiguchi, *et al.* *Nat. Struct. Mol. Biol.* (2011)

麻疹ウイルスHタンパク質と
SLAMの複合体の結晶

シグナル伝達リンパ球活性化分子 (SLAM)



麻疹ウイルス（モルビリウィルスに属する）は発熱や発疹をおもな症状とする急性のウイルス感染症である麻疹（はしか）をひき起こす。感染時には一過性の免疫抑制が起こり、肺炎などの二次感染を合併して重篤化する例もある。

ヒトSLAMとマカカSLAMの相同性解析

(a)

human SLAM	1	MDPKLLSLTFVLFLSLAFGASYGTGGRMMNCPKILRQLGSKVLLPLTYE	AA28	AA48
macaca SLAM	1	MDPKLLSLTFVLFLSLAFGASYGTGGRMMNCPKILRQLGSKVLLPLTHE		
human SLAM	51	RINKSMNKSIHIVVTMAKSLENSVENKIVSLDPSEAGPPRYLGDRYKFYL		
macaca SLAM	51	RINKSMNKSIHIVVTMAKSLENSVENKIVSLDPSEAGPPRYLGDRYKFYL		
human SLAM	101	ENLTGIRESRKEDEGWYLMTLEKNVSVQRFCLQLRLYEQVSTPEIKVLN		
macaca SLAM	101	ENLTGIRESRKEDEGWYLMTLEKNVSVQRFCLQLRLYEQVSTPEIKVLN		
human SLAM	151	KTQENGCTCTILGCTVEKGDHVAYSWSEKAGTHPLNPANSSHLLSLTLGP		
macaca SLAM	151	KTQENGCTCTILGCTVEKGDHVAYSWSEKAGTHPLHPANSSHLLSLTLGP		
human SLAM	201	QHADNIYICTVSNPISNNSQTFSPWPGCRTDPSEKTPWAVYAGLLGGVIM		
macaca SLAM	201	QHADNIYICTVSNAISNNSQTFSPWPRCRTDHSKTPWAMYAGLLGGAIM		
human SLAM	251	ILIMVVILQLRRRGKTNHYQTTVEKKSLTIYAQVQKPGPLQKKLDSFPAQ		
macaca SLAM	251	ILIMVVILQLRRRGKTDHYQTTVEKKSLTIYAQVQKPGPLQKKLDPFPAQ		
human SLAM	301	DPCTTIYVAATEPVPESVQETNSITVYASVTLPE		
macaca SLAM	301	DPCTTIYVAATEPVPESVQETNSITVYASVTLPE		

赤：シグナルペプチド

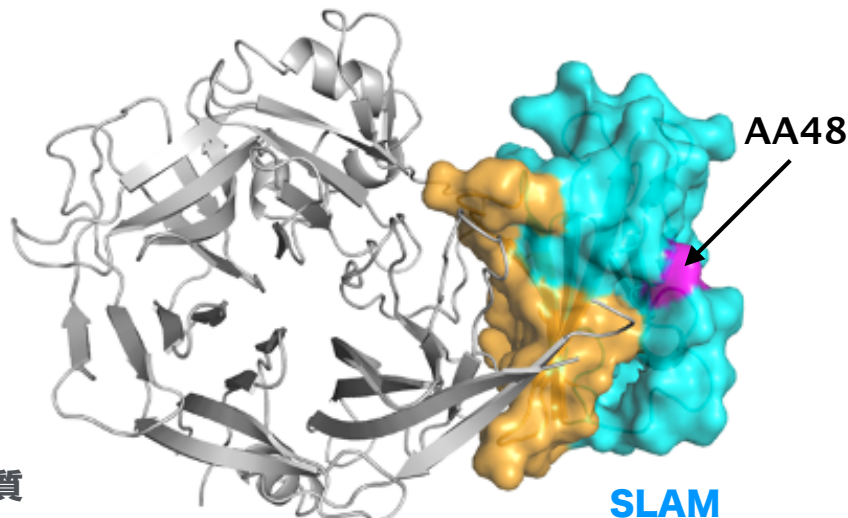
青：Vドメイン

黄：C2ドメイン

緑：膜貫通ドメイン

紫：細胞質ドメイン

(b)



