

インフルエンザたんぱく質巨大複合体の高精度電子状態計算に成功 （スーパーコンピューターによる変異予測や医薬品開発に道）

JST目的基礎研究事業の一環として、神戸大学 大学院工学研究科の田中 成典 教授と立教大学 理学部の望月 祐志 准教授らの研究チームは、インフルエンザウイルスの巨大な表面たんぱく質が抗体や阻害剤と結合する際の電子状態を精密に計算することに成功し、インフルエンザウイルスの感染・変異メカニズムや医薬品設計に関わる分子間相互作用の詳細を明らかにしました。これはヘマグルチニン（HA）^{注1} たんぱく質三量体とその抗体、ノイラミニダーゼ（NA）^{注2} たんぱく質とその阻害剤との結合系に対する量子力学的な第一原理分子軌道計算^{注3}を海洋研究開発機構のスーパーコンピューター「地球シミュレータ」で高速かつ高精度に実行した成果で、将来のパンデミック対策にも役立つ可能性があります。

インフルエンザの感染プロセスには、ウイルス表面にあるヘマグルチニンたんぱく質三量体と宿主側の糖鎖または抗体との相互作用が重要だと知られています。また、宿主細胞に感染したウイルスが増殖後、離脱する際にノイラミニダーゼたんぱく質が重要な働きを演じます。これらの機能を分子レベルで定量的に解析することができれば、インフルエンザ研究を加速できると考えられますが、従来はこれら生体高分子の相互作用を高精度で理論的に解析することは困難でした。

本研究チームは、まずヘマグルチニン三量体と免疫抗体との結合系の立体構造を用いて、巨大たんぱく質複合体の中でどのアミノ酸残基同士が強く相互作用しているかを明らかにしました。この研究では、フラグメント分子軌道（FMO）法^{注4}と呼ばれる巨大生体分子系に有効な高速並列計算手法を使って分散力^{注5}などの効果も適切に取り入れた電子状態計算を行いました。また、ノイラミニダーゼたんぱく質とその阻害剤との結合系に対しても、摂動論的な手法による高精度の第一原理計算を実行しました。その際、地球シミュレータのベクトルアーキテクチャの特性を考慮し、並列化の手法などに工夫を凝らして高速化を進めたハイブリッド並列計算を実現しました。

その結果、全ての計算を数時間で完了し、ヘマグルチニンたんぱく質の各アミノ酸を抗体がどのように認識しているか、またノイラミニダーゼたんぱく質の各アミノ酸とタミフルなどの阻害剤がどのように相互作用しているかなどの問題を定量的に明らかにすることが可能となりました。ヘマグルチニン抗原抗体系の計算は、生体高分子に対する電子相関^{注6}を取り入れた第一原理分子軌道計算としては世界最大規模（2351残基、36160原子）です。

今回の成果は、今まで解析が困難であった巨大生体分子複合体の高精度第一原理分子軌道計算を短時間で系統的に行うシミュレーション技術の基盤を築くとともに、インフルエンザウイルスの変異予測や医薬品開発といった重要な課題にスーパーコンピューターを用いて合理的にアプローチする実用的な道を開くものです。

本研究は、みずほ情報総研株式会社の福澤 薫 チーフコンサルタント、国立医薬品食品衛生研究所の中野 達也 室長らと共同で、また、日本電気株式会社、東京大学生産技術研究所と連携して行われました。本研究成果は2010年3月28日（日）に「日本化学会第90春季年会」（会場：近畿大学本部キャンパス（東大阪市））で発表されます。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（CREST）

研究領域：「シミュレーション技術の革新と実用化基盤の構築」

（研究総括：土居 範久 中央大学理工学部情報工学科 教授）

研究課題名：「フラグメント分子軌道法による生体分子計算システムの開発」

研究代表者：田中 成典（神戸大学 大学院工学研究科 教授）

研究期間：平成16年10月～平成22年3月

JSTはこの領域で、幅広い分野で使えるシミュレーションの基盤技術を研究しています。

<研究の背景と経緯>

たんぱく質やDNA、RNAなどの生体高分子の機能を分子シミュレーションで解析することは、従来から試みられてきました。その際には分子を構成する原子の間に働く力を古典力学的なポテンシャル関数（力場）で近似した分子力場法や分子動力学法がよく用いられてきました。しかし、分子間の相互作用は古典的力場関数では精度よく記述できない場合が多く、第一原理（量子力学）に基づいた巨大分子計算手法の実現が待たれていました。そのような中、本研究チームでは平成16年度から平成21年度まで、FMO法に基づく生体分子の電子状態計算技術の開発を行ってきました。これによりFMO法による電子状態計算の精度・速度・適用範囲などを改良し、PCクラスタやスーパーコンピュータ上で、有用なたんぱく質やDNA、RNAなどに対して、経験的な知見を用いない第一原理的な計算を可能にできました。

