2023/10/23 CBI学会2023年大会

第32回FMO研究会　FMODB実践チュートリアル

-生体高分子の認識機構のFMO法による解析：FMO計算初心者から中級者に向けて-

FMODBを活用したリガンド–タンパク質間の動的平均相互作用解析

松本　大夢

九州大学大学院　工学府　応用化学専攻

Copyright © Kyushu University. All rights reserved.

KYUSHU UNIVERSITY

本チュートリアルの内容

1. FMODBを用いた定量的相互作用解析

   [題材]サイクリン依存性キナーゼ 2 (CDK2)のMD snapshotを使用したFMO計算データ

   – FMODBが提供する機能の紹介と基本操作
     - FMO計算データの様々な検索方法
     - IFIE/PIEDAデータのダウンロード方法
     - 構造揺らぎを考慮した動的平均FMO相互作用エネルギーと活性値との相関を導出

2. 構造揺らぎを考慮した相互作用の視覚化・解釈

   [題材] 1.で用いた動的IFIEデータ / ABMPTools / BioStation Viewer

   – ABMPTools(FMO計算・解析支援ツール)の紹介
     - 動的平均.cpfファイルの作成

   – BioStation Viewer によるFMO計算結果の可視化
     - 基本操作・機能紹介
     - 相互作用比較 結晶構造 vs. 動的平均

3. 構造揺らぎ考慮+αによる相互作用解析・計算

   [題材] CDK2以外のターゲットの相互作用評価。構造揺らぎ + 周辺溶媒効果 + リガンド変形

本チュートリアルの内容

1. FMODBを用いた定量的相互作用解析

   [題材]サイクリン依存性キナーゼ 2 (CDK2)のMD snapshotを使用したFMO計算データ

   – FMODBが提供する機能の紹介と基本操作
     - FMO計算データの様々な検索方法
     - IFIE/PIEDAデータのダウンロード方法
     - 構造揺らぎを考慮した動的平均FMO相互作用エネルギーと活性値との相関を導出

2. 構造揺らぎを考慮した相互作用の視覚化・解釈

   [題材] 1.で用いた動的IFIEデータ / ABMPTools / BioStation Viewer

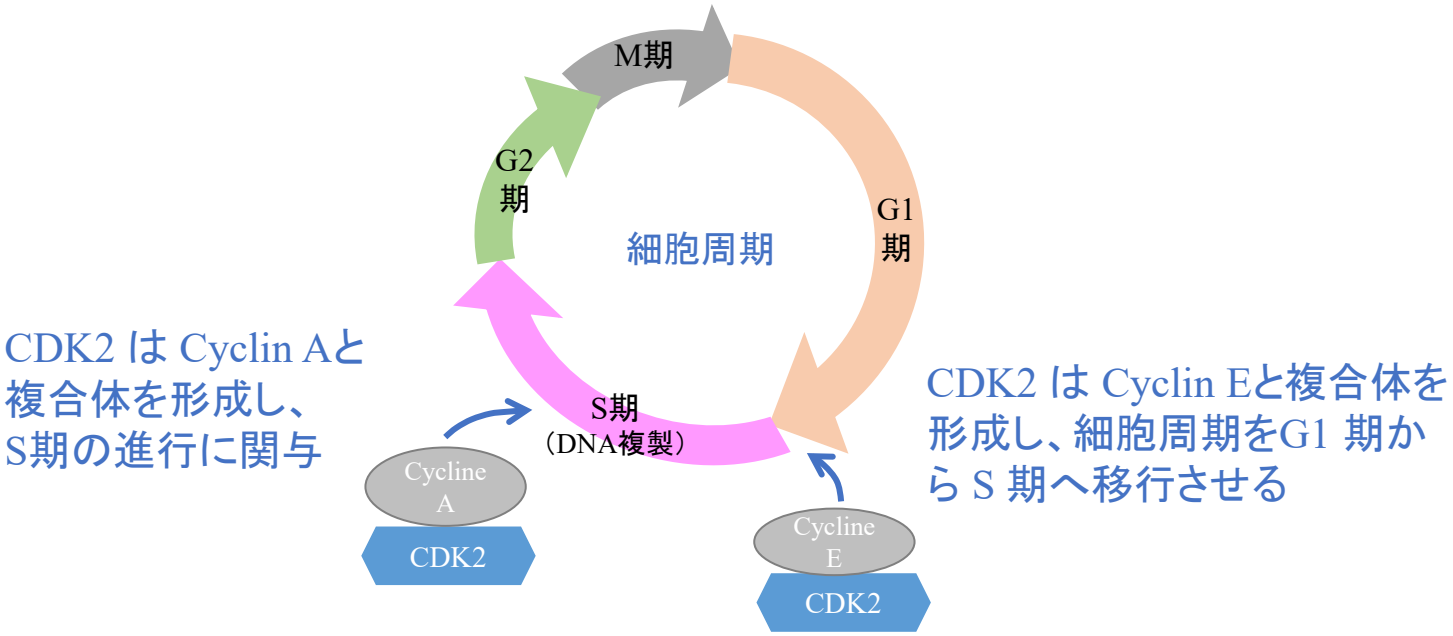
   – ABMPTools(FMO計算・解析支援ツール)の紹介
     - 動的平均.cpfファイルの作成
   – BioStation Viewer によるFMO計算結果の可視化
     - 基本操作・機能紹介
     - 相互作用比較 結晶構造 vs. 動的平均

3. 構造揺らぎ考慮+αによる相互作用解析・計算

   [題材] CDK2以外のターゲットの相互作用評価。構造揺らぎ + 周辺溶媒効果 + リガンド変形

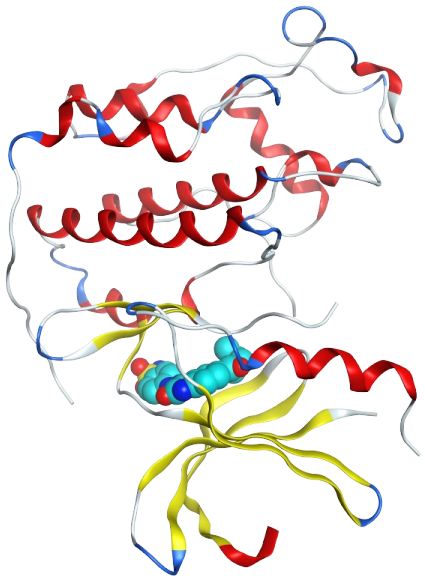
CDK2（サイクリン依存性キナーゼ2）

- サイクリン依存性キナーゼ（CDK）ファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼ
- サイクリンとCDK2が結合することにより、細胞周期の期（phase）を進める役割を果たす
  - ◆リン酸化によりCDK2が活性化することで、細胞周期が進む
- 活性化と調節異常は腫瘍増殖に関連しており、抗がん剤の開発候補である
  - ◆ 阻害剤と結合するとS期に移行しなくなり（G1/S 期チェックポイント）、DNAに損傷を受けた細胞のがん化を妨ぐことができる

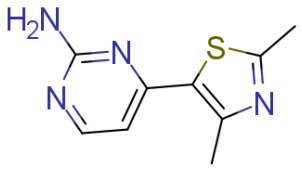


CDK2阻害剤

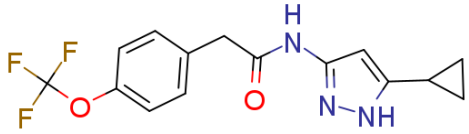
- CDK2の6つのATP競合阻害剤
  - CS12, CS9, CS242, CS245, CS246, CS262（中性リガンド）



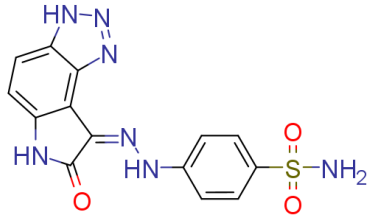
PDB: 4FKW



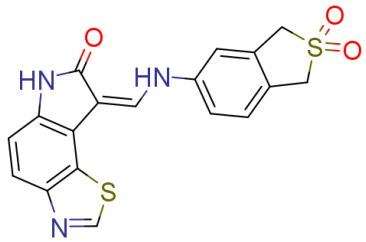
CS12 (PDB ID: 4FKL)
MW = 206.3



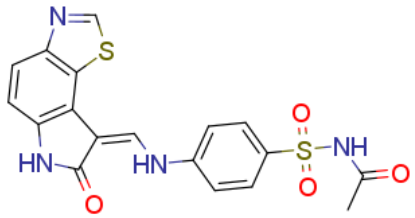
CS9 (PDB ID: 4FKI)
MW = 325.3



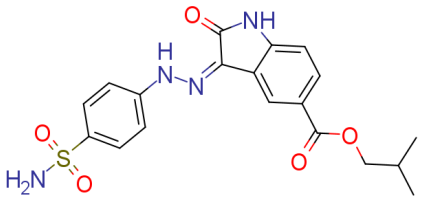
CS242 (PDB ID: 4FKQ)
MW = 357.4



CS245 (PDB ID: 4FKR)
MW = 383.4



CS246 (PDB ID: 4FKS)
MW = 414.5



CS262 (PDB ID: 4FKW)
MW = 416.5

6つの複合体（X 線結晶構造）のリガンド

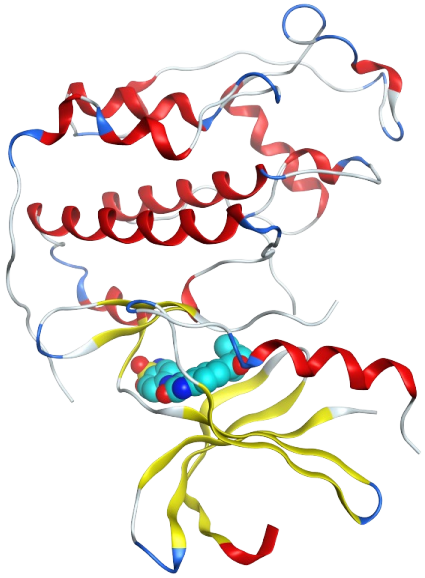
CDK2阻害剤の実験的な結合自由エネルギー

- Community Structure–Activity Resource (CSAR)データベースから取得

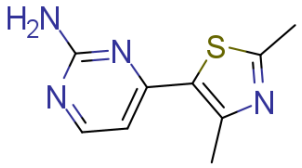
Binding free energy (Experiment)

$$\Delta G_{\mathrm{exp}} = -RT\ \ln(1/K_d)$$

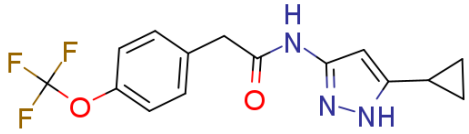
R: ガス定数
T: 絶対温度



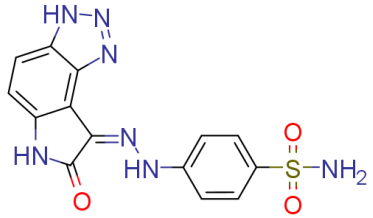
PDB: 4FKW



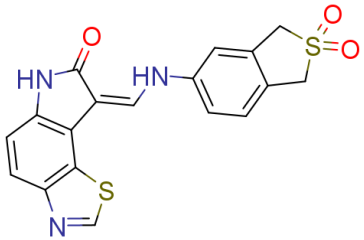
CS12 (PDB ID: 4FKL)
MW = 206.3
ΔG_{exp} = -4.88 [kcal/mol]



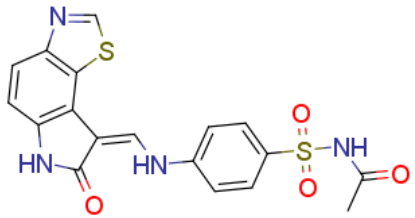
CS9 (PDB ID: 4FKI)
MW = 325.3
ΔG_{exp} = -6.50 [kcal/mol]



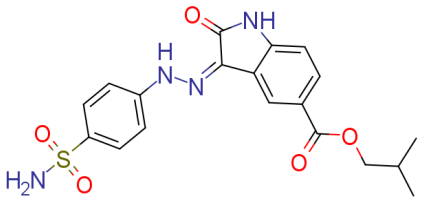
CS242 (PDB ID: 4FKQ)
MW = 357.4
ΔG_{exp} = -8.56 [kcal/mol]



CS245 (PDB ID: 4FKR)
MW = 383.4
ΔG_{exp} = -9.06 [kcal/mol]



CS246 (PDB ID: 4FKS)
MW = 414.5
ΔG_{exp} = -9.15 [kcal/mol]



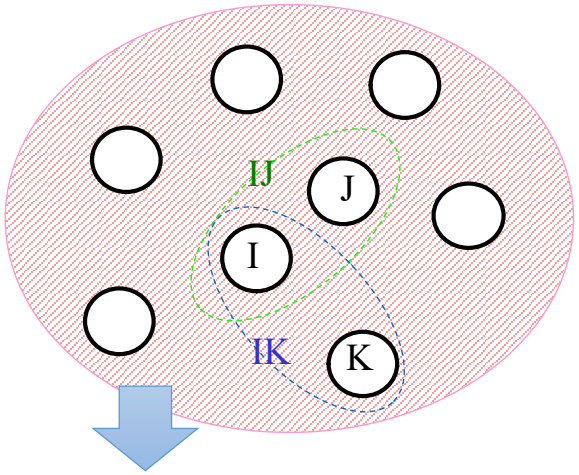
CS262 (PDB ID: 4FKW)
MW = 416.5
ΔG_{exp} = -10.00 [kcal/mol]

6つの複合体（X 線結晶構造）のリガンド

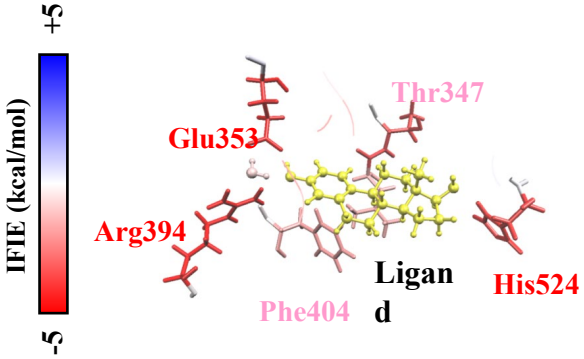
フラグメント分子軌道(FMO)法

1999年に北浦和夫教授（京大）らが提案した日本初のfull QM手法

K. Kitaura *et al.*, *CPL* (1999)
S. Tanaka, *et al.*, *PCCP* (2014)
D.G. Fedorov *et al.*, *JCC* (2006)



巨大分子をフラグメントに分割
（アミノ酸残基、リガンド単位）



全エネルギー：

$$E_{\mathrm{total}} = \sum_{I} E'_I + \sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ} + \sum_{I>J>K} \Delta\tilde{E}_{IJK} + \sum_{I>J>K>L} \Delta\tilde{E}_{IJKL} + \cdots$$

FMO2ではモノマーとダイマーの
エネルギーから全エネルギーを算出

フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE, PIE)

PIEDA (Pair Interaction Energy Decomposition Analysis)：
IFIEを各エネルギー成分に分割

$$\Delta\tilde{E}_{IJ} = \Delta E_{IJ}^{\mathrm{ES}} + \Delta E_{IJ}^{\mathrm{EX}} + \Delta E_{IJ}^{\mathrm{CT+mix}} + \Delta E_{IJ}^{\mathrm{DI}}$$

静電相互作用　交換反発相互作用　電荷移動相互作用　分散力相互作用

動的平均(DA-FMO)相互作用エネルギー

リガンドのFMOによる相互作用エネルギー

Total IFIE :
フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE, PIE)

$$\Delta\tilde{E}_{IJ} = \underbrace{\Delta E_{IJ}^{\mathrm{ES}}}_{\text{静電相互作用}} + \underbrace{\Delta E_{IJ}^{\mathrm{EX}}}_{\text{交換反発相互作用}} + \underbrace{\Delta E_{IJ}^{\mathrm{CT+mix}}}_{\text{電荷移動相互作用}} + \underbrace{\Delta E_{IJ}^{\mathrm{DI}}}_{\text{分散力相互作用}}$$

ES　EX　CT+mix　DI

リガンドのDA-FMOベースの相互作用エネルギー

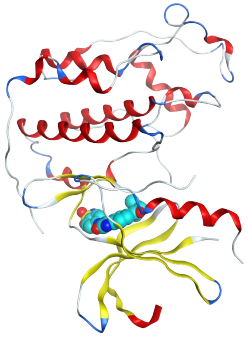
動的平均(DA-FMO)
相互作用エネルギー

$$\langle \Delta E^{FMO} \rangle = \underbrace{\langle \Delta E^{FMO} \rangle_{pl}}_{\text{タンパク質ーリガンドのIFIE}} + \underbrace{\langle \Delta E^{FMO} \rangle_{wl}}_{\text{水ーリガンドのIFIE}} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\left(\Delta E_i^{FMO}\right)$$

i：MD snapshotのインデックス
N: MD snapshotの総数

FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

[K. Takaba, *J. Comput. Chem.*, 2022.]



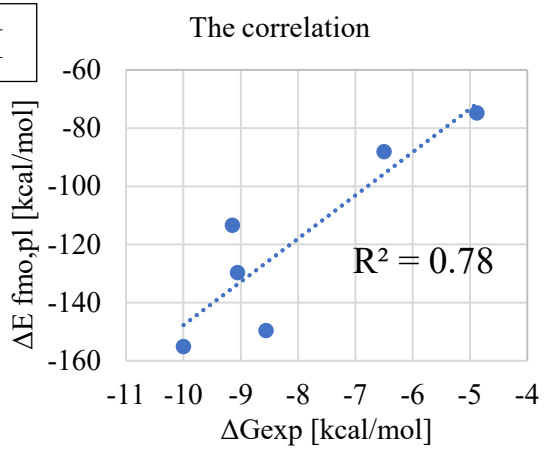
6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

各構造を
FMO計算

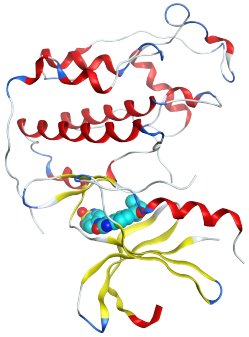
FMODB

IFIE-SUM

FMO ΔE



実験値



6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

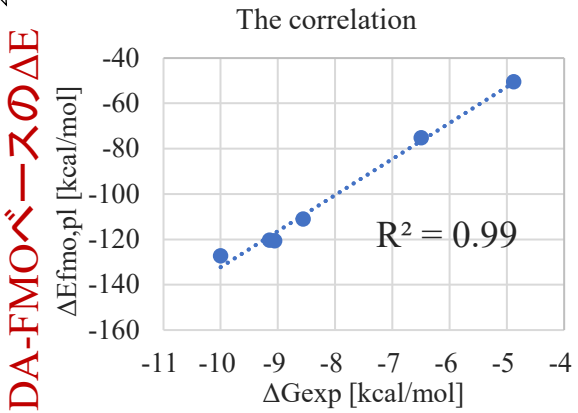
MD計算

MD snapshot
をFMO計算

FMODB

動的平均
IFIE-SUM

DA-FMOベースのΔE



実験値

MDシミュレーション

Arakiらによって実行されたMDシミュレーションの詳細

- 初期構造
  - Modellarによる側鎖の補完とMOEによる構造準備
  - pH 7.0でプロトン化
  - リガンドの原子部分電荷：RESP モデル
  - リガンドの最適化：Hartree–Fock (HF)/6-31G* level
- MDシミュレーション（GROMACS 4）
  - 計算条件：
    - 力場：
      - タンパク質とイオン：Amber f99力場
      - リガンド：GAFF力場
      - 水：TIP3Pモデル
    - 温度：298 K, 圧力：1 bar
  - シミュレーション時間：50 ns → 5セットのプロダクトランを実行
    - 2psごとに構造をサンプリング（サンプリング数：500/ns）

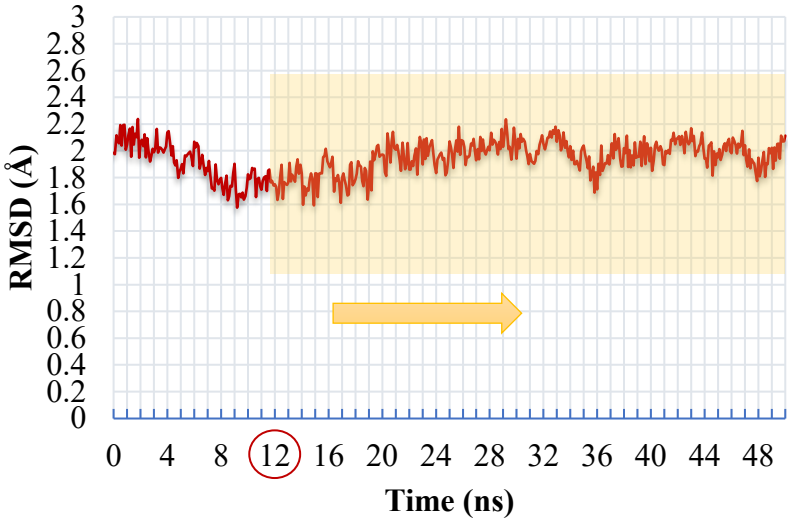
[M. Araki et al., "The Effect of Conformational Flexibility on Binding Free Energy Estimation between Kinases and Their Inhibitors", J. Chem. Inf. Model., 56, 2445–2456 (2016). https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00398]

MD snapshotのFMO計算

Takabaらによって実行されたFMO計算の詳細

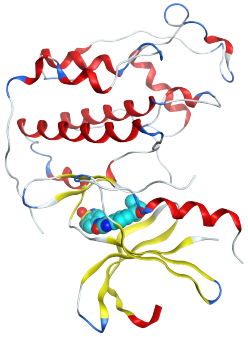
- MD snapshotの抽出
  - 50nsのプロダクトランの12ns以降で、2nsごとに抽出
    - 12ns, 14ns, 16ns, ・・・, 50ns = 20個
  - １個のタンパク質ーリガンド複合体で、100 個ずつの MD snapshot
    - 20 個のsnapshot × 5 試行 = 100
  - 全snapshotはMOEの古典的なMM力場（AMBER:10EHT）で最適化
- FMO計算
  - タンパク質の重原子を拘束、リガンドの重原子と水分子は1.0 kcal/mol/Åで拘束
  - FMO：FMO2-MP2/6-31G* level

[Takaba K, Watanabe C et al., “ Protein–ligand binding affinity prediction of cyclin-dependent kinase-2 inhibitors by dynamically averaged fragment molecular orbital-based interaction energy ”, Journal of Computational Chemistry, 43(20), 1362-1371, 2022/7/30, https://doi.org/10.1002/jcc.26940]



FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

[K. Takaba, *J. Comput. Chem.*, 2022.]



