

## 2) フラグメント分子軌道法による生体高分子の計算

中野達也

## Application of fragment molecular orbital (FMO) method to biomacromolecules

Tatsuya Nakano

Kitaura et al. (*Chem. Phys. Lett.* 312, 319-324 (1999)) have proposed an ab initio fragment molecular orbital (FMO) method by which large molecules such as proteins can be easily treated with chemical accuracy. In the ab initio FMO method, a molecule or a molecular cluster is divided into fragments, and the MO calculations on the fragments (monomers) and the fragment pairs (dimers) are performed to obtain the total energy that is expressed as a summation of the fragment energies and inter-fragment interaction energies (IFIEs). In this paper, we provide a brief description of the ab initio FMO method and demonstrate recent applications to the biomacromolecules.

Keywords: FMO, IFIE, MP2, ABINIT-MP, FILM, CAFI, VISCANA, IFIE Map, BioStation Viewer, CDAM

## はじめに

1999年に北浦らにより提唱されたフラグメント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital; FMO) 法は<sup>1-7)</sup>, 分子系をフラグメントに分割し, フラグメントのモノマー, ダイマー (必要に応じてトリマー) の計算から系全体を計算する方法であり, タンパク質やDNAのような巨大分子系全体を量子論的に扱う計算方法として, 近年注目を集めている. FMO法は, 量子力学に基づいて生体分子の電子状態計算を行うことができるため, 分極や電荷移動を伴う分子認識や, 酵素反応, さらには光合成反応のようなタンパク質の励起状態にも適用可能な方法である. FMO法は, フラグメント間相互作用エネルギー (Inter-Fragment Interaction Energy; IFIE) を定量的に計算できるという従来の計算手法にはない大きな特徴があり, 製薬企業においても医薬品 (候補) 分子と標的タンパク質との相互作用解析等に利用が広がっている<sup>8, 9)</sup>. 本稿では, FMO法の概要と, FMO法に基づいた解析方法, 及びその生体高分子への応用について報告し, FMO法の今後について展望する.

1. フラグメント分子軌道法<sup>1-7)</sup>

FMO法では, 分子を  $N_f$  個のフラグメント (モノマー) に分割したときの, モノマー  $I$  のハミルトニアンを  $H_I$  としして次のSchrödinger方程式を解く.

$$H_I \Psi_I = E_I^{\text{elec}} \Psi_I \quad (1)$$

ここで  $\Psi_I$  は, モノマーの波動関数,  $E_I^{\text{elec}}$  はモノマーの電子エネルギーである. モノマーのハミルトニアンには周囲の  $N_f - 1$  個のモノマーからの環境静電ポテンシャル (静電相互作用) が含まれている. このため, 全てのモノマーについて電子分布が自己無撞着 (self consistent) になるまで繰り返し計算 (monomer self consistent charge計算, モノマー SCC計算) を行う. 次に, 全てのフラグメントペア (ダイマー)  $IJ$  の組み合わせについても, モノマーと同様に, 次のSchrödinger方程式を解く.

$$H_{IJ} \Psi_{IJ} = E_{IJ}^{\text{elec}} \Psi_{IJ} \quad (2)$$

ダイマーのハミルトニアンは環境静電ポテンシャルが  $N_f - 2$  個のモノマーからの寄与となる以外, モノマーのものと同じである. Fig. 1にFMO法の計算手順を示した.

核-核反発エネルギーを含めた分子の全エネルギー  $E$  は, モノマーエネルギー  $E_I$  及びダイマーエネルギー  $E_{IJ}$  を用いて, 近似的に次のように計算できる.

$$E_I = E_I^{\text{elec}} + \sum_{\substack{A>B \\ A,B \in I}} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{B} - \mathbf{A}|} \quad (3)$$

To whom correspondence should be addressed:

Tatsuya Nakano: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1268; Fax: +81-3-3700-9788; E-mail: nakano@nihs.go.jp

