

---

# FMODBを活用したリガンド-タンパク質間相互作用解析

---

半田佑磨  
星薬科大学

# チュートリアルの目的と内容

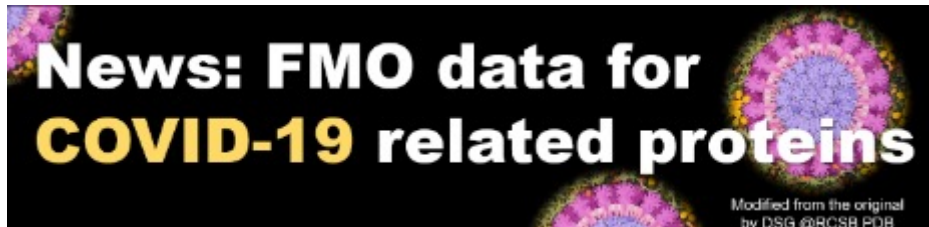
- 目的
  - ・ メインプロテアーゼ-リガンド複合体の相互作用解析
- 内容①
  - ・ FMO計算によるタンパク-低分子複合体の解析例
- 内容②
  - ・ FMODB上での計算結果の確認
  - ・ FMODBからPIEDAデータのダウンロード
  - ・ PIEDA成分の解釈
  - ・ BioStation Viewerを用いた結果の確認

# チュートリアルの目的と内容

- 目的
  - ・ メインプロテアーゼ-リガンド複合体の相互作用解析
- 内容①
  - ・ FMO計算によるタンパク-低分子複合体の解析例
- 内容②
  - ・ FMODB上での計算結果の確認
  - ・ FMODBからPIEDAデータのダウンロード
  - ・ PIEDA成分の解釈
  - ・ BioStation Viewerを用いた結果の確認

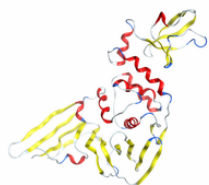
# COVID-19関連タンパク質

- COVID-19の治療薬の探索

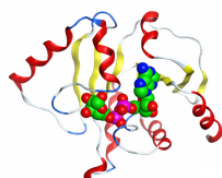


From the FMODATABASE

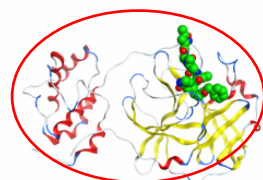
阻害剤デザインの主なターゲットタンパク質



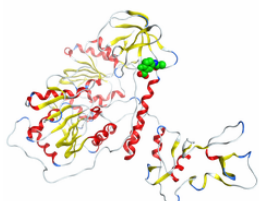
[Papain like protease](#)  
(61 entries)



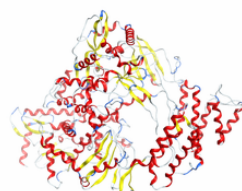
[ADP ribose phosphatase](#)  
(20 entries)



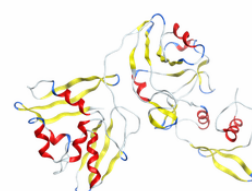
**Main Protease**



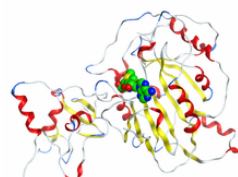
[Helicase](#)  
(60 entries)



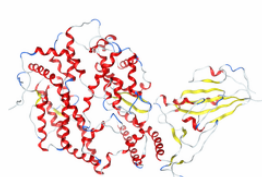
[RNA dependent RNA polymerase](#)  
(17 entries)



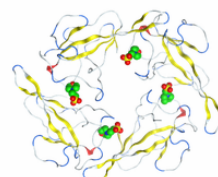
[Endoribonuclease](#)  
(12 entries)



[2'-O-ribose methyltransferase](#)  
(2 entries)

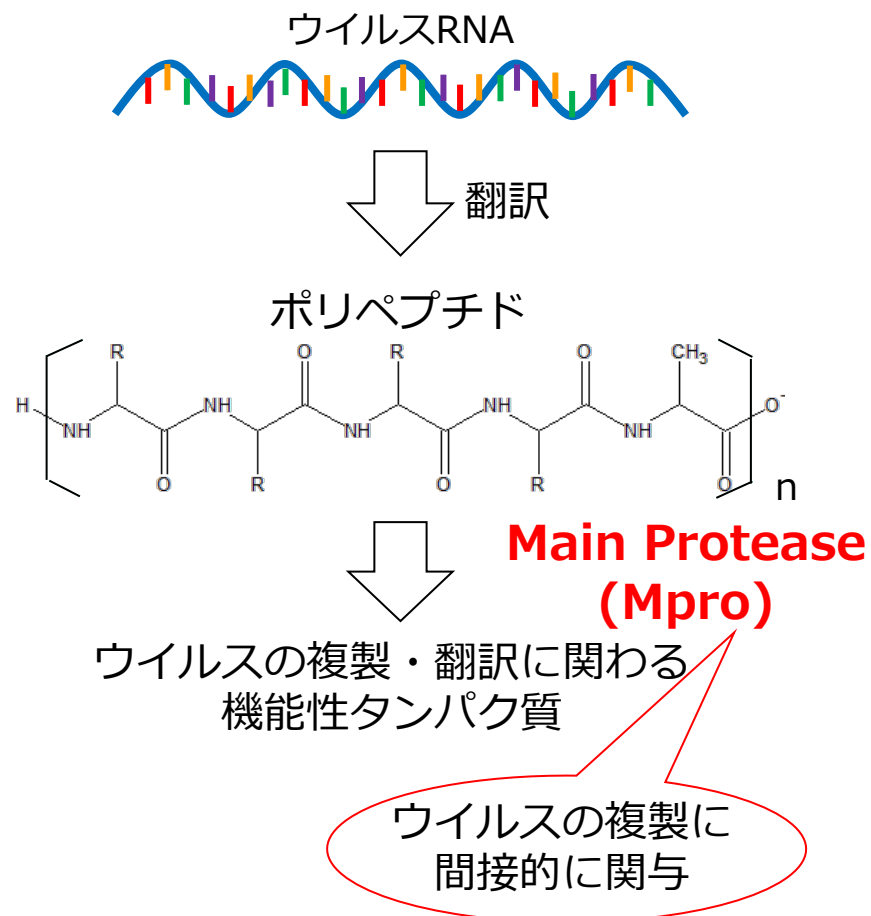


[Spike protein](#)  
(81 entries)



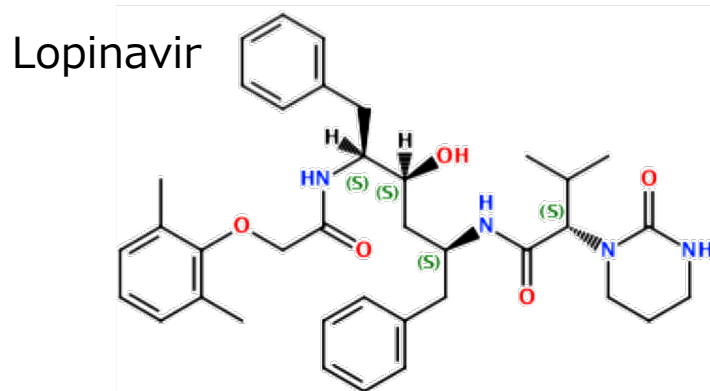
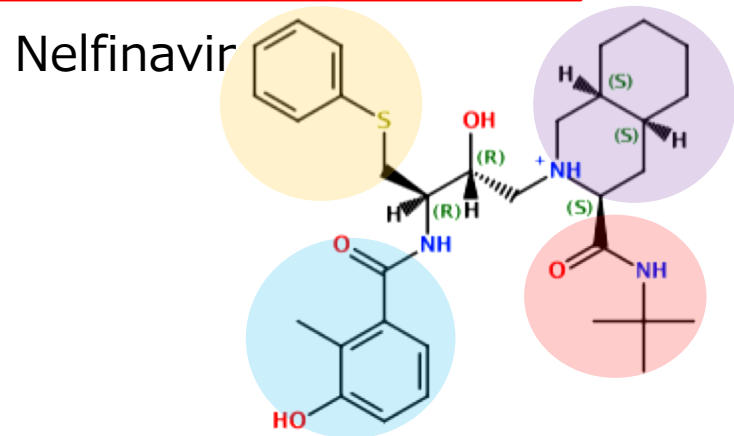
[Nucleocapsid protein](#)  
(16 entries)

- SARS-CoV-2の増殖におけるMproの機能



# 研究背景と手法

## • Mpro阻害剤候補化合物



	Nelfinavir	lopinavir
EC <sub>50</sub> (μM)	<b>1.13</b>	5.73

bioRxiv (2020), <https://doi.org/10.1101/2020.04.06.026476>

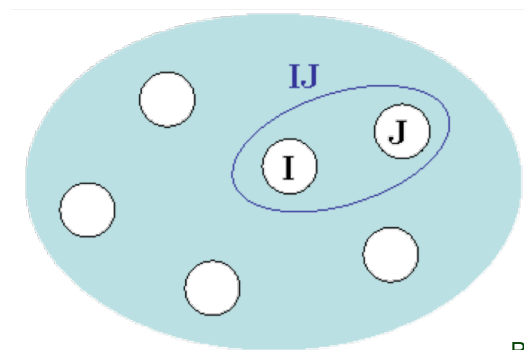
⇒これらの阻害剤とMproとの複合体の結晶構造は解かれていない

## • フラグメント分子軌道法(FMO法)

Total Energy and IFIE

$$E_{total} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta\tilde{E}_{IJ}$$

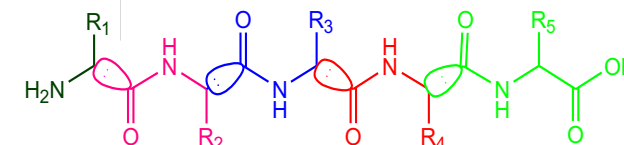
フラグメント間相互作用エネルギー(IFIE)



PIEDA (Pair Interaction Energy Decomposition Analysis)

$$\Delta E = \Delta E_{ES} + \Delta E_{EX} + \Delta E_{CT+mix} + \Delta E_{DI}$$

静電力(ES)、交換反発力(EX)  
電荷移動(CT)、分散力(DI)

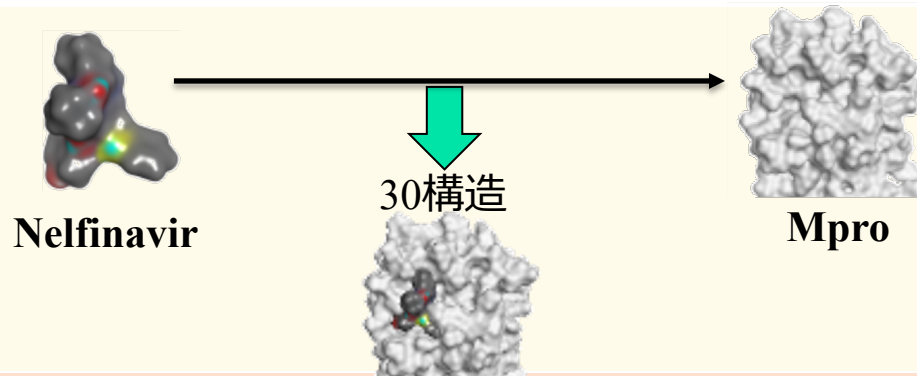


タンパク質のフラグメント分割

ESやCTに基づく水素結合、DIに基づくCH/π相互作用などが解析可能

# 研究方法

## 1.ドッキング



- MOE(CCG)
- Force field:AMBER10:EHT
- Refinement : Induced fit
- Tether:1

## 2.FMOスコアリング

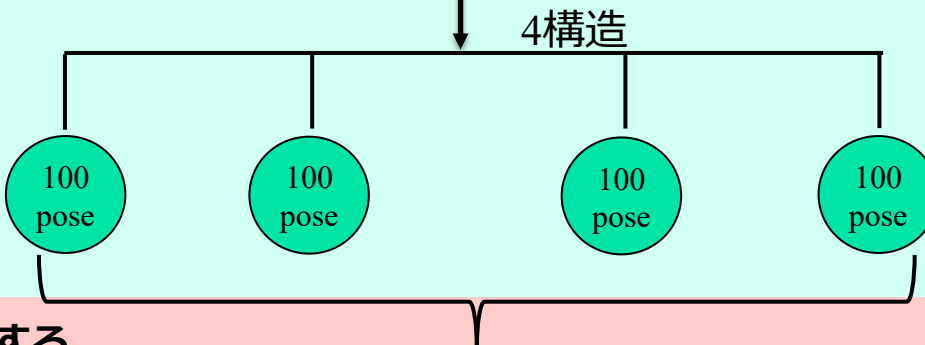
FMOエネルギーを用いた  
スコアリング



### Oakforest-PACS

- Program : ABINIT-MP
- Level: MP2/6-31G\*
- Computer :Oakforest-PACS, 富岳

## 3.MD計算



### TSUBAME3.0



- heat:50ps(0K-300K)
- equalization:50ps(300K)
- Productionrun:100ns
- Force field:Amber10:EHT
- Solvent:water
- Periodic boundary condition

## 4.サンプリング構造に対する FMO計算

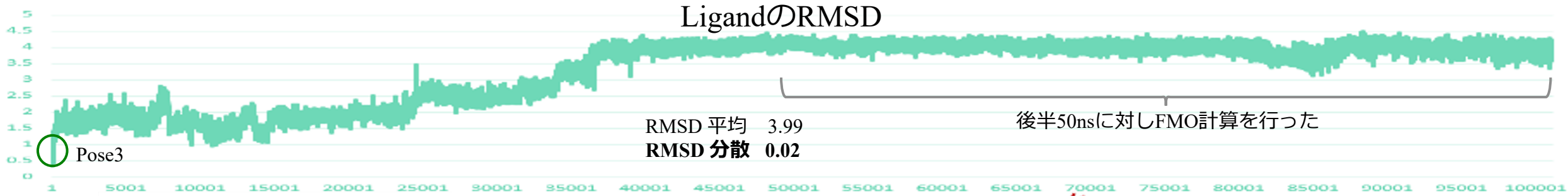
**400構造**に対してFMO計算を実行。  
(100×4=400構造)