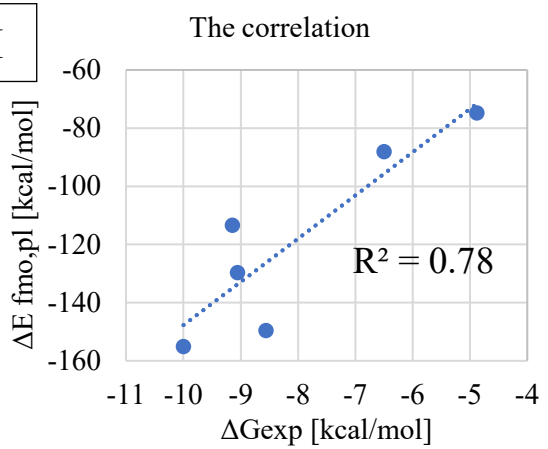
6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

各構造を
FMO計算

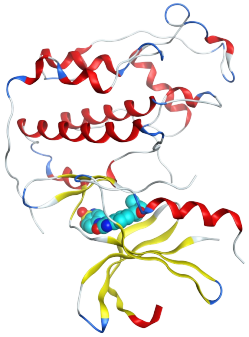
FMODB

IFIE-SUM

FMO ΔE



実験値



6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

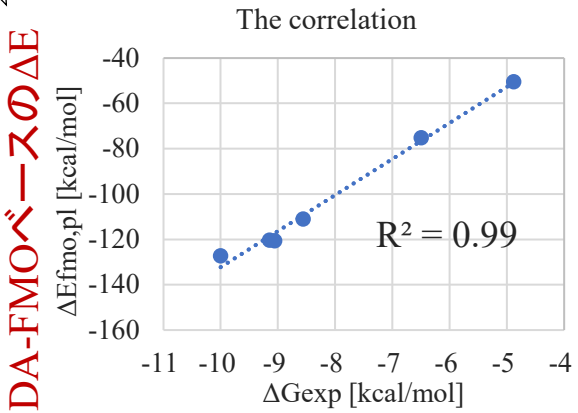
MD計算

MD snapshot
をFMO計算

FMODB

動的平均
IFIE-SUM

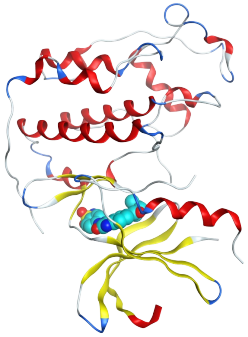
DA-FMOベースのΔE



実験値

FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

[K. Takaba, *J. Comput. Chem.*, 2022.]

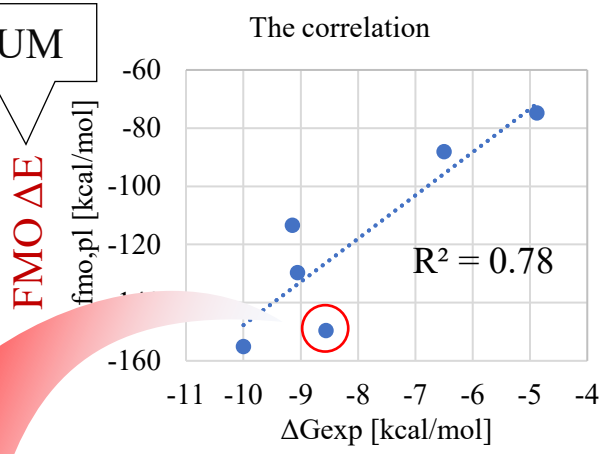


6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

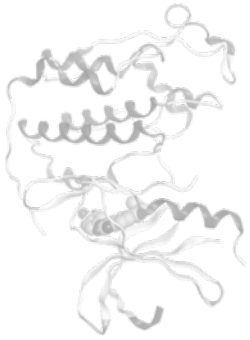
各構造を
FMO計算

FMODB

IFIE-SUM



この点（PDBID: 4FKQ）を
実際にFMODBから取ってきてみましょう！

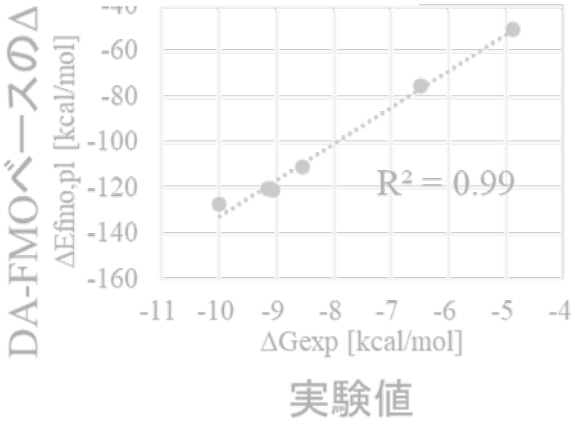


6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

MD計算

MD snapshot
をFMO計算

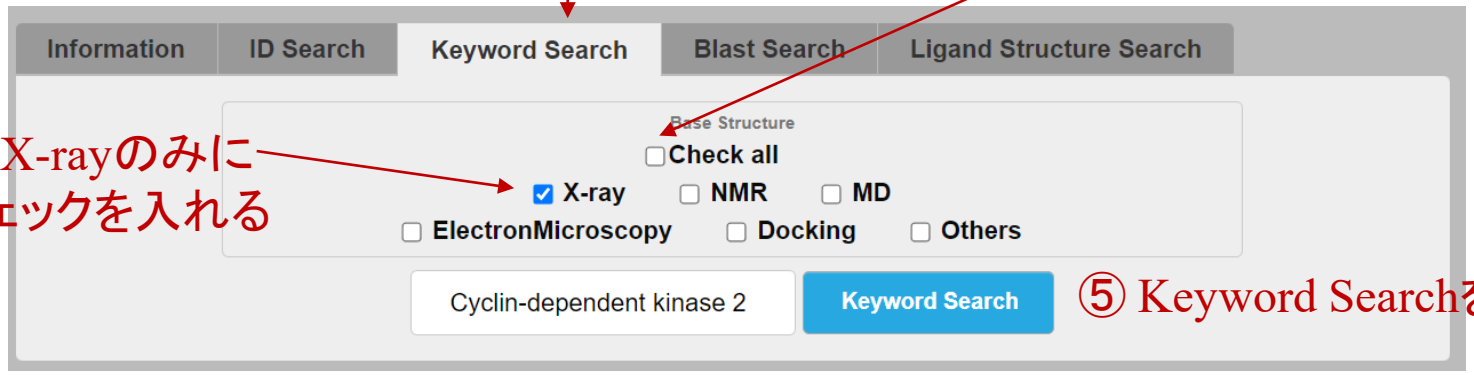
FMODB



結晶構造に対するFMO計算結果の入手

① Keyword Searchタブをクリック

② Check allをクリック
（→すべてのチェックが外れる）



③ X-rayのみに
チェックを入れる

⑤ Keyword Searchをクリック

④「Cyclin-dependent kinase 2」を入力

Search Result: 29 Hits　Currently showing: 1 - 29　Page: 1 / 1　Displaying results: 10 50 100

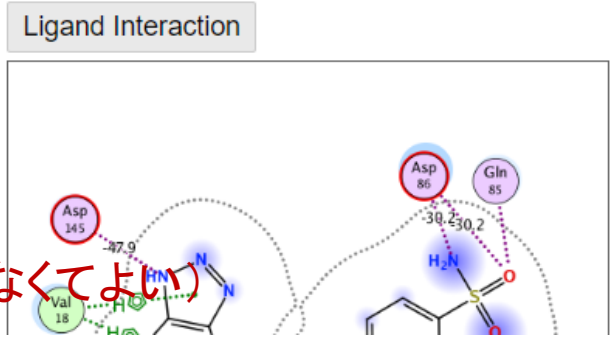
⑤↓の条件でソート

Sort　Registration date: ↑ Oldest to Newest　Display only checked items　Sort Results

☐ 7GGZK

FMODB ID: 7GGZK
Calculation Name: 4FKQ-A-Xray327
Preferred Name: Cyclin-dependent kinase 2
PDB ID: 4FKQ
Chain ID: A
UniProt ID: P24941
Base Structure: X-ray

⑥下の方にスクロールすると4FKQ発見！
7GGZKの横にチェック（7GGZKはクリックしなくてよい）

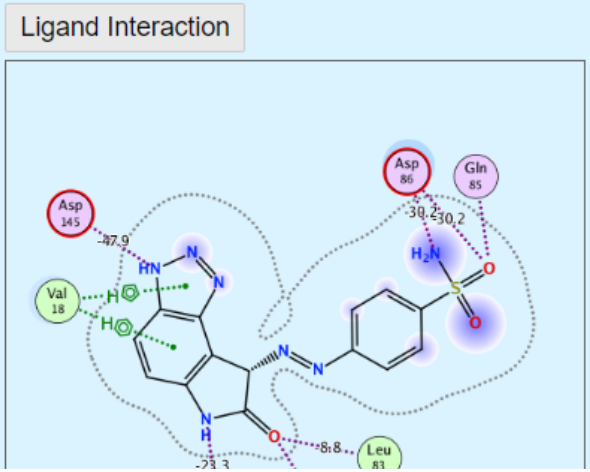


結晶構造に対するFMO計算結果の入手

⑦ 7GGZKの横のチェックボックスを
チェックしたら、ページ上部に戻る！

☑ 7GGZK

FMODB ID: 7GGZK
Calculation Name: 4FKQ-A-Xray327
Preferred Name: Cyclin-dependent kinase 2
PDB ID: 4FKQ
Chain ID: A
UniProt ID: P24941
Base Structure: X-ray
Registration Date: 2022-02-16
Reference: K. Takaba et al., Protein-Ligand Binding Affinity Prediction of CDK2 Inhibitors by Dynamically Averaged FMO-based Interaction Energy, To be published.



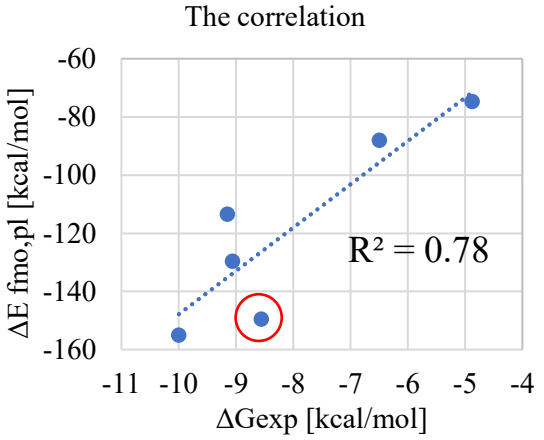
⑧ “Summary for checked items”を選んでDownload↓

○ Summary for all items(csv file)
◉ Summary for checked items(csv files)
○ Caluculation Data(zip files; checked items up to 10 data)
○ CheckPoint File(checked items up to 10 data)
Download

⑨ DownloadしたSummary.csvの中のIFIE SUM

P	Q	R	S	T	U
FMO2-HF:	FMO2-MP	IFIE_SUM	PIEDA_SU	PIEDA_SU	PIEDA_SU
-119068	-119419	-149.565	-108.024	70.165	-36.3043

※⑧で複数エントリーを選択すれば複数データが入った
csvになります。（CBIチュートリアル2022参照）



参考：summary.csvの中身

結果ページからダウンロードできる summary.csv には以下のデータが入っている

FMODB ID / PDB ID / タンパク質のアノテーション / Ligand / BaseStructure（構造の種類） / 登録日 / 論文情報

FMODB ID	PDB_ID	PDB_Chain	pref_name	organism	Ligand	UniProt ID	Base Stru	Model/MD_Time	Registration Date	Reference
R55K8	4FKI	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	09K	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei
666RZ	4FKL	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	CK2	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei
7GGZK	4FKQ	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	42K	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei
M332Z	4FKR	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	45K	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei
9GG22	4FKS	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	46K	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei
J33R9	4FKW	A	Cyclin-dependent kinase 2	Homo sapiens	62K	P24941	X-ray		2022/2/16	K. Takaba et al., Protei

PDB Chain / UniProt ID / モデル名/MD_Time

Optimization	Restraint	Procedure	FMO method
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)
MOE:Amber10:EHT	OptH	Auto-FMO protocol ver. 1.20191219	FMO2-MP2/6-31G(d)

入力構造のモデリング条件
- Optimization：最適化方法
- Restraint：拘束条件

FMO計算
- Procedure：自動/手動
- FMO method：計算レベル

参考：summary.csvの中身

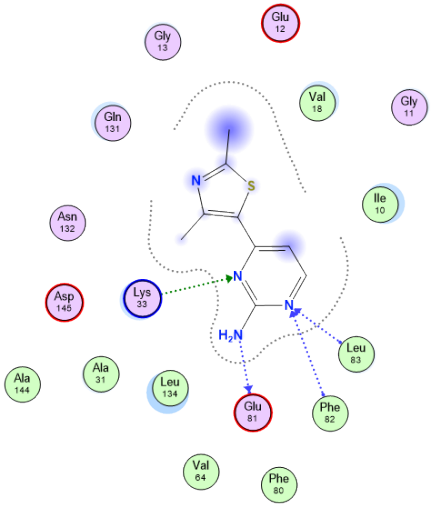
結果ページからダウンロードできる summary.csv には以下のデータが入っている

分子系のTotal Energy

IFIE SUM
（IFIEの総和）

各エネルギー成分
（ES,EX,CT+mix,DI）の総和

FMO2-HF:Total_energy	FMO2-MP2:Total_energy	IFIE_SUM	PIEDA_SUM_ES	PIEDA_SUM_EX	PIEDA_SUM_CT_mix	PIEDA_SUM_DI_MP2
-118716.2106	-119066.9346	-88.0118	-61.7804	61.2762	-29.2669	-58.2407
-118490.5962	-118839.9462	-74.7069	-48.572	31.9722	-17.8723	-40.2348
-119068.3082	-119419.2781	-149.5649	-108.0235	70.165	-36.3043	-75.4021
-119400.905	-119751.769	-129.6296	-87.3699	58.8621	-30.199	-70.9228
-118640.8555	-118989.4471	-113.3834	-82.061	69.4146	-29.2041	-71.5329
-119249.3892	-119600.7654	-155.022	-115.104	72.2939	-33.0167	-79.1952



IFIE-SUM（kcal/mol）：
リガンド分子に指定したフラグメントとそれ以外のフラグメントの相互作用を合計したもの（IFIEの総和）

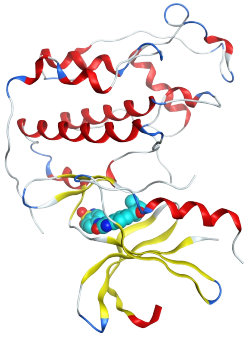
（Ligand－残基1のIFIE）＋
（Ligand－残基2のIFIE）＋
（Ligand－残基3のIFIE）＋ ・・・

PIEDA_SUM_ES,
PIEDA_SUM_EX,
PIEDA_SUM_CT_mix,
PIEDA_SUM_DI_MP2(kcal/mol)
も同様に、リガンドフラグメントーそれ以外のフラグメントの各成分の相互作用（ES, EX, CT+mix, DI）をそれぞれ足し合わせたもの

化合物間のIFIE-SUMを比較する事で、構造活性相関等にも利用可能

FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

[K. Takaba, *J. Comput. Chem.*, 2022.]



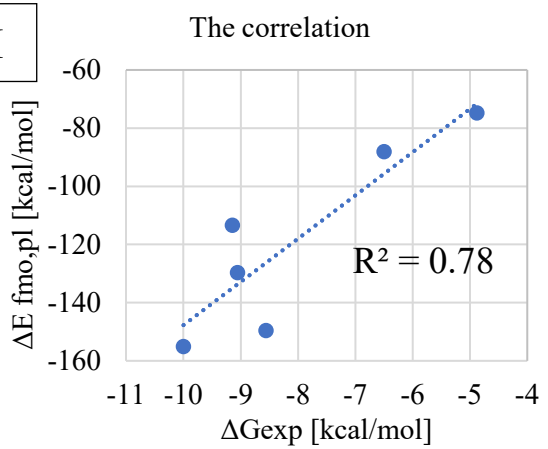
6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