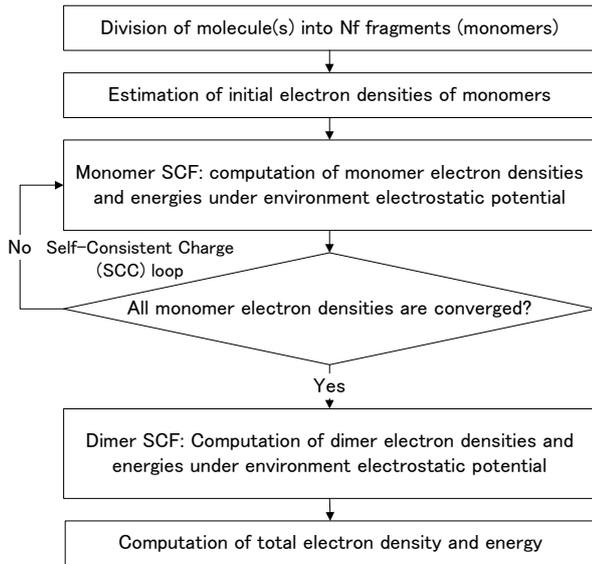


Fig. 1 Flowchart of the FMO scheme

$$E_{IJ} = E_{IJ}^{\text{elec}} + \sum_{\substack{A>B \\ A,B \in IJ}} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{B} - \mathbf{A}|} \quad (4)$$

$$E \cong \sum_{I>J} E_{IJ} - (N_f - 2) \sum_I E_I \quad (5)$$

ここで、 $A$ 、 $B$ は原子核の座標、 $Z_A$ 、 $Z_B$ は核電荷であり、式(3)、(4)の第2項が、それぞれモノマー、ダイマーの核-核反発エネルギー項となる。式(5)がFMO法の基本となる式である。また分子の全電子密度  $\rho(\mathbf{r})$  も、モノマーの電子密度  $\rho_I(\mathbf{r})$  とダイマーの電子密度  $\rho_{IJ}(\mathbf{r})$  から同様に計算できる。

$$\rho(\mathbf{r}) \cong \sum_{I>J} \rho_{IJ}(\mathbf{r}) - (N_f - 2) \sum_I \rho_I(\mathbf{r}) \quad (6)$$

FMO法による全エネルギーの式(5)を変形すると、全エネルギーを、フラグメント間相互作用エネルギー (Inter-Fragment Interaction Energy; IFIE)  $\Delta\tilde{E}_{IJ}$  と環境静電ポテンシャルからの寄与を除いたモノマーのエネルギー  $E'_I$  の和

$$E = \sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ} + \sum_I E'_I \quad (7)$$

で表すことができる。IFIEを用いることで、例えば受容体タンパク質の各アミノ酸残基とリガンドとの相互作用を定量的に解析することができる。

分子のフラグメントへの分割方法は、FMO法の計算精度に影響する。一般論としてフラグメントサイズを大きくすることで計算精度は向上するが、計算時間も増大するため、バランスのとれた分割方法が必要となる。ポリペプチドの場合、デフォルトではFig. 2に示したように  $\alpha$  炭素の位置で、1残基単位で分割する。また、Fig. 2中の二個の点は、切断した共有結合の電子対を、どちら

のフラグメントに割り当てるかを示している。

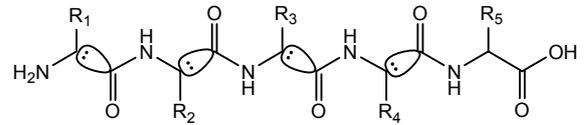


Fig. 2 Fragmentation of polypeptide

ジスルフィド結合で結合した二つのシステイン残基はFig. 3に示したように分割する。

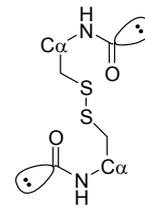


Fig. 3 Fragmentation of disulfide bond

DNAについてはFig. 4に示したように分割する。Fig. 4(b)のように塩基をフラグメントに分けると計算精度は低下するが、塩基間の相互作用を解析する場合に有用である。