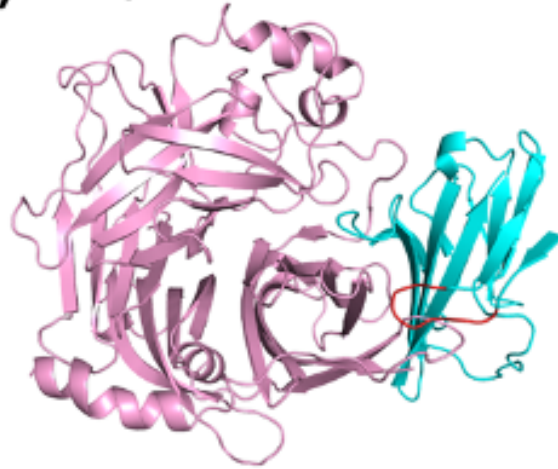
H-タンパク質
(抗原性糖タンパク質)

ヒトSLAM CDVと感染せず
マカクSLAM CDVと感染

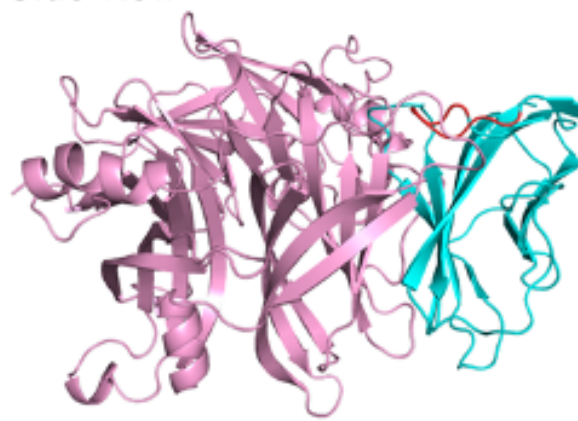
このアミノ酸残基の違いが
CDV (ジステンバーウィルス)
との感染能の違いでは？