近年、新型インフルエンザの脅威が大きな社会問題となっており、インフルエンザウイルスの感染メカニズムの解明や変異予測、さらには効果的な医薬品開発の重要性が指摘されています。インフルエンザウイルスは、その表面にヘマグルチニンというたんぱく質を有し、感染プロセスにおいてはこれと宿主側の糖鎖あるいは抗体との相互作用が重要であることが知られています。また、ノイラミニダーゼというたんぱく質は増殖したウイルスが宿主細胞から離脱する際に重要な役割を果たします。これらのたんぱく質やその複合体の立体構造はすでいくつか知られていますが、インフルエンザウイルスの感染・発症や変異において重要なアミノ酸残基の特定は、立体構造情報のみに基づく定性的なレベルで行われてきませんでした。分子レベルでの相互作用機序を定量的に明らかにすることで、鍵となるアミノ酸の特定が可能となり、それをターゲットとした医薬品開発などを加速することができると考えられます。そのためには、まず、当該の巨大たんぱく質複合体に対する高精度の第一原理電子状態計算が必要です。

本研究チームは2008年、開発を進めてきたFMO計算手法を行列積用のDGEMMライブラリの導入などにより改良し、地球シミュレータによる効率的な分子軌道計算を実現しました。その結果、921残基からなるヘマグルチニン単量体抗原抗体複合系の計算を1時間以内という極めて短い時間で完了することに成功しました。これによって、抗原抗体間の分子認識にとって重要なアミノ酸残基をもれなくピックアップできるようになり、変異予測の有力なツールとなることを示すことができました。今回の研究はこれを発展させたものです。

<研究の内容>

今回研究の対象としたヘマグルチニンたんぱく質三量体と抗体のFab領域（抗原と結合する部分）との複合体の立体構造は、すでに2002年に得られています（図1）。しかし、この複合体は2351個のアミノ酸残基（36160個の原子）を含む巨大分子系で、この系に対する量子力学による第一原理的な電子状態計算は従来の技術では困難と考えられてきました。また、この系やノイラミニダーゼたんぱく質とその阻害剤であるタミフルの結合系などの電子状態を、分子間力の記述に本質的な電子相関効果を高精度で取り入れながら実行することは一層困難です。

本研究チームは今回、これまでに開発してきたFMO計算手法を共有メモリ型並列計算機用にさらに改良し、2009年に更新された地球シミュレータでの高速計算を可能にしました。具体的には、MPI（Message Passing Interface）による並

列化FMO計算を行うABINIT-MPXプログラムを、電子相関の2次摂動効果を取り入れるMP2法^{注7)}と3次摂動効果を取り入れるMP3法^{注7)}の計算においても高速化処理が行えるよう、OpenMPによるノード内並列化に関するチューニングを行いました。そして、地球シミュレータで効率的な計算を実現し、上記のヘマグルチニンならびにノイラミニダーゼ複合系のFMO-MP2/6-31G計算をいずれも数時間以内という極めて短い時間で完了することに成功しました。また、大次元行列に関するDGEMM演算を特に高速処理できる地球シミュレータの性能を活かして、PCクラスタでは高コストとなりがちな高次のMP3計算をMP2計算の2倍以内の時間で完了することもできました。

FMO計算は、アミノ酸を単位とするフラグメントに系全体を分割しているため、アミノ酸間の分子間相互作用を系統的に解析することが可能です。生体分子系における相互作用としては、電荷や極性をもった残基間の静電相互作用や水素結合相互作用がよく知られていますが、それ以外にも疎水性のアミノ酸が関わる分散力（ファンデルワールス）相互作用が重要な働きを演じる場合も少なくありません。

今回の計算では、分散力に関係する電子相関の効果をMP2法とMP3法によって適切に取り入れているため、生体分子系において重要と思われる全ての相互作用を高精度で論じることが可能です。さらに、FMO計算で得られたフラグメント間相互作用を専用の表示ソフトであるBioStation Viewerによって可視化することにより、分子認識にとって重要なアミノ酸残基をもれなくピックアップでき、また、巨大なたんぱく質複合体におけるドメインごとの相互作用やその役割も議論できるようになりました（図2）。