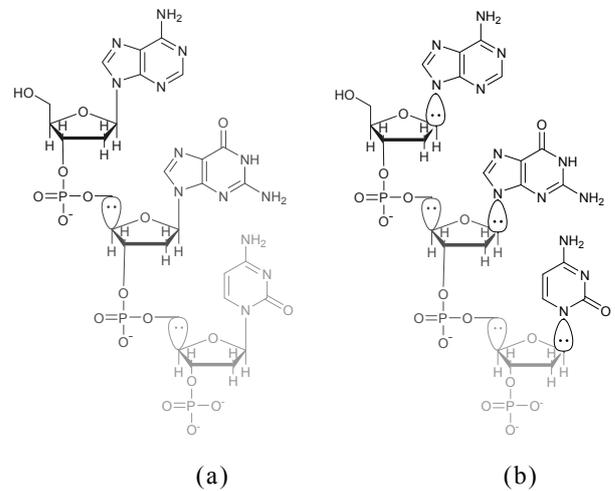


Fig. 4 Fragmentation of DNA

タンパク質のような生体系分子においては、水素結合やvan der Waals相互作用が重要である。Schrödinger方程式の解法として最も基本的なHartree-Fock (HF) 法レベルでも、水素結合については半定量的に記述することが可能であるが、分散力に基づいたvan der Waals相互作用を記述するためには、電子同士が避けあう電子相関という効果を考慮することが必須である。このような計算には、化学反応の計算によく用いられる密度汎関数

法は、分散力を適切に記述することができないため、必ずしも適しておらず、電子相関の計算法の中では、2次のMøller-Plesset摂動論に基づいたMP2法が計算コストの面から第一選択となる。FMO法では、モノマー及びダイマーのMP2相関エネルギーを、それぞれ  $E_I^{\text{MP2}}$ ,  $E_{IJ}^{\text{MP2}}$  とすると、系全体のMP2相関エネルギー  $E^{\text{MP2}}$  は、

$$E^{\text{MP2}} = \sum_{I>J} E_{IJ}^{\text{MP2}} - (N_f - 2) \sum_I E_I^{\text{MP2}} \quad (8)$$

で計算される。したがって、IFIEのMP2法による補正  $\Delta E_{IJ}^{\text{MP2}}$  は、

$$\Delta E_{IJ}^{\text{MP2}} = E_{IJ}^{\text{MP2}} - E_I^{\text{MP2}} - E_J^{\text{MP2}} \quad (9)$$

となる。この  $\Delta E_{IJ}^{\text{MP2}}$  から、フラグメント間のvan der Waals相互作用エネルギーを見積もることができる<sup>10-13</sup>。

FMO法が使用できるプログラムとしては、産業技術総合研究所のFedorovらによるGAMESSへの実装<sup>14</sup>、現在文部科学省次世代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」プロジェクトを中心に開発が進められているABINIT-MPなどがある<sup>6</sup>。ABINIT-MPの公開版は東京大学生産技術研究所の革新的シミュレーション研究センターのホームページ (<http://www.ciss.iis.u-tokyo.ac.jp/dl/index.php>) から無償でダウンロードできる。

## 2. フラグメント分子軌道法に基づいた解析手法

FMO法は、フラグメント間の相互作用エネルギー(IFIE)解析が行えることが大きな特徴である。ABINIT-MPには、望月により開発された高速なMP2計算エンジンが実装されており、FMO-MP2計算がPCクラスタでも実用的な計算時間で可能になっている<sup>11-13</sup>。式(9)の  $\Delta E_{IJ}^{\text{MP2}}$  で見積もられる、生体系で重要な分散力に基づくvan der Waals相互作用やCH/ $\pi$ 相互作用をルーチ的に解析できるようになり、製薬企業を含めた産業界での利用も広がってきている<sup>8,9</sup>。

石川らにより開発されたfragment interaction analysis based on local MP2 (FILM) は<sup>15,16</sup>、 $\Delta E_{IJ}^{\text{MP2}}$  で見積もられる分散力を、local MP2 (LMP2) 法を用いることで、軌道レベルで解析することを可能にするツールである。FILMでは、フラグメント間の分散力  $\Delta E_{IJ}^{\text{LMP2}}$  をフラグメント  $I$  および  $J$  に局在化した軌道  $i, j$  間の pair correlation energy  $\varepsilon_{ij}$  の和で表す。

$$\Delta E_{IJ}^{\text{LMP2}} = \sum_{i \in I} \sum_{j \in J} \varepsilon_{ij} \quad (10)$$