### 富岳

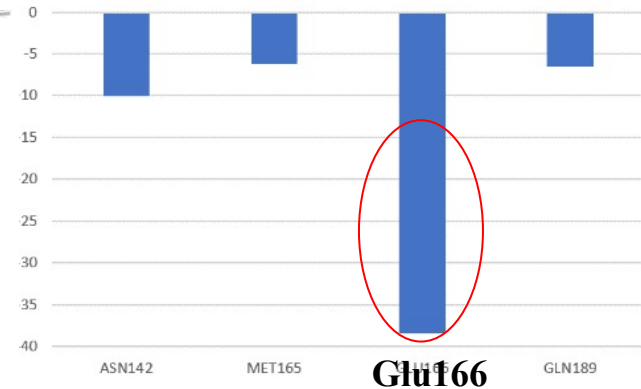
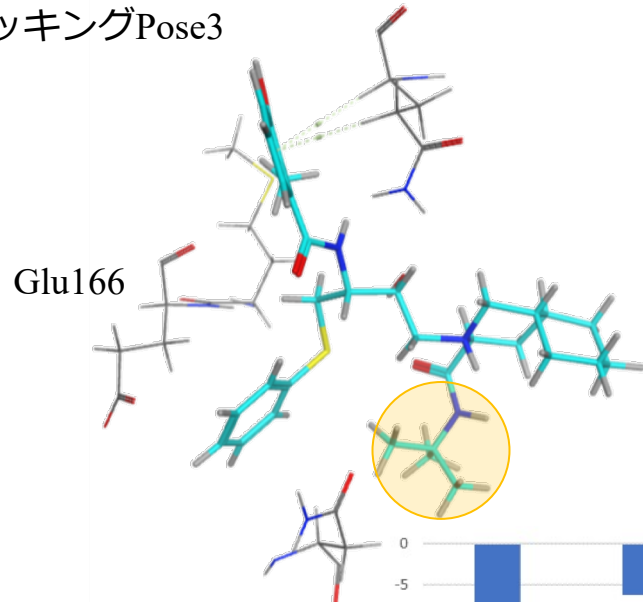
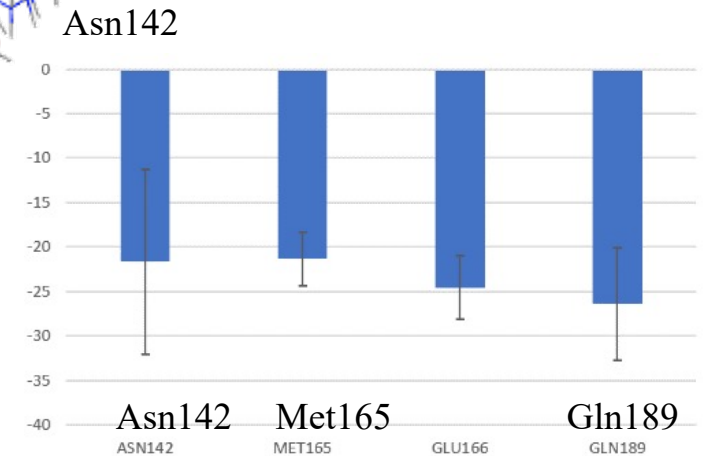
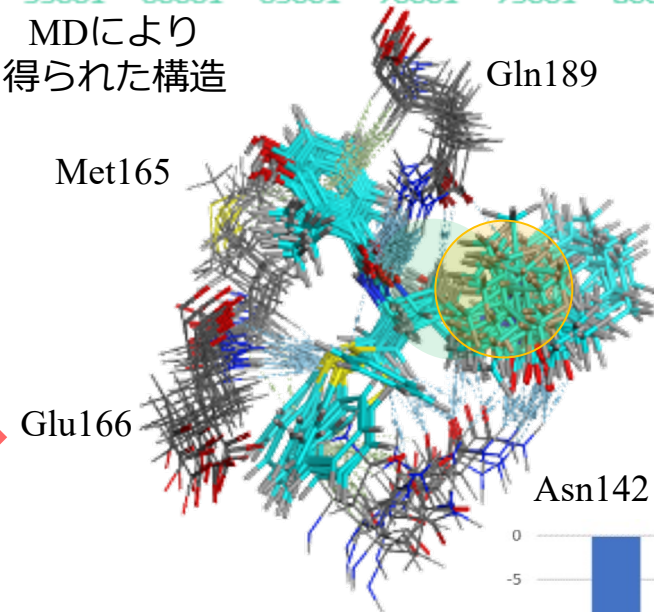


- Program : ABINIT-MP
- Level: MP2/6-31G\*
- Computer :Oakforest-PACS, 富岳
- FMOe、 abmptools、  
BioStation Viewer

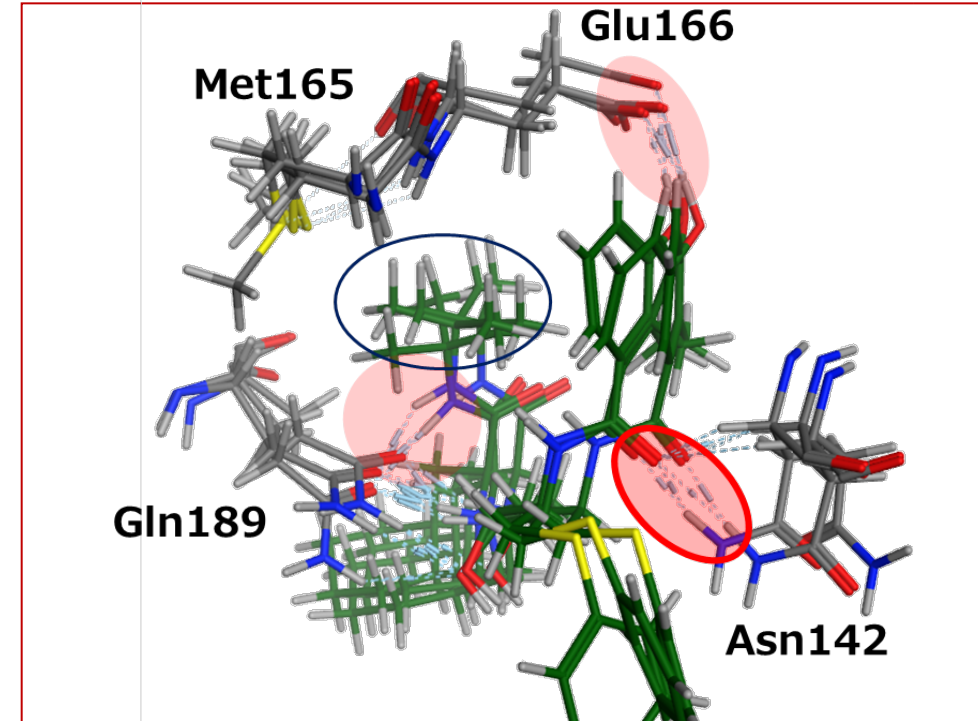
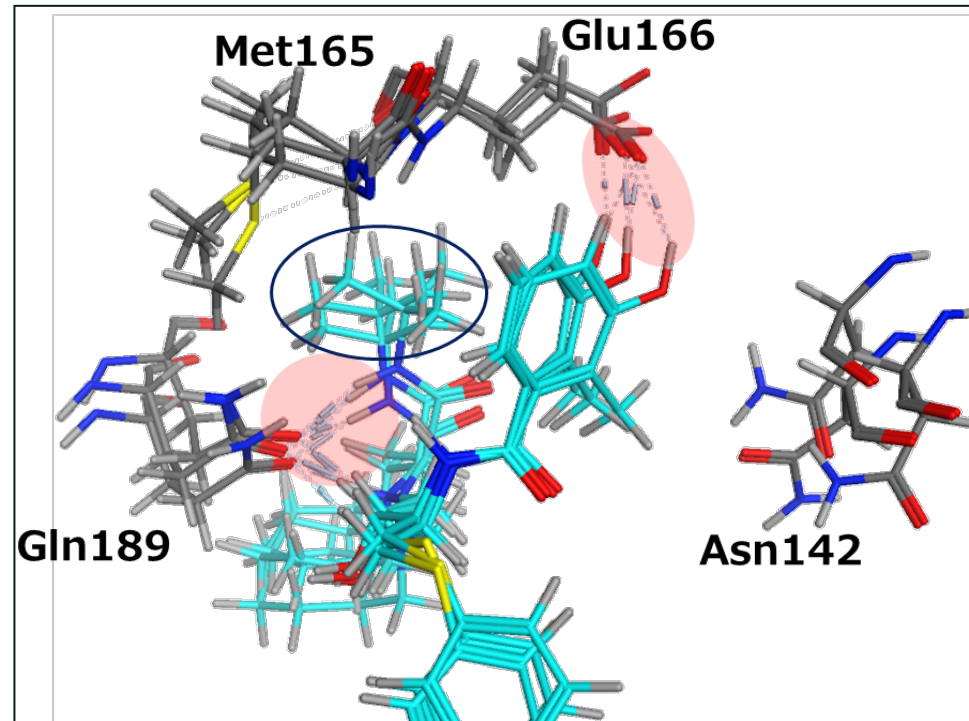
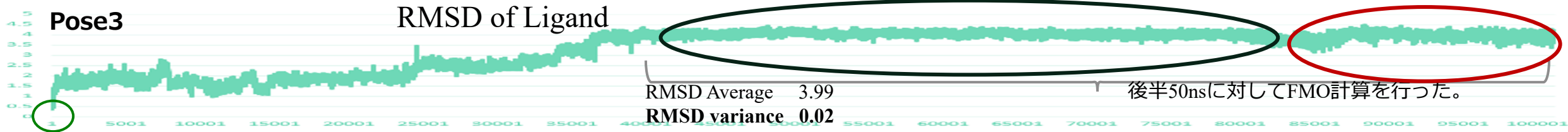
# 静的構造のIFIE vs. 動的構造のIFIE



ドッキングPose3

MDにより  
得られた構造

# NelfinavirとMproの主な相互作用



Residue Name

IFIE

ES

DI

Asn142	$-4.18 \pm 3.50 \rightarrow -14.63 \pm 4.94$	$-1.73 \pm 2.59 \rightarrow -10.73 \pm 6.72$	$-3.31 \pm 2.24 \rightarrow -11.04 \pm 2.74$
Met165	$-12.87 \pm 2.33$	$-11.38 \pm 2.07$	$-4.10 \pm 1.57$
Glu166	$-49.56 \pm 10.92$	$-54.00 \pm 14.66$	$-6.59 \pm 2.36$
Gln189	$-45.19 \pm 4.57$	$-46.99 \pm 7.84$	$-14.13 \pm 1.47$

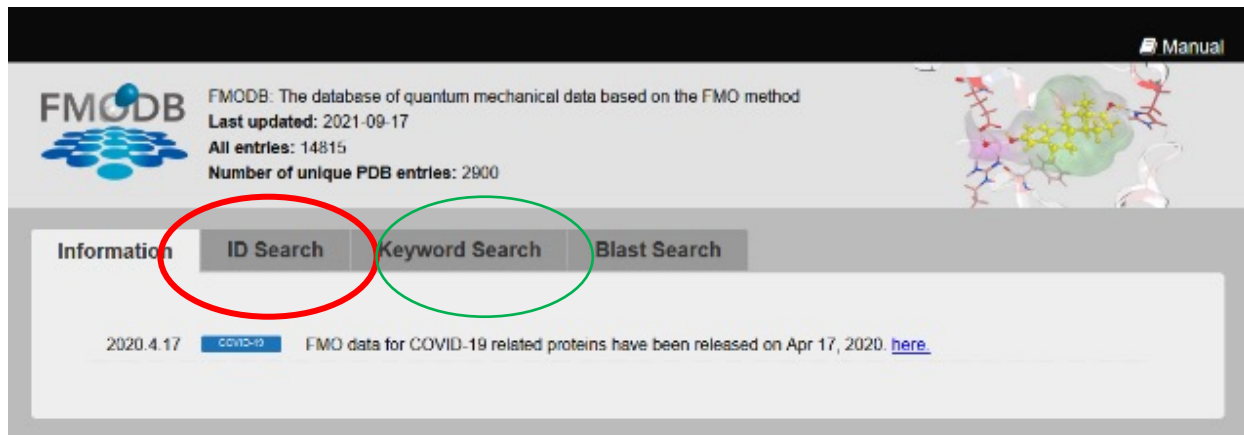


# チュートリアルの目的と内容

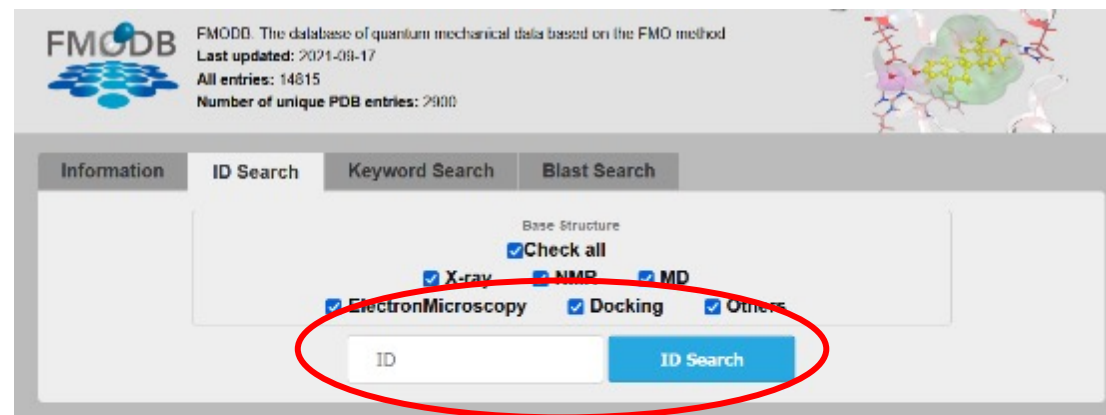
- 目的
  - ・ メインプロテアーゼ-リガンド複合体の相互作用解析
- 内容①
  - ・ FMO計算によるタンパク-低分子複合体の解析例
- 内容②
  - ・ FMODB上での計算結果の確認
  - ・ FMODBからPIEDAデータのダウンロード
  - ・ PIEDA成分の解釈
  - ・ BioStation Viewerを用いた結果の確認

# FMODBのHP

## ・ FMODBのホームページ



## ・ FMODBの構造検索画面



- ID検索だけでなくキーワード検索も可能
- カテゴリー検索も可能
- 今回はID検索(6W63)で実行する。

FMODB(<https://drugdesign.riken.jp/FMODB/>)

### Category

- [COVID-19\(722\)](#)
  - [Papain like protease\(64\)](#)
  - [Main protease\(390\)](#)
  - [ADP-ribose phosphatase\(20\)](#)
  - [RNA dependent RNA polymerase\(21\)](#)
  - [Endoribonuclease\(12\)](#)
  - [2'-O-ribose methyltransferase\(7\)](#)
  - [Spike protein\(107\)](#)
  - [Nucleocapsid protein\(17\)](#)
  - [Helicase\(61\)](#)
  - [Other SARS-CoV-2\(26\)](#)
- [X ray All Entries\(3562\)](#)



### Search Sample

**Keyword Search:** COVID-19 [Set Value Of Input](#)  
**PDB ID Search:** 1ERE [Set Value Of Input](#)  
**FMODB ID Search:** 5P4NP [Set Value Of Input](#)  
**UniProt ID Search:** P03372 [Set Value Of Input](#)  
**Keyword Search(Target):** Estrogen receptor alpha [Set Value Of Input](#)  
**Keyword Search(Ligand):** NHI [Set Value Of Input](#)  
**Blast Search:** Sequence of 3RIN / E-Value Cutoff E-148 [Set Value Of Input](#)

