

「FMO法による計算創薬教程と 計算環境の開発」

ICAシリーズ研究講演会

「オープンコースによる人材育成」

2013年9月25日

中田吉郎(群馬大)、上林正巳(POEM)

概要

計算化学の手法と計算機の発展により、タンパク質など生体高分子の構造計算が可能になってきた。

医薬分子の探索にも、このような手法を基にした計算創薬と呼ばれる方法が広く使われるようになってきた。

創薬研究者がこのような計算を行うには、その基本となる理論化学や計算手法を学ばなければならない。しかし現在の日本の大学・大学院のカリキュラムにはこのような内容のものがほとんどない。

そこで我々は、創薬計算に必要な計算手法を演習をとおして学ぶオープンコースウェアとして作成し、公開することとした。

オープンコースウェア

2003年9月にMITより初めてオープンコースウェアが公開された。

始めは大学のシラバスや講義ノート程度のものが多かったが、現在ではYouTubeなどを利用したもので見られるようになった。

現在、英語圏ではMIT、UCバークレー、ユタ州立大学などから充実した内容のものが公開されている。日本では約18大学から公開されている。

ドッキング・シミュレーション

医薬分子などの低分子化合物と、その標的になる酵素などの生体高分子(標的分子)との複合体の安定構造を、コンピュータ上で計算的に推定する手法がドッキング・シミュレーションである。

正しいドッキング・シミュレーションを行うためには重要な条件がある。一つはシミュレーションに用いる分子構造の精度である。もう一つは分子間相互作用の計算の精度である。

FMO法と呼ばれる手法が開発され、生体高分子の電子状態まで計算できるようになってきた。これを利用することにより、よい精度の分子構造をシミュレーションに用いることが可能になった。

現在利用可能なアプリケーションとしては、AutoDock, Dock, MOE, InsightII, GOLDなどがある。

Essential CADU Courses (Graduate Level)

概要： 医薬品の研究開発についてある程度理解している研究者を対象に、
創薬計算技法の基礎を学ぶ課程。

内容： 計算創薬の基礎となる分野は、計算化学、量子化学、
バイオインフォマティクス、化学情報学などである。
それらを基にしたいくつかの計算技法について、自分のパソコンと
CBI-Cloudコンピュータを用いて計算する方法と演習を解説する。

公開： <http://fmo.cbi.or.jp/> にアクセスすることにより利用可能
その中に「計算創薬の基礎コース」としてある。

最新情報

◆ [シリーズ研究講演会「薬づくりの新しいR&Dモデルを探る」第2回「オープンコースによる人材育成」](#) new!

計算化学研究会	WORKSHOP	関連情報
◆ 計算化学研究会とは	◆ 計算創薬の基礎コース (2013.09.01更新) ◆ CBI Work Plaza (2013.09.01更新)	◆ FMOとは ◆

Essential CADU Courses (Graduate Level)の計算技法

このコースでは、計算創薬の基礎学習に役立つ、自由に利用可能なソフトウェアを3種類用いる。

量子化学計算のための **GAMESS** (その中のFMO)というシステム

分子力場計算・分子動力学計算のための **PEACH** というシステム

ドッキングシミュレーションのための **AUTODOCK** というシステム

Essential CADU Courses (Graduate Level) を 学ぶためのコンピュータ環境

CBI Cloud コンピュータ

4台のLinux PC (6 core CPU、8 GB ECC memories) を並列に繋いだマシン

CBI Cloud (cluster)

Linux-based four PCs, each of which has 6 core CPUs and 8GB ECC memories.

学習者のパソコン (インターネット環境)

User (personal computer on internet)

Windowsマシン (Linux PC、Macでも可)

参照 ; [PC_Setting.pdf](#)

蛋白質等生体高分子の相互作用解析に適用可能な

フラグメント分子軌道法計算 ノード

受容体蛋白質と薬物リガンドの結合における結合相互作用の解析がFMO/GAMESSを使うことによって非経験的分子軌道法の精度近似で調べることが出来るようになりました。

従来、非経験的分子軌道法計算を蛋白質の様な生体高分子に適用する事は不可能と考えられて来ました。

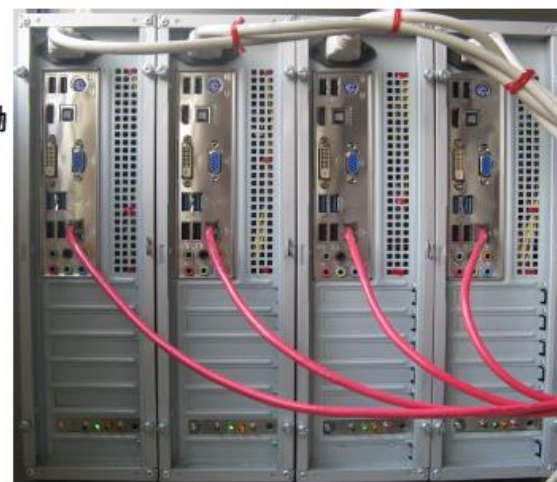
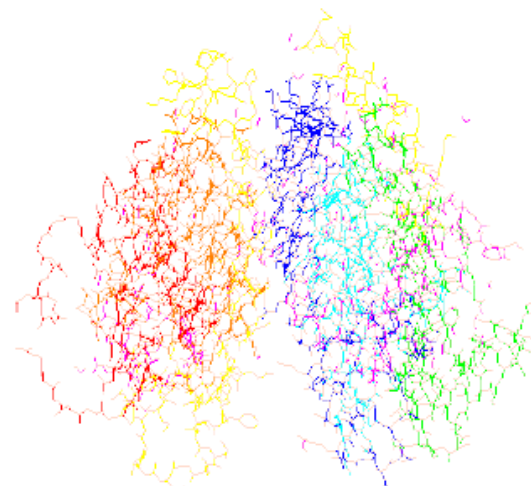
しかし、FMO法という手法により計算が可能となりました。