各構造を
FMO計算

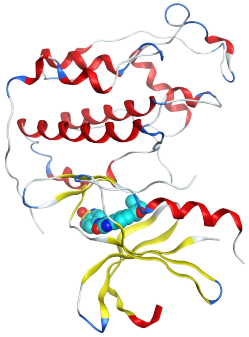
FMODB

IFIE-SUM

FMO ΔE



実験値



6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

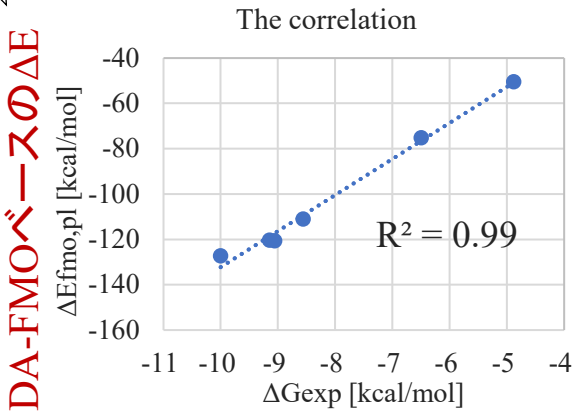
MD計算

MD snapshot
をFMO計算

FMODB

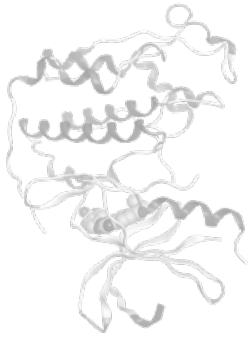
動的平均
IFIE-SUM

DA-FMOベースのΔE



実験値

FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

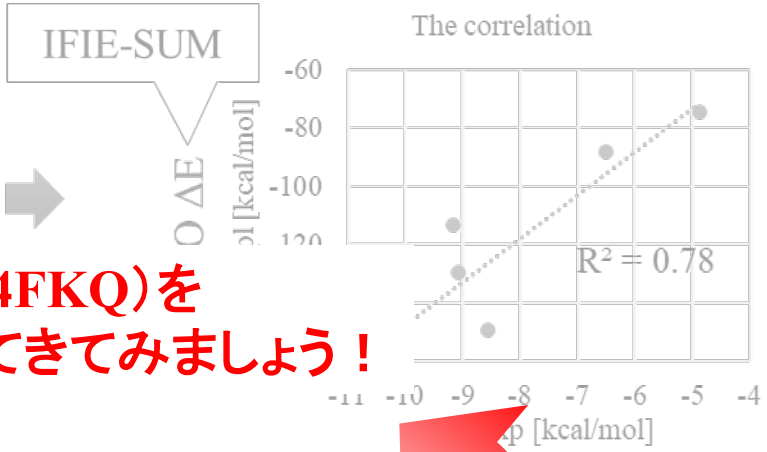


6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

各構造を
FMO計算

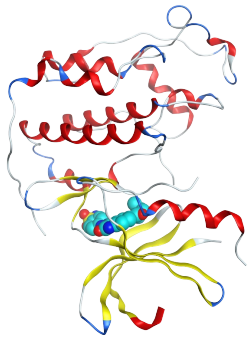
FMODB

IFIE-SUM



この点（PDBID: 4FKQ）を
実際にFMODBから取ってきてみましょう！

動的平均
IFIE-SUM

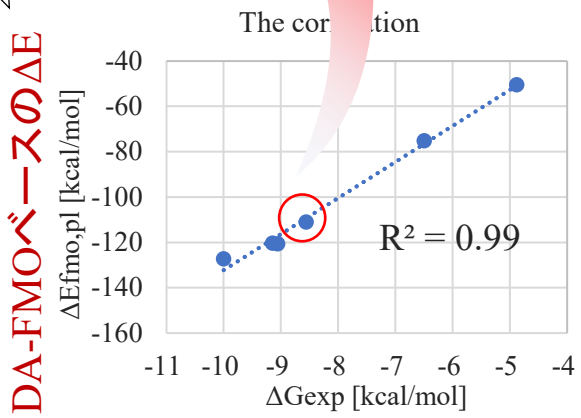


6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

MD計算

MD snapshot
をFMO計算

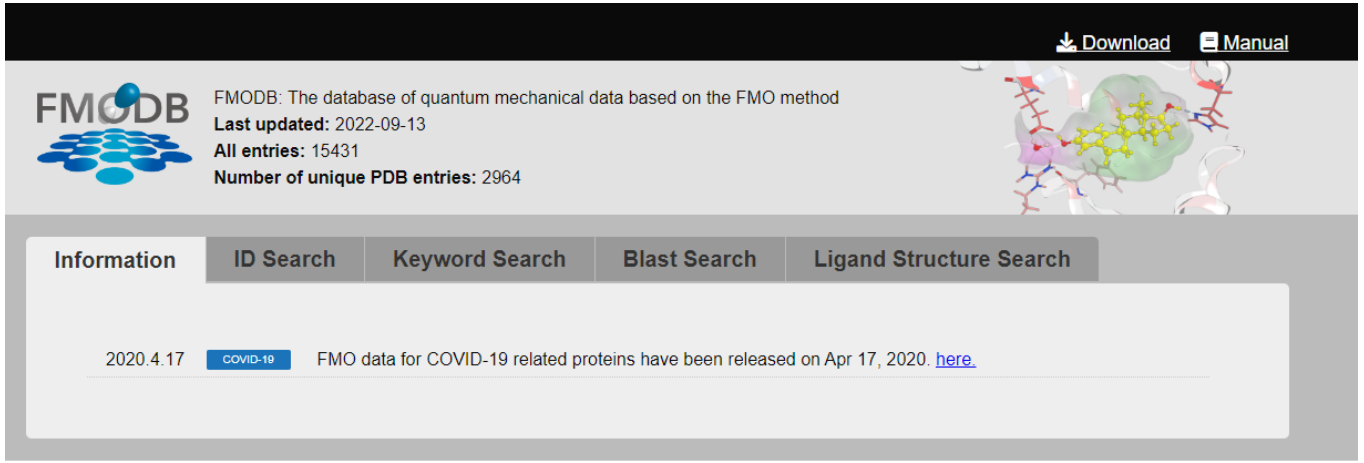
FMODB

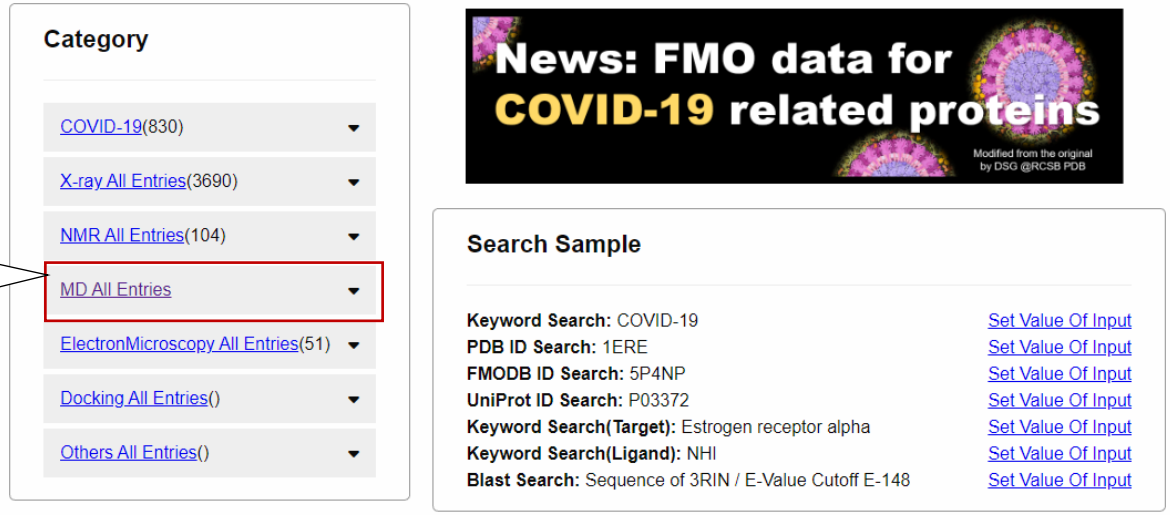


実験値

MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

① Topページの左のCategoryから、MD All Entriesをクリック

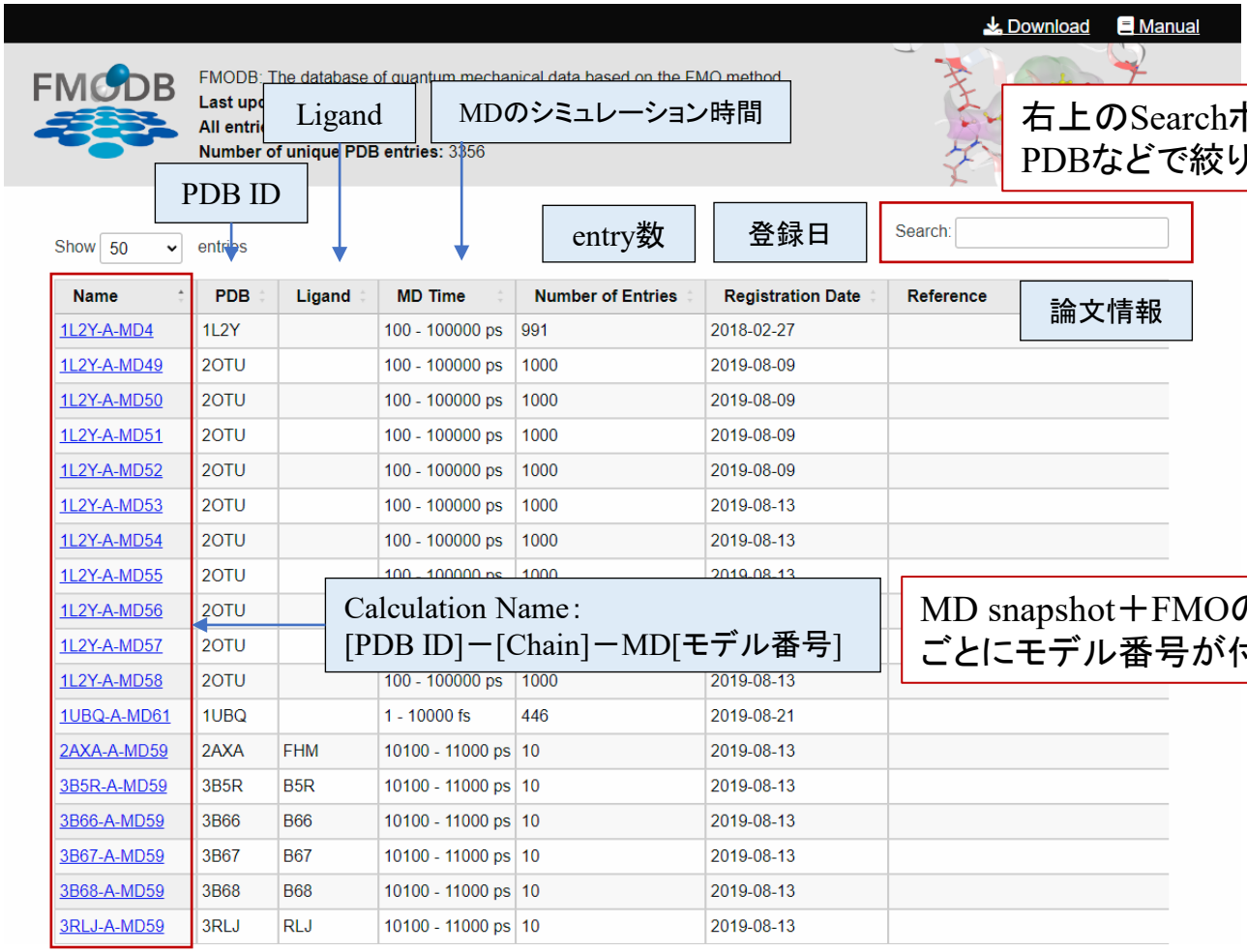




① MD All Entries をクリックする

MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

MD snapshotをFMO計算したデータの一覧がCalculation Nameごとに表示される

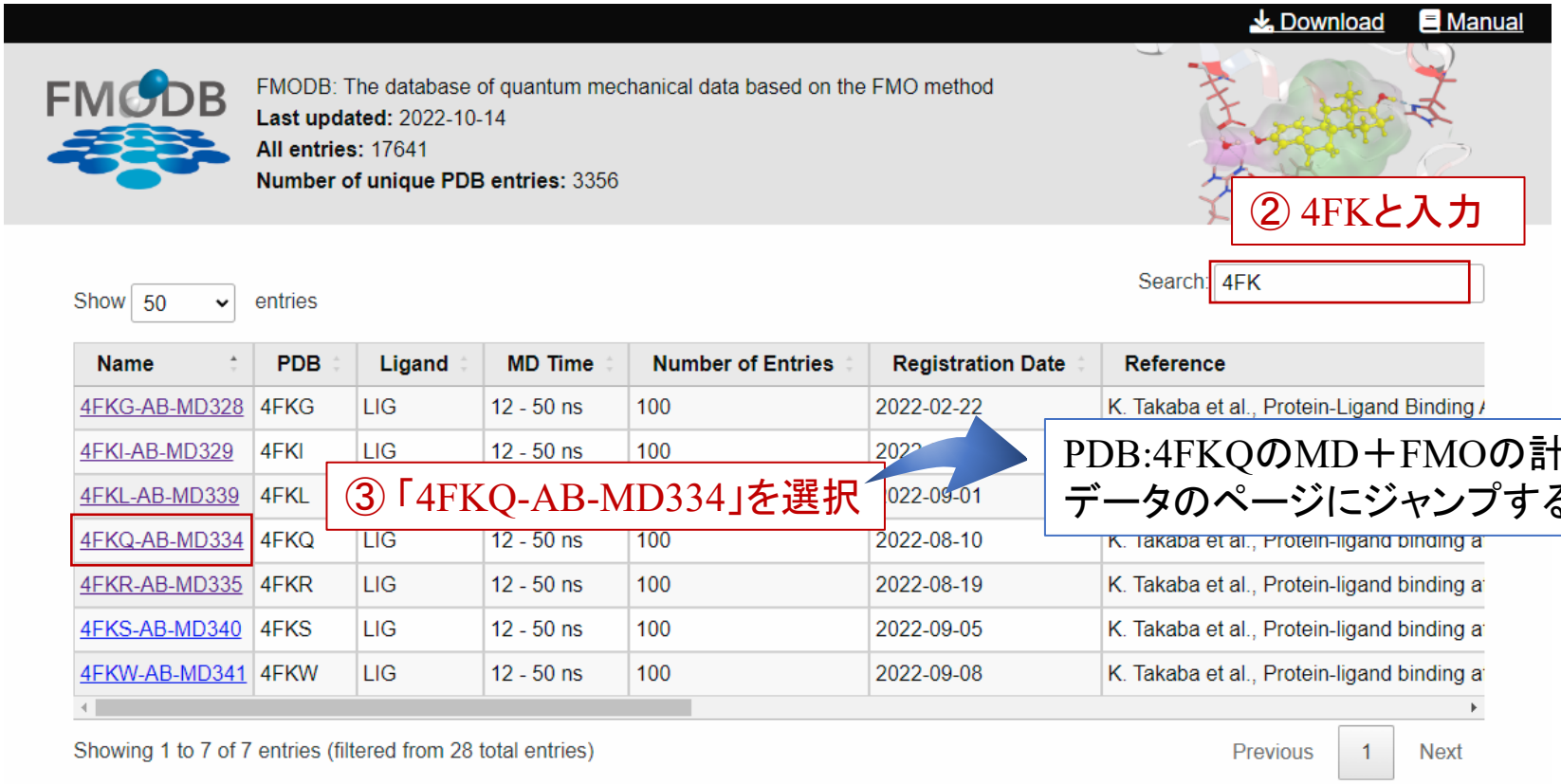


Name	PDB	Ligand	MD Time	Number of Entries	Registration Date	Reference
1L2Y-A-MD4	1L2Y		100 - 100000 ps	991	2018-02-27	
1L2Y-A-MD49	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-09	
1L2Y-A-MD50	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-09	
1L2Y-A-MD51	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-09	
1L2Y-A-MD52	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-09	
1L2Y-A-MD53	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-13	
1L2Y-A-MD54	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-13	
1L2Y-A-MD55	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-13	
1L2Y-A-MD56	2OTU					
1L2Y-A-MD57	2OTU					
1L2Y-A-MD58	2OTU		100 - 100000 ps	1000	2019-08-13	
1UBQ-A-MD61	1UBQ		1 - 10000 fs	446	2019-08-21	
2AXA-A-MD59	2AXA	FHM	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	
3B5R-A-MD59	3B5R	B5R	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	
3B66-A-MD59	3B66	B66	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	
3B67-A-MD59	3B67	B67	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	
3B68-A-MD59	3B68	B68	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	
3RLJ-A-MD59	3RLJ	RLJ	10100 - 11000 ps	10	2019-08-13	

MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

② 右上のSearchボックスに「4FK」と入力すると、PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ, 4FKR, 4FKS, 4FKWの計算データに絞り込まれる

③ 表の中から「4FKQ-AB-MD334」を選択する



MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

PDB:4FKQのMD snapshotをFMO計算した計算データー式（CalculationName: 4FKQ-AB-MD334）をダウンロードするページ

Fragment List

Download IFIE sum data (csv)

N Fragmnets

Numbers of multi fragments.(ex : 1-298)

M Fragmnets

Numbers of multi fragments.(ex : 299)

Download the Results

(takes about 1 min in a case with ~2700 fragments par entry.)

Fragment List

④ Fragment Listをクリックするとリガンドのフラグメント番号が調べられる

All Entries for 4FKQ-AB-MD334

	FMODB ID	Model	MD Time	MD Time Uint
1	3Q9NL	md1_12ns	12	ns
2	J3LM9	md1_14ns	14	ns
3	N193Q	md1_16ns	16	ns
4	825JY	md1_18ns	18	ns
5	GN6Q1	md1_20ns	20	ns
6	147JZ	md1_22ns	22	ns

FMO DATABASE | 3Q9NL - Google Chrome

drugdesign.riken.jp/FMODB/fragment_list.php?FMODBID=3Q9NL

Fragment List : 3Q9NL

Number of Fragments : 2679

Ligand Residue Name : 42K

Ligand Fragment Number : 299

copy to a clipboard

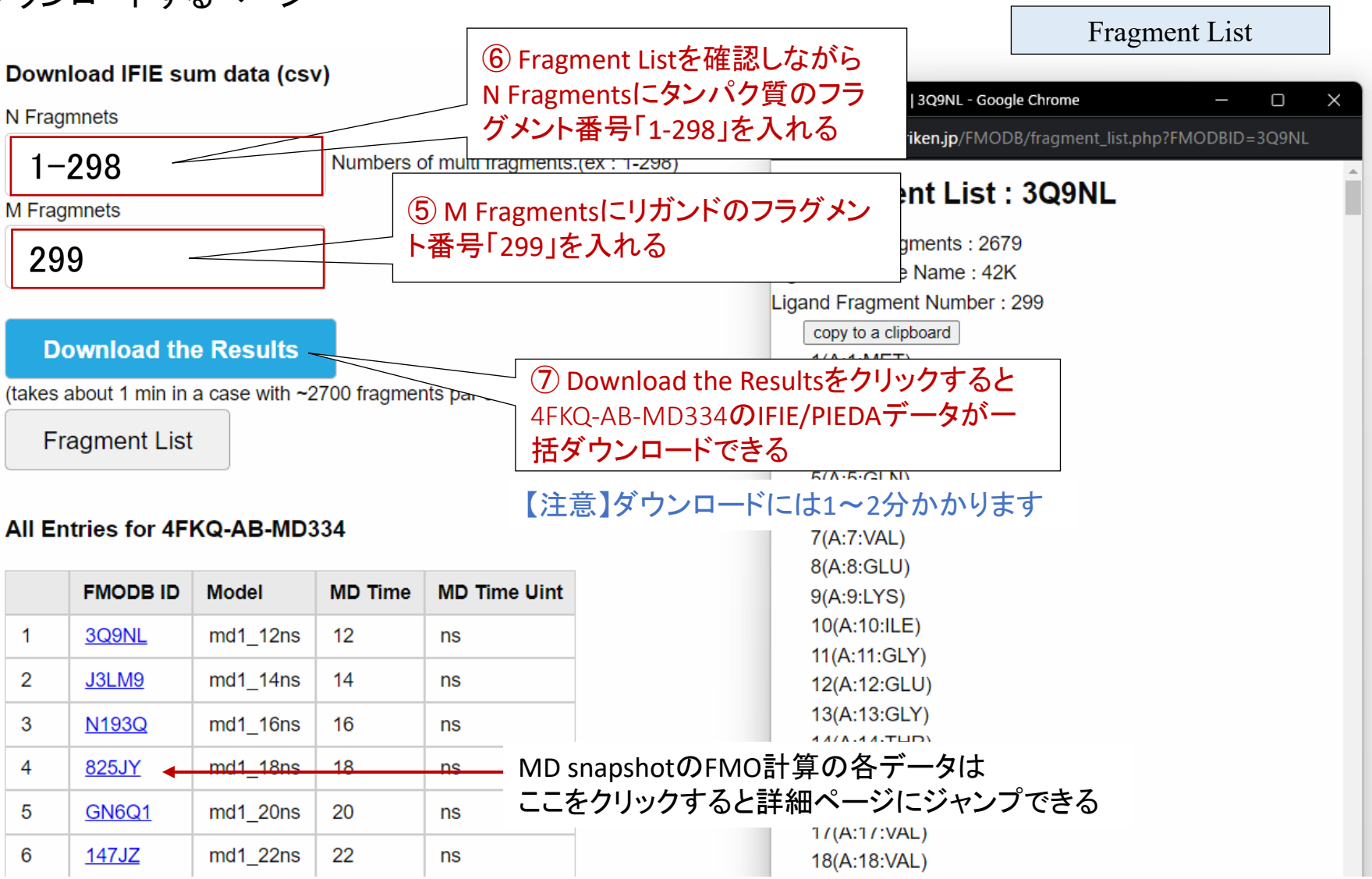
1(A:1:MET)
2(A:2:GLU)
3(A:3:ASN)
4(A:4:PHE)
5(A:5:GLN)
6(A:6:LYS)
7(A:7:VAL)
8(A:8:GLU)
9(A:9:LYS)
10(A:10:ILE)
11(A:11:GLY)
12(A:12:GLU)
13(A:13:GLY)
14(A:14:THR)
15(A:15:TYR)
16(A:16:GLY)
17(A:17:VAL)
18(A:18:VAL)

Ligandのフラグメント番号

※計算データごとにフラグメント番号が異なるため、「Fragment List」で必ず確認する

MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

PDB:4FKQのMD snapshotをFMO計算した計算データー式（CalculationName: 4FKQ-AB-MD334）をダウンロードするページ



MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

ダウンロードされた「IFIE_4FKQ-AB-MD334.csv」のファイルの内容

FMODB ID

モデル名

MD snapshot の時間

N_Fragments

M_Fragments

	A	B	C	D	E	F
1	FMODB_ID	Model	MD_Time	MD_Time_Uint	N_Fragments	M_Fragments
2	3Q9NL	md1_12ns	12	ns	1-298	299
3	J3LM9	md1_14ns	14	ns	1-298	299
4	N193Q	md1_16ns	16	ns	1-298	299
5	825JY	md1_18ns	18	ns	1-298	299

IFIE SUM

各エネルギー成分（ES,EX,CT+mix,DI）の合計値

電荷情報

G	H	I	J	K	L	M	N	
IFIE_SUM	PIEDA_ES	PIEDA_EX	PIEDA_CT+mix	PIEDA_DI(MP2)	Total_FCHARGE_N_Fragments	Total_q_Mulliken_N_Fragments	Total_q_NPA_N_Fragments	Total_FCHAR(
-118.12	-101.7	86.43	-39.14	-63.71	4	11.65	0	
-119.68	-93.13	85.1	-38.78	-72.88	4	11.57	0	
-119.93	-94.18	79.22	-36.43	-68.54	4	11.83	0	
-127.87	-101.59	81.74	-36.41	-71.62	4	11.53	0	
-122.9	-100.97	86.23	-38.15	-70.01	4	11.23	0	
-101.4	-74.49	61.9	-29.31	-59.51	4	11.88	0	
-113.62	-96.99	91.48	-37.9	-70.21	4	11.25	0	

このIFIE_SUMを使用して、動的平均IFIEと実験値との相関グラフを作成する

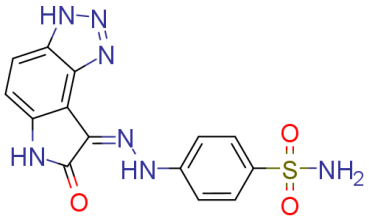
MD構造に対するFMO計算結果セットの入手

⑧ 「G列:IFIE_SUM」の下のセルに「=AVERAGE(G2:G101)」を入力する

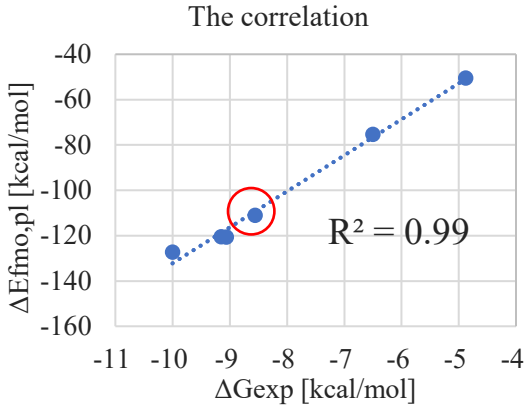
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	FMODB_ID	Model	MD_Time	MD_Time_Uint	N_Fragments	M_Fragmen	IFIE_SUM	PIEDA_ES	PIEDA_EX
95	66NZZ	md5_40ns	40	ns	1-298	299	-108.24	-79.8	75.34
96	22J4R	md5_42ns	42	ns	1-298	299	-111.11	-93.14	85.11
97	7G2YK	md5_44ns	44	ns	1-298	299	-123.19	-112.24	106.03
98	M3VRZ	md5_46ns	46	ns	1-298	299	-117.36	-96.6	84.97
99	9G4L2	md5_48ns	48	ns	1-298	299	-127.61	-99.99	76.49
100	LJZQ9	md5_50ns	50	ns	1-298	299	-122.76	-105.79	96.55
101	22JNR	md3_42ns	42	ns	1-298	299	-100.6	-82.62	81.59
102									
103							DA-FMO IFIE_SUM		
104							=AVERAGE(G2:G101)		
105									

AVERAGE(数値1, [数値2], ...)

-111.0335

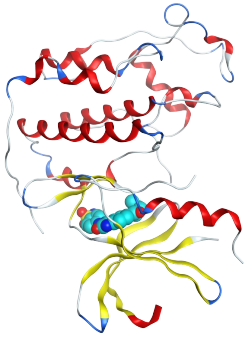


CS242 (PDB ID: 4FKQ)
MW = 357.4
ΔG_{exp} = -8.56 [kcal/mol]



FMO相互作用エネルギーと実験値との相関

[K. Takaba, *J. Comput. Chem.*, 2022.]



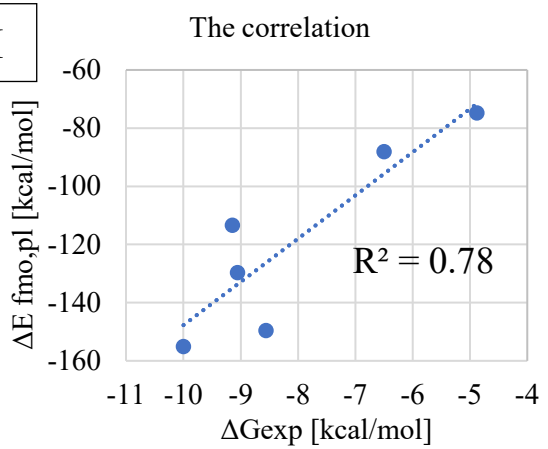
6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

各構造を
FMO計算

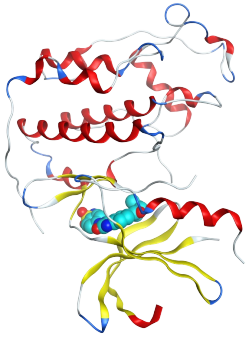
FMODB

IFIE-SUM

FMO ΔE



実験値



6つのX線結晶構造
（PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ,
4FKR, 4FKS, 4FKW）

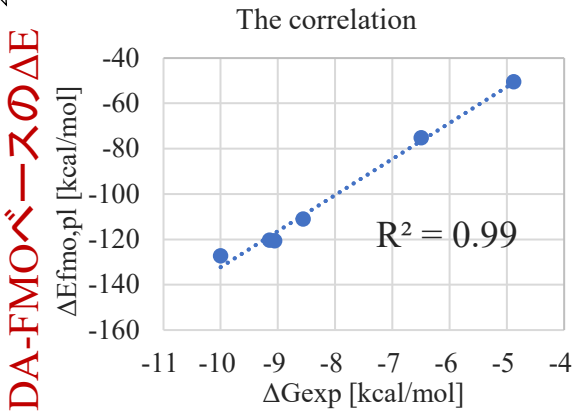
MD計算

MD snapshot
をFMO計算

FMODB

動的平均
IFIE-SUM

DA-FMOベースのΔE



実験値

本チュートリアルの内容

1. FMODBを用いた定量的相互作用解析

   [題材]サイクリン依存性キナーゼ 2 (CDK2)のMD snapshotを使用したFMO計算データ

   – FMODBが提供する機能の紹介と基本操作
     - FMO計算データの様々な検索方法
     - IFIE/PIEDAデータのダウンロード方法
     - 構造揺らぎを考慮した動的平均FMO相互作用エネルギーと活性値との相関を導出

2. 構造揺らぎを考慮した相互作用の視覚化・解釈

   [題材] 1.で用いた動的IFIEデータ / ABMPTools / BioStation Viewer

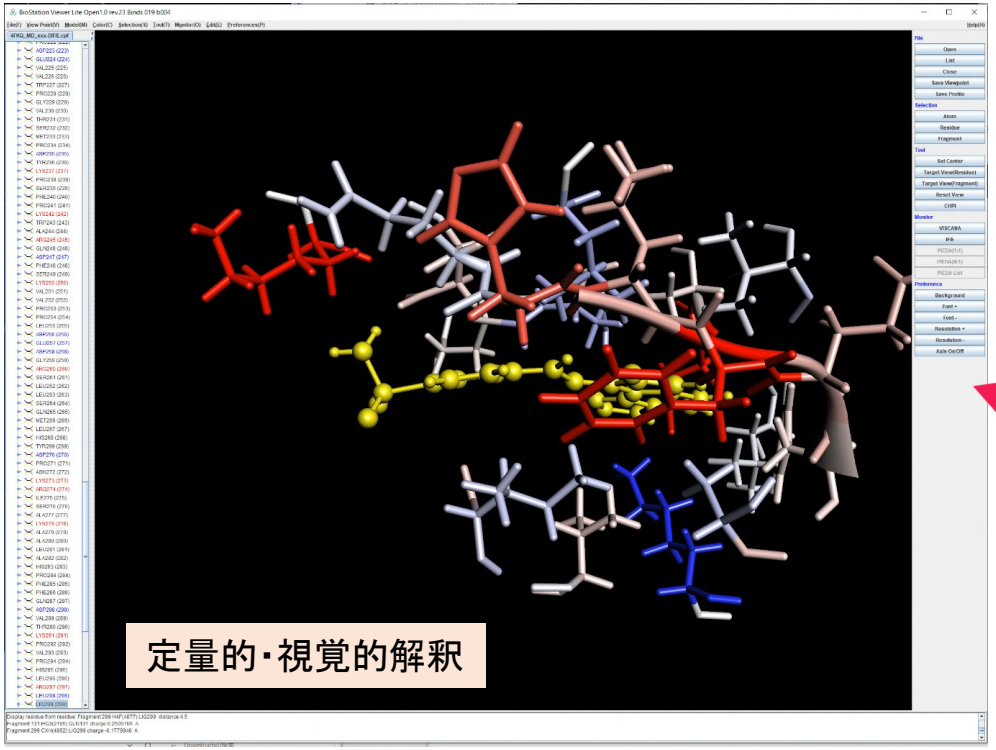
   – ABMPTools(FMO計算・解析支援ツール)の紹介
     - 動的平均.cpfファイルの作成
   – BioStation Viewer によるFMO計算結果の可視化
     - 基本操作・機能紹介
     - 相互作用比較 結晶構造 vs. 動的平均