この  $\varepsilon_{ij}$  を相互作用に重要な官能基に属する局在化軌道について足し合わせることで、官能基単位のvan der Waals相互作用やCH/ $\pi$ 相互作用の見積もりが可能とな

る。

望月により開発されたConfiguration Analysis for Fragment Interaction (CAFI) は<sup>17</sup>、生体系あるいは溶液系で重要な水素結合に伴う電荷移動(CT)に注目して、フラグメント間の水素結合ネットワークのトポロジーを定量的・可視的に解析する手法である (Fig. 5)。

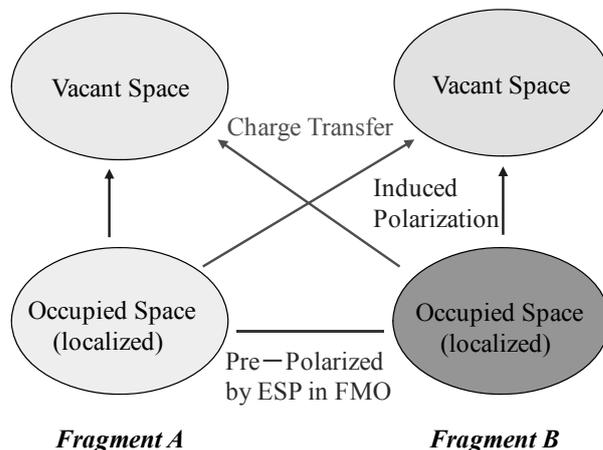


Fig. 5 Conceptual scheme of CAFI

CAFIをABINIT-MPへ実装することにより、生体系において重要な水素結合について、相互作用の大きさだけでなく、電荷移動の向きや移動量についても解析することが可能となった。また、ABINIT-MP用の可視化・解析ソフトウェアであるBioStation Viewerに、CAFIの可視化機能を組み込み、グラフィカルな解析を可能にした。

甘利らにより開発されたVisualized Cluster Analysis of Protein-Ligand Interaction (VISCANA) は、受容体タンパク質に対して複数のリガンドとのIFIE解析を行い、得られたIFIEに基づいたクラスター解析により、受容体結合におけるリガンドの類似性を抽出する手法である<sup>18</sup>。解析するリガンドの種類を ligand 1, ..., ligand  $L$  とし各フラグメント (アミノ酸残基) の番号を 1, ...,  $N$  とするとIFIEを要素とする受容体-リガンド相互作用マトリクスは次のように表すことができる。

$$\begin{pmatrix} \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}1,1} & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}1,2} & \cdots & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}1,N} \\ \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}2,1} & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}2,2} & \cdots & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}2,N} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}L,1} & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}L,2} & \cdots & \Delta \tilde{E}_{\text{ligand}L,N} \end{pmatrix} \quad (11)$$

VISCANAでは、個々の  $\Delta E_{JK}$  を、一つのセルで表示し、その大きさによって色分けすることで受容体-リガンド相互作用マトリクスを可視化している。例えば、リガンドとアミノ酸残基が結合的に相互作用している ( $(\Delta \tilde{E}_{JK} < 0)$ ) 場合はセルの色を赤色で表示し、反発

的に相互作用している ( $(\Delta\tilde{E}_{IK} > 0)$ ) 場合は青色で表示している。また、 $\Delta\tilde{E}_{IK}$ の絶対値の大きさに比例するように色の濃さを変えることで、その大きさが視覚的に分かるようにしている。受容体-リガンド相互作用マトリクスの各行間の距離 (非類似度)  $d_{IJ}$  を、ユークリッド平方距離

$$d_{IJ} = \sum_{K=1}^N (\Delta\tilde{E}_{IK} - \Delta\tilde{E}_{JK})^2 \quad (12)$$