マカカSLAMとCDV-Hとのホモロジー構造と相互作用

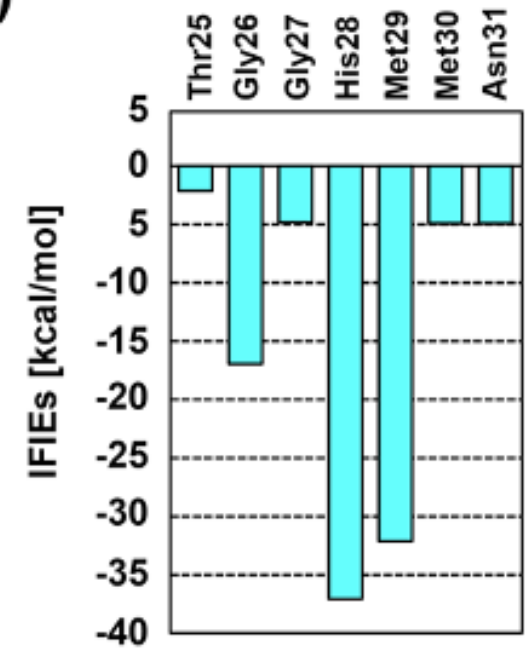
(a) Top view



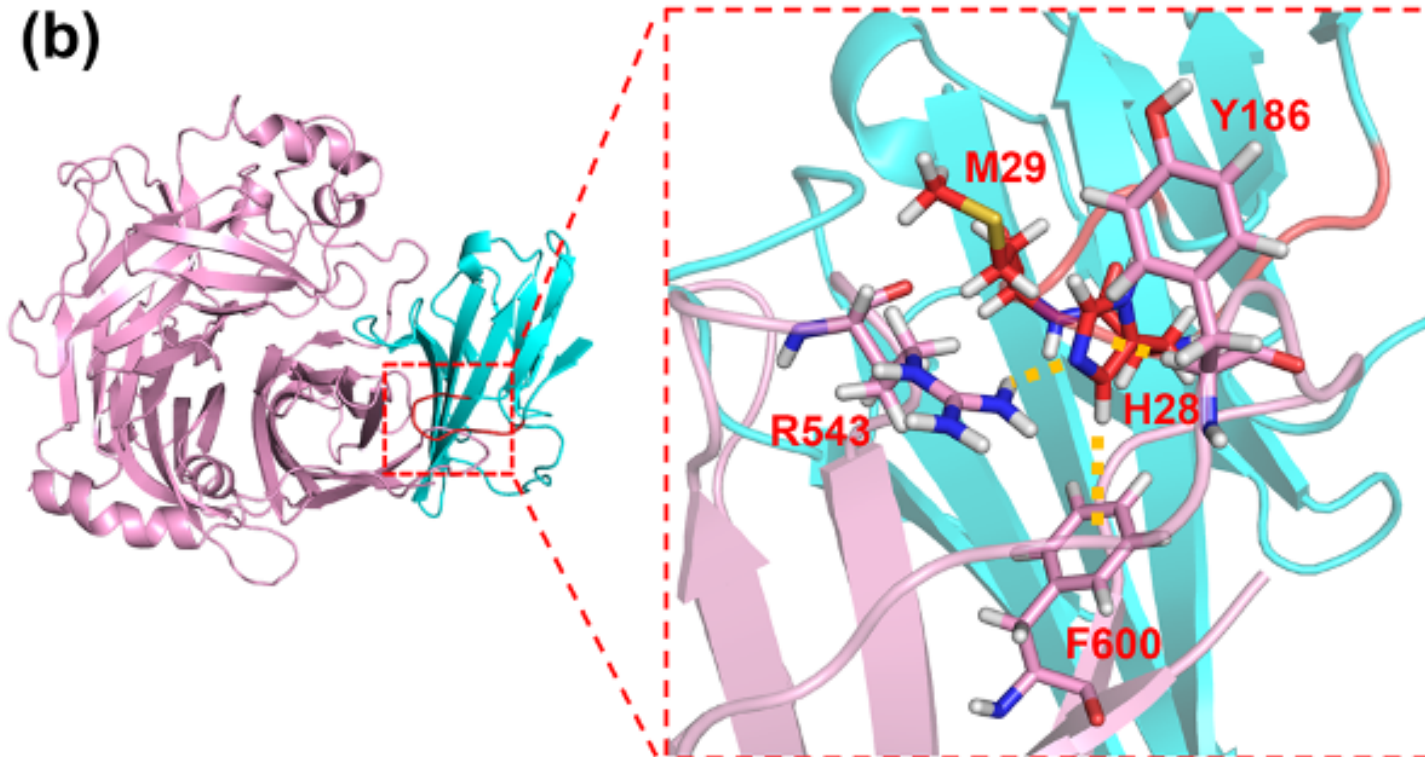
Side view



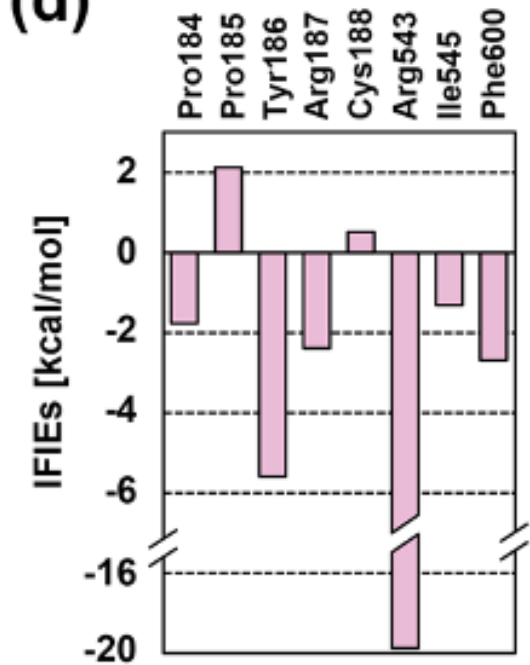
(c)