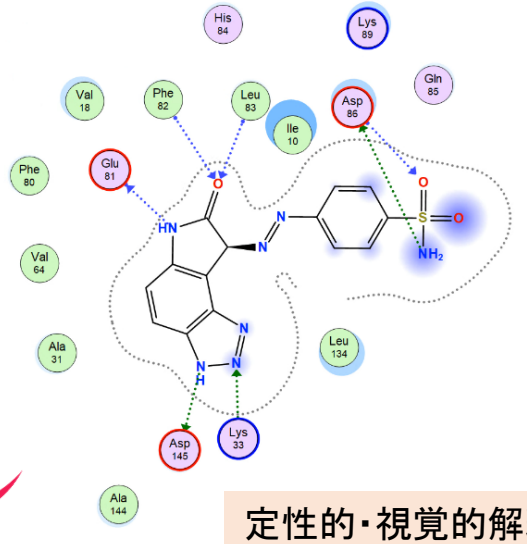
3. 構造揺らぎ考慮+αによる相互作用解析・計算

   [題材] CDK2以外のターゲットの相互作用評価。構造揺らぎ + 周辺溶媒効果 + リガンド変形

BSVによる構造ベースのIFIE解析

- FMO計算結果の.cpfファイルをBioStation Viewer(BSV)で解析





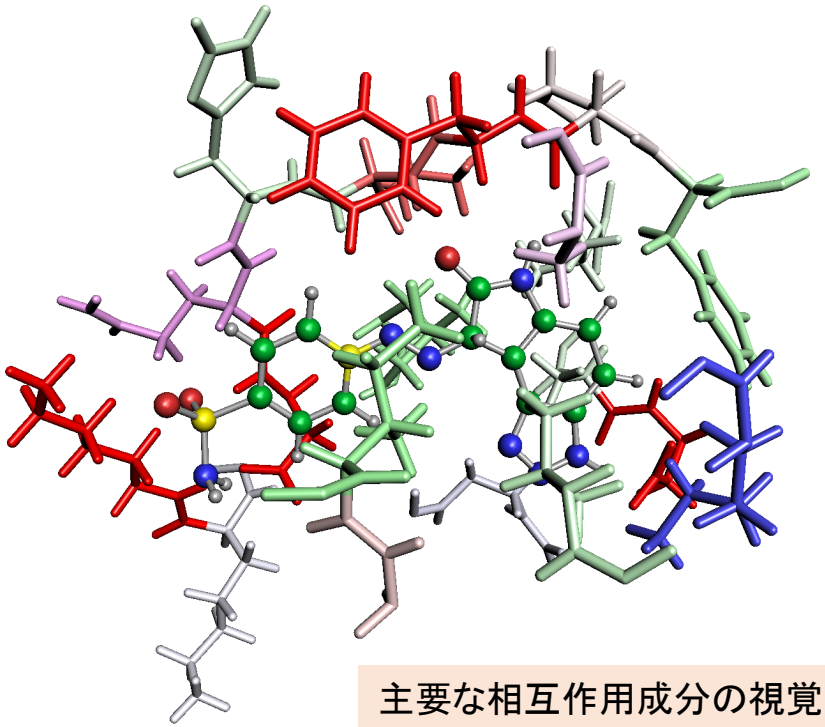
赤：IFIE < 0（引力的相互作用）　　青：IFIE > 0（斥力的相互作用）

3次元的に可視化して、ぐりぐり回していろいろな角度から原子・残基の関係性を確認することで、平面図では見落としていた相互作用や、距離が近すぎる残基などを発見・解析できる！！

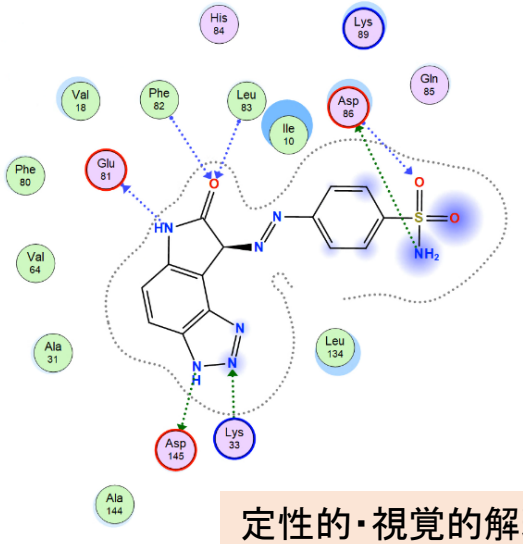
IFIE = 定量的尺度に基づく結合関連重要残基の解釈・説明

BSVによる構造ベースのPEIDA解析

- FMO計算結果の.cpfファイルをBioStation Viewer(BSV)で解析



主要な相互作用成分の視覚的表現



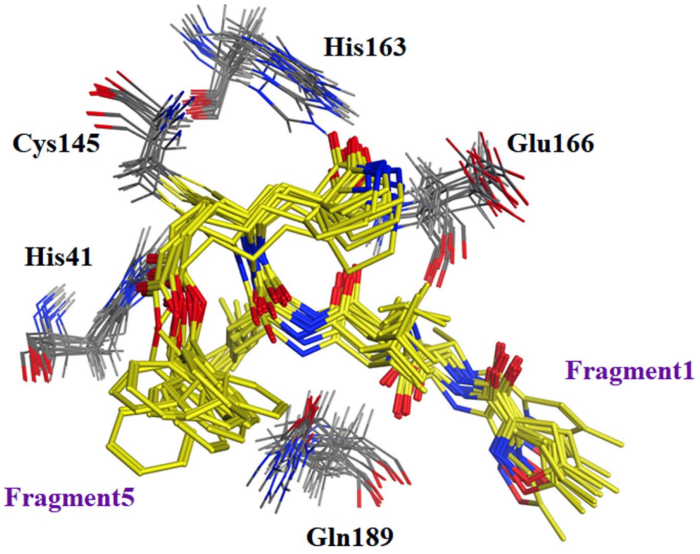
定性的・視覚的解釈

- ■ + ■ ES(静電相互作用):電荷による古典的相互作用を再現
- ■ + ■ EX(交換反発相互作用):被占軌道間の反発的相互作用、フラグメント間の衝突の目安など
- ■ + ■ CT(電荷移動相互作用) :電荷移動による安定化、ESと併せ水素結合示唆
- ■ + ■ DI(分散力相互作用) :分散力に由来する、CH/πやπ-π結合などを示唆

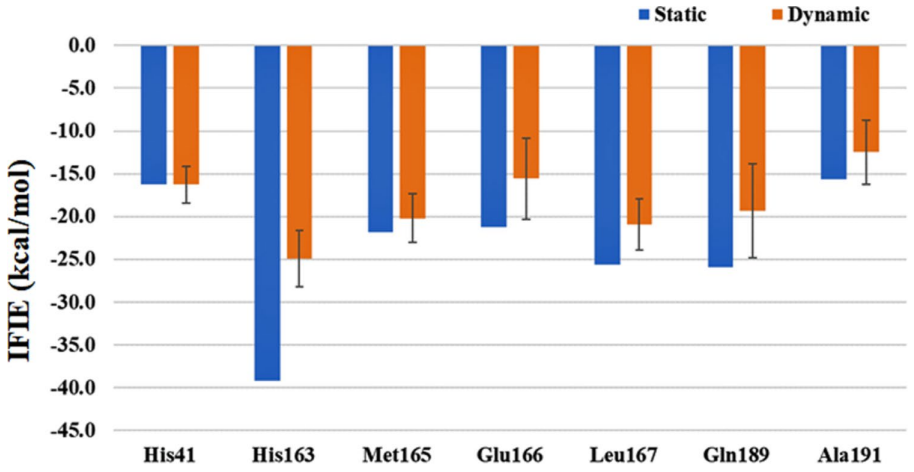
定量的かつ、構造のどの部分に着目して相互作用を解析すればよいかがわかる

動的IFIEの構造ベースでの解析

- 動的IFIEによる、SARS-CoV-2 main proteaseと阻害剤N3 間の相互作用解析



[Hatada R, Okuwaki K et al., "Statistical interaction analyses between SARS-CoV-2 main protease and inhibitor N3 by combining molecular dynamics simulation and fragment molecular orbital calculation", Appl. Phys. Express 14 027003, 2021, https://doi.org/10.35848/1882-0786/abdac6]

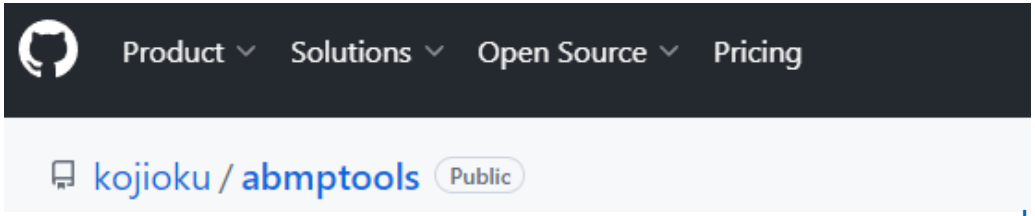


- 静的 vs 動的IFIE-SUMの違いに起因する、各フラグメントの相互作用の差を比較。
  ➡ 生体内の熱揺らぎを考慮し、真に相互作用に寄与するフラグメントの評価

しかし、同様の解析をすることは煩雑な行程が必要かつ、Viewerの利用は基本的に困難だった

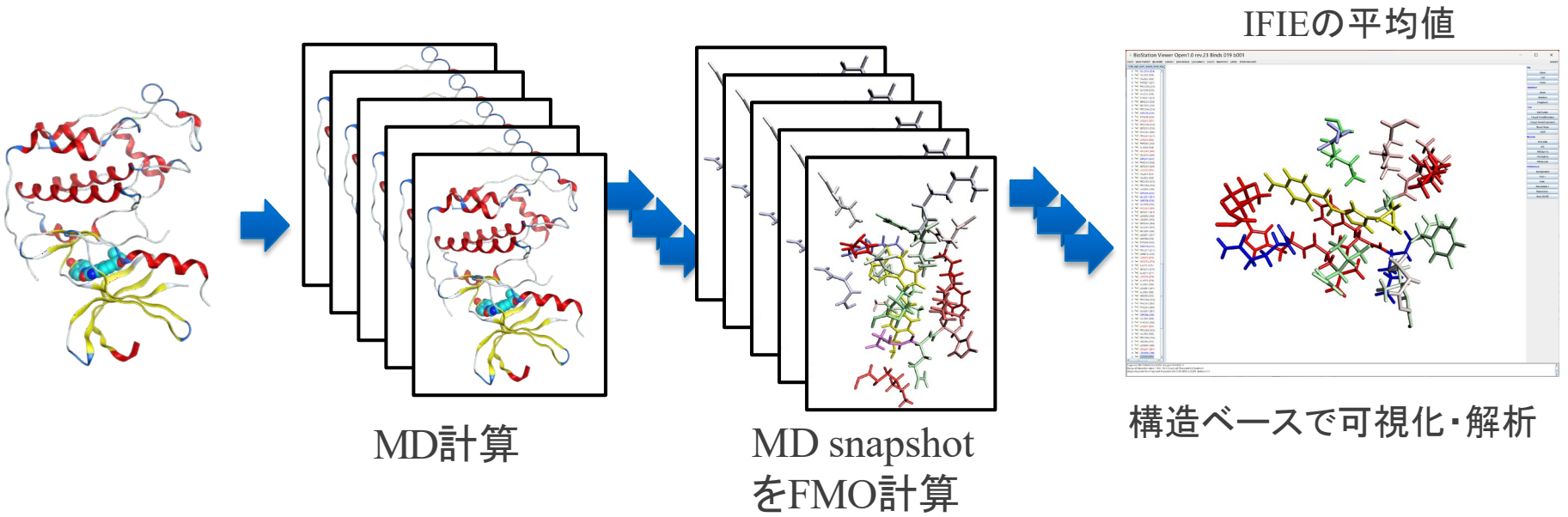
ABMPTools(ABINIT-MP Tools)の紹介

- 奥脇先生（立教大）によるFMO計算・解析支援ツール



https://github.com/kojioku/abmptools

- MD計算由来の複数の.cpfファイルから動的平均IFIEの.cpfを出力可能
  → これまで難しかったBioStaiton Viewerを用いた動的IFIE解釈が可能



ABMPToolsの入手方法

前提

- Pythonを使用可能なLinux環境を用意する(Ubuntuなど)
- pip などでnumpy, pandasをインストールする。

```
$ python -m pip install numpy pandas
```

① ABMPToolsを入手(git clone)する

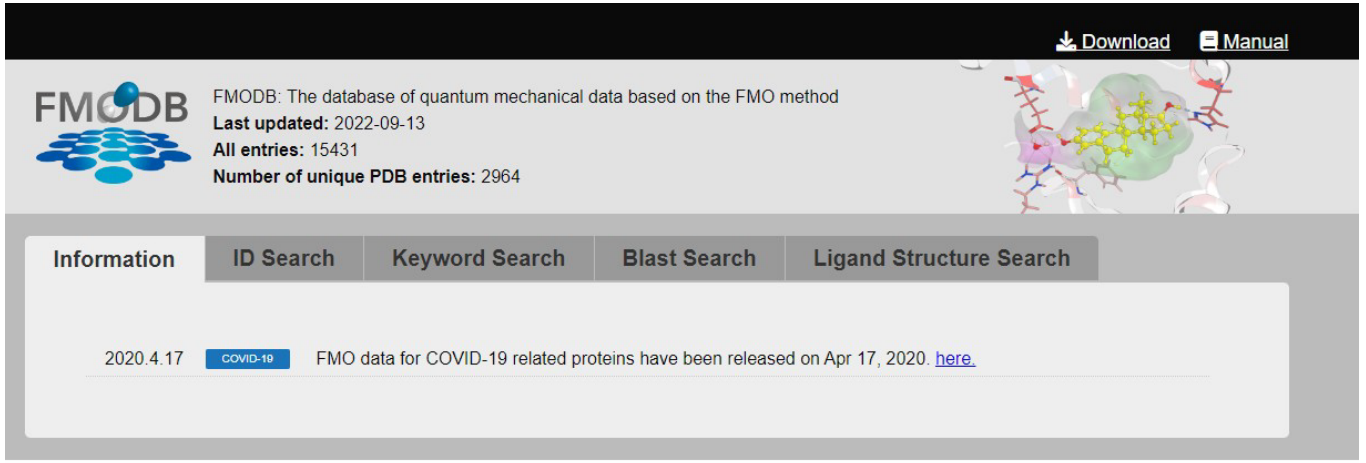
```
$ git clone https://github.com/kojioku/abmptools
```

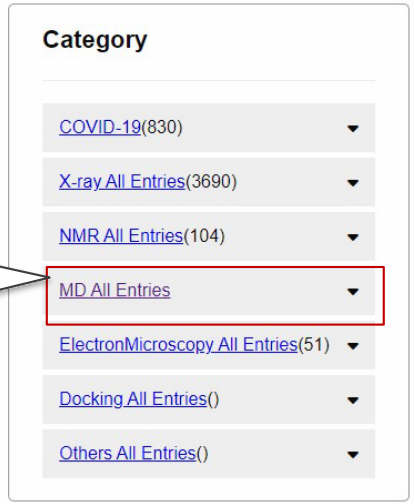
② ABMPToolsをインストールする

```
$ cd abmptools
$ python setup.py install --user
```

MD All entriesページ

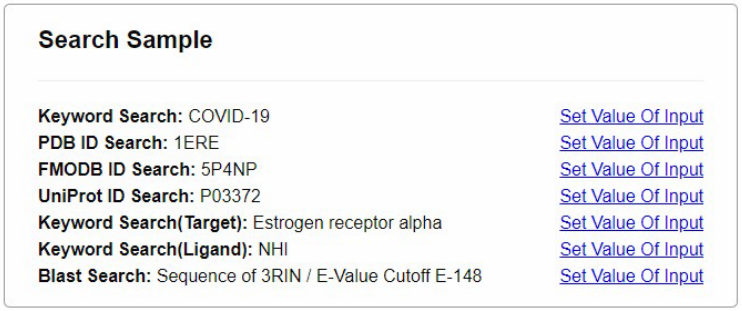
① Topページの左のCategoryから、MD All Entriesをクリック





① MD All Entries をクリックする

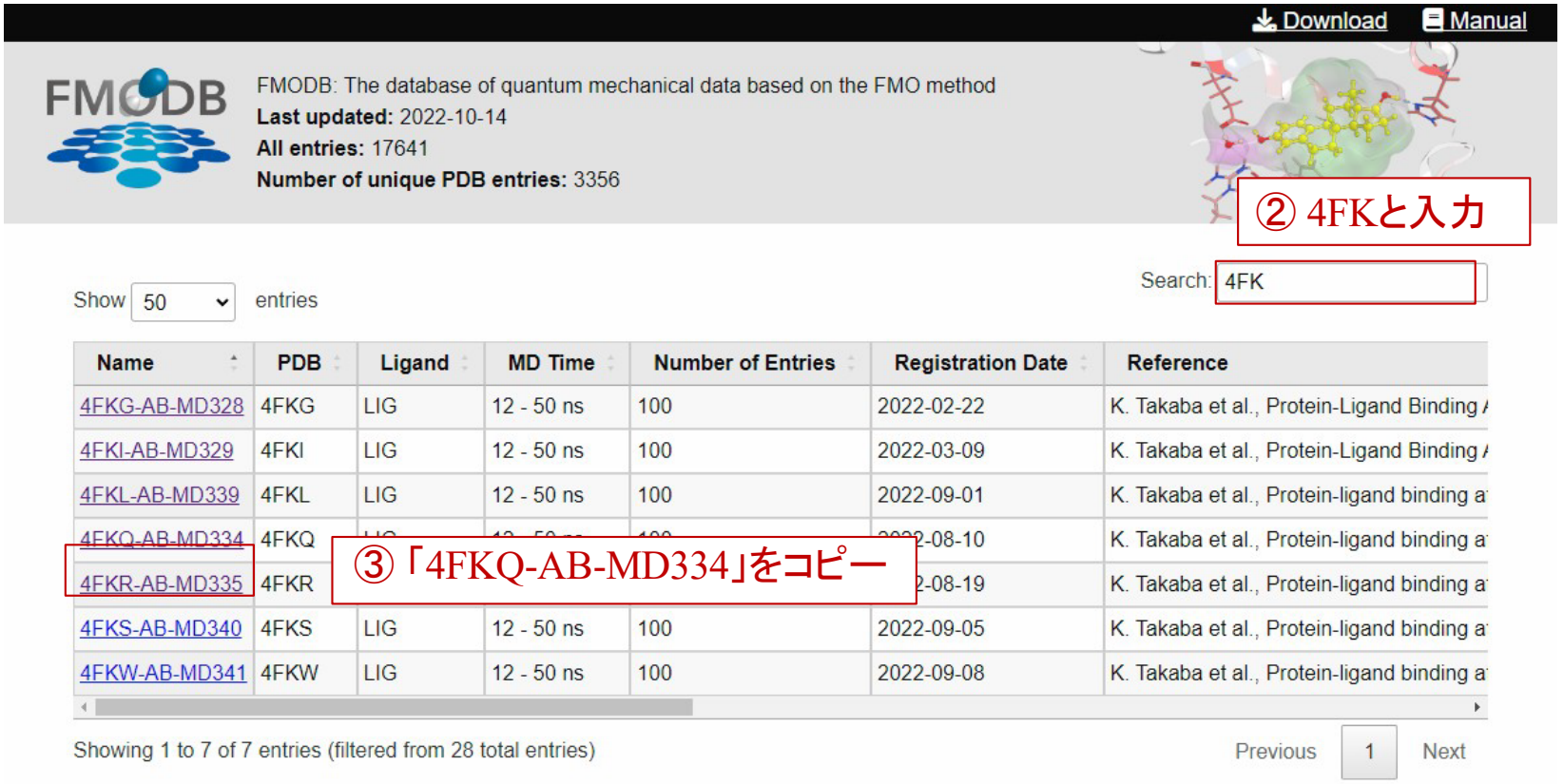




MD+FMO計算結果のダウンロード

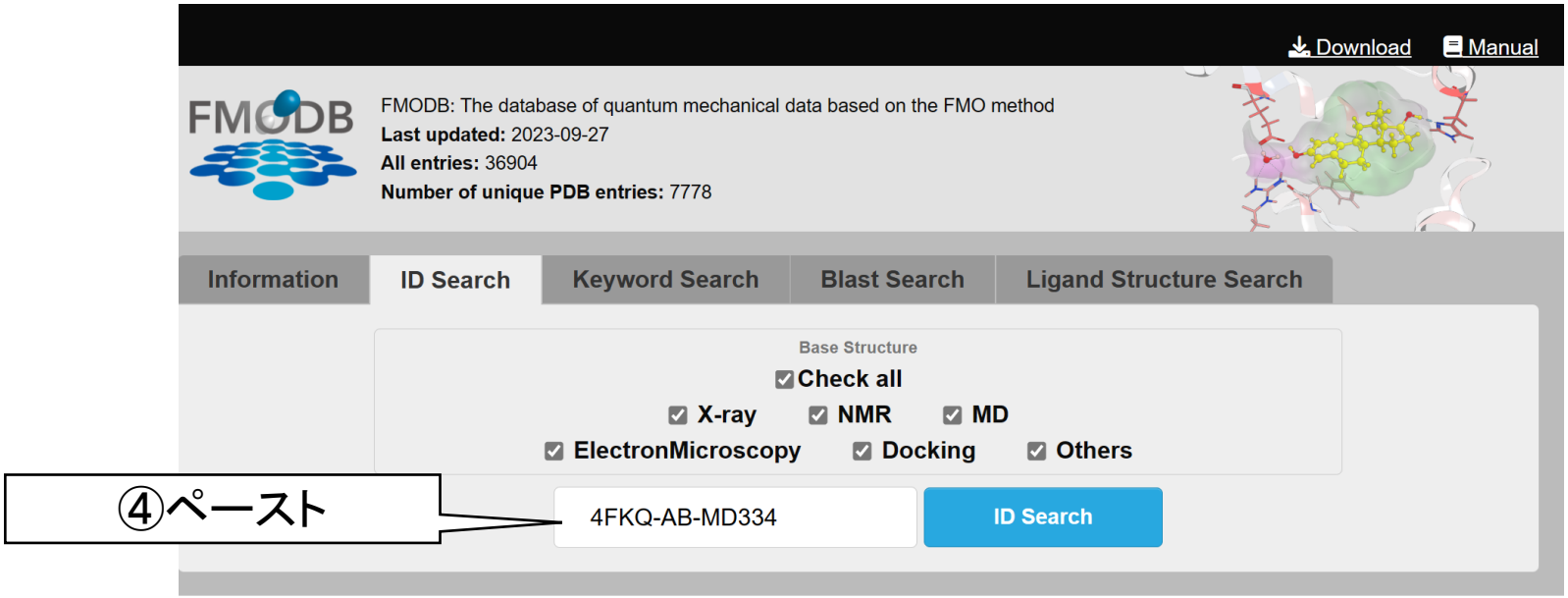
② 右上のSearchボックスに「4FK」と入力すると、PDB:4FKL, 4FKI, 4FKQ, 4FKR, 4FKS, 4FKWの計算データに絞り込まれる