# Web上で解析

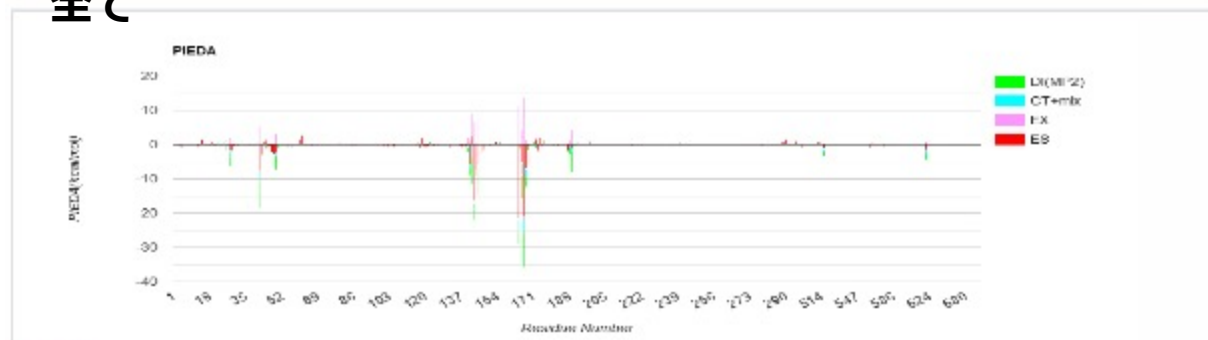
- DB上でまとめられている情報

- ✓ Modeling method
- ✓ FMO calculation
- ✓ Total energy
- ✓ Ligand binding energy

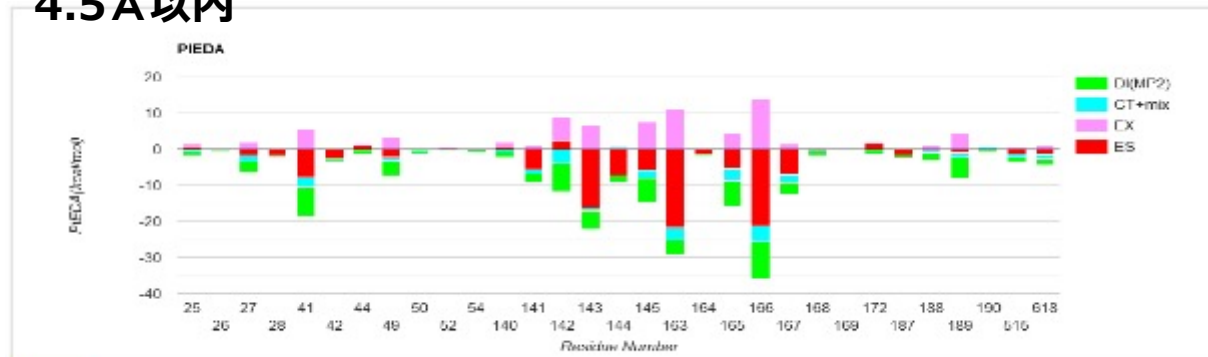
- DB上で行える解析

- DB上で表示される相互作用グラフ

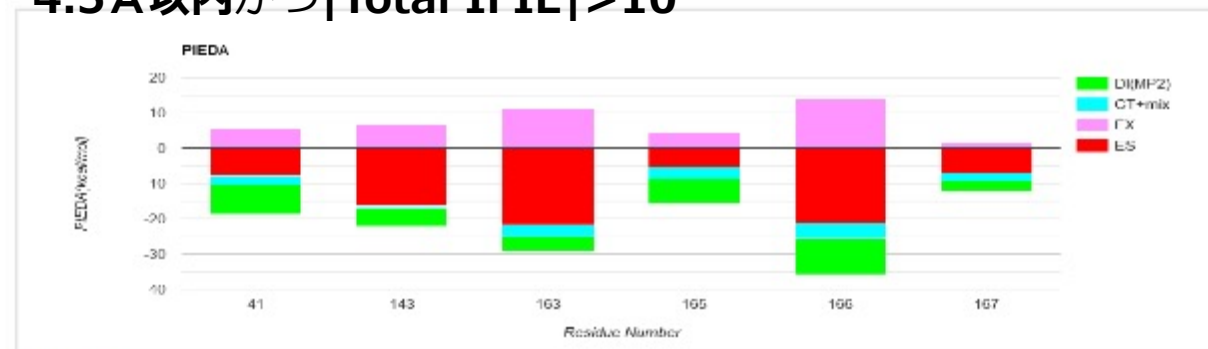
全て



4.5 Å以内



4.5 Å以内かつ|Total IFIE| > 10



Base fragment(s) of PIEDA/IFIE  Single fragment  Multi fragments

392(A:401:X77 )Lignad  [Fragment list](#)

Charge [e] FCHARGE : 0 / q\_Mulliken : 0.021 / q\_NPA : 0.039

Distance from base fragment(s) [Å] Dist

Interaction energy by IFIE and PIEDA [kcal/mol]

| Total | >  | ES | >  | EX | >

| CT+mix | >  | DI(MP2) | >

Fragment charge [e] FCHARGE  q\_Mulliken

Residue Res #  RES

Sort ascending

Graph Options X Axis Label Residue Number

Y Axis Max  Y Axis Min

Display  ES  EX  CT+mix  DI(MP2)

# データのダウンロード

## DBからデータをダウンロードする方法

**FMODB ID:** 8JVKY

**Calculation Name:** 6W63-A-Xray108

**Preferred Name:**

**Target Type:**

**Ligand Name:** n-(4-tert-butylphenyl)-n-[(1r)-2-(cyclohexylamino)-2-oxo-1-(pyridin-3-yl)ethyl]-1h-imidazole-4-carboxamide

**ligand 3-letter code:** X77

**PDB ID:** [6W63](#)

**Chain ID:** A

**ChEMBL ID:**

**UniProt ID:** [P0DTD1](#)

**Base Structure:** X-ray

**Registration Date:** 2020-04-16

**Reference:** T. Ohyama, K. Kamisaka, C. Watanabe, T. Honma et. al., FMO-based interaction energy analysis of SARS-Cov-2 main protease and ligand complexes, To be published.

**DOI:**

 IFIE MAP

 Download Files

PDB File

CheckPoint File

All Calculation Data (zip)

IFIE Data (CSV)













**(FMODBID).zip**  
**ifie\_data.csv**

の二種類をダウンロード

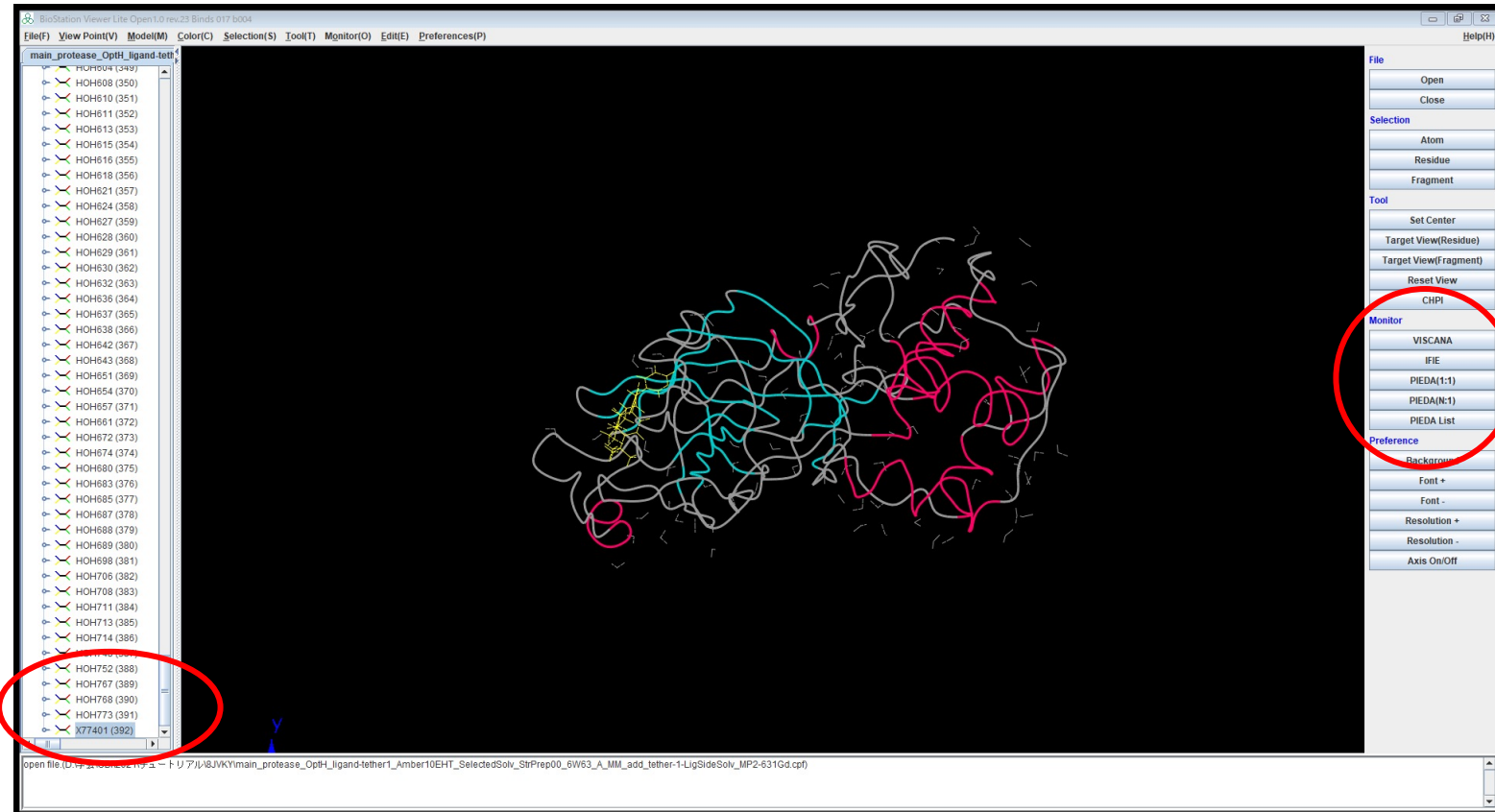
## ダウンロードしたデータを解凍して得られるもの

- ✓ PDBファイル
- ✓ AJFファイル
- ✓ **CPFファイル**
- ✓ OUTファイル
- ✓ LOGファイル

名前	種類
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	PDB 形式分子ファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	AJF ファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	CPF ファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	OUT ファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル
 main_protease_OptH_ligand-tether1_Amber10EHT_SelectedSolv_StrPrep00_6W63_A...	Log file ソースファイル

# BSVを用いた解析-値の取り出し-

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、cpfファイルをドロップ。  
 ※BioStation Viewer Lite Open1.0 rev.23 Binds 017 b006
3. 左側「A鎖」を展開して一番下にある「X77」をクリック  
 →リガンドが選択される。
4. 右側のMonitor>PIEDA Listを選択

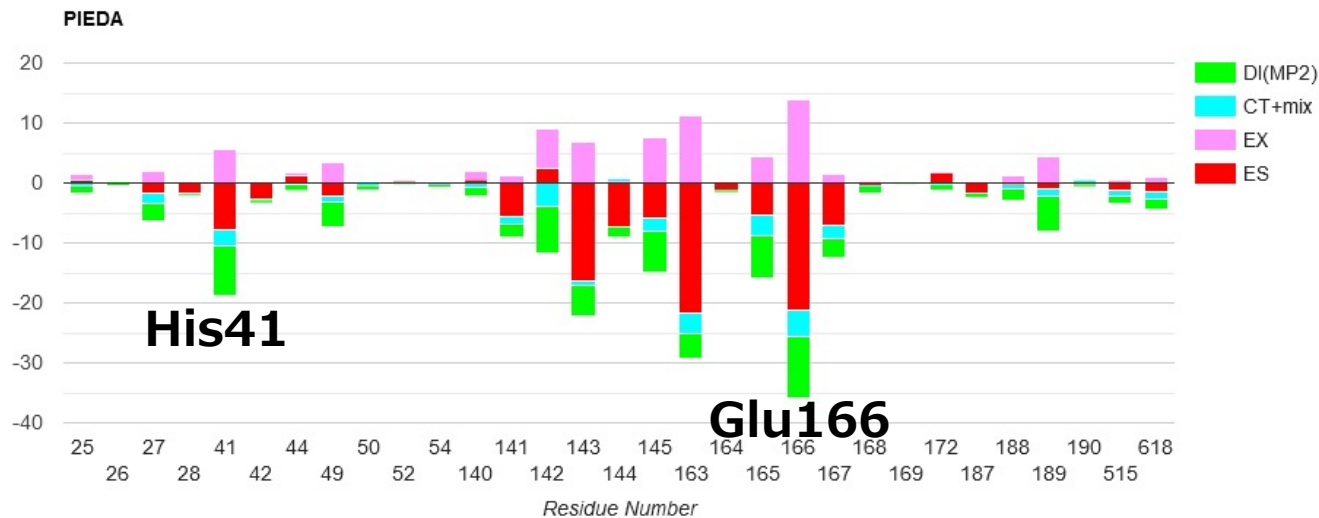


File(F)

Value:PIEDA  
 Base fragment(I) X77401 (392)

residue fragment(J)	total	ES	EX	CT+mix	DI	q(I->J)	main	distance
	[kcal/mol]	[kcal/mol]	[kcal/mol]	[kcal/mol]	[kcal/mol]	(e)	component	(A)
SER1 (1)	-0.015311	-0.015311	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	33.688293
GLY2 (2)	0.017545	0.017545	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	24.849388
PHE3 (3)	0.006547	0.006547	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	23.044392
ARG4 (4)	-0.681387	-0.681387	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	16.510439
LYS5 (5)	-1.129172	-1.129172	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	20.103262
MET6 (6)	0.037467	0.037467	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.300047
ALA7 (7)	0.025057	0.025057	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	19.205427
PHE8 (8)	-0.119012	-0.119012	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	19.765409
PRO9 (9)	0.103926	0.103926	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.808214
SER10 (10)	-0.011495	-0.011495	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	19.661455
GLY11 (11)	0.054339	0.054339	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	22.307182
LYS12 (12)	-0.802508	-0.802508	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	16.178933
VAL13 (13)	-0.049909	-0.049909	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.508295
GLU14 (14)	1.522531	1.522531	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.779053
GLY15 (15)	-0.005722	-0.005722	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.503124
CYS16 (16)	-0.177777	-0.177777	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	11.764143
MET17 (17)	-0.059670	-0.059670	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	11.804509
VAL18 (18)	-0.199830	-0.199830	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	8.351924
GLN19 (19)	0.745651	0.745651	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	7.643570
VAL20 (20)	-0.310638	-0.310638	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	6.493772
THR21 (21)	-0.387981	-0.387981	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	7.498689
CYS22 (22)	0.431778	0.431778	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	7.854486
GLY23 (23)	-0.713723	-0.713723	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	7.704181
THR24 (24)	0.432433	0.432433	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	2.476457
THR25 (25)	-0.300026	0.428038	1.003948	-0.452655	-1.279357	0.000513	DI	3.932487
THR26 (26)	-0.374058	-0.052988	0.000369	-0.042389	-0.278451	0.000046	DI	2.204797
LEU27 (27)	-4.315620	-1.820700	1.970664	-1.581629	-2.883955	0.017575	DI	3.960990
ASN28 (28)	-1.989296	-1.778841	0.003843	-0.054548	-0.159740	0.000278	ES	7.443597
GLY29 (29)	-0.408446	-0.408446	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	10.330100
LEU30 (30)	0.221139	0.221139	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	13.905414
TRP31 (31)	-0.237811	-0.237811	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	16.760893
LEU32 (32)	0.075173	0.075173	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	20.089132
ASP33 (33)	0.356239	0.356239	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	21.401176
ASP34 (34)	0.160488	0.160488	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	17.437871
VAL35 (35)	-0.109809	-0.109809	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	12.381526
VAL36 (36)	0.145795	0.145795	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	13.614716
TYR37 (37)	-0.264691	-0.264691	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	8.120507
CYS38 (38)	0.349109	0.349109	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	5.891025
PRO39 (39)	-0.355549	-0.355549	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	6.390544
ARG40 (40)	0.422885	0.422885	0.000000	0.000000	0.000000	0.000000	ES	2.320884
HIS41 (41)	-13.173525	-7.780318	5.642948	-2.631475	-8.404680	0.010318	DI	3.657285
VAL42 (42)	-3.243902	-2.688691	0.004049	-0.153401	-0.425859	0.000655	ES	4.645203
ILE43 (43)	0.860832	0.961000	-0.000179	-0.004234	-0.095761	0.000011	ES	2.612221
CYS44 (44)	0.556160	1.323328	0.380866	-0.165204	-0.982830	-0.001441	ES	