(b)

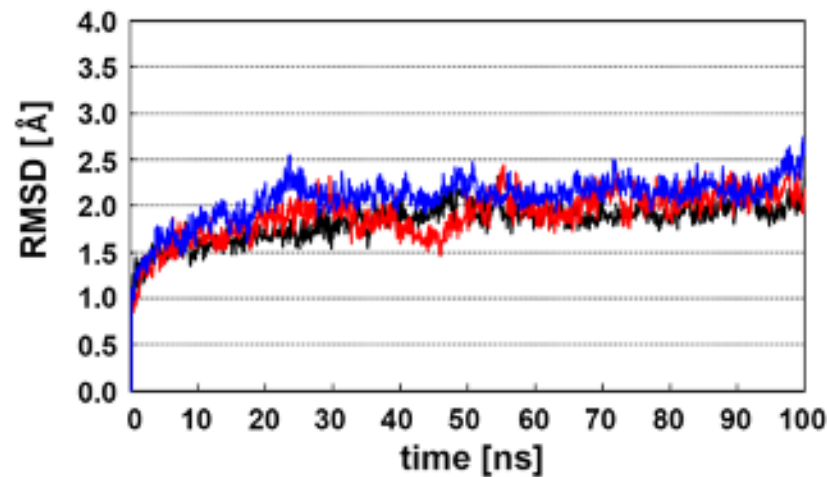


(d)

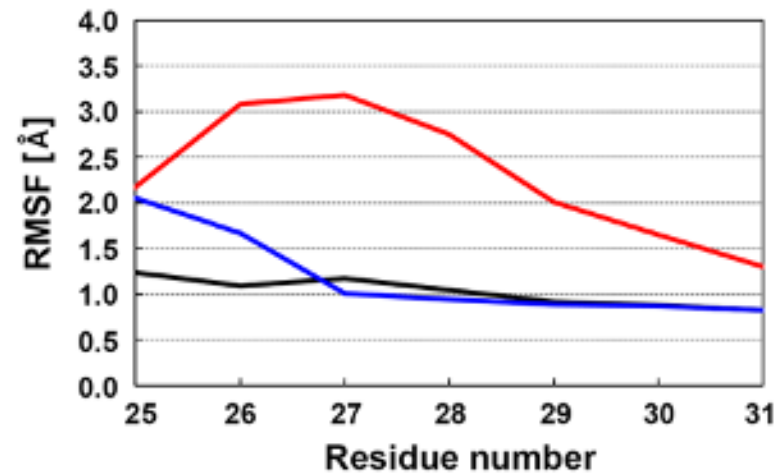


in silico ミュートーションによる変化の違い

(a)



(b)



(c)