<今後の展開>

本研究チームは以前、ヘマグルチニンたんぱく質単量体抗原抗体系に対するFMO計算の結果をもとに、抗原が抗体によってどのように認識され、抗原側のアミノ酸残基が抗体圧^{注8)}から逃れるためにどういった変異を起こすのが妥当かという観点から、ヘマグルチニンたんぱく質における変異予測を行う手法を開発しました。今回計算の対象とした三量体は、現実には抗原抗体反応が起こっている分子集合体であり、より精密な生体シミュレーションの知見を提供します。また、ノイラミニダーゼたんぱく質とその阻害剤の結合系に対する高精度計算の結果（図3）は、タミフルやリレンザなどに代表される医薬品設計のための有用な情報や指針を与えてくれます。さらに、FMO計算に用いられる構造についても、主要部位はMP2計算により精密決定して、より信頼性の高い解析を可能とするような準備も進めています。今後、スーパーコンピューターなどを活用して、このような理論解析が短時間で実行可能となれば、数多くの系に対して網羅的な解析が可能になると考えられます。そして、その結果を実験データと比較することによって、近い将来起こることが懸念されているインフルエンザ・パンデミック（大流行）に対する事前対策にシミュレーションの立場から貢献することができます。

<参考図>

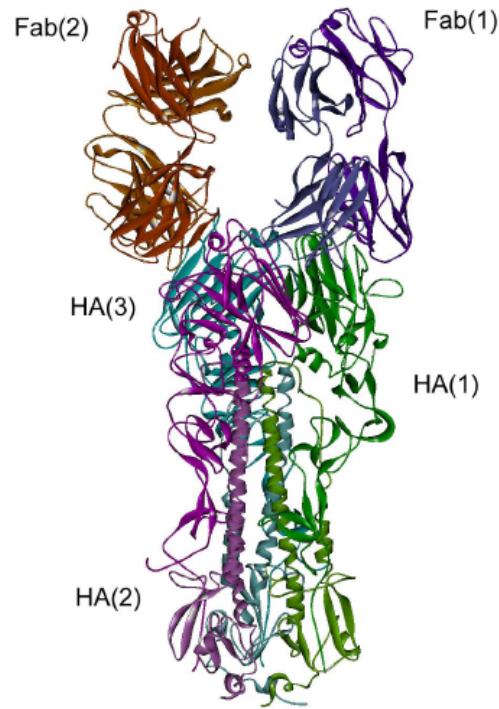


図1 インフルエンザウイルス・ヘマグルチニンたんぱく質の抗原（三量体）抗体（二量体）複合系の立体構造（PDB ID：1KEN）

3色に塗り分けられたHA（1）－HA（3）が抗原三量体、2色に塗り分けられたFab（1）－Fab（2）が抗体二量体を表す。

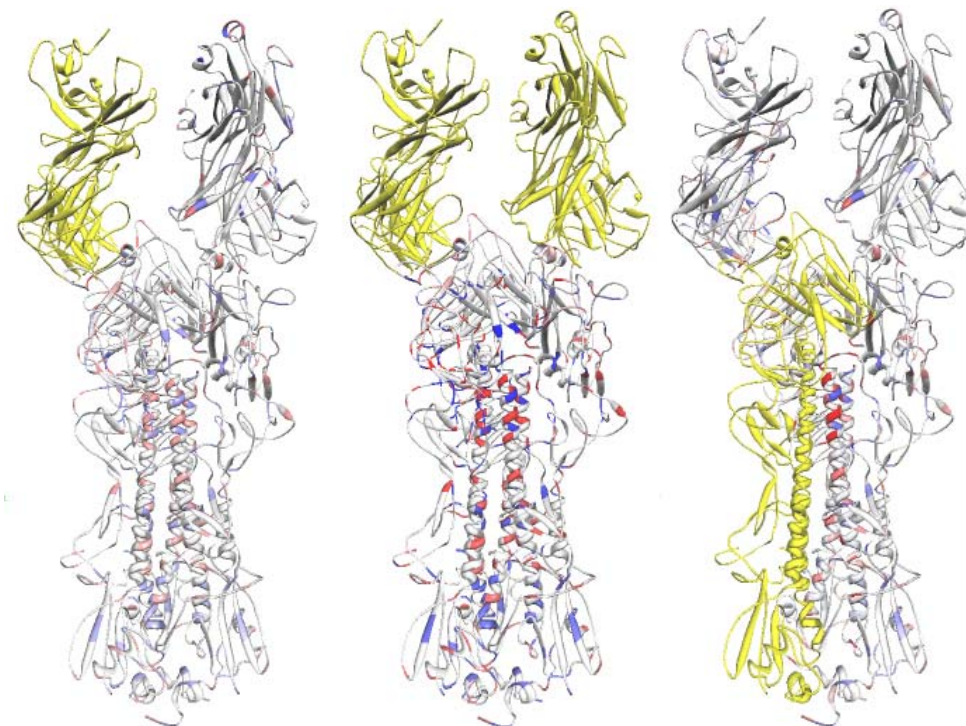


図2 図1の抗原－抗体複合系のドメイン（黄色）と各アミノ酸残基の相互作用を図示したもの

赤色と青色はそれぞれ引力的あるいは斥力的相互作用を表し、色の濃さは相互作用の強さに対応する。

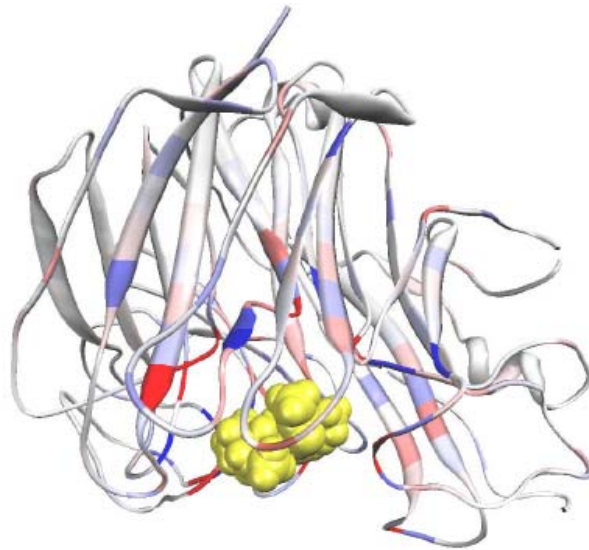


図3 インフルエンザウイルス・ノイラミニダーゼたんぱく質とタミフル（黄色の分子）の結合系の立体構造（PDB ID：2HU4）

赤色と青色はそれぞれFMO-MP3/6-31G計算で得られたタミフルと各アミノ酸残基との引力的あるいは斥力的相互作用を表し、色の濃さは相互作用の強さに対応する。

<用語解説>

注1) ヘマグルチニン (HA)

赤血球凝集素。インフルエンザウイルスの表面に存在し、宿主細胞膜上の糖鎖と結合することで細胞内にウイルスが侵入する。糖鎖もしくは抗体との結合領域のアミノ酸残基が非常に変異しやすいことが抗体の作製やワクチン開発を困難にしている理由の1つである。

注2) ノイラミニダーゼ (NA)

インフルエンザウイルスの表面に存在し、宿主細胞表面の糖鎖をシアル酸残基の部分で切断する活性を持つ酵素たんぱく質。この働きによって、新たに作られたウイルス粒子が感染した細胞から遊離する。タミフルやリレンザなどの医薬品はこの活性を阻害する。