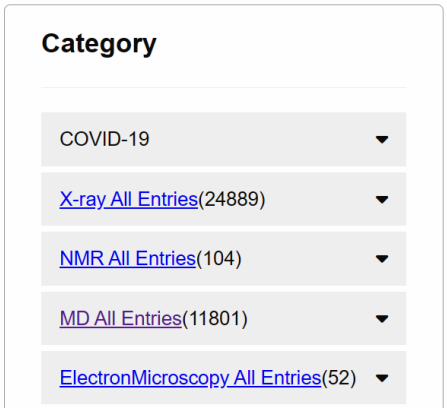
③ 表の中から「4FKQ-AB-MD334」を探し、クリップボードにコピーする



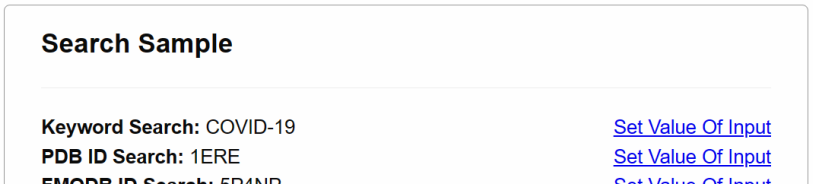
MD+FMO計算結果のダウンロード

④　トップページに戻り「ID Search」を選択、先ほどのIDをペーストし検索



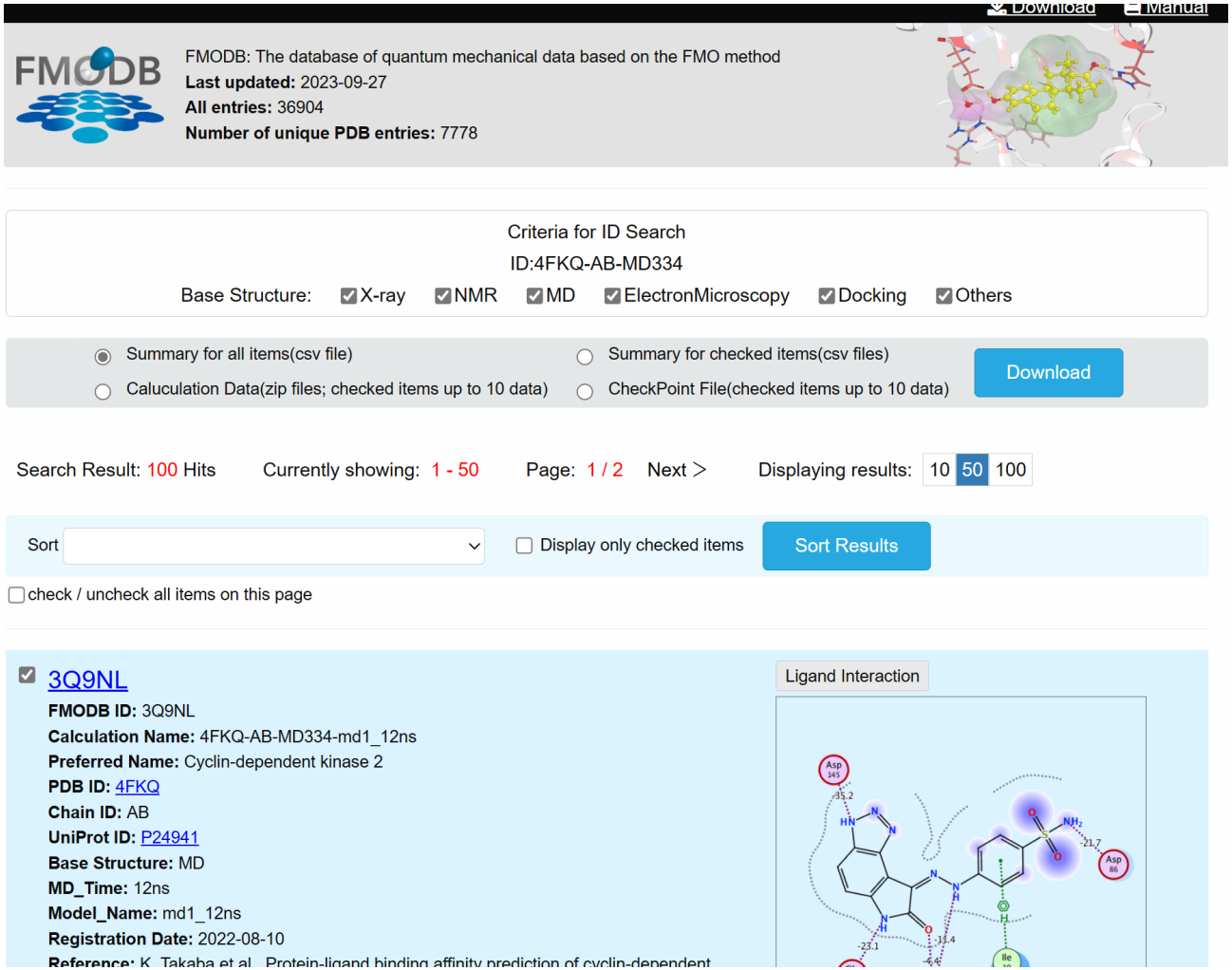






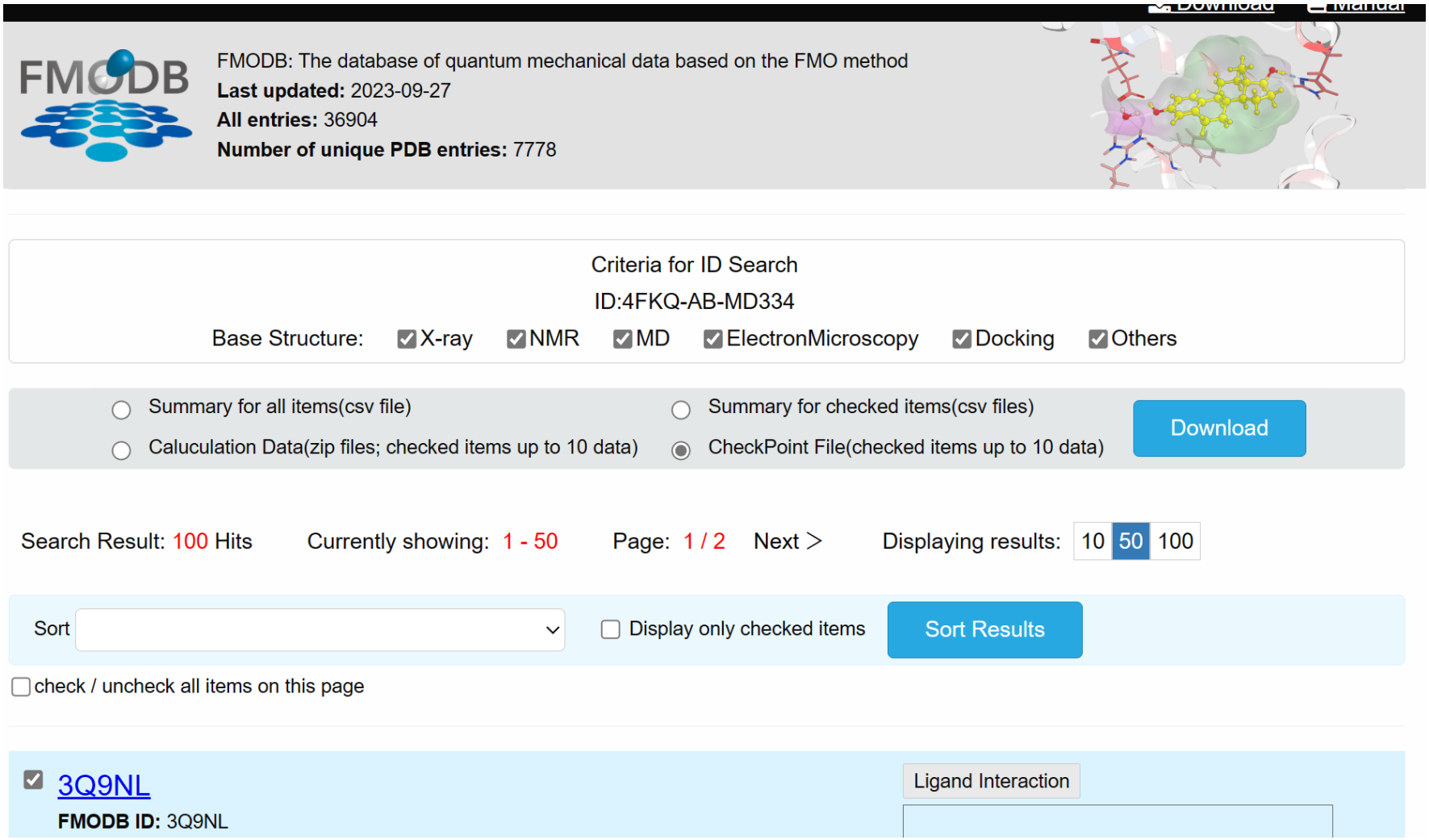
MD+FMO計算結果のダウンロード

⑤　目的のFMO計算結果がヒット、チェックボックスにチェックを入れる
（**本チュートリアルでは最大2個までとしてください！！**）



MD+FMO計算結果のダウンロード

⑥ CheckPoint File(checked items up to 10 data) -> 「Download」



ABMPToolsの使用方法（動的IFIE取得）

③ ABMPToolsで動的IFIEに関する.cpfファイルを作成する

```
$ python -m abmptools.generate_difie -i
  4FKQ_MD_xxx.cpf.gz -t 1 20 1 -z 1 -s 0 -f 1-299 -v 23
  -np 6
```

-i 入力cpf名　※指定必須 (file-xxx-bbb.cpfの形、数字部分をxxxで表記）

-t 開始番号 終了番号　読込間隔　※指定必須

-z ゼロ埋めの桁数 ※デフォルト: "1" (ゼロ埋めなし)

-s 代表構造の番号: 平均cpfの表示構造番号の指定　※デフォルト: 最初の構造(＝開始番号)

-f 対象フラグメントの指定: 周囲の水は入れ替わるため、タンパクとリガンド残基番号を手動指定。
　半角ハイフンで範囲指定, 1-のみ可能　※デフォルト: 削除なし

-v 出力バージョンの指定：現状はrev23のみ ※デフォルト"23"

-np 並列数

動的平均IFIE

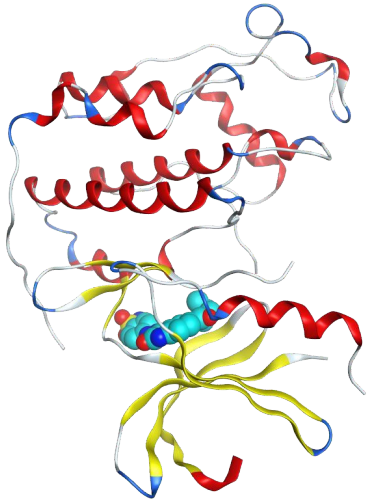
```
$ ls
  …
  4FKQ_MD_xxx-DIFIE.cpf
```

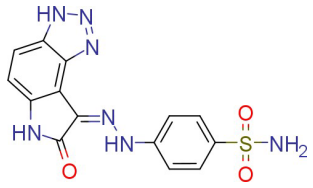
動的IFIEの構造ベースでの解析

CDK2のX線結晶構造（PDB: 4FKQ）の4FKQ_Xray_IFIE.cpf（結晶構造由来）と
4FKQ_MD_DIFIE.cpf（MD由来100構造平均IFIE）をダウンロード

【URL】https://drugdesign.riken.jp/pub/CBI2023tut/

チュートリアル(2)の配布Data
- 4FKQ_Xray-IFIE.cpf
- 4FKQ_MD-DIFIE.cpf

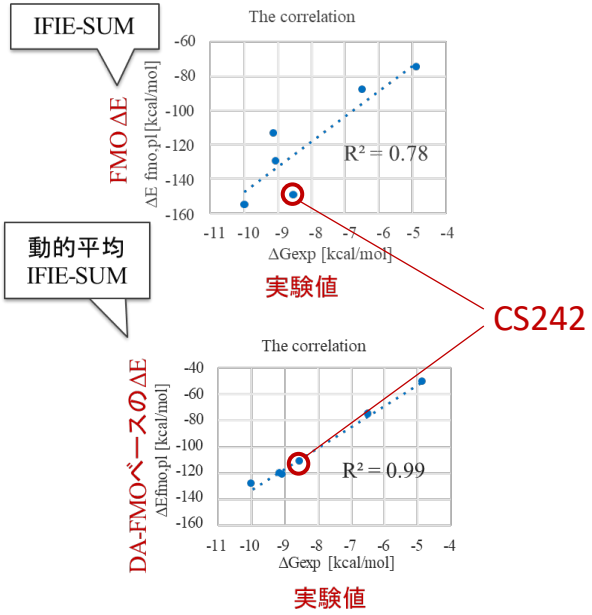




CS242 (PDB ID: 4FKQ)

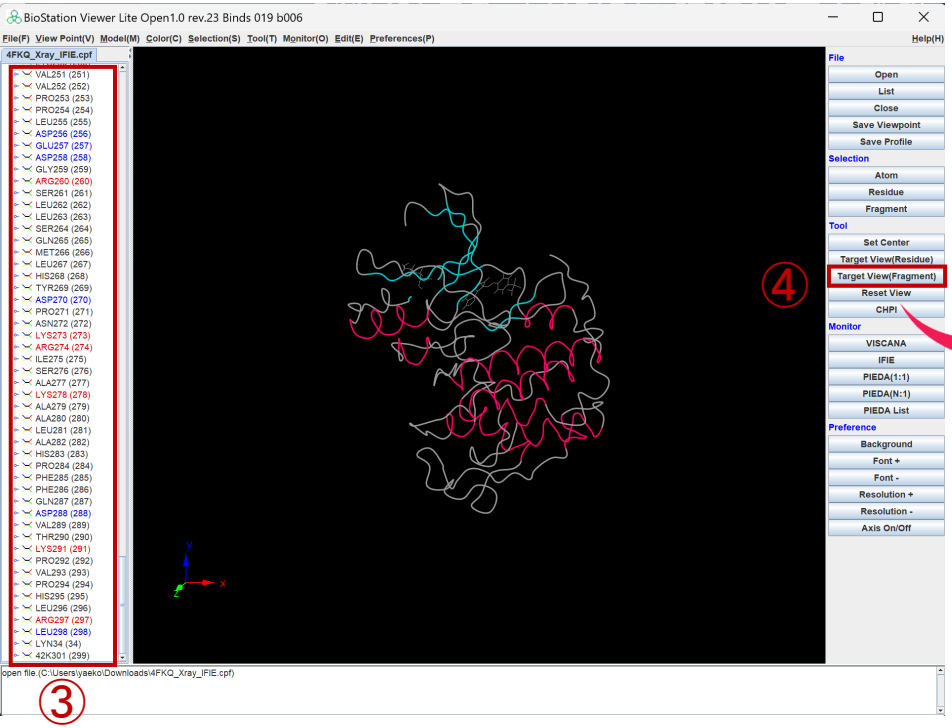
MW = 357.4

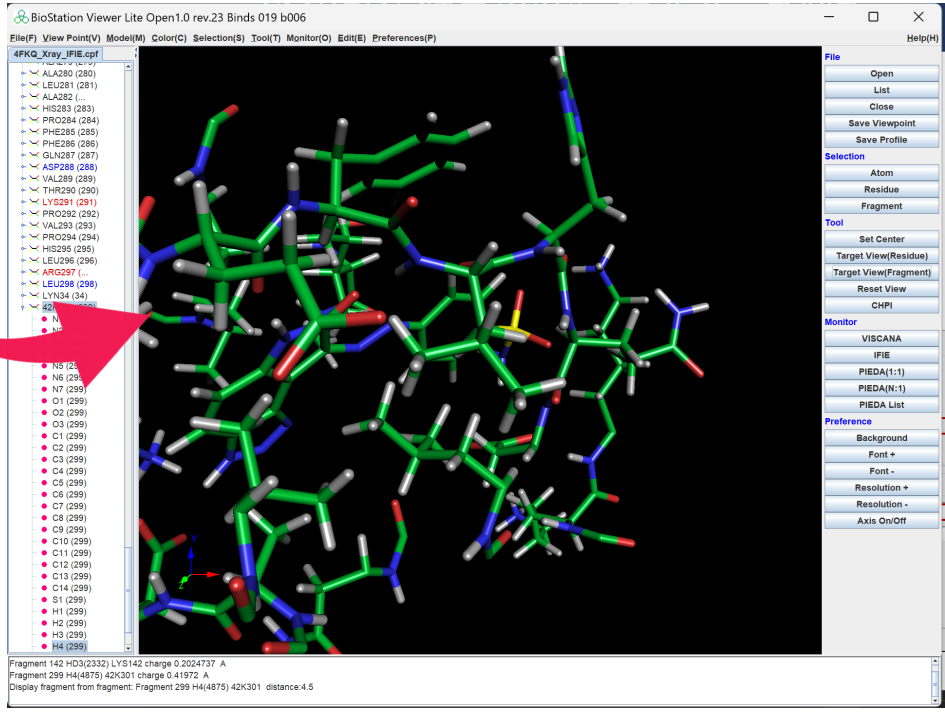
ΔG_{exp} = -8.56 [kcal/mol]



FMO計算結果(IFIE)：構造ベース解析

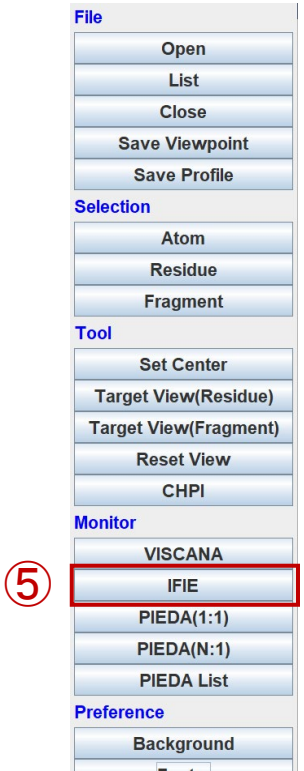
① BioStation Viewerを立ち上げる。デスクトップのアイコンなどから可能。
② BioStation Viewerに、4FKQ_Xray_IFIE.cpf（結晶構造由来）をドロップ
※BioStation Viewer Lite Open1.0 rev.23 Binds 019 b006
③ 左側「A鎖」を展開して一番下にある「42K301」をクリック → リガンドが選択される。
④ 右側「Target View(Fragment)」>OK
→リガンドと、リガンドから4.5Å以内にあるフラグメントのみを表示
⑤ リガンドを選択したまま、右側メニューからMonitor>IFIEを選択
⑥ 図に示すように選択し、IFIEの大きさによって色の濃淡をつける

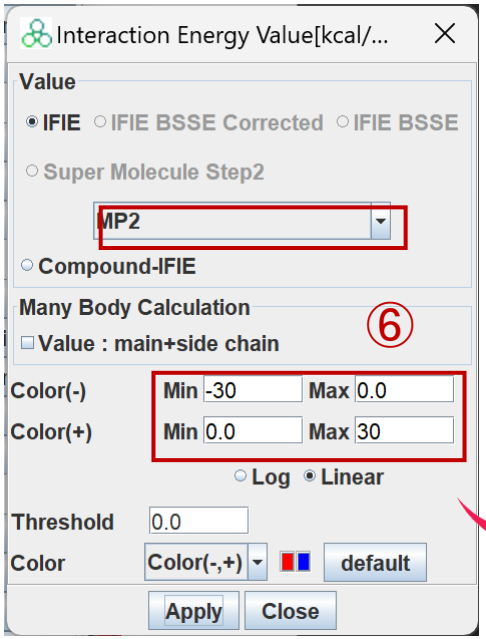


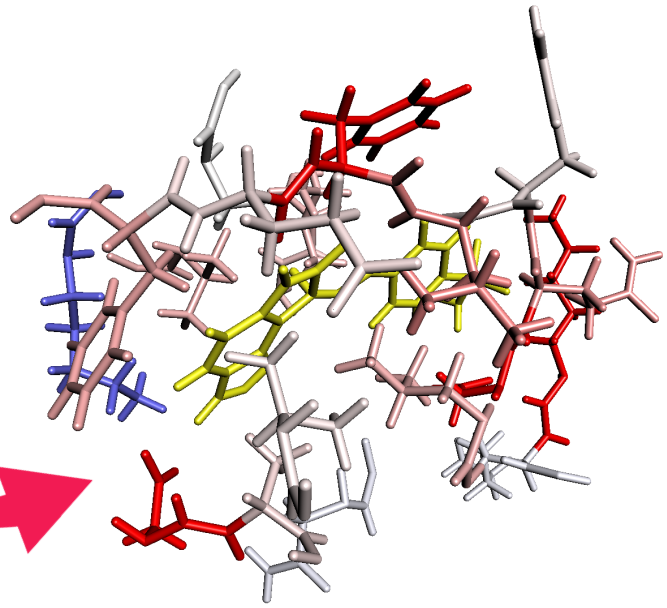


FMO計算結果(IFIE)：構造ベース解析

① BioStation Viewerを立ち上げる。デスクトップのアイコンなどから可能。
② BioStation Viewerに、4FKQ_**Xray**_IFIE.cpf（結晶構造由来）をドロップ
※BioStation Viewer Lite Open1.0 rev.23 Binds 019 b006
③ 左側「A鎖」を展開して一番下にある「42K301」をクリック → リガンドが選択される。
④ 右側「Target View(Fragment)」>OK
→リガンドと、リガンドから4.5Å以内にあるフラグメントのみを表示
⑤ リガンドを選択したまま、右側メニューからMonitor>IFIEを選択
⑥ 図に示すように選択し、IFIEの大きさによって色の濃淡をつける







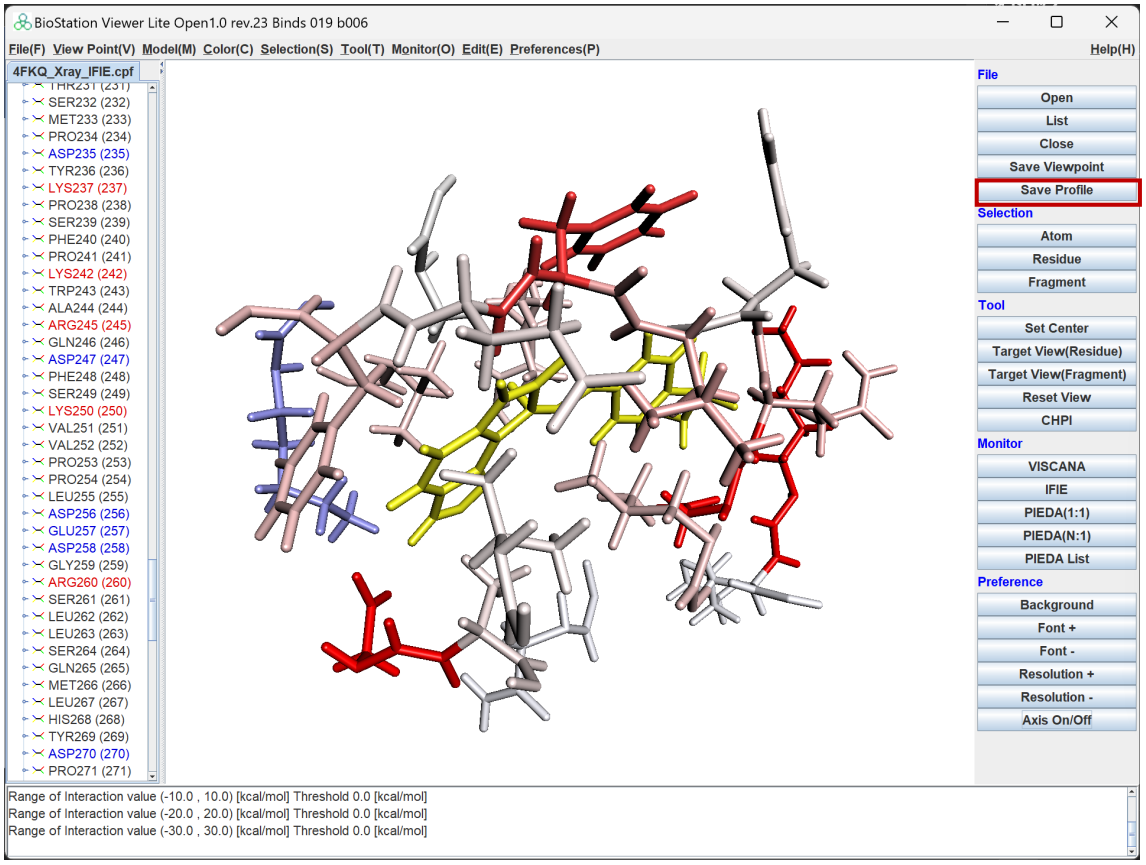
BioStation Viewerの操作

- **基本操作**
  - 分子の回転
    - 左クリックを押しながらカーソルを動かす
  - 分子の平行移動
    - 右クリックを押しながらカーソルを動かす
  - 分子の拡大
    - 中央ボタンを押しながらカーソルを上下に動かす