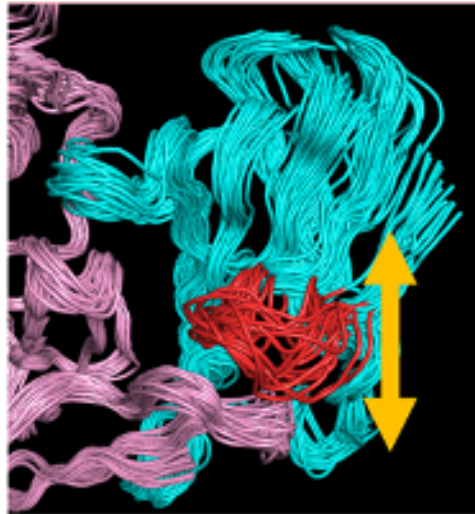
$$\Delta G = -31.8$$

$$\Delta G = -7.2$$

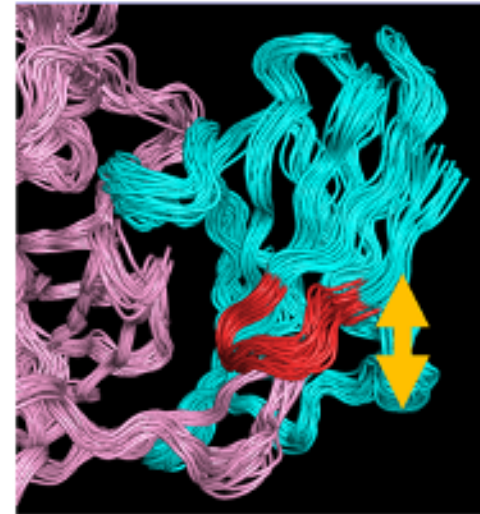
$$\Delta G = -30.9 \quad (\text{in kcal.mol})$$



WT

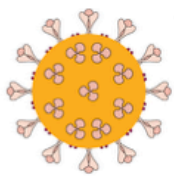


H28R

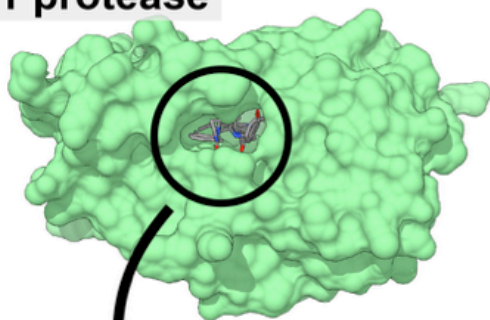


M29S

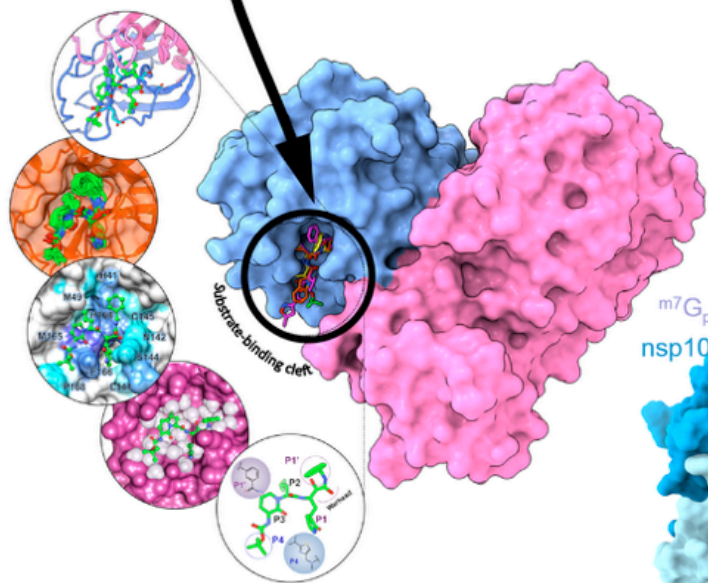
Computational study of COVID-19



HIV-1 protease



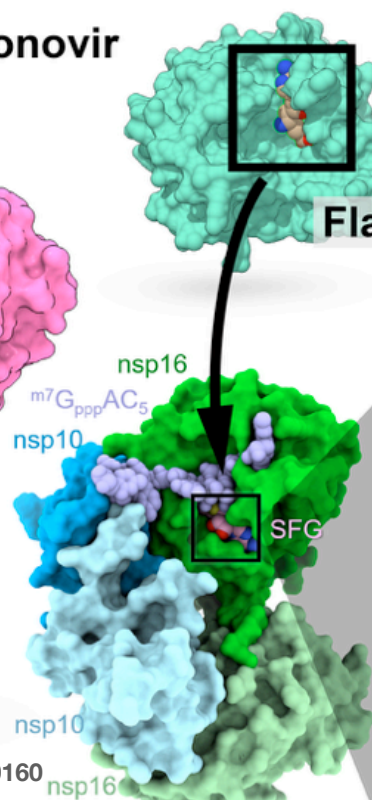
Lopinavir/Ritonovir



SARS-CoV2-3CL^{pro}

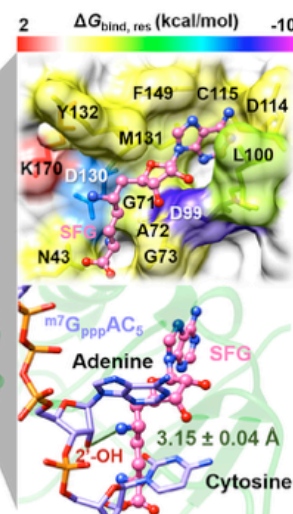
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biochem.0c00160>