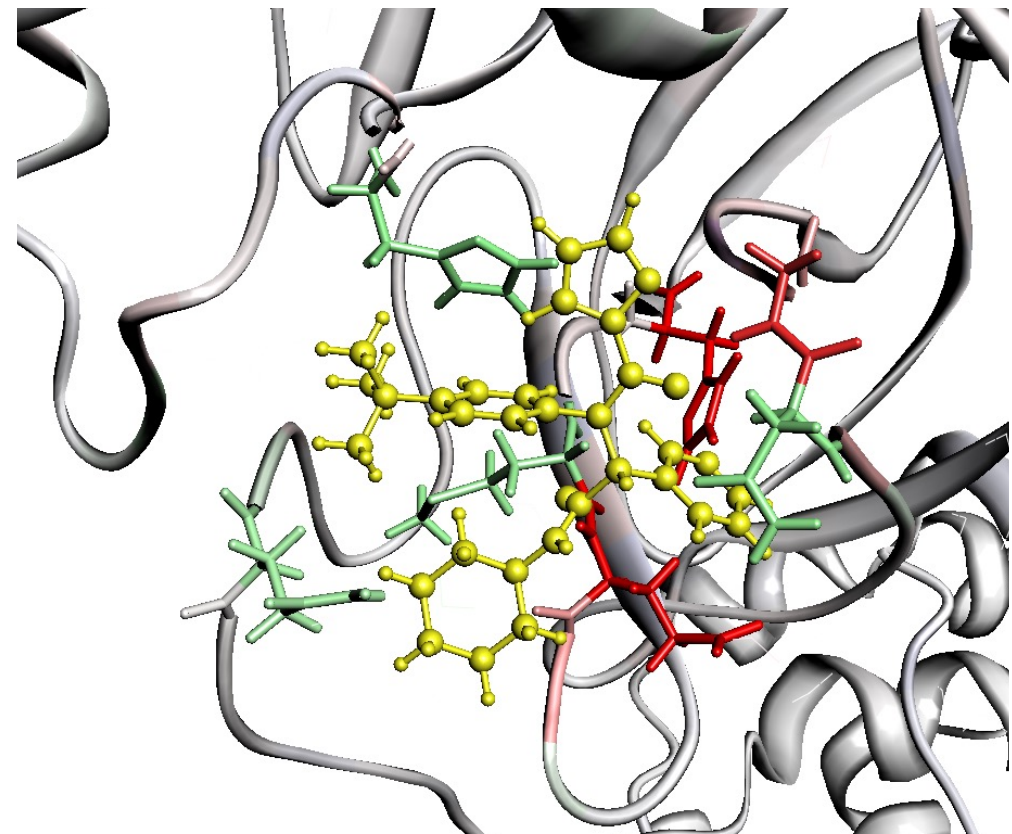
# BSVから得られたPIEDA情報の解釈



基本的に構造を見なければ  
PIEDAの解釈はできない

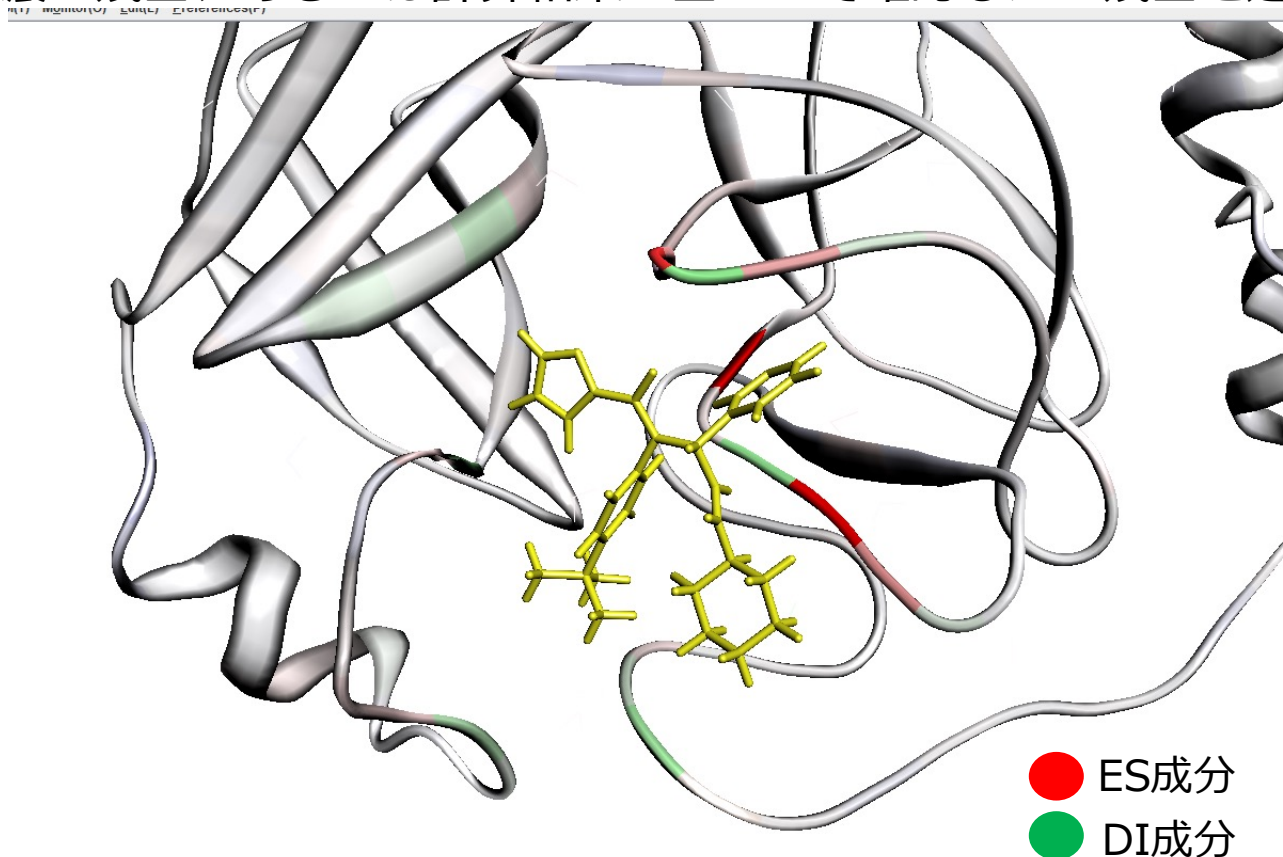
構造のどの部分に注目して  
解釈をすればよいか分かる

- EX成分
  - ・ 大きすぎないか確認(30kcal/mol以下)
- ES成分
  - ・ 電荷による相互作用がある程度確認できる
  - ・ ESだけが大きくCTがないものは水素結合とは考えにくい
- CT成分
  - ・ ESに加えてこの成分があると水素結合の可能性が高い
- DI成分
  - ・ His41→芳香環を持つためn軌道関連の相互作用？
  - ・ Met165、Glu166→グラフだけではわからない



# BSVを用いた解析-相互作用の可視化-

- 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
- 3.色の濃い残基、あるいは計算結果に基づいて確認したい残基を選択してStick表示にする



Value

Total IFIE (solvent [  es+np  es  np ]) -  +

Individual component

Electrostatic(ES) -  +

Exchange repulsion(EX) -  +

Charge transfer+mix(CT+mix) -  +

Dispersion(DI) -  +

Solvent [  es+np  es  np ] -  +

Main component

Color gradation based on individual component

Color gradation based on total IFIE

$\Delta q(I \rightarrow J)$  -  +

Color(-) Min  Max

Color(+) Min  Max

Log  Linear

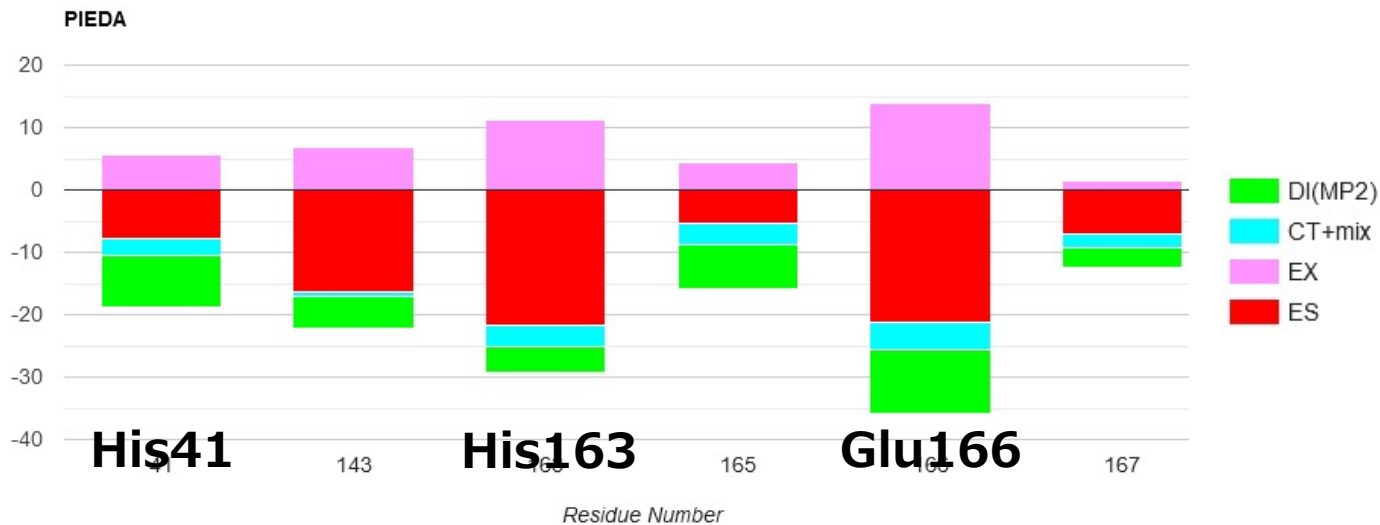
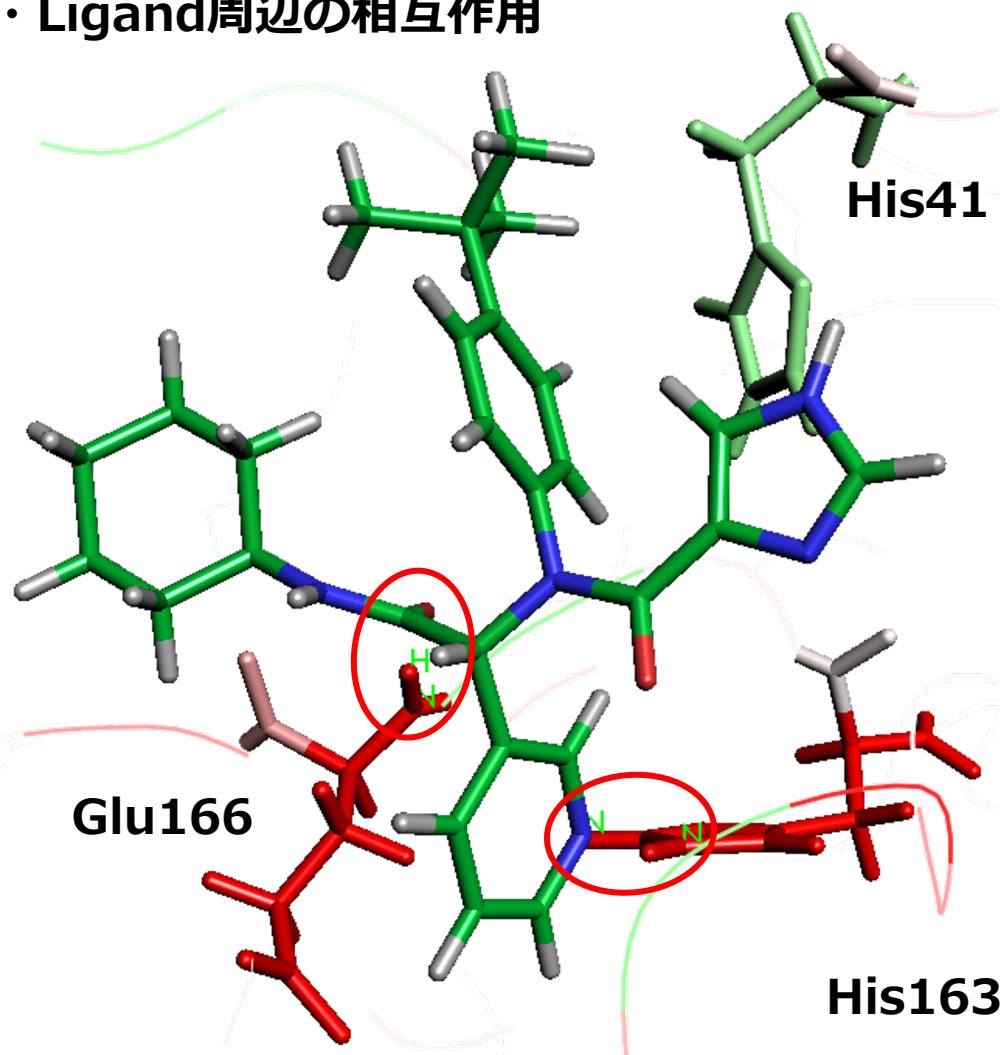
Threshold