で定義すると、 $d_{IJ}$  を用いて階層的クラスター解析を行うことができる。階層的クラスター解析には色々な手法があるが、VISCANAでは、クラスターの分離能に優れていた最長距離法をデフォルトにしている。クラスター解析の結果を、樹形図を用いて可視化することは一般的に行われているが、VISCANAでは、受容体-リガンド相互作用マトリクスの行を樹形図と一対一に対応するように並び替え、クラスター解析の結果とIFIE解析の結果を一つの図として可視化した点に大きな特徴がある。VISCANAもBioStation Viewerに実装されている。また、受容体-リガンド相互作用マトリクスが定義できれば、例えば分子力場に基づく相互作用解析にも適用できる。

IFIE解析の一つの方法として、BioStation Viewerには、栗崎らにより開発された全てのIFIEを網羅的に可視化する2次元マップ (IFIEマップ) の表示機能が実装されている<sup>19)</sup>。Fig. 6にDNA-タンパク質相互作用のIFIEマップの例を示した。

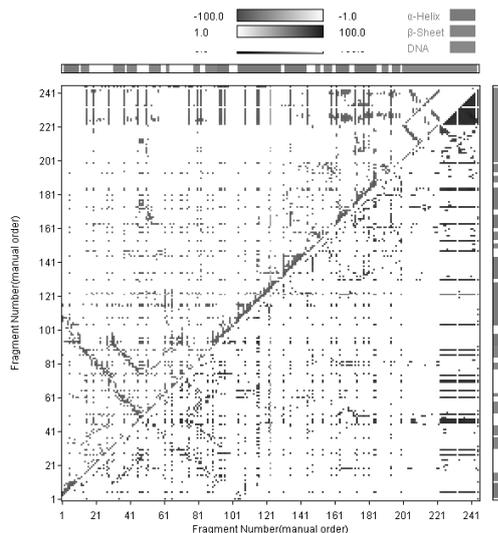


Fig. 6 Example of IFIE Map

各軸はフラグメント番号を表し、対角線の上側に引力的な相互作用 (赤色)、下側に斥力的な相互作用 (青色) が表示されている。また、色の濃さが相互作用の強さを表している (赤青を分けずに一緒に表示することもでき

る)。これによりタンパク質内部相互作用、DNA 内部相互作用、DNA-タンパク質間相互作用が網羅的に可視化でき、IFIE がタンパク質の2次構造やDNAの二重らせん構造を反映している様子などを解析することができる。

### 3. フラグメント分子軌道法の応用事例と今後の展開

ダイマーまで考慮したFMO2法の場合、離れたモノマーからなるダイマーの計算にdimer-ES近似を適用すると、計算量はオーダー  $N^2$  となるが、タンパク質の構造ゆらぎを統計的に解析したり、自由エネルギーの評価を行うためには複数構造のサンプリングを行う必要があり、さらなる高速化が必要となる。計算コストの中では、2電子反発積分の生成と縮約処理が大きな比重を占めているため、精度を保持したまま如何に効率よく近似的に扱うかがポイントとなる。今回、CDAMと呼ぶコレスキー分解を用いて、応用計算上重要なMP2計算を劇的に加速することに成功した<sup>20)</sup>。Fig. 7は、HIV-1プロテアーゼとロピナビルの複合体をFMO-MP2/6-31G計算で行った場合のタイミングで、10倍以上も処理時間が速くなっていることが分かる。今後は、HF計算やエネルギー微分計算にもCDAMを導入していく予定である。また、FMO法に関する研究を継続して行っていくと共に、重症薬疹の発症メカニズムについて分子レベルの知見を得ることを目標に、副作用に関連する遺伝子マーカー産物と原因薬物の分子間相互作用について、FMO計算に基づいた解析を行って行きたい。

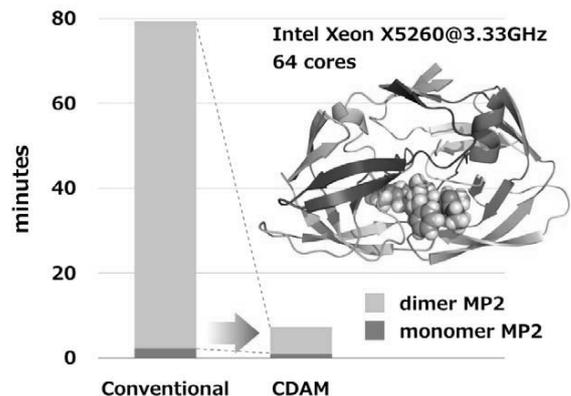


Fig. 7 Speed-up of FMO-MP2 calculation by CDAM

### 参考文献

- 1) Fedorov, D. G., Kitaura, K.: Modern methods for theoretical physical chemistry of biopolymers, Starikov, E. B., Lewis, J. P., Tanaka, S., Eds., Elsevier (2006) pp. 3-38.
- 2) Nakano, T., Mochizuki, Y., Fukuzawa, K., Amari,