SARS-CoV2-MTase

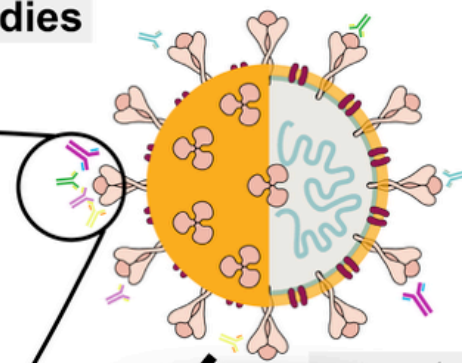


SFG

Flavivirus MTase



SARS-CoV2 Spike protein
Antibodies



receptor

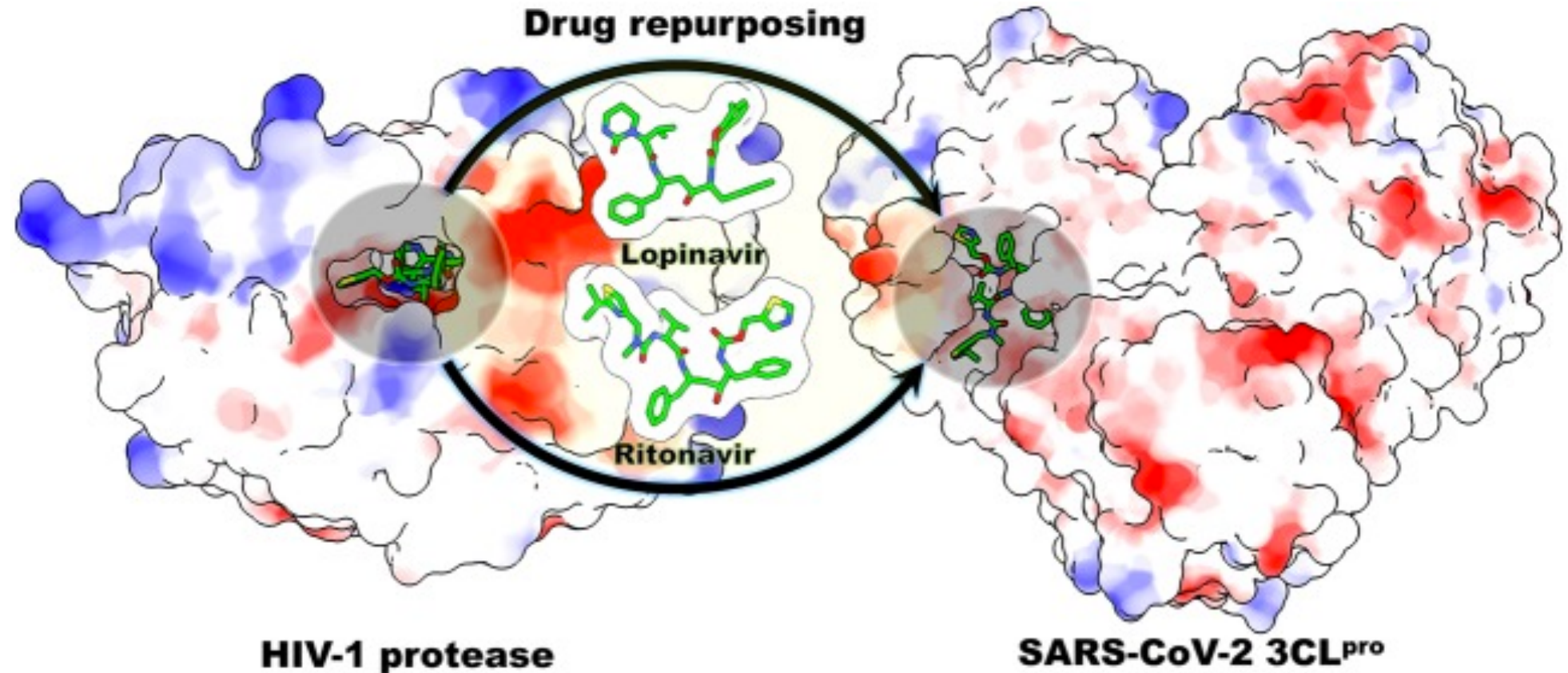
Viral RNA

Translation &
Replication

Viral proteins

Human cell