Color     default

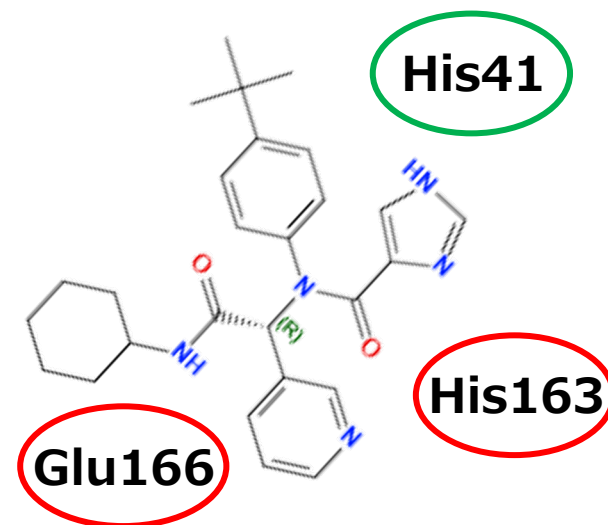
Apply Close

# FMO計算によるタンパク-低分子複合体の解析例

## ・ Ligand周辺の相互作用



## ・ Ligand周辺の相互作用(平面図)





**では実際にやってみましょう**

# BioStation Viewerの基本操作

## ■ 環境

- BioStation Viewer
  - <https://fmodd.jp/biostationviewer-dl/>

## ■ 基本操作

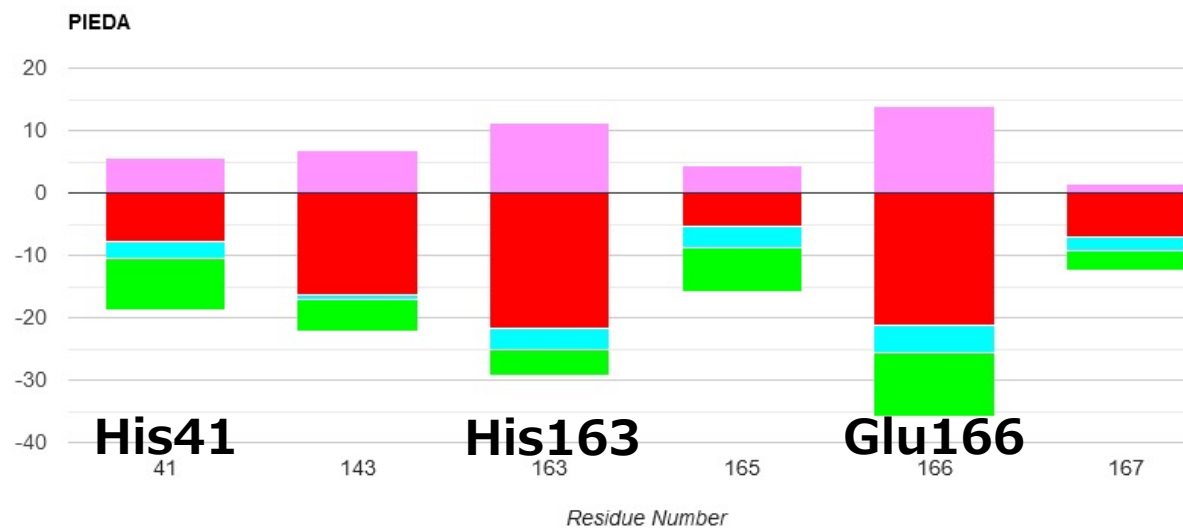
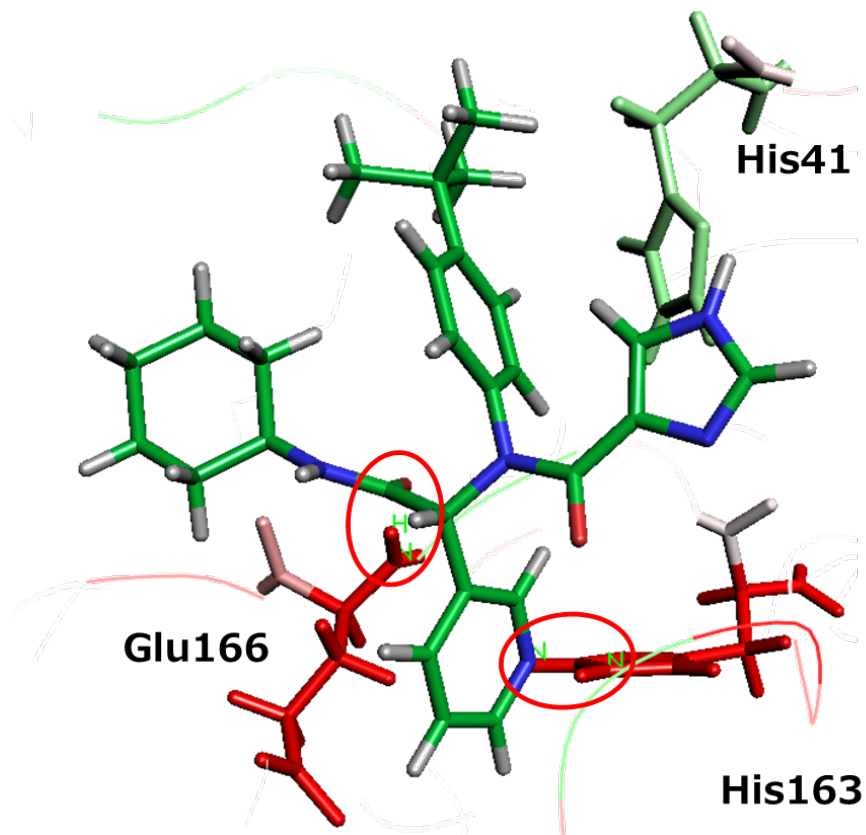
- 分子の回転
  - 左クリックを押しながらカーソルを動かす
- 分子の平行移動
  - 右クリックを押しながらカーソルを動かす
- 分子の拡大
  - 中央ボタンを押しながらカーソルを上下に動かす

## ■ その他操作

- 選択したリガンドをstick表示に
  - 選択した状態で右クリック>Model/Color
- 選択した原子を中心に設定
  - Tool>Set Center
- IFIE(PIEDA)で色付け
  - Monitor > PIEDA(1:1)
- アミノ酸残基をstick表示
  - 選択した状態で右クリック>Model/Color
- タンパク質のリボンを表示
  - Model> Structure> Solid Ribbon

# チュートリアルまとめ

- ✓ PIEDA分割による相互作用が視覚的に理解できる
- ✓ 分子間相互作用が具体的な数値に基づいて議論できる



**<チュートリアル>  
FMODBデータを対象とした  
相互作用クラスタリング解析**

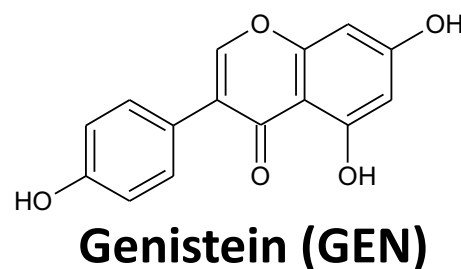
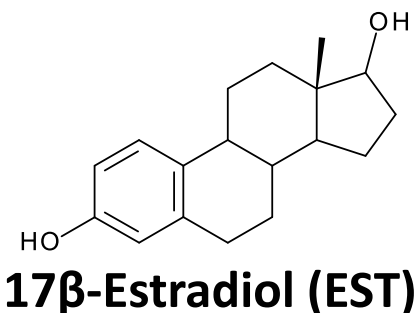
# ■ ターゲット

## エストロゲン受容体 (Estrogen Receptor : ER) $\beta$

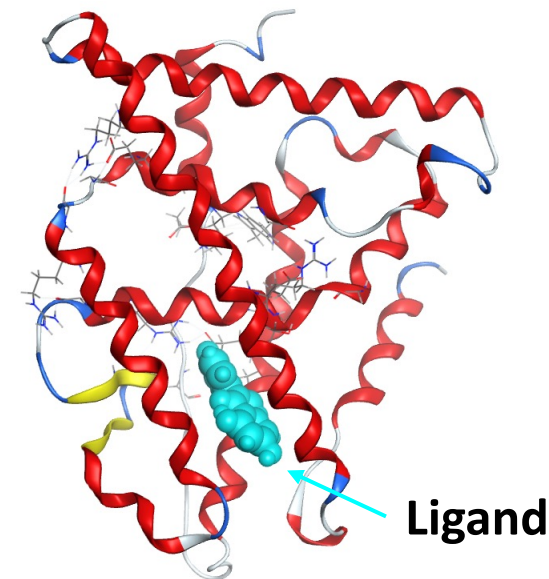
ERのサブタイプのひとつであり、17 $\beta$ -Estradiol (EST) との親和性は ER $\alpha$ と同等であるが、Genistein (GEN) などの植物エストロゲンとの親和性が高い。

	ER $\alpha$ IC <sub>50</sub> (nM)	ER $\beta$ IC <sub>50</sub> (nM)
17 $\beta$ -Estradiol	3.2 $\pm$ 1.0	3.6 $\pm$ 1.6
Genistein	395 $\pm$ 181	10 $\pm$ 4

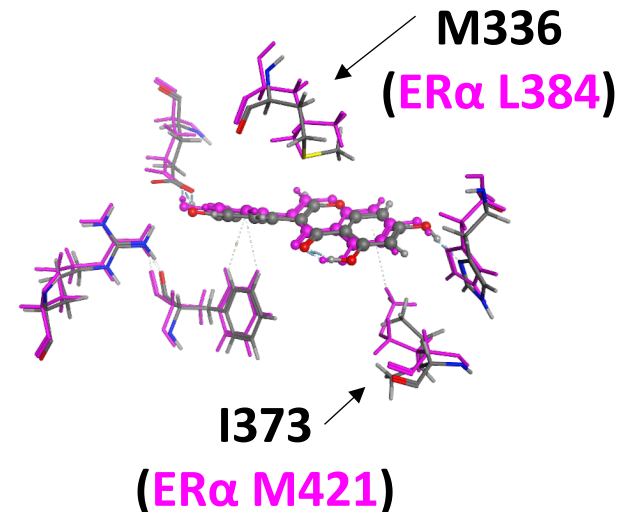
Malamas, M.S., Manas, E.S., McDevitt, R.E., Gunawan, I., Xu, Z.B., Collini, M.D., Miller, C.P., Dinh, T., Henderson, R.A., Keith Jr., J.C., Harris, H.A. J.Med.Chem. 47: 5021-5040 (2004)



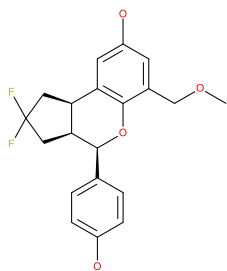
- リガンドのサブタイプ選択性を解析する。  
FMODDBに登録されたデータを用いて、受容体ーリガンドの相互作用パターンに基づくクラスター解析を行う。



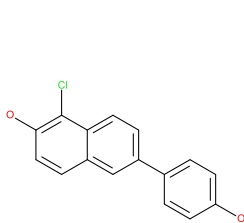
### リガンド結合ポケット



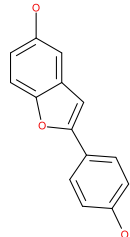
# ■ ERβの複合体としてPDB (Protein Data Bank) に登録されているリガンドが23個ある。



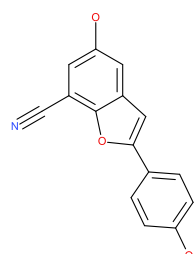
2QTU



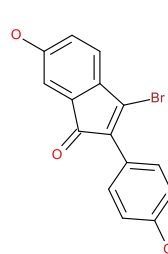
1YY4



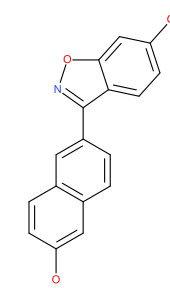
1U9E



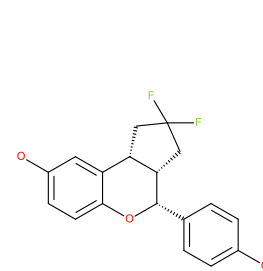
1X76



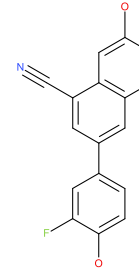
1ZAF



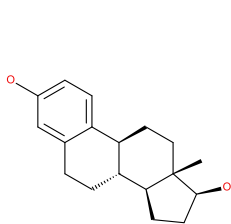
1U3S



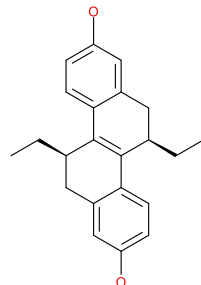
2Z4B



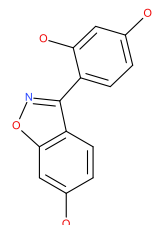
1YYE



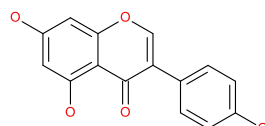
3OLS



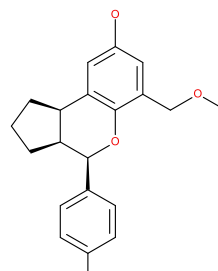
1L2J



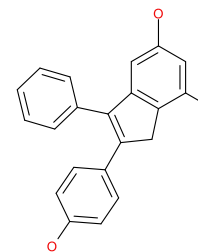
1U3Q



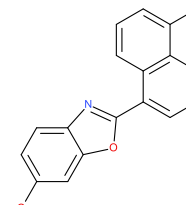
1QKM



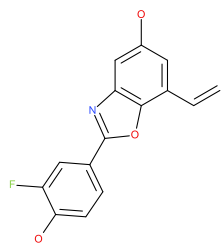
2JJ3



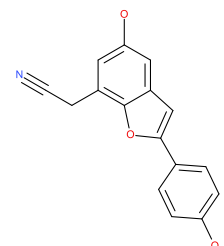
4ZI1



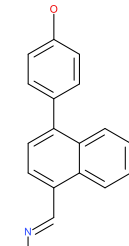
1U3R



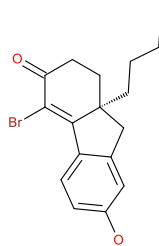
1X7B



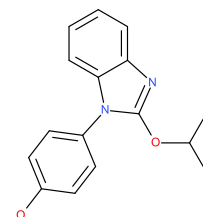
1X78



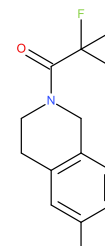
2NV7



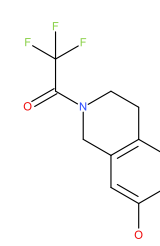
2GIU



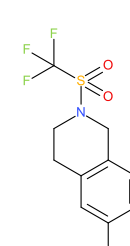
2YJD



3OMO



3OMP



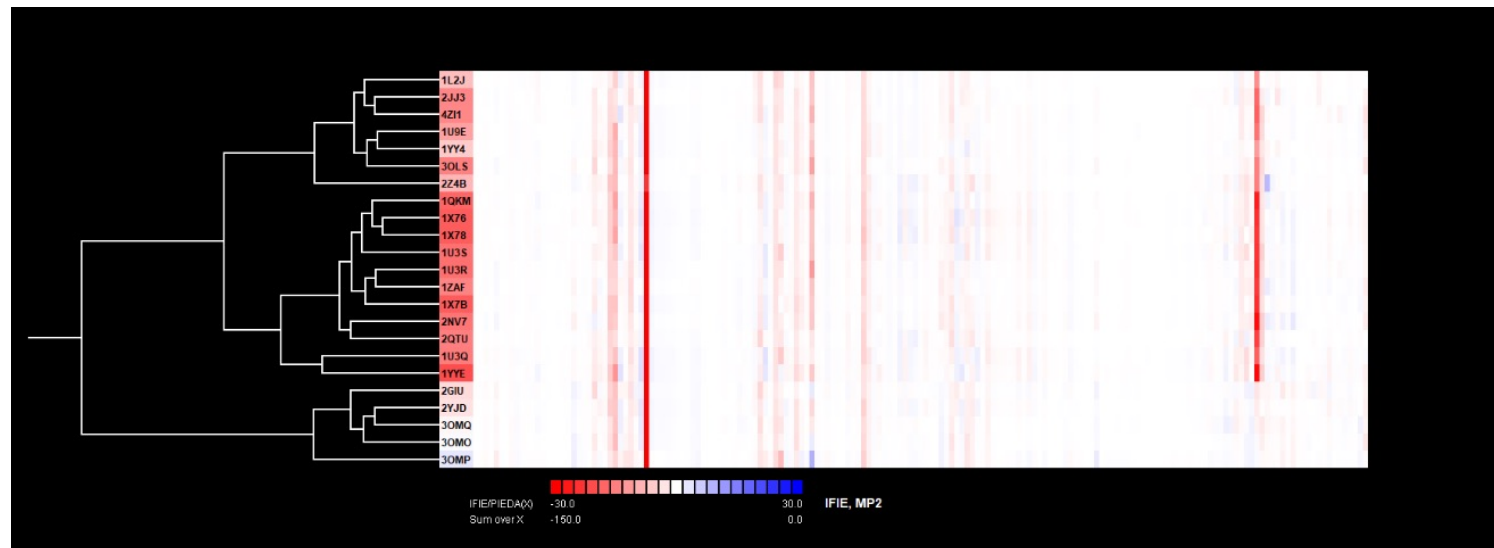
3OMQ

サブタイプへのselectivityが異なる多数のリガンドをクラスタリングによって網羅的に解析する。

# ■ VISCANA

(Visualized Cluster Analysis of Protein-Ligand-Interaction)