- S., Tanaka, S.: Modern methods for theoretical physical chemistry of biopolymers, Starikov, E. B., Lewis, J. P., Tanaka, S., Eds., Elsevier (2006) pp. 39-52.
- 3) Fedorov, D. G., Kitaura, K.: J. Phys. Chem. A 111, 6904-6914 (2007)
- 4) 中野達也, 望月祐志, 甘利真司, 小林将人, 福澤薫, 田中成典: J. Comput. Chem. Jpn. 6, 173-184 (2007)
- 5) 福澤薫, 中野達也, 加藤昭史, 望月祐志, 田中成典: J. Comput. Chem. Jpn. 6, 185-198 (2007)
- 6) 佐藤文俊, 中野達也, 望月祐志 編著: 生体分子量子化学計算, 森北出版, 東京, 2008.
- 7) Fedorov, D. G., Kitaura, K., Eds.: The Fragment Molecular Orbital Method: Practical Applications to Large Molecular Systems, CRC Press, Boca Raton, 2009.
- 8) Ozawa, T., Okazaki, K.: J. Comput. Chem. 29, 2656-2666 (2008)
- 9) Ozawa, T., Tsuji, E., Ozawa, M., Handa, C., Mukaiyama, H., Nishimura, T., Kobayashi, S., Okazaki, K.: Bioorg. Med. Chem. 16, 10311-10318 (2008)
- 10) Fedorov, D. G., Kitaura, K.: J. Chem. Phys. 121, 2483-2490 (2004)
- 11) Mochizuki, Y., Nakano, T., Koikegami, S., Tanimori, S., Abe, Y., Nagashima, U., Kitaura, K.: Theor. Chem. Acc. 112, 442-452 (2004)
- 12) Mochizuki, Y., Koikegami, S., Nakano, T., Amari, S., Kitaura, K.: Chem. Phys. Lett. 396, 473-479 (2004)
- 13) Mochizuki, Y., Yamashita, K., Murase, T., Nakano, T., Fukuzawa, K., Takematsu, K., Watanabe, H., Tanaka, S.: Chem. Phys. Lett. 457, 396-403 (2008)
- 14) Fedorov, D. G., Olson, R. M., Kitaura, K., Gordon, M. S., Koseki, S.: J. Comput. Chem. 25, 872-880 (2004)
- 15) Ishikawa, T., Mochizuki, Y., Amari, S., Nakano, T., Tokiwa, H., Tanaka, S., Tanaka, K.: Theor. Chem. Acc. 118, 937-945 (2007)
- 16) Ishikawa, T., Mochizuki, Y., Amari, S., Nakano, T., Tanaka, S., Tanaka, K.: Chem. Phys. Lett. 463, 189-194 (2008)
- 17) Mochizuki, Y., Fukuzawa, K., Kato, A., Tanaka, S., Kitaura, K., Nakano, T.: Chem. Phys. Lett. 410, 247-253 (2005)
- 18) Amari, S., Aizawa, M., Zhang, J., Fukuzawa, K., Mochizuki, Y., Iwasawa, Y., Nakata, K., Chuman, H., Nakano, T.: J. Chem. Inf. Model. 46, 221-230 (2006)
- 19) Kurisaki, I., Fukuzawa, K., Komeiji, Y., Mochizuki, Y., Nakano, T., Imada, J., Chmielewski, A., Rothstein, S. M., Watanabe, H., Tanaka, S.: Biophys. Chem. 130, 1-9 (2007)
- 20) Okiyama, Y., Nakano, T., Yamashita, K., Mochizuki, Y., Taguchi, N., Tanaka, S.: Chem. Phys. Lett. 490, 84-89 (2010)