Covid-19 メインプロテアーゼに対するドラッグリポジショニング



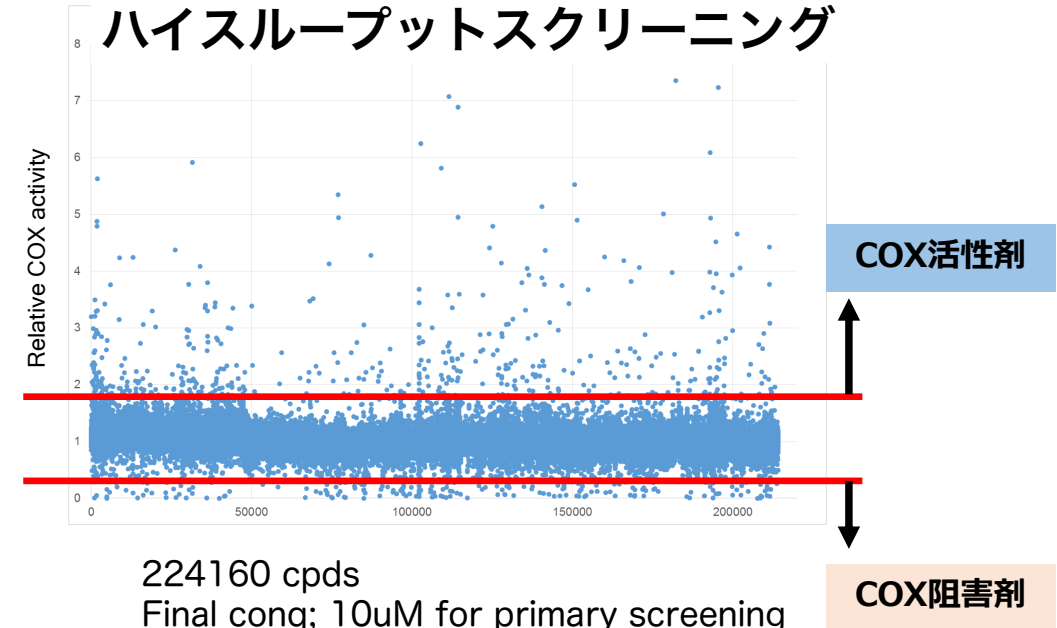
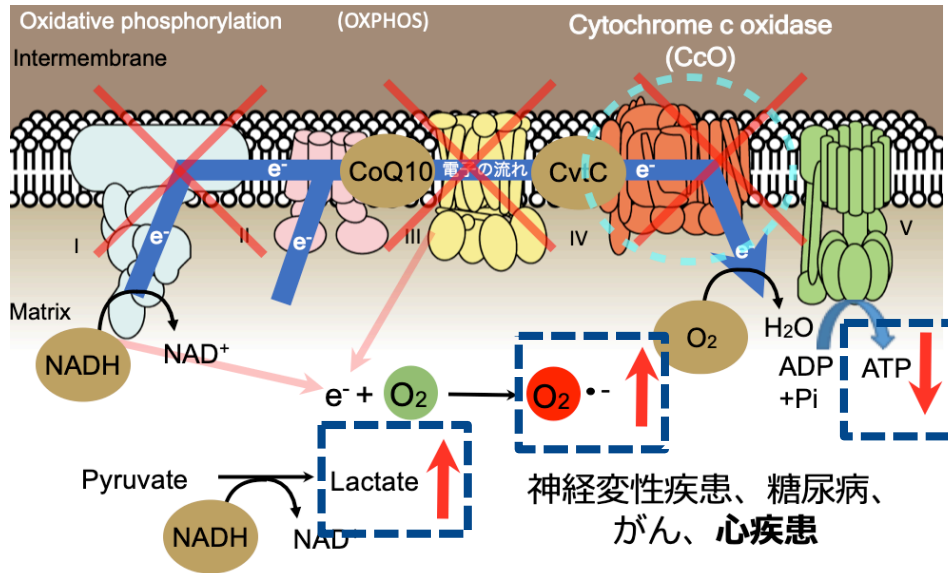
・既存HIV薬（プロテアーゼ阻害剤）であるロピナビル・リトナビル（主にコンビネーションドラッグとして使用される）のドラッグリポジショニング（既存薬の転用）をMD、フラグメント分子軌道（FMO）法を用いて解析、蛍光試薬との相互作用へ展開