- 相互作用エネルギー (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。
- リガンド-アミノ酸残基間相互作用の類似性を距離として定義し、階層的クラスター解析を行うことができる。
- リガンド同士の類似性の距離が近いほどフラグメントとの結合の類似性が高い。



サンプル例題のERβ複合体をターゲットとし、ソフトに BioStationViewer を、手段に VISCANA を用いて解析することで、リガンドを受容体との相互作用パターンによって分類する。

# ■ FMO計算結果の一括ダウンロードの手順

I. 計算結果のファイルをまとめておくための新しいディレクトリを作成しておく。

II. FMODBより、  
Category – X-ray All Entries  
– Nuclear receptor: ERb を  
選択する。

Category

- [COVID-19\(250\)](#)
  - [Papain like protease\(18\)](#)
  - [Main protease\(170\)](#)
  - [Nsp9 RNA binding protein\(6\)](#)
  - [ADP ribose phosphatase\(8\)](#)
  - [RNA dependent RNA polymerase\(6\)](#)
    - [Endoribonuclease\(3\)](#)
    - [2'-O-ribose methyltransferase\(2\)](#)
      - [Spike protein\(14\)](#)
      - [Nucleocapsid protein\(9\)](#)
      - [Other SARS-CoV-2\(14\)](#)
- [X-ray All Entries\(1523\)](#)
  - [Kinase: p38\(188\)](#)
  - [Kinase: Aurora\(46\)](#)
  - [Kinase: CHK1\(43\)](#)
  - [Nuclear receptor: ERa\(60\)](#)
  - [Nuclear receptor: ERb\(76\)](#)
  - [ApoStructure\(755\)](#)

III. SortでRegistration data: ↑Oldest to Newest  
を指定する① → Submit②

①   Display only checked items  ②

check / uncheck all items on this page

上から登録の新しい順にソートされる。

<https://drugdesign.riken.jp/FMODB/>



# ■ FMO計算結果の一括ダウンロードの手順

IV. Displaying results: 10を指定しデータを10個表示にする①。

V. Check Point File (checked items up to 10 data)にチェックをつける② → Submit③

The screenshot shows a web interface for downloading FMO calculation results. At the top, there are three radio button options: 'Summary for all items(csv file)', 'Summary for checked items(csv files)', and 'CheckPoint File(checked items up to 10 data)'. The 'CheckPoint File' option is selected and highlighted with a red box and a circled '2'. To the right of these options is a blue 'Download' button, also highlighted with a red box and a circled '3'. Below the options, there is a pagination section with the text 'Search Result: 76 Hits', 'Currently showing: 1 - 10', 'Page: 1 / 8', and 'Next <>'. The 'Displaying results:' section has three buttons: '10', '50', and '100'. The '10' button is highlighted with a red box and a circled '1'.

表示中のデータ10個が一括でダウンロードされる。

VI. ダウンロードしたzipファイルを開き、解凍する。

VII. Next > をクリックし2ページ目の10個のデータを表示したら、同様に手順V. VI. の操作で10個のデータをダウンロード後zipファイルを解凍する。

The screenshot shows the same pagination section as above. The 'Next >' button is highlighted with a red box.

# ■ FMO計算結果の一括ダウンロードの手順

VIII. 再度Next>をクリックし3ページ目の10個のデータを表示したら、上から3個のデータ(PDB ID: 1U3Q, 1QKM, 1L2J)にチェックをつける。

Search Result: 76 Hits    Currently showing: 21 - 30    Page: 3 / 8    < Back    Next >    Displaying results:

10 | 50 | 100

[X18ZP](#)

**FMO DB ID:** X18ZP  
**Calculation Name:** 1U3Q-C-Xray11  
**Preferred Name:**  
**PDB ID:** [1U3Q](#)  
**Chain ID:** C  
**UniProt ID:** [Q92731](#)  
**Base Structure:** X-ray  
**Registration Date:** 2017-06-23  
**Reference:**  
**Modeling method**  
  **Optimization:** MOE:Amber10:EHT  
  **Restraint:** OptH  
  **Procedure:** Auto-FMO protocol ver. 1.2017021

**FMO calculation**  
**FMO method:** FMO2-MP2/6-31G(d)  
**FMO2-HF: Total energy (hartree):** -96399.33  
**FMO2-MP2: Total energy (hartree):** -96669.646505

**Ligand binding energy**

IFIE [kcal/mol]	PIEDA [kcal/mol]				Charge transfer value [e]
IFIE SUM	ES	EX	CT+mix	DI(MP2)	q(I=>J)
-113.931	-98.803	72.440	-35.567	-51.999	0.095

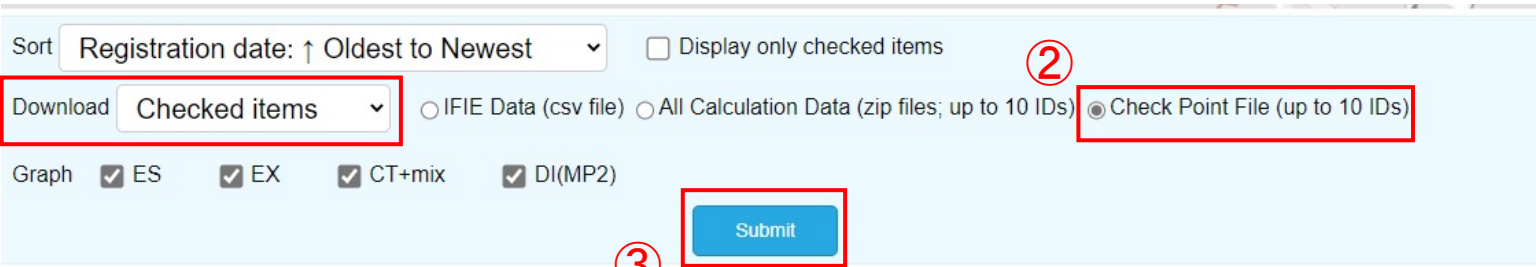
**Ligand Interaction**

Ligand:272

チェックしたデータは背景が青色になる。

# ■ FMO計算結果の一括ダウンロードの手順

- IX. DownloadでChecked itemsを指定し①、Check Point File (up to 10 IDs)にチェックをつける② → Submit③



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

① Download Checked items  IFIE Data (csv file)  All Calculation Data (zip files; up to 10 IDs)  Check Point File (up to 10 IDs) ②

Graph  ES  EX  CT+mix  DI(MP2)

③ Submit

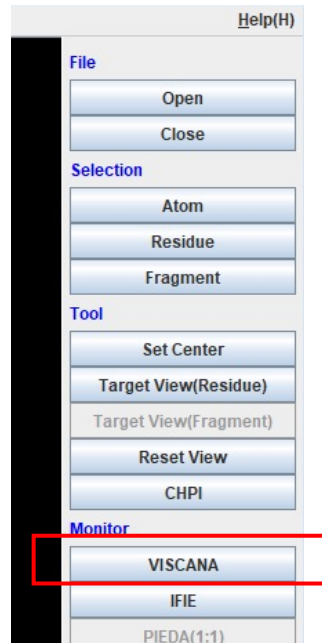
選択したデータ3個が一括でダウンロードされる。

- X. ダウンロードしたzipファイルを開き、解凍する。

- XI. 解凍したファイル内の.cpfファイル計23個を、手順 I. で作成したディレクトリに移動させ一つにまとめる。

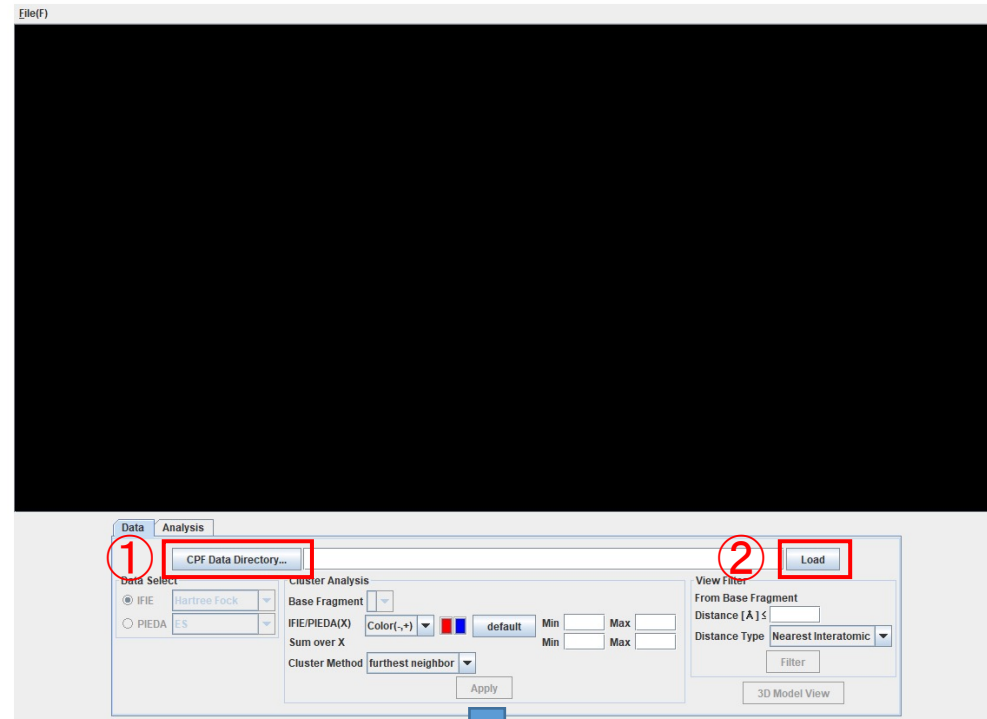
# ■ VISCANAの操作手順

I. Monitor → VISCANA を選択する。

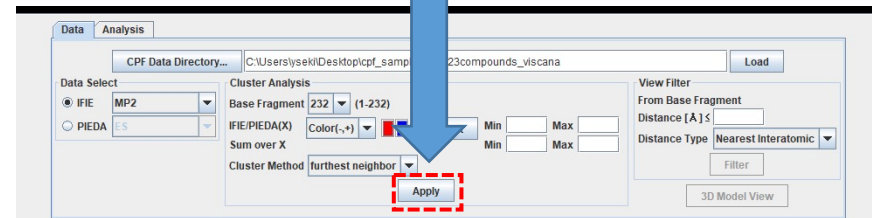


VISCANAのウィンドウが開く。

II. CPF Data Directory... で cpfファイルをまとめたディレクトリを指定① → Load②



正常に Load されれば  
Cluster Analysis の Apply が表示される。



# ■ VISCANAの操作手順

III. Data Select でクラスタリングに用いる相互作用エネルギーを指定する。  
今回は IFIE-MP2 を指定する①。

IV. Cluster Analysis で以下の指定をする。

✓ Base Fragment をリガンドのフラグメント番号にする②。

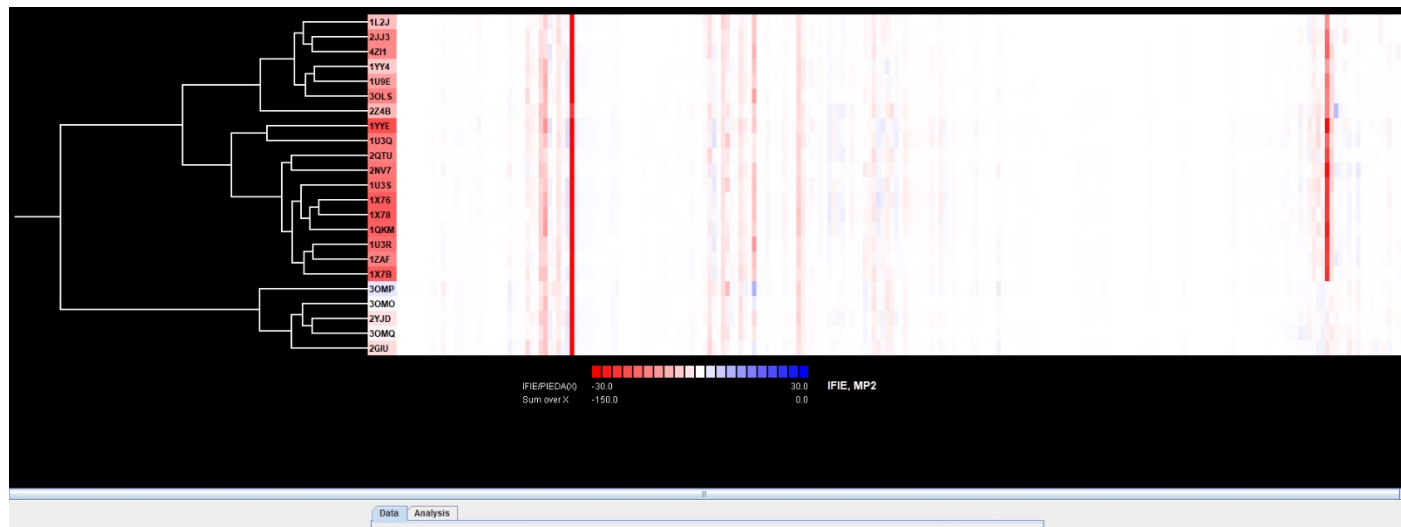
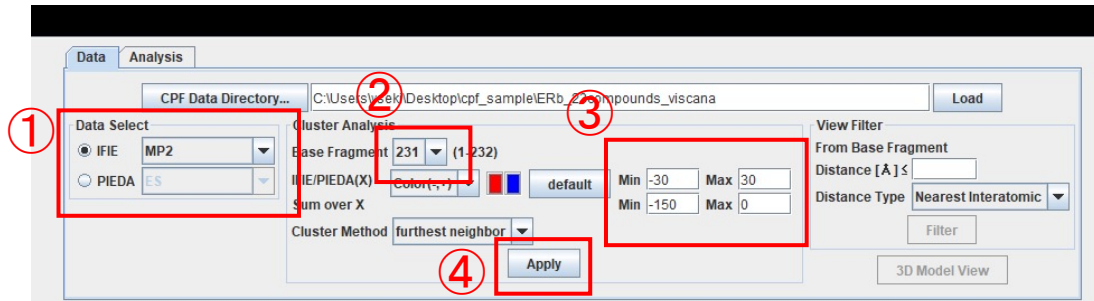
✓ Data Select で設定したエネルギーの