注3) 第一原理分子軌道計算

経験的パラメーターを用いない、量子力学的手法による分子の波動関数(軌道)の計算。ハートリー-フォック (HF) 法や電子相関効果を取り入れたポストHF法などが用いられる。

注4) フラグメント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital; FMO) 法

1999年に北浦 和夫 氏(現 京都大学 教授)によって提案された生体分子系に対する効率的な計算手法。巨大系を比較的小さなフラグメント(アミノ酸残基など)に分割し、各フラグメントのモノマーとダイマーの分子軌道計算を並列処理することにより、全系の電子状態をこれまでの手法よりはるかに短時間に高精度で解析することができる近似計算法。

注5) 分散力

アルキル基やベンゼン環などの疎水性グループ間に働く引力的な相互作用で、たんぱく質の疎水性アミノ酸残基間の相互作用やDNAにおける塩基分子の積層相互作用などで重要な働きをしている。

注6) 電子相関

HF法の1電子平均場近似では取り込まれない電子間の反発の効果。MP2法やMP3法などのポストHF計算で導入される。

注7) MP2 (Second-order Moller-Plesset perturbation) 法、

MP3 (Third-order Moller-Plesset perturbation) 法

HF法による平均場近似からのズレを2次ないし3次の摂動として取り扱うことで、電子相関を導入するポストHFの計算法。ともに分散力の寄与を取り込むことができるが、後者の方が近似のレベルが高く、信頼性が向上する。

注8) 抗体圧

抗原はアミノ酸変異を繰り返して抗体による認識を避ける。抗原から見た時の、この抗体の分子認識能を「抗体圧」と呼ぶ。

<学会発表演題名>

“インフルエンザウイルスHAおよびNAタンパク質の第一原理電子状態計算”

<お問い合わせ先>

田中 成典 (タナカ シゲノリ)

神戸大学 大学院工学研究科 教授

〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1

Tel : 078-803-7752 Fax : 078-803-7761

E-mail : tanaka2@kobe-u.ac.jp

科学技術振興機構 広報ポータル部

〒102-8666 東京都千代田区四番町5-3

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8404

E-mail : jstkoho@jst.go.jp

神戸大学 広報室

〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1

Tel : 078-803-5083 Fax : 078-803-5088

E-mail : ppr-kouhoushitsu@office.kobe-u.ac.jp