- **その他操作**
  - 選択したフラグメントの表示変更
    - 選択した状態で右クリック>Model
  - 選択したフラグメントを中心に設定
    - Tool>Set Center
  - 背景色の変更（黒⇔白）
    - Preference>Background

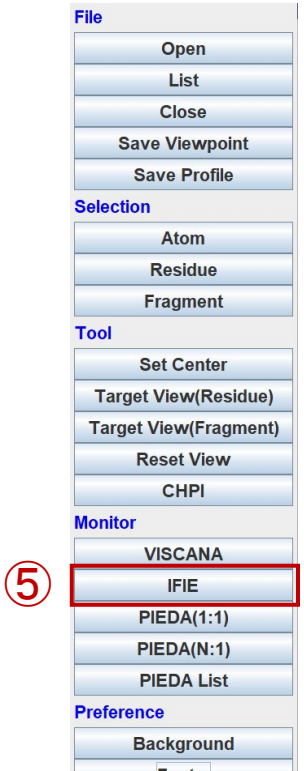
表示属性(profile)ファイルの保存・使用方法

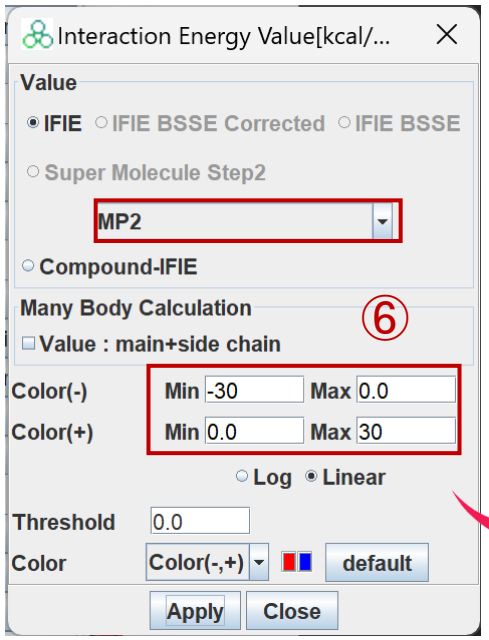
- 表示属性ファイル（*.prof）
  - ファイルの表示状況を保存・再現するためのファイル
  - 読み込んだ構造ファイル、視点やモデル/色をはじめとする状況再現
  - 右側メニュー「Save Profile」から保存、使用は保存したファイルをViewerにドロップ

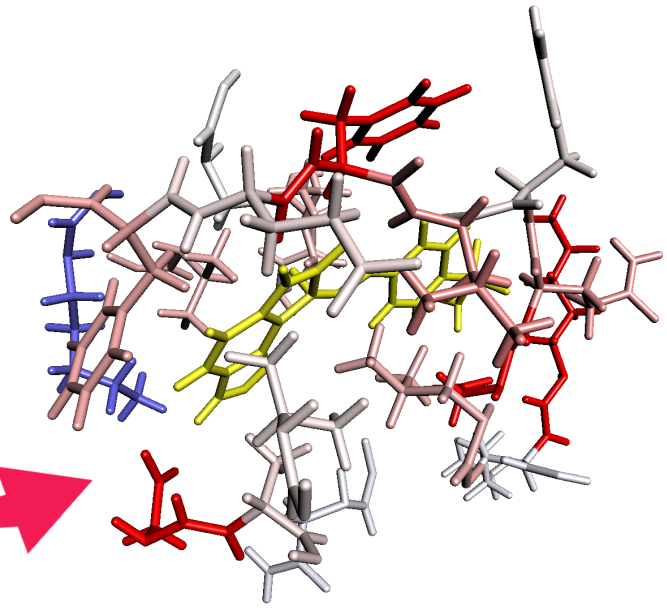


FMO計算結果(IFIE)：構造ベース解析

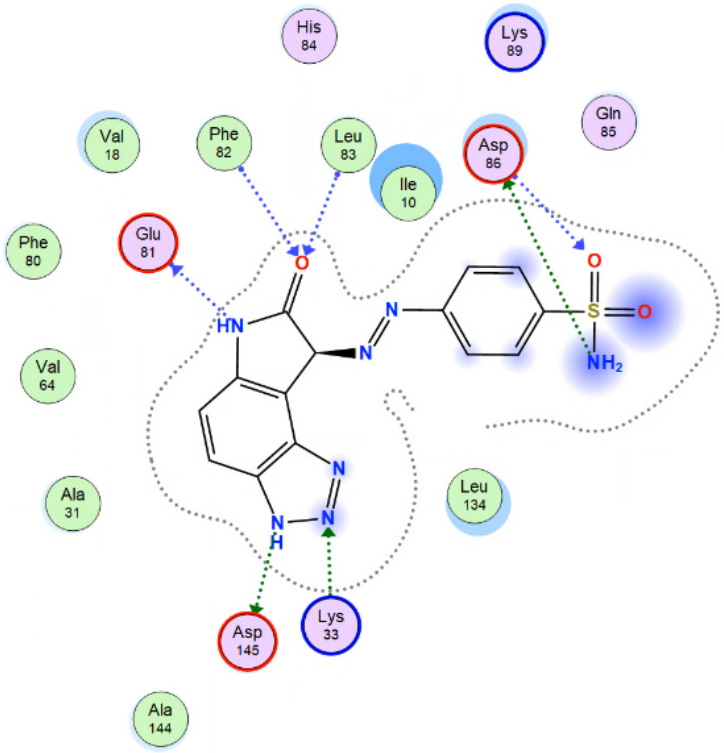
① BioStation Viewerを立ち上げる。**先ほどとは別のウィンドウで立ち上げる。**
② BioStation Viewerに、4FKQ_**MD**_xxx_DIFIE.cpf（動的構造平均）をドロップ
③ 左側「A鎖」を展開して一番下にある「LIG299」をクリック → リガンドが選択される。
④ 右側「Target View(Fragment)」>OK
→リガンドと、リガンドから4.5Å以内にあるフラグメントのみを表示
⑤ リガンドを選択したまま、右側メニューからMonitor>IFIEを選択
⑥ 図に示すように選択し、IFIEの大きさによって色の濃淡をつける
※ ②～⑥まで、201_MD_DIFIE_target-view.profのドラッグ&ドロップで再現可能



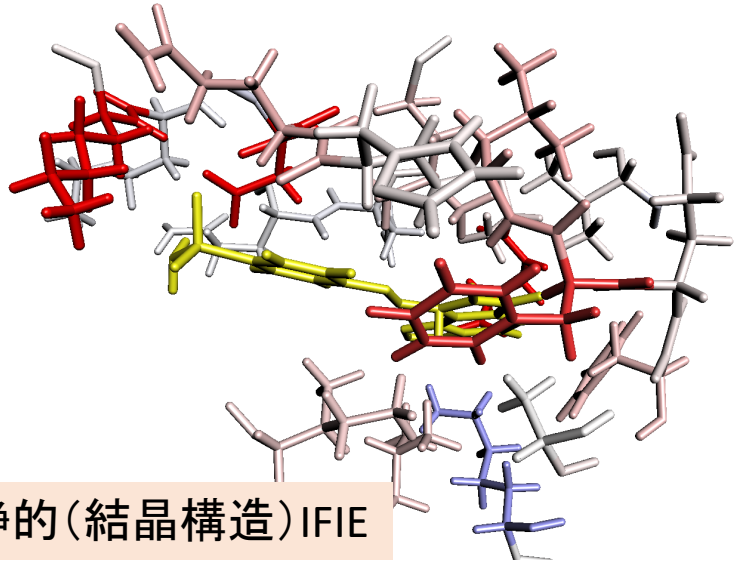




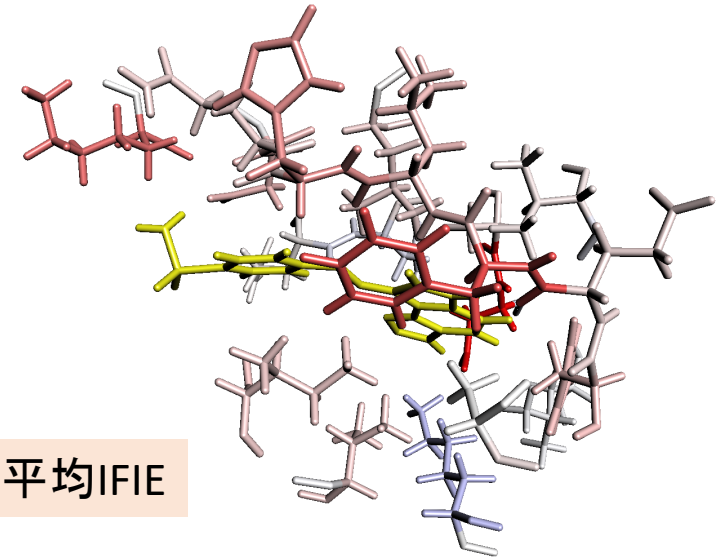
FMO計算結果(IFIE) : 構造ベース解析



結晶構造における周辺環境



静的(結晶構造)IFIE



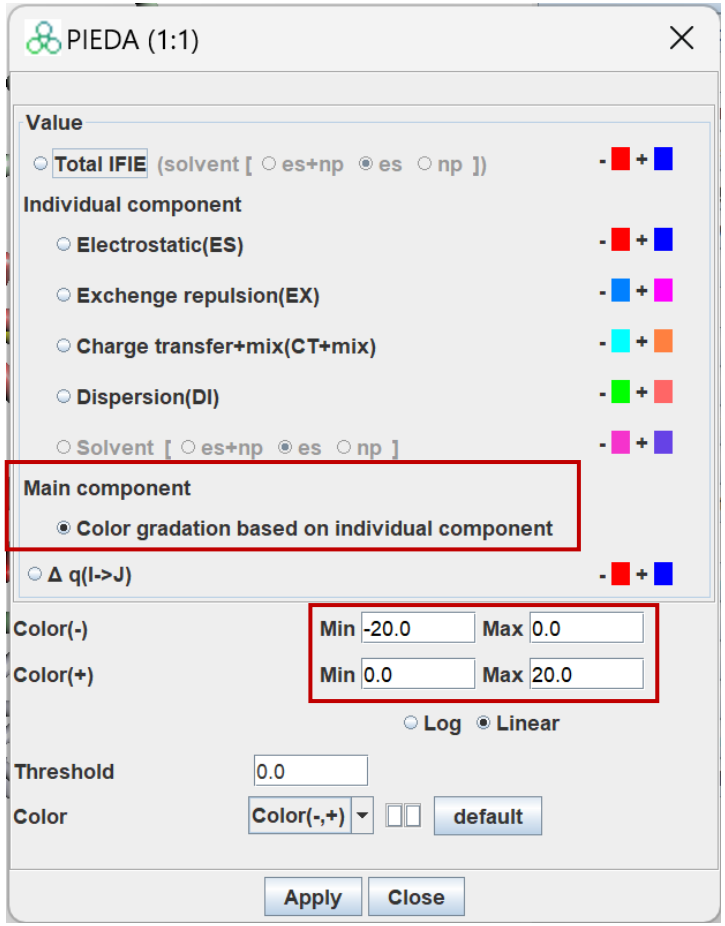
動的平均IFIE

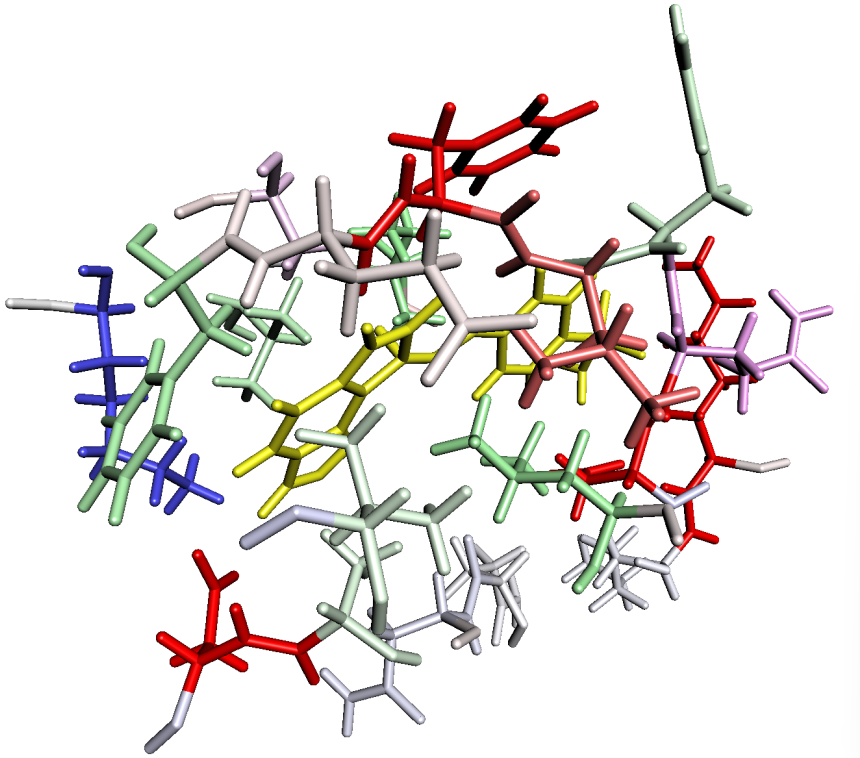
動的平均IFIE ➡ 比較的色が薄く、全体的に相互作用が減少

FMO計算結果(PIEDA)：構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② 図に示すように選択し、エネルギーの強さによって各成分ごとに色の濃淡をつける



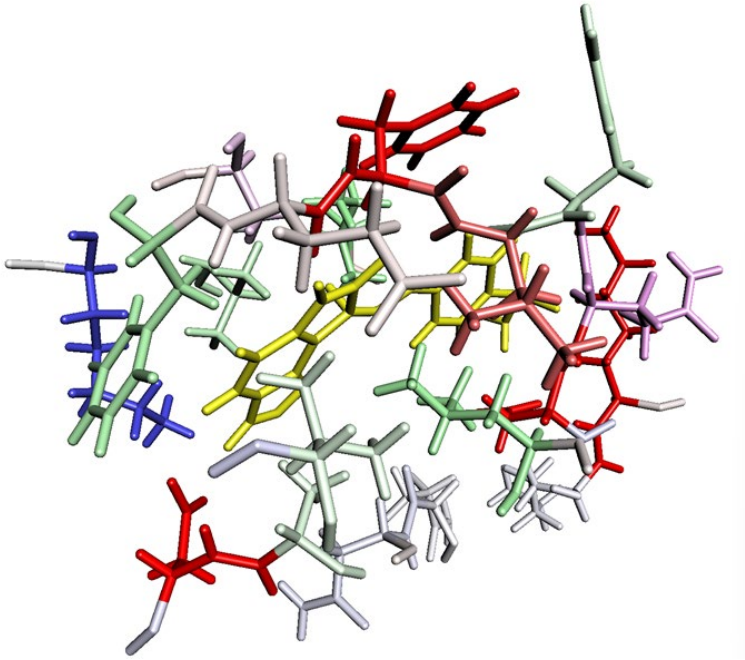


相互作用の成分（色）と強さ（濃淡）から、相互作用の正確な把握

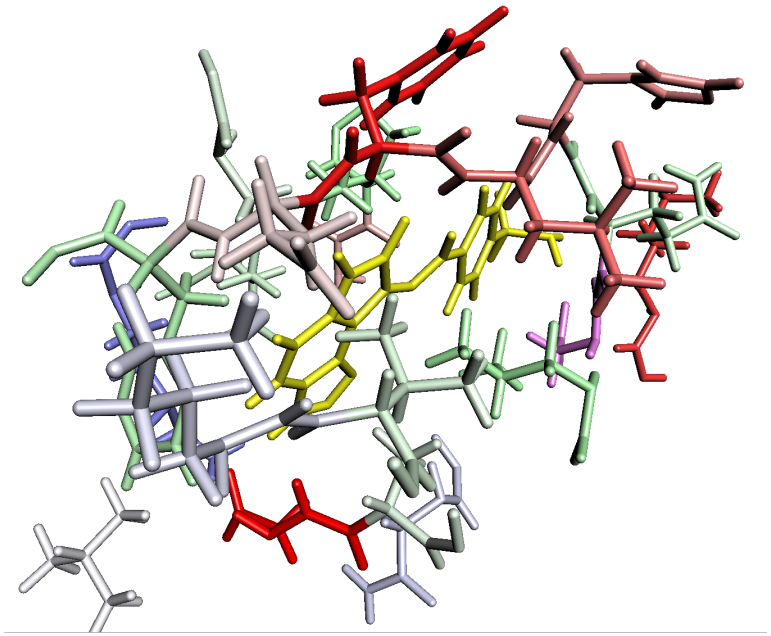
FMO計算結果(PIEDA) : 構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② Main Component > Color gradiation based on individual component



静的(結晶構造)PIEDA



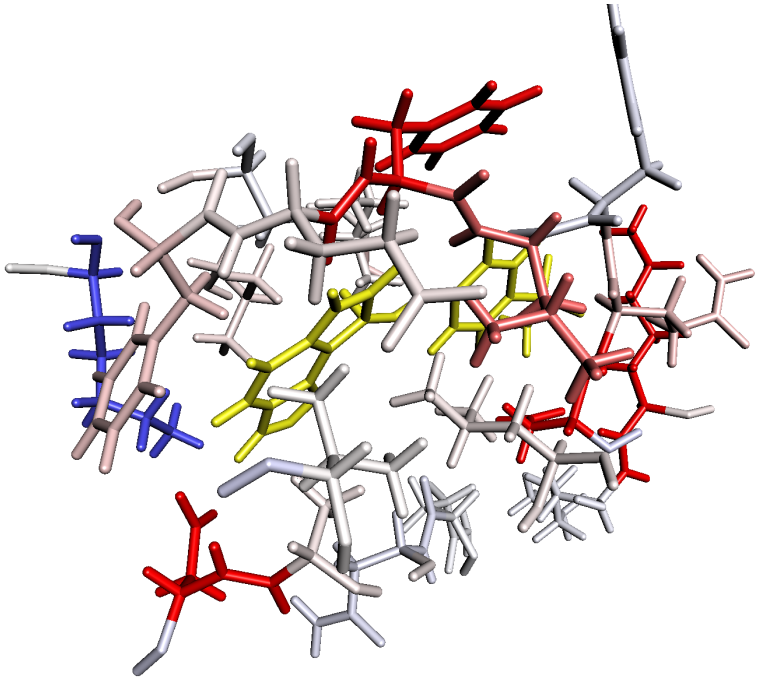
動的平均PIEDA

PIEDAの主要成分表示

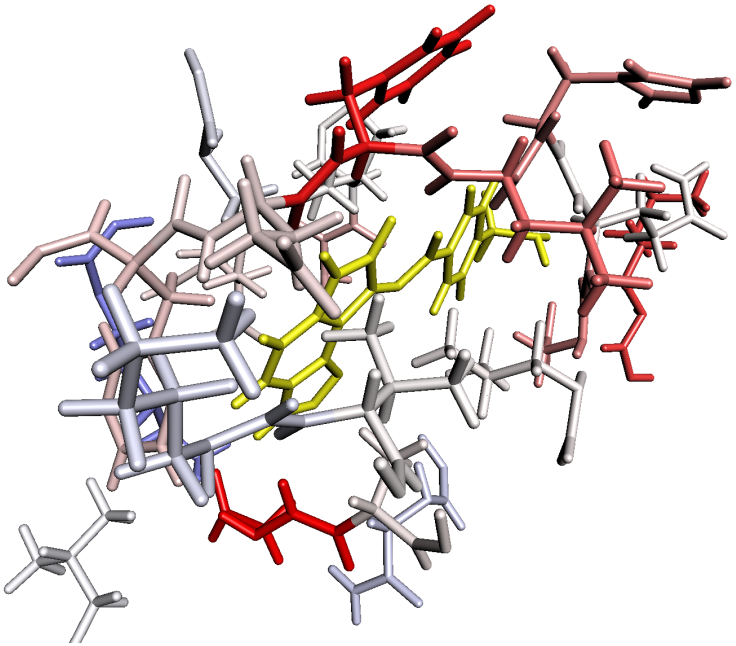
FMO計算結果(PIEDA) : 構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② Individual Component > Electrostatic(ES)



静的(結晶構造)ES



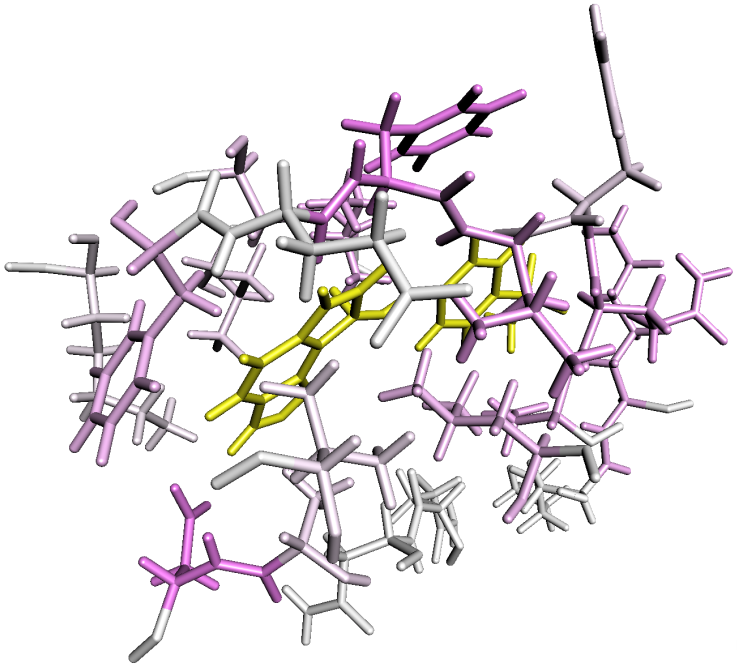
動的平均ES

リガンドに対する各フラグメントからの静電相互作用

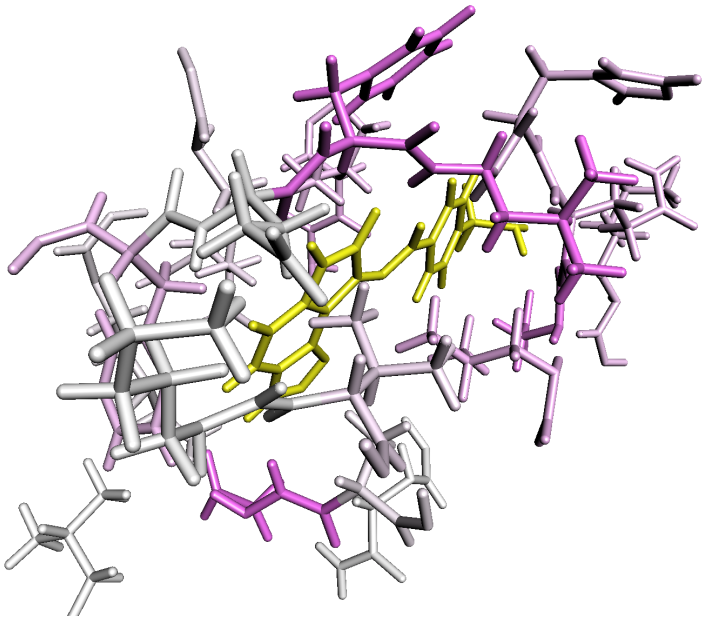
FMO計算結果(PIEDA) : 構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② Individual Component > Exchange repulsion(EX)