○ 範囲

○ 合計の範囲

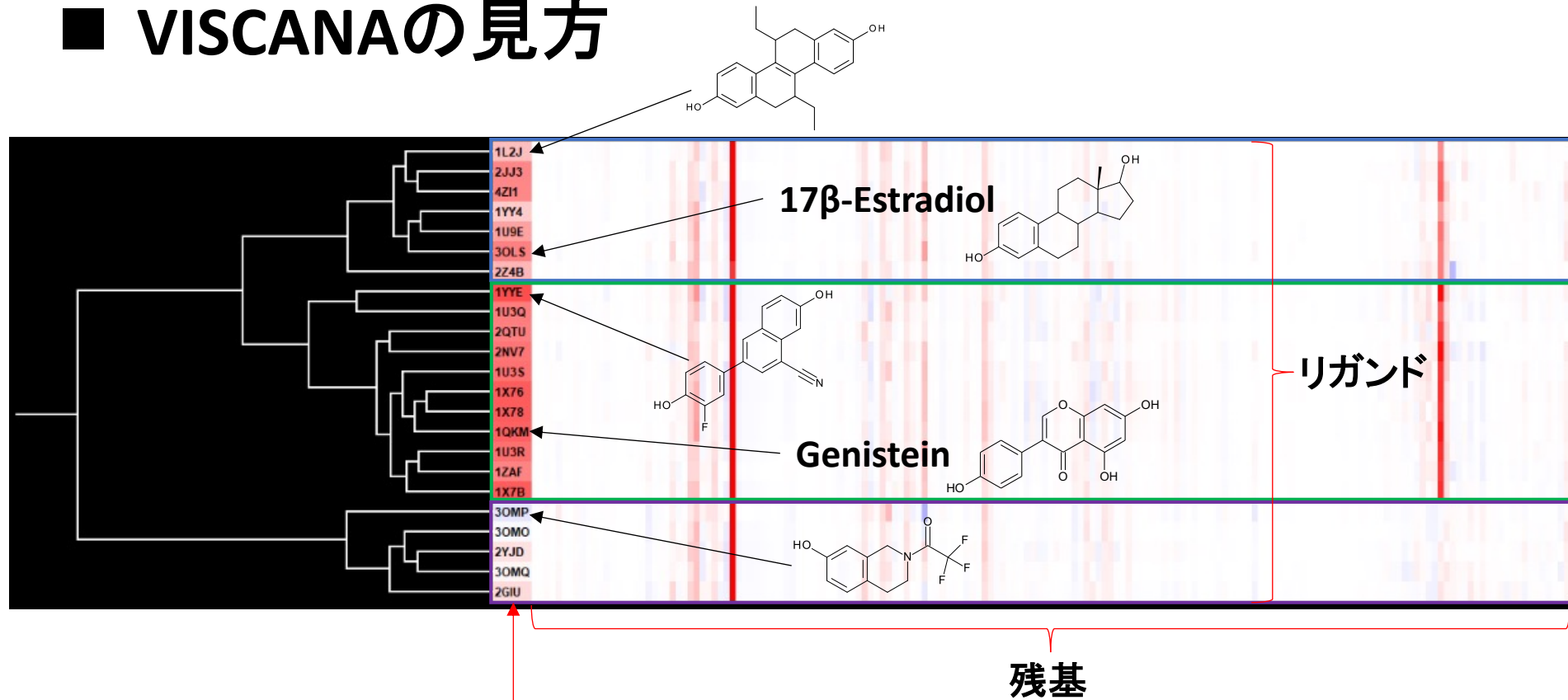
を指定する③。

→ Apply④



結果の図が表示される。

# ■ VISCANAの見方

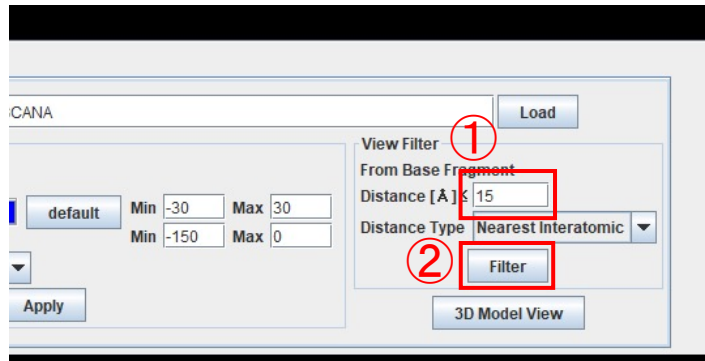


※ 各クラスターの一番上に表記されたリガンドがクラスターセンター

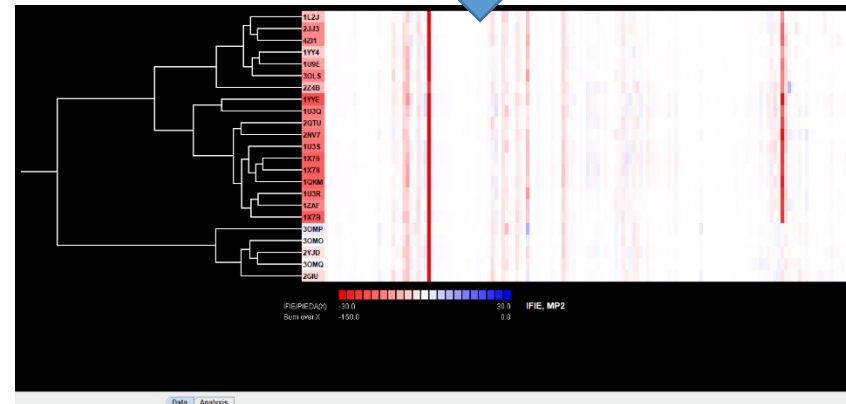
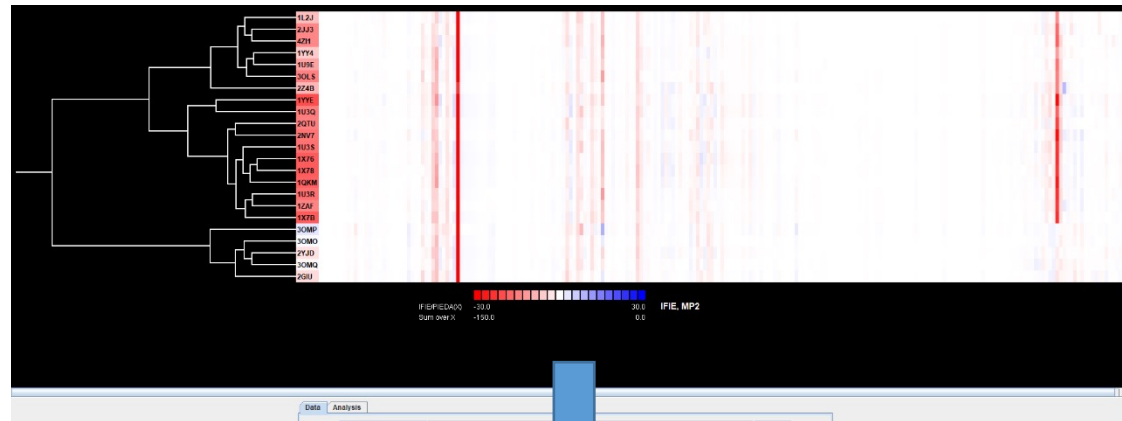
選択性のない17β-Estradiolと選択性のあるGenisteinは別のクラスターに含まれる。

# ■ 図の整理

Viewer Filter で Base Fragment からの距離を指定する① → Filter②

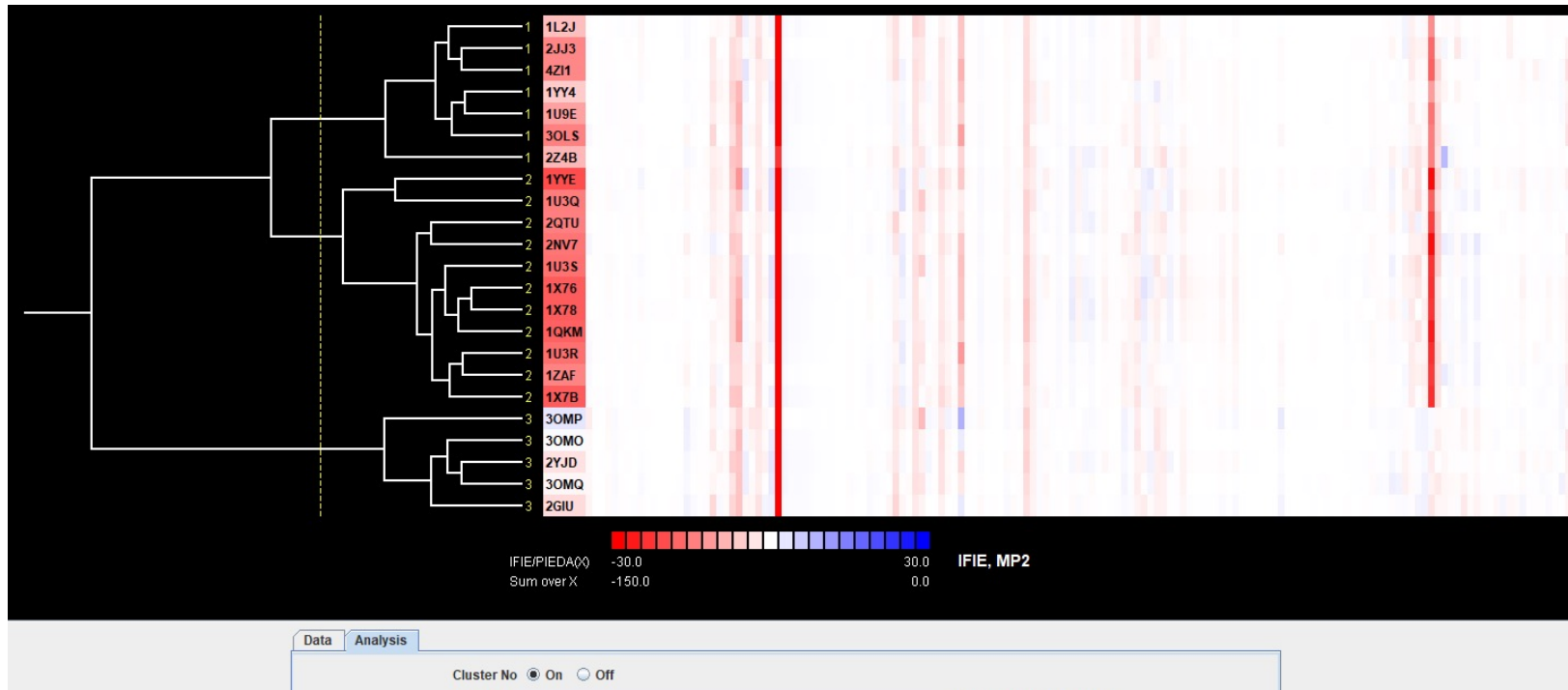
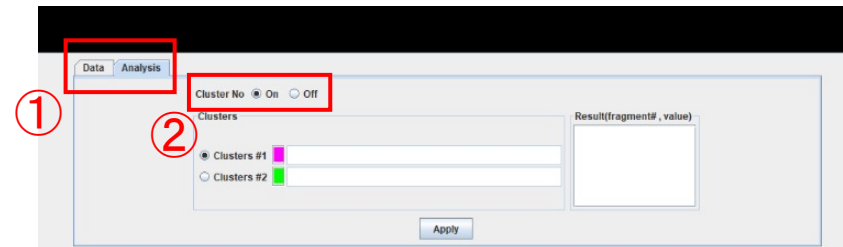