B. Nutho, P. Mahalapbutr, [K. Hengphasatporn](#), N.C. Pattarangoon, N. Simanon, [Y. Shigeta](#), S. Hannongbua, T. Rungrotmongkol, "Why Are Lopinavir and Ritonavir Effective against the Newly Emerged Coronavirus 2019? Atomistic Insights into the Inhibitory Mechanisms", *Biochemistry* **59**(18), 1769-1779 (2020).
P. Deetanya, [K. Hengphasatporn](#), [Y. Shigeta](#), T. Rungrotmongkol, K. Wangkanont, "Interaction of 8-Anilidonaphthalene-1-Sulfonate with SARS-CoV-2 Main Protease and Its Application as a Fluorescent Probe for Inhibitor Identification", *Computational and Structural Biotechnology Journal* **19**, 3346-3371 (2021).

AMED研究課題「難治性疾患実用化事業」

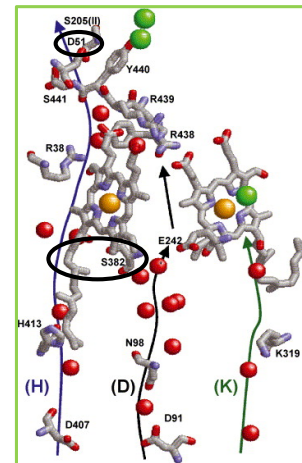
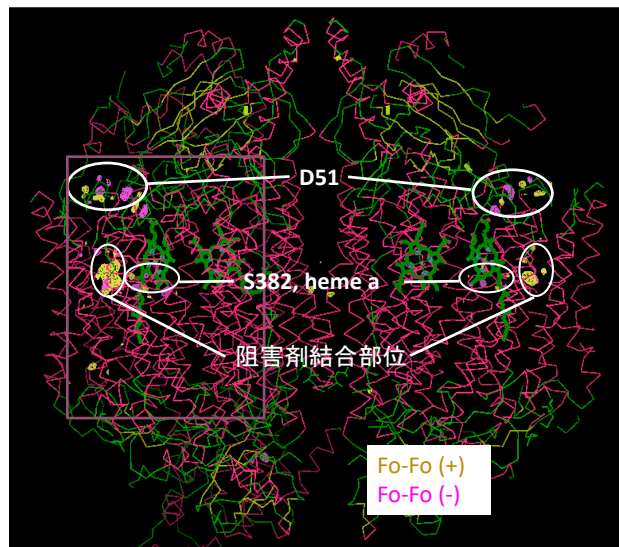
研究代表：新谷泰範（国立循環器病院）

研究分担 150万/3年(2021-2023)



224160 cpds
Final conq; 10uM for primary screening
S/B 2.73, CV (background) 7.3%,
CV (positive control) 5.3%, z' 0.61

呼吸鎖の異常はミトコンドリア病の原因



阻害剤とポケットの位置は結晶構造解析により明らかとなっている

阻害機構は？
活性化メカニズムへの展開