静的(結晶構造)EX



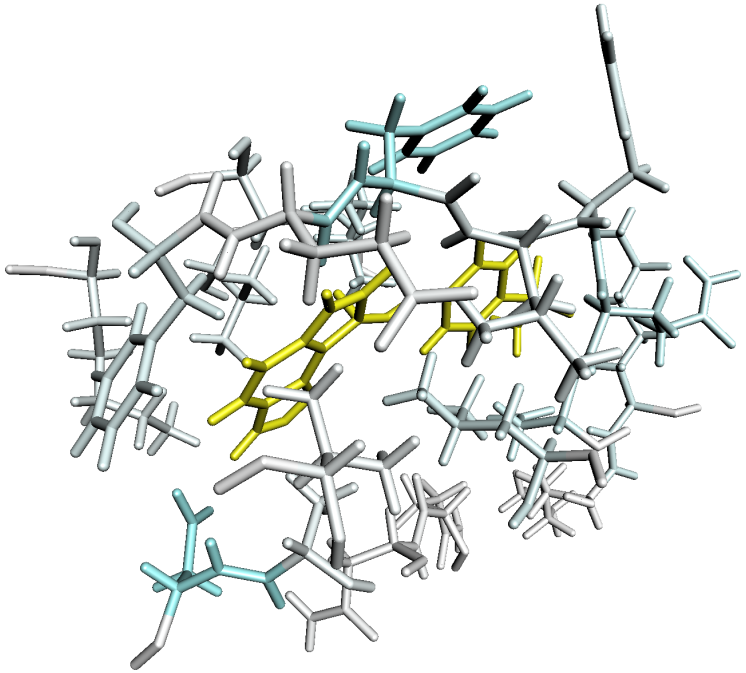
動的平均EX

リガンドに対する各フラグメントからの交換反発相互作用

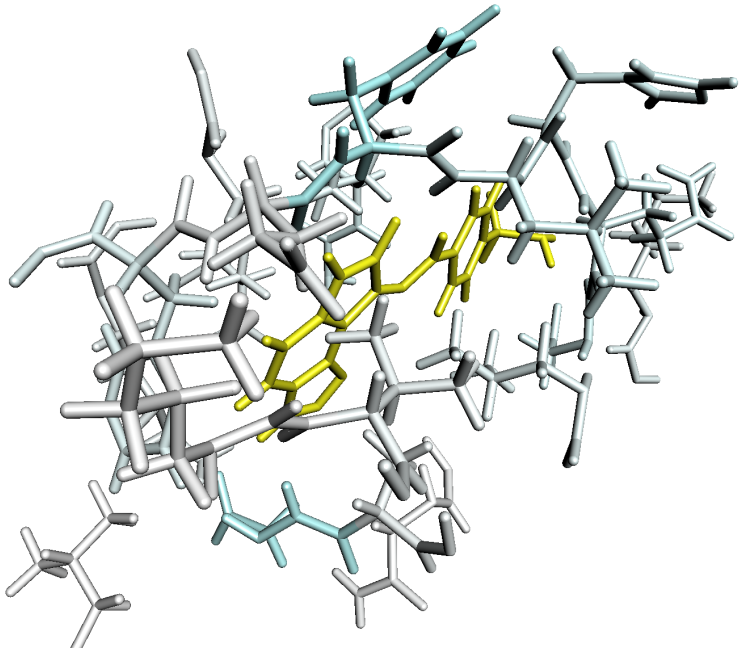
FMO計算結果(PIEDA) : 構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② Individual Component ＞ Charge transfer+mix(CT+mix)



静的(結晶構造)ES



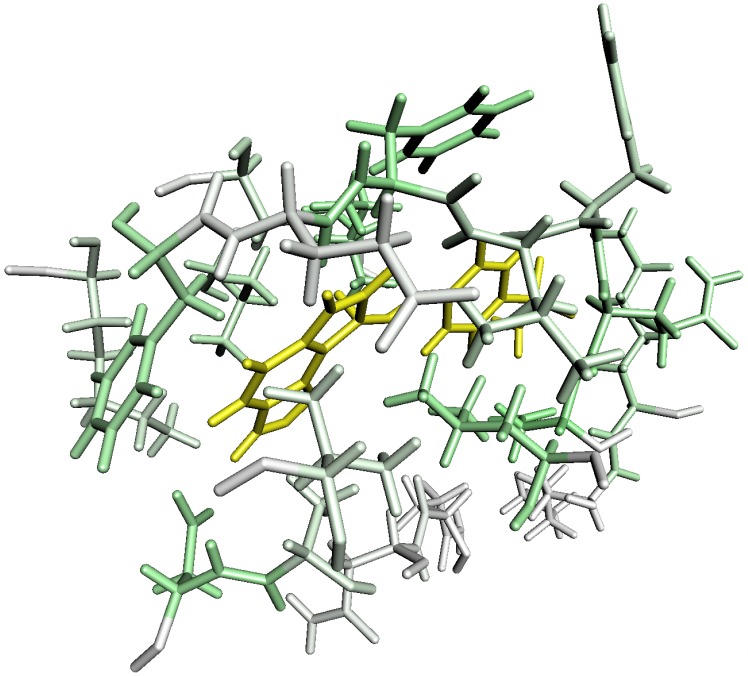
動的平均ES

リガンドに対する各フラグメントからの電荷移動相互作用

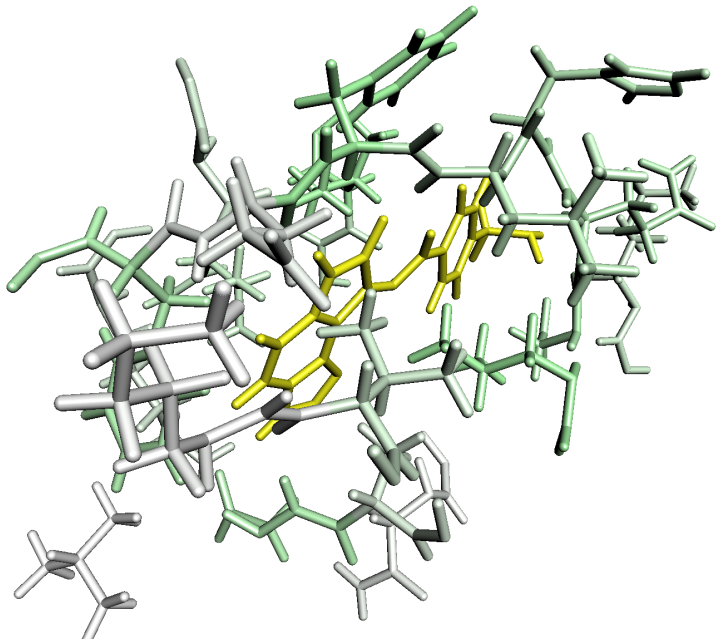
FMO計算結果(PIEDA) : 構造ベース解析

① 画面右のMonitor＞PIEDA(1:1)を選択

② Individual Component > Dispersion(DI)



静的(結晶構造)ES



動的平均ES

リガンドに対する各フラグメントからの分散力相互作用

まとめ

- ✓ FMODBからFMO計算結果を入手
- ✓ MD計算による動的構造のFMO計算について
  - ✓ MDとFMOを組み合わせた、構造の揺らぎを考慮した動的平均IFIE（SUM）と実験的な結合自由エネルギーとの相関
  - ✓ AbmpToolsの紹介
  - ✓ MD由来の複数の.cpfファイルの統合
- ✓ Biostation Viewerの紹介
  - ✓ 基本的な操作説明
  - ✓ 表示属性ファイルの紹介
- ✓ 結晶構造と動的平均のFMO計算結果の構造ベース解釈
  - ✓ 熱揺らぎを考慮することで、結晶構造由来の過度な相互作用が解消された生体内らしい相互作用を再現

本チュートリアルの内容

1. FMODBを用いた定量的相互作用解析

   [題材]サイクリン依存性キナーゼ 2 (CDK2)のMD snapshotを使用したFMO計算データ

   – FMODBが提供する機能の紹介と基本操作
     - FMO計算データの様々な検索方法
     - IFIE/PIEDAデータのダウンロード方法
     - 構造揺らぎを考慮した動的平均FMO相互作用エネルギーと活性値との相関を導出

2. 構造揺らぎを考慮した相互作用の視覚化・解釈

   [題材] 1.で用いた動的IFIEデータ / ABMPTools / BioStation Viewer

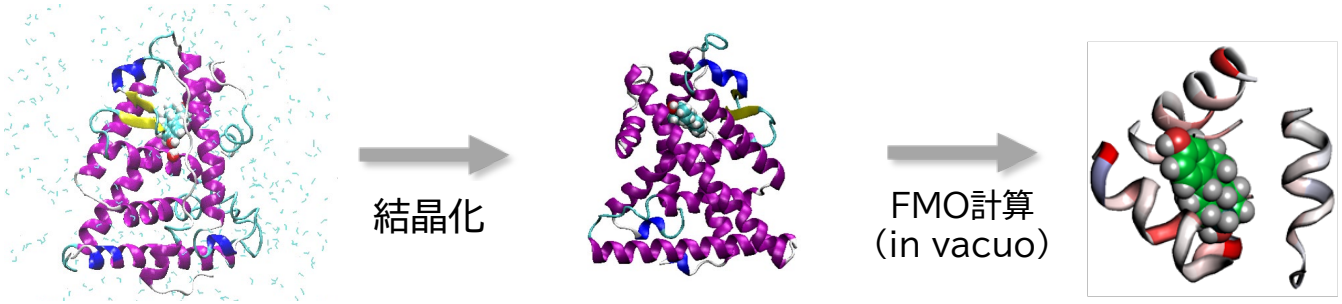
   – ABMPTools(FMO計算・解析支援ツール)の紹介
     - 動的平均.cpfファイルの作成
   – BioStation Viewer によるFMO計算結果の可視化
     - 基本操作・機能紹介
     - 相互作用比較 結晶構造 vs. 動的平均

3. 構造揺らぎ考慮+αによる相互作用解析・計算

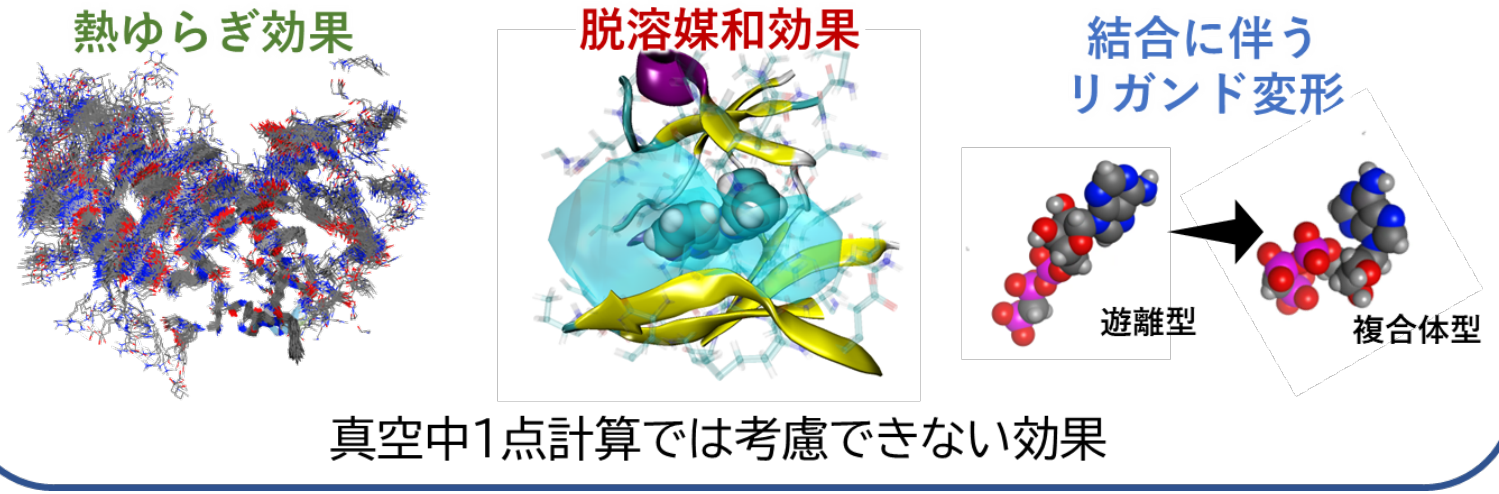
   [題材] CDK2以外のターゲットの相互作用評価。構造揺らぎ + 周辺溶媒効果 + リガンド変形

動的IFIEのみでは考慮されない効果

■ FMO法によるリガンド相互作用解析 → 通常は真空中1点計算



熱揺らぎ (in vivo)　X線結晶構造　相互作用計算

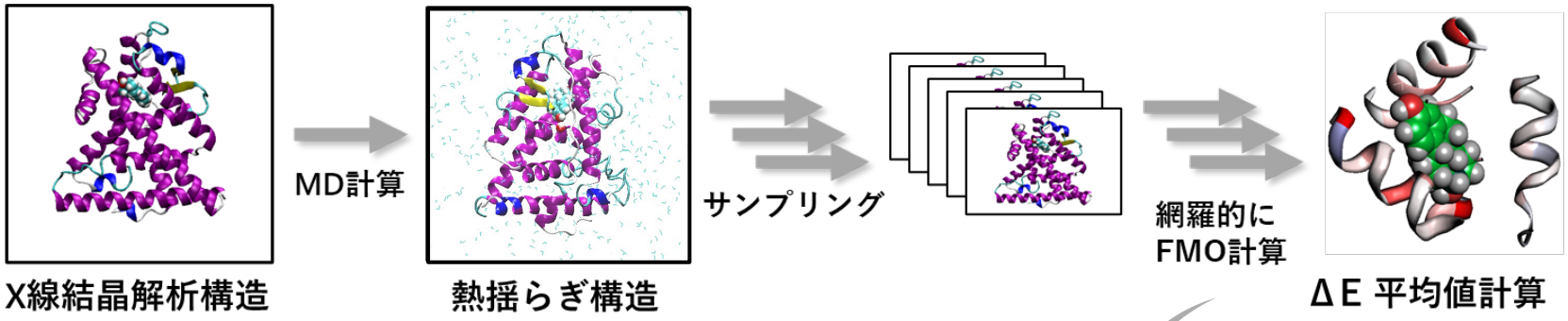


真空中1点計算では考慮できない効果

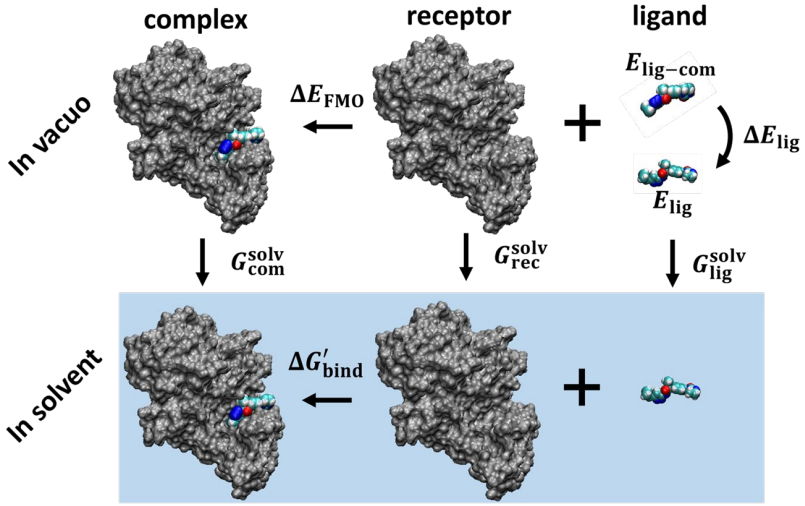
これらの効果を考慮した際、相互作用評価精度に与える影響を検証

動的IFIEのみでは考慮されない効果

1. MD計算によって生成した熱揺らぎ構造について網羅的にFMO計算



2. 脱溶媒和効果とリガンドの変形効果について計算



$$\Delta G_{\mathrm{bind}} = \Delta E_{\mathrm{FMO}} + \Delta G_{\mathrm{solv}} + \Delta E_{\mathrm{lig}}$$

脱溶媒和 → MM-PB/SA　　リガンド歪 → QM計算

ΔE_{FMO} : 量子化学的相互作用エネルギー(FMO計算)

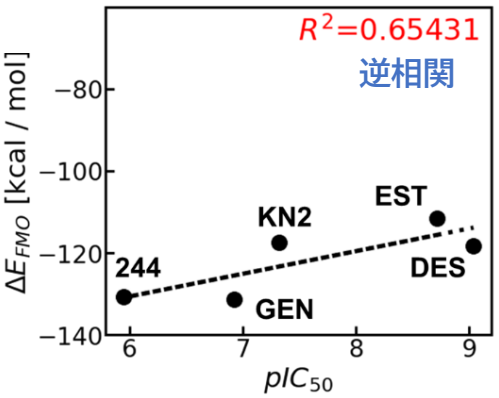
ΔG_{solv} : MM-PB/SA計算による古典的脱溶媒和自由エネルギー

ΔE_{lig} : QM計算によるリガンドの歪みエネルギー

3. 統計的に処理したΔG_{bind}と活性値pIC_{50}の相関から、精度の検証

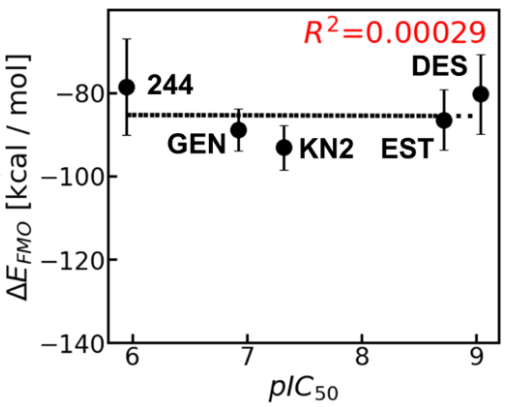
動的IFIEのみでは考慮されない効果

ER ： 10 ns MD × 2 から 1 ns 間隔でサンプリング（20 構造）



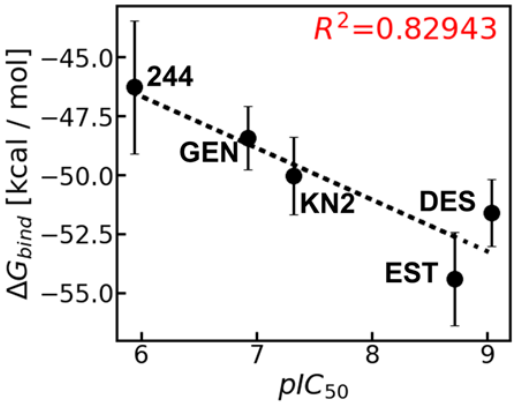
FMO 1点計算（従来法）

熱ゆらぎ考慮



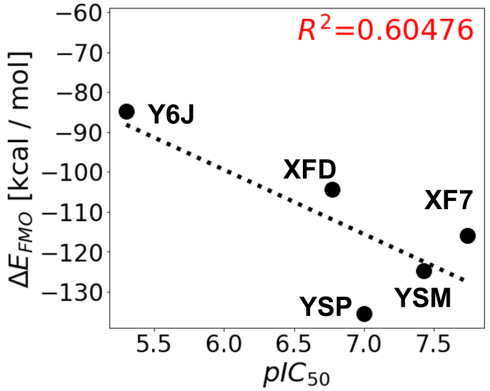
Dynamic FMO

脱溶媒リガンド歪考慮



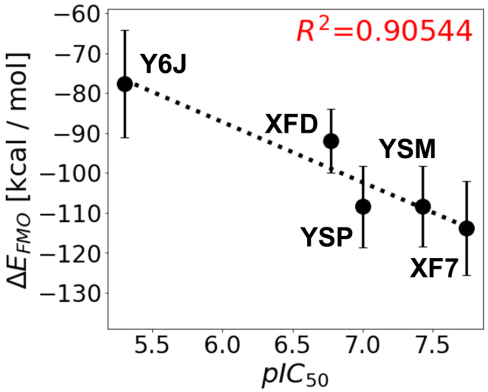
Dynamic FMO
(ΔG_{solv} , ΔE_{lig} included)

Mpro ： 10 ns MD × 2 から 1 ns 間隔でサンプリング（20 構造）



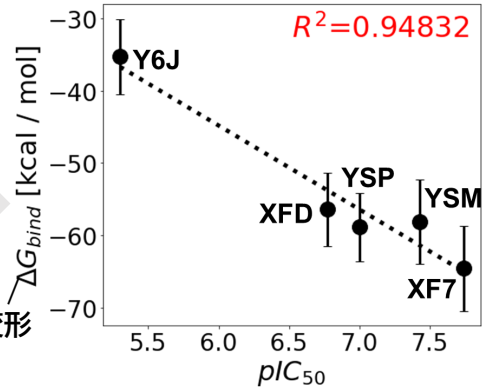
FMO 1点計算（従来法）

熱ゆらぎ考慮



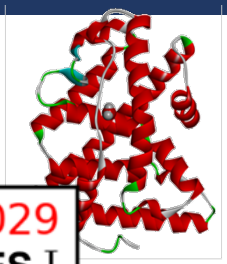
Dynamic FMO

脱溶媒／リガンド変形考慮

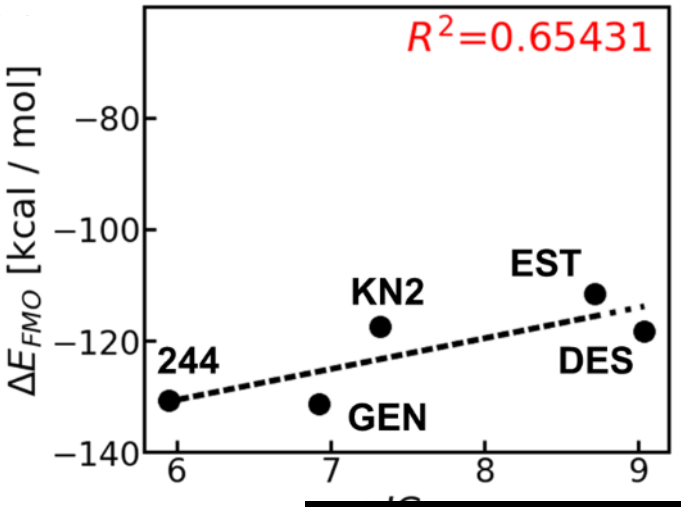


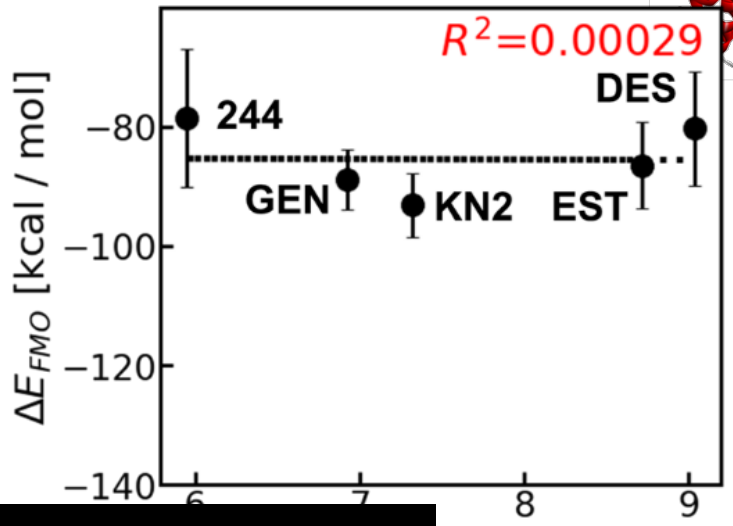
Dynamic FMO
(ΔG_{solv} , ΔE_{lig} included)