指定した距離内のフラグメントとの相互作用バンドのみを表示することができる。



# ■ クラスタリングの結果の詳細な解析

- I. Data を Analysis に変え①、Cluster No の On にチェックをつける②。



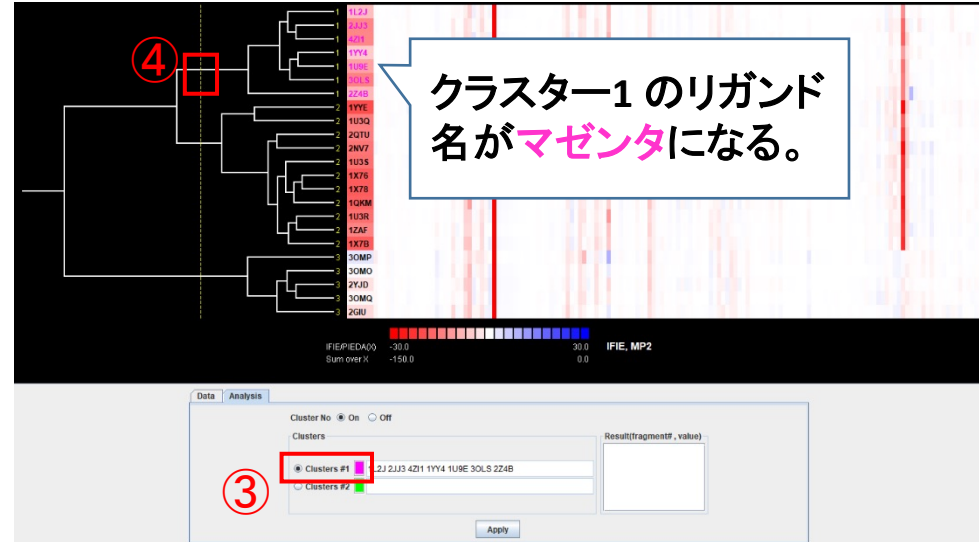
黄色の破線はカーソルを動かすと連動する。

破線の位置でクラスター分割したときに割り当てられるクラスター番号がリガンド名左に表記される。



# ■ クラスターリングの結果の詳細な解析

II. Cluster #1 にチェックをつけ③、クラスターの分岐に破線を置き白線との交点をクリック④。



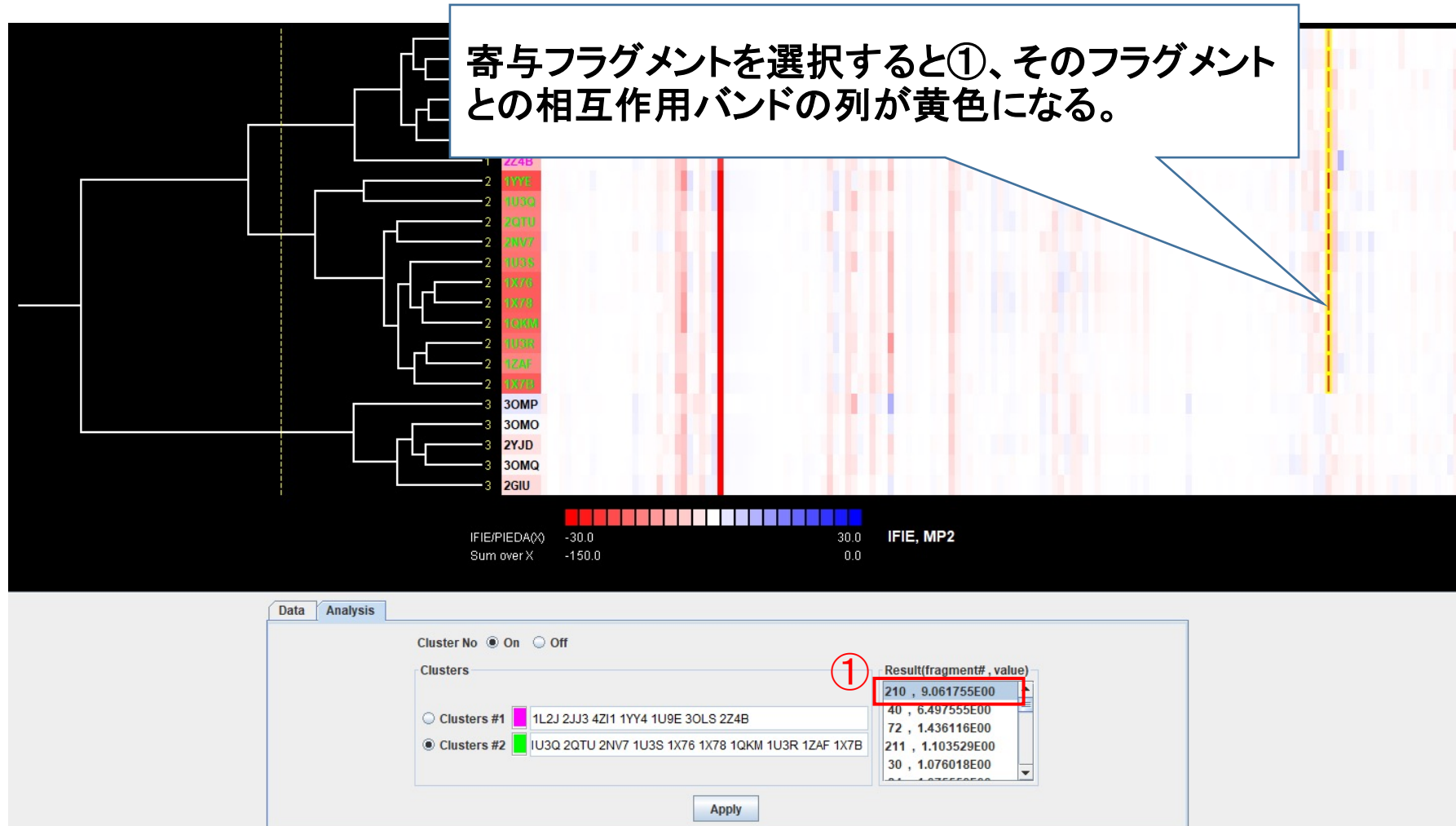
III. 同様にCluster #2 にチェックをつけ⑤、白線と破線の交点をクリックする⑥



→ Apply⑦(次頁)

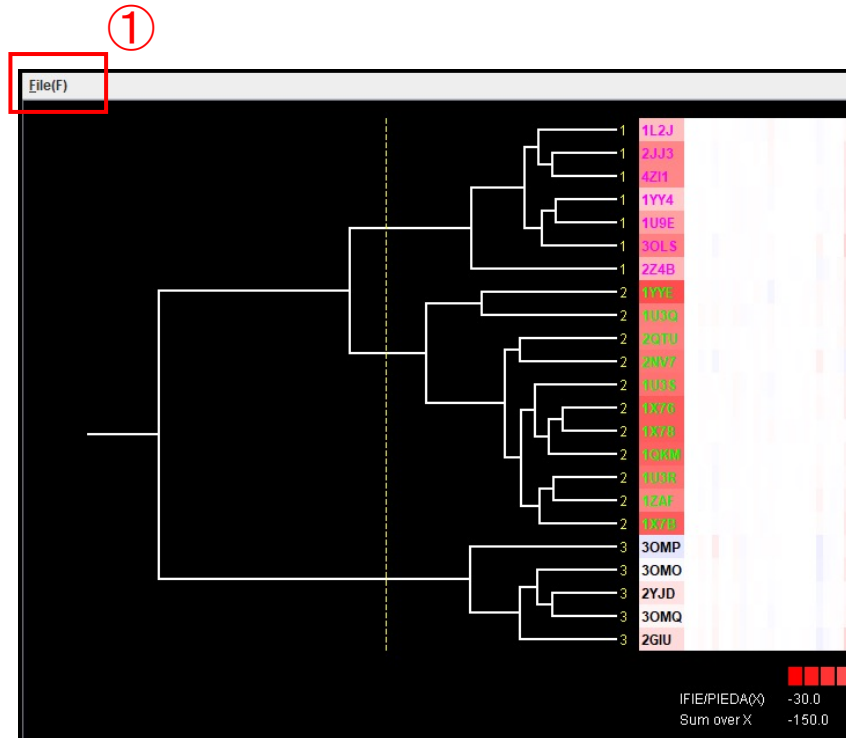
# ■ クラスタリングの結果の詳細な解析

Result(fragment#, value) の欄に、クラスタリングに寄与したフラグメント番号 (#) と寄与の度合いを示す値 (value) が表れる。



# ■ 結果の図の保存

File①から Save Image を選ぶ。

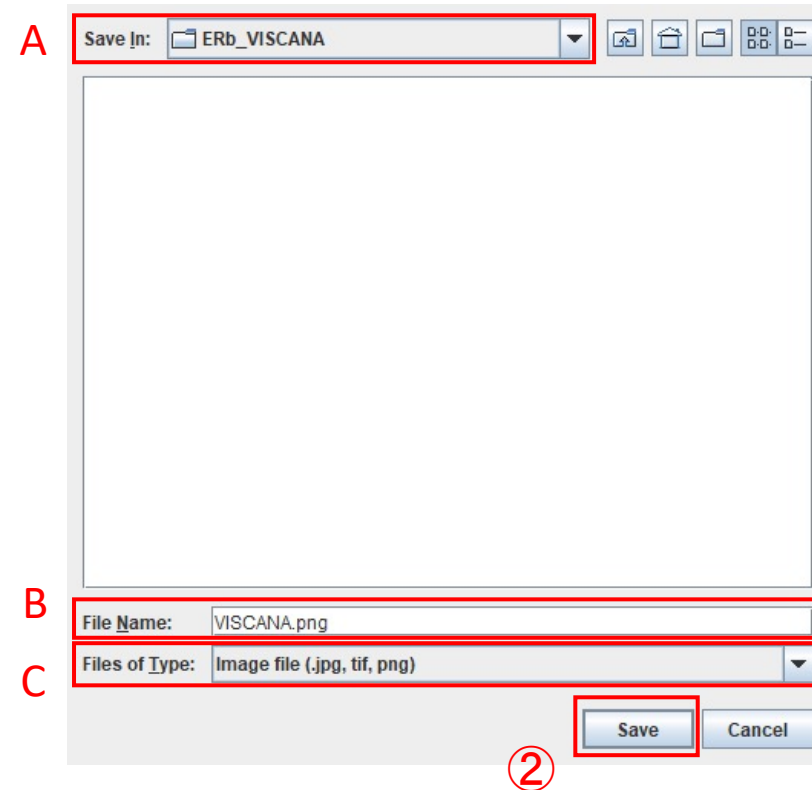


A) Save In: 保存先ディレクトリ

B) File Name: ファイル名.png

C) File of Type: Image file (.jpg, .tif, .png)  
を指定

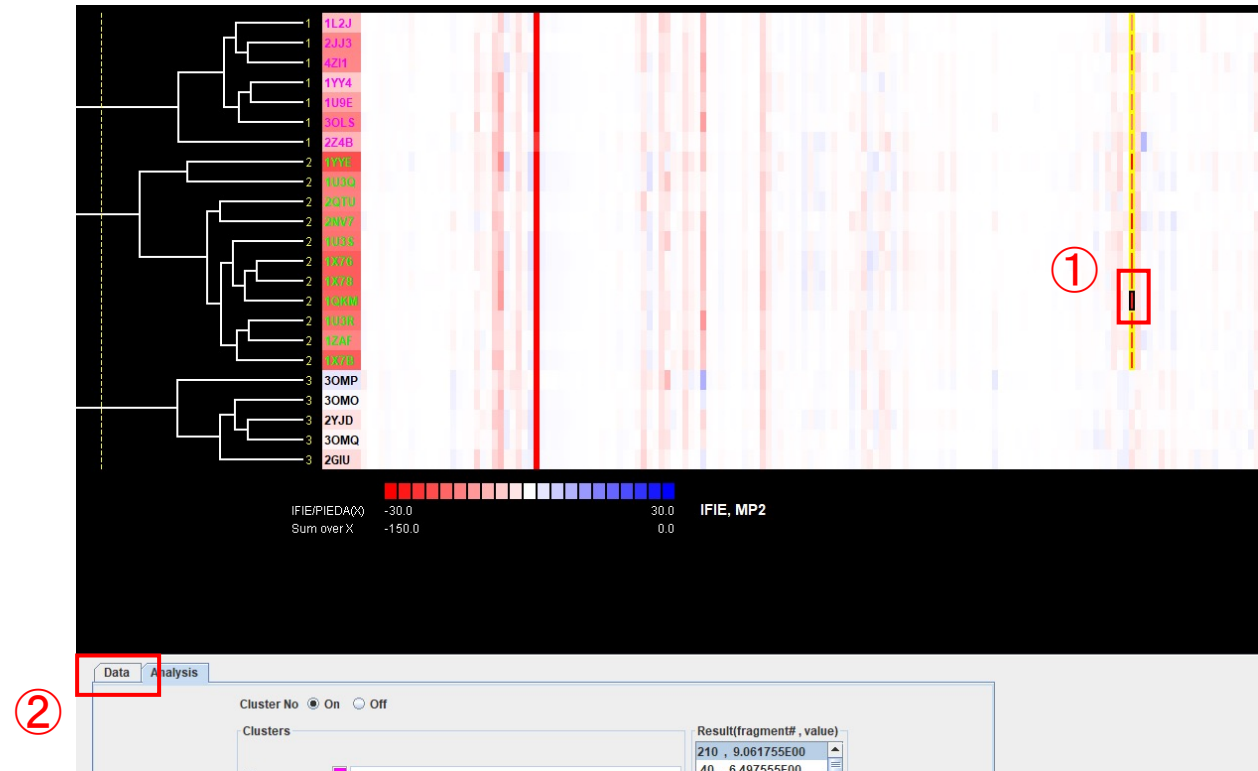
→ Save②



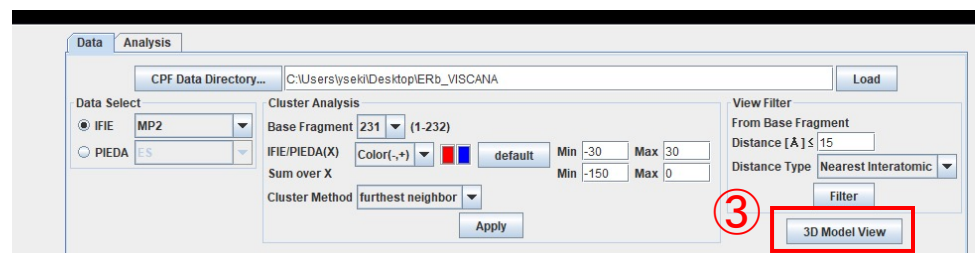
VISCANAの図がファイルとして保存される。

# ■ クラスタリング結果をもとに相互作用を確認

- I. リガンドと fragment: 210 との相互作用バンドを指定し①(黄色が消える)、再度AnalysisをDataに変える②。

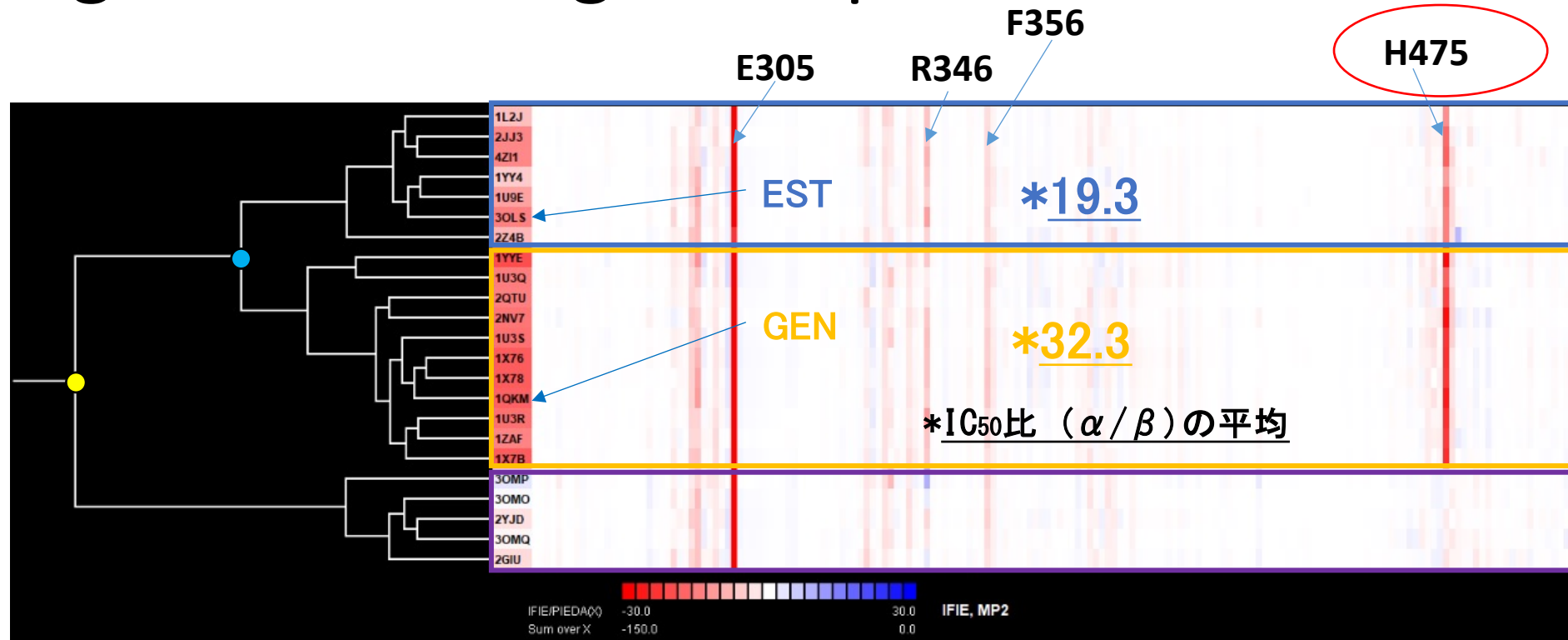


- II. 3D Model View ③。

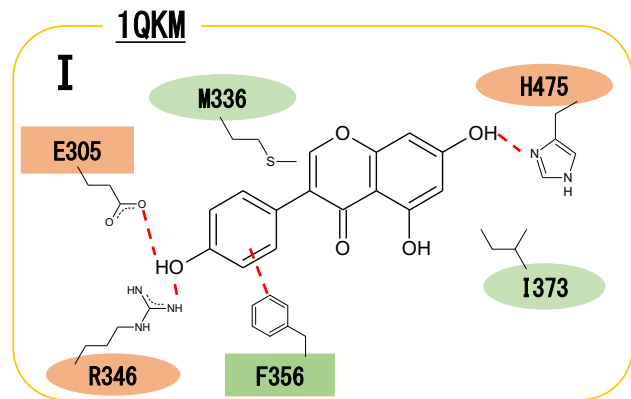


Viewerに複合体構造が読み込まれる。

# Ligand clustering for ER $\beta$



## ● H475 との相互作用の有無



## ● H475 との相互作用の強さ