ER:各効果の影響評価



1. MDを用いたサンプリングによる熱揺らぎの加味





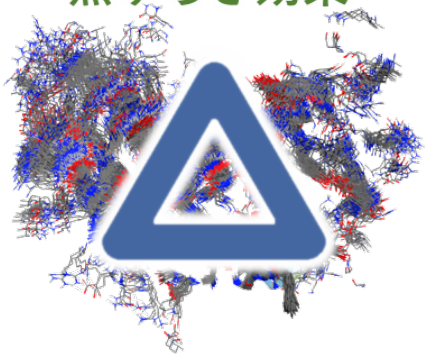
FMO

逆相関解消、精度の向上なし

C_{50}

グFMO

熱ゆらぎ効果

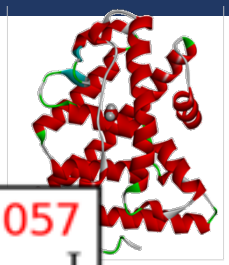


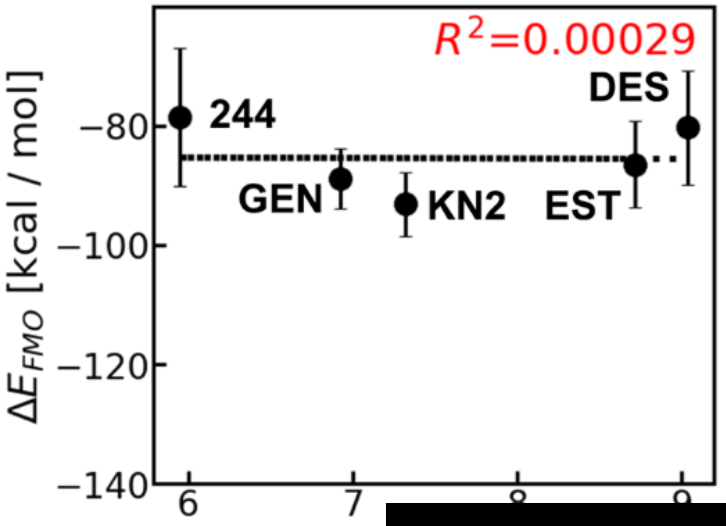
脱溶媒和効果

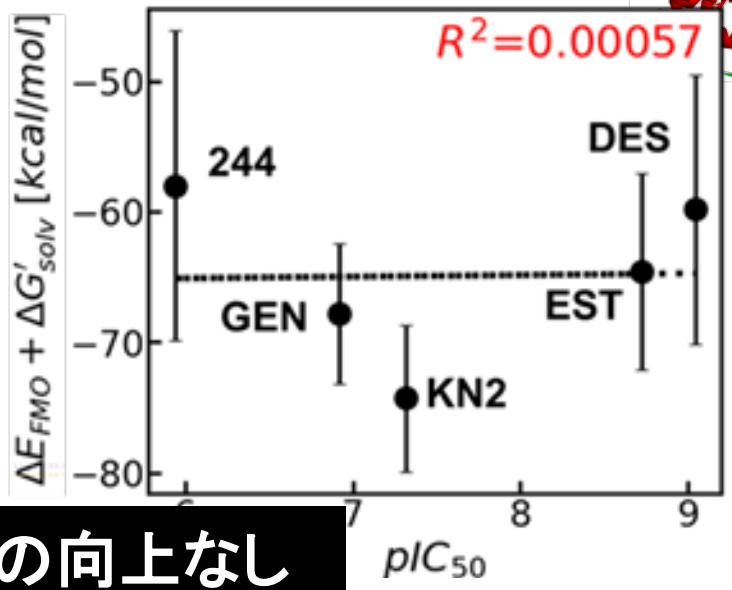
結合に伴う
リガンド変形

ER：各効果の影響評価

2. MM-PB/SA計算による脱溶媒和効果の加味







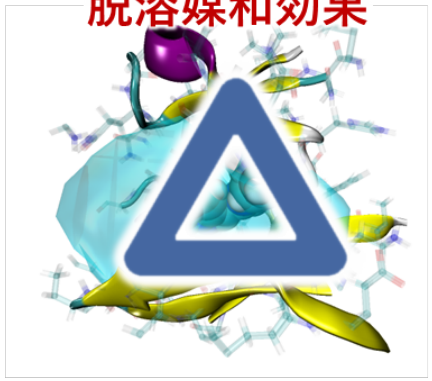
ほとんど精度の向上なし

サンプリング FMO　　リガンド FMO + 脱溶媒和

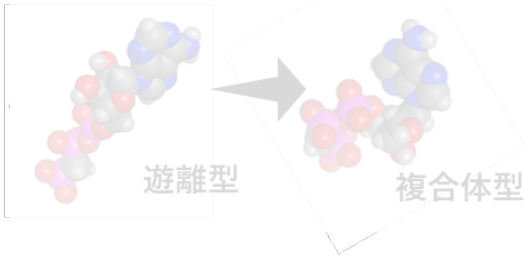
熱ゆらぎ効果



脱溶媒和効果

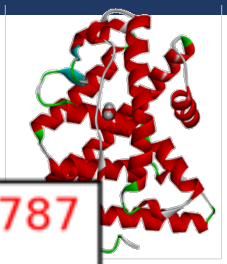


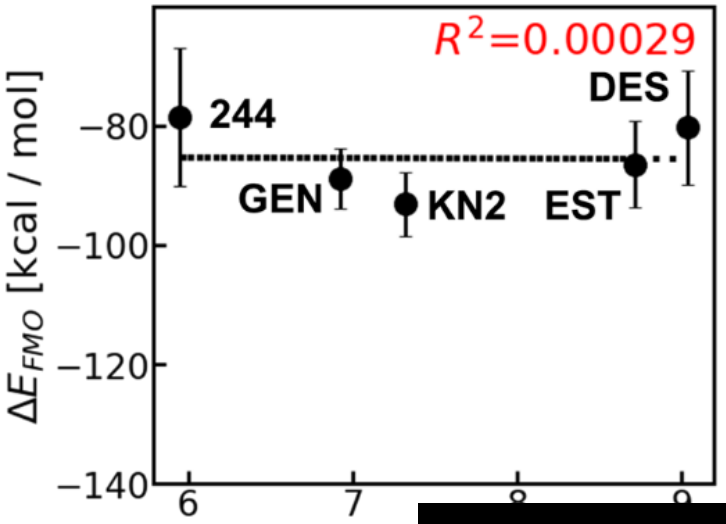
結合に伴う
リガンド変形

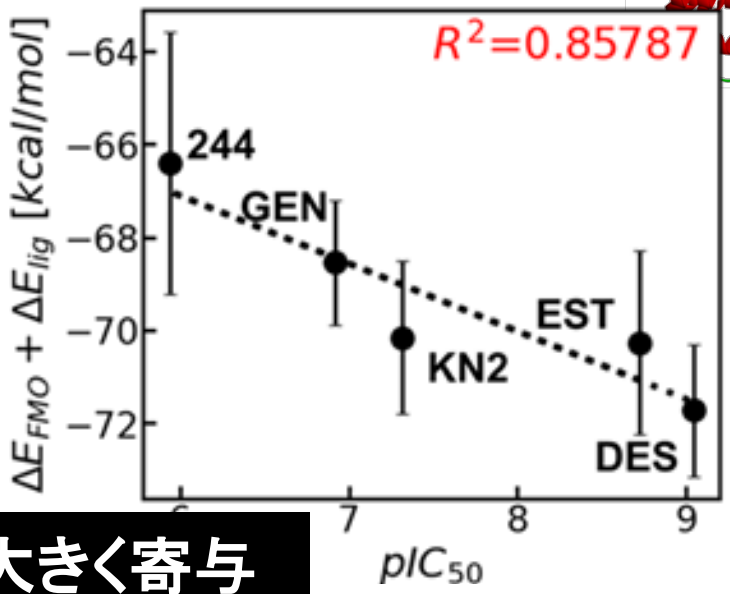


ER：各効果の影響評価

3. 結合に伴うリガンド構造変形の加味



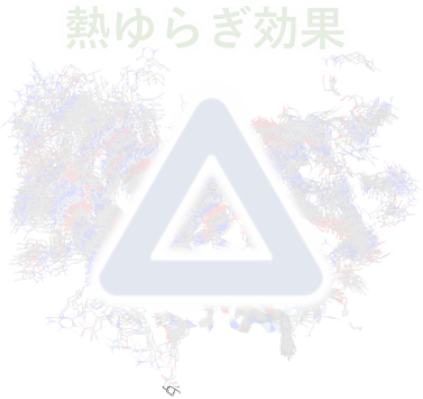




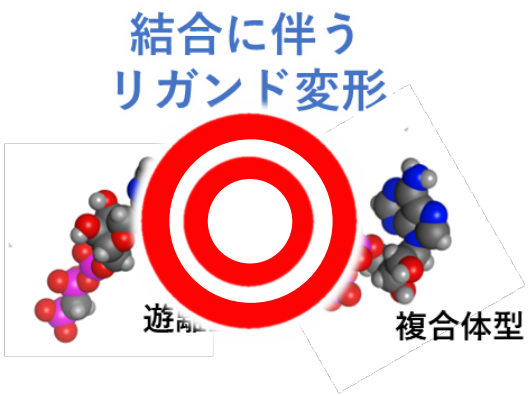
精度向上に大きく寄与

サンプリング有り

リガンド変形FMO ＋ リガンド変形

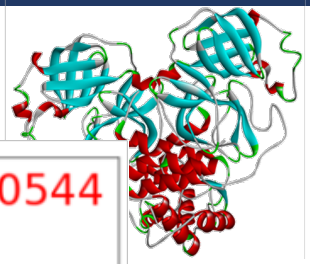


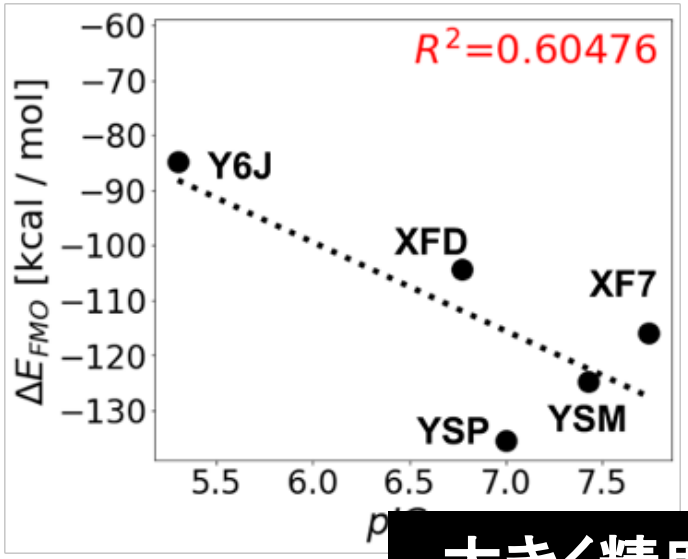


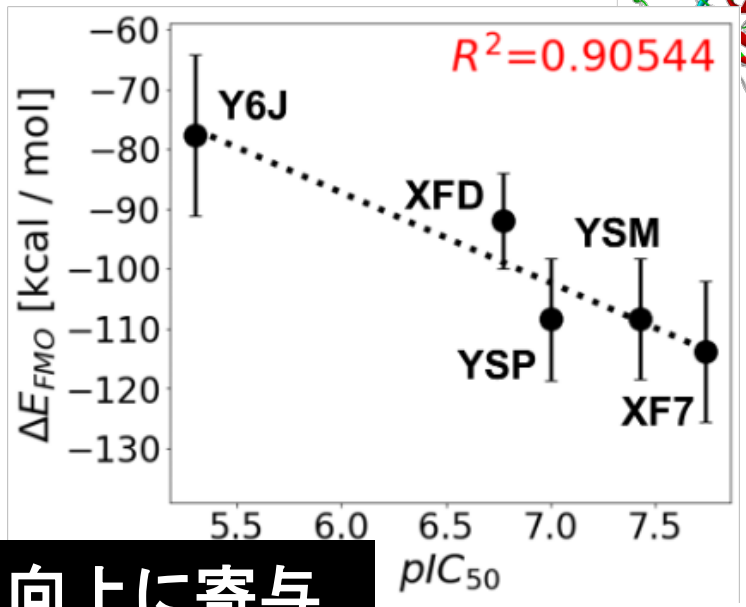


Mpro：各効果の影響評価

1. MDを用いたサンプリングによる熱揺らぎの加味





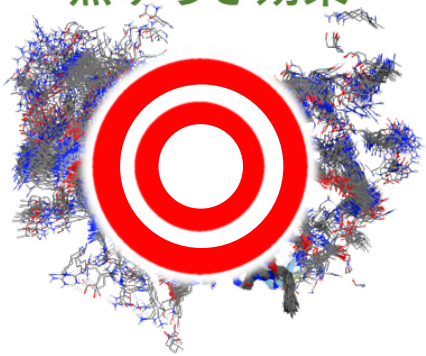


FMO 1点

大きく精度の向上に寄与

サンプリングFMO

熱ゆらぎ効果

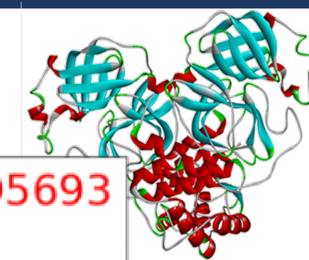


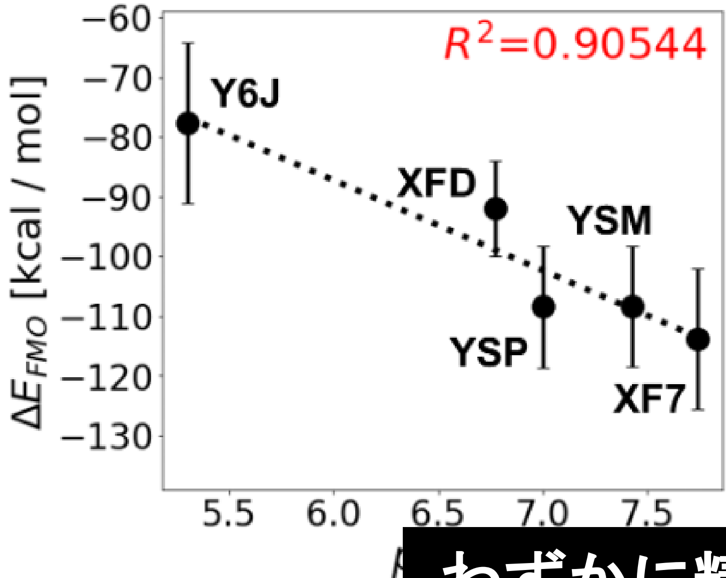
脱溶媒和効果

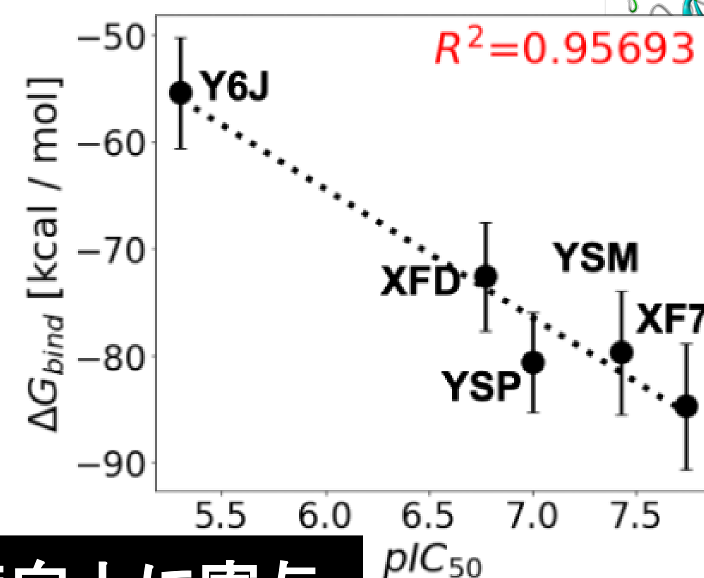
結合に伴う
リガンド変形

Mpro：各効果の影響評価

2. MM-PB/SA計算による脱溶媒和効果の加味

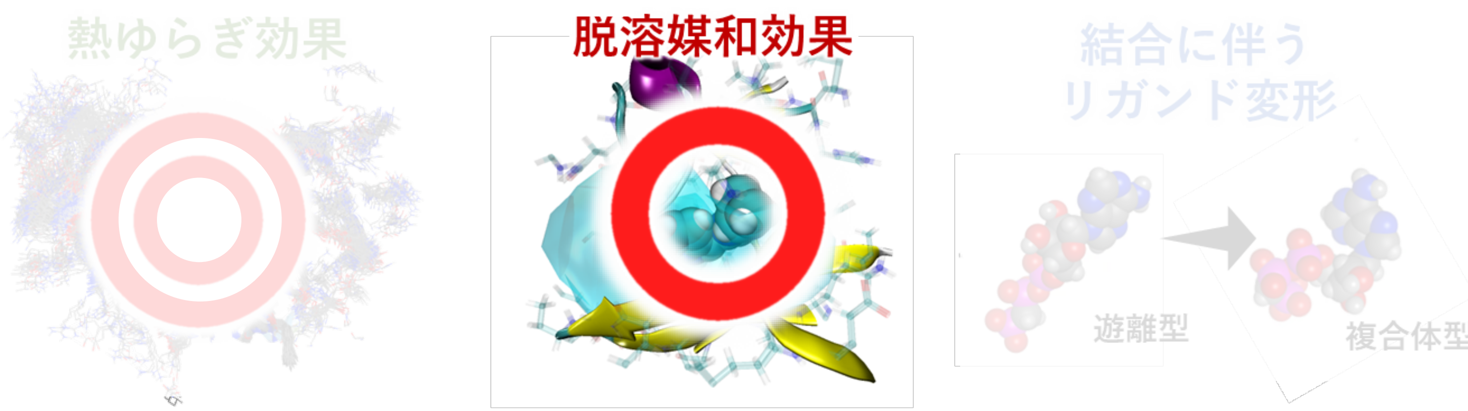






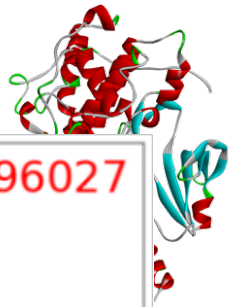
わずかに精度向上に寄与

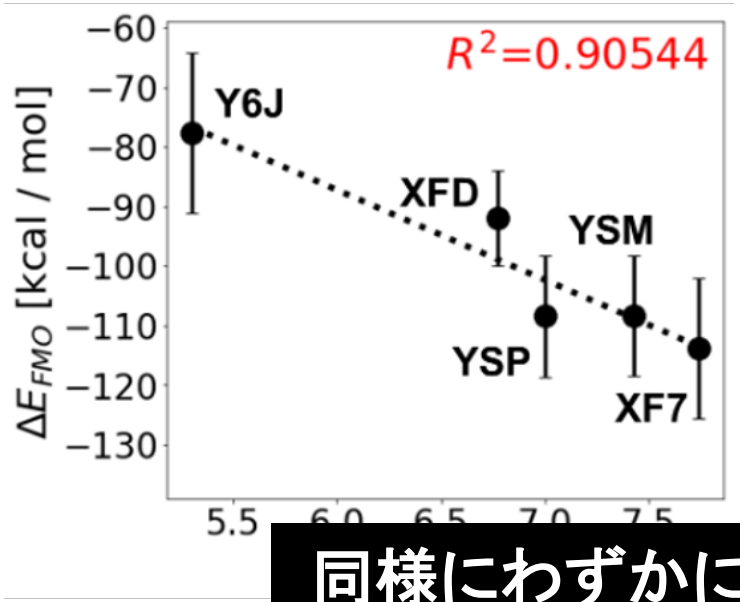
サンプリ　　　　　　　　　　　グFMO + 脱溶媒和

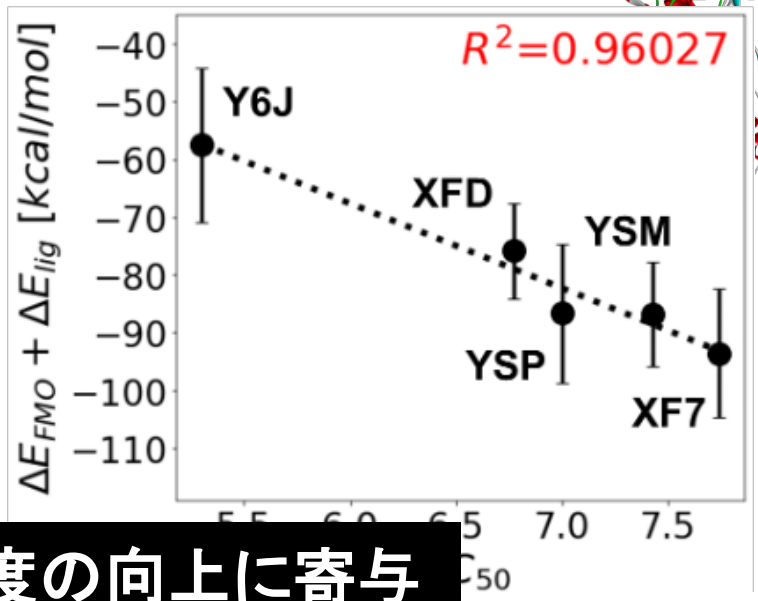


Mpro：各効果の影響評価

3. 結合に伴うリガンド構造変形の加味







同様にわずかに精度の向上に寄与

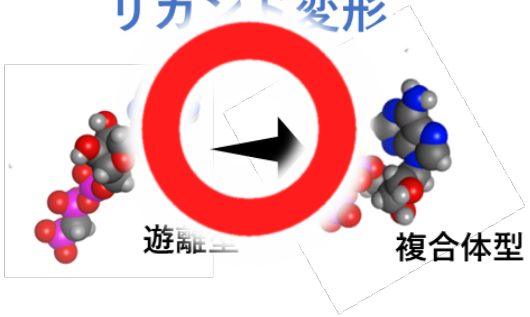
サブサブサブFMO

サブサブサブFMO + リガンド変形

熱ゆらぎ効果

脱溶媒和効果

結合に伴う
リガンド変形



動的IFIEのみでは考慮されない効果

Summary

- ✓ MDと連携したFMO計算による相互作用解析に加えて、リガンドの変形・脱溶媒和の効果を検証.
- ✓ ER複合体はリガンド変形、Mpro複合体は熱揺らぎの加味が精度の向上に寄与.
- ✓ 以上よりFMO法による相互作用評価に上記の効果を含めることは、系に依らない計算精度の保証に有効であることが示唆.
- ✓ 短いMDを複数実施することが、本手法の精度に寄与することが示唆.
- ✓ MDトラジェクトリからのサンプリング方法に改良の余地あり

Acknowledgments

本研究のFMO計算結果はスーパーコンピュータ「富岳」を利用して得られたものである。(課題番号:hp220143).