<http://www.cbi.or.jp/cbi/jigyoku/keisankagaku.html>

PIEDA: フラグメントペア間相互作用エネルギー要素解析が可能です

CPU: 8 cores CPUx1 AMD FX-8170 3.9GHz
RAM: 8GB ECC memory
HDD: SATA 1TB x1
NIC: 1x GbE
APPS: FMO/GAMESS稼働, Facio 稼働, AutoDock 稼働
BLAS: ATLAS
OS: Linux*
Slim Case: 100x360x465

- * 右写真は4ノード構成のイメージモデル
- * カスタマイズ 可能
- * 計算ノード単体を掲示しています
- * Linux: ScientificLinux, Fedora, CentOS等々
- * 64 Core/node もお問い合わせください。



CBI Cloudへのアクセスの仕方

1 Get User ID and Password → User ID = nakata

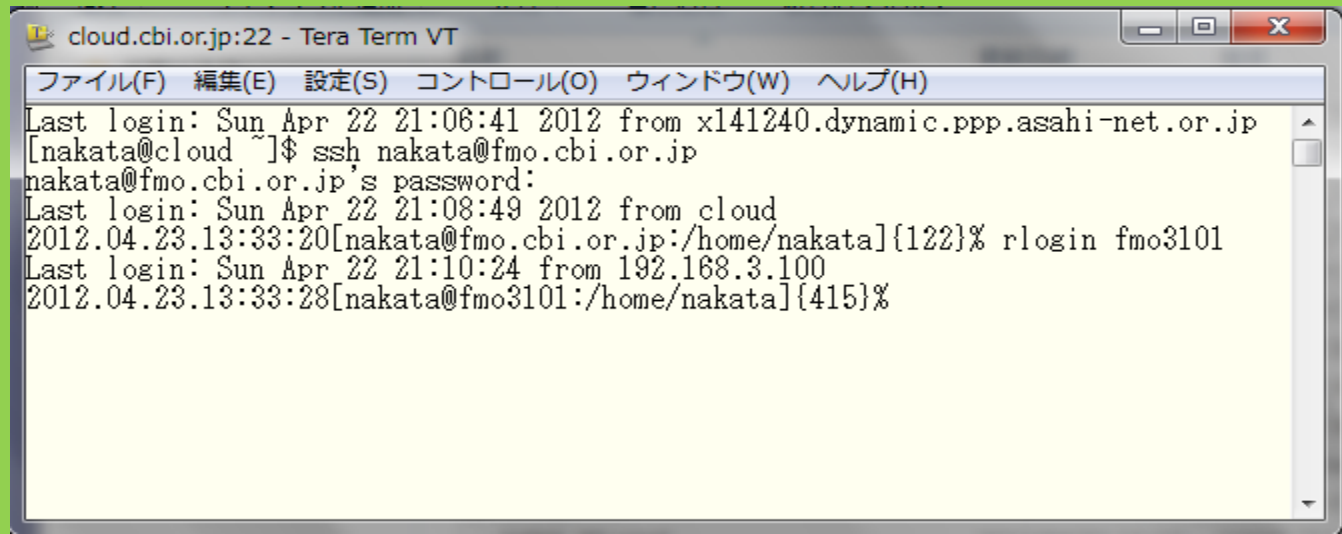
2 Tera Term VTでcloud.cbi.or.jpにログインする。

3 sshコマンドでfmo.cbi.or.jpにログインする。

```
[nakata@cloud ~]$ ssh nakata@fmo.cbi.or.jp
nakata@fmo.cbi.or.jp.'s password: xxxxxxxx
Last login: .....
```

4 rloginコマンドでfmo3101にログインする。

```
2012.04.11.10:29:33 [nakata@fmo.cbi.or.jp ~]$ rlogin fmo3101
Last login: .....
2012.04.11.10:29:44 [nakata@fmo3101 ~]$
```



The screenshot shows a terminal window titled "cloud.cbi.or.jp:22 - Tera Term VT". The terminal output is as follows:

```
ファイル(F) 編集(E) 設定(S) コントロール(O) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)
Last login: Sun Apr 22 21:06:41 2012 from xl41240.dynamic.ppp.asahi-net.or.jp
[nakata@cloud ~]$ ssh nakata@fmo.cbi.or.jp
nakata@fmo.cbi.or.jp.'s password:
Last login: Sun Apr 22 21:08:49 2012 from cloud
2012.04.23.13:33:20[nakata@fmo.cbi.or.jp:~/home/nakata]{122}% rlogin fmo3101
Last login: Sun Apr 22 21:10:24 from 192.168.3.100
2012.04.23.13:33:28[nakata@fmo3101:~/home/nakata]{415}%
```

A Guide Map of Essential CADU Courses

An Outline of Courses

References, Exercises

1 Methods of Calculation

[Cosconati.pdf](#) [Steinmann.pdf](#) [Adams.pdf](#) [Frearson.pdf](#)
[Williams.pdf](#) [Satyanarayarajois.pdf](#) [Sutch.pdf](#)

2 Computer System for Calculation

[PC setting.pdf](#) [AutoDock Inst.pdf](#)

3 PDB

[PDB use.pdf](#)

4 GAMESS

[FMO 1 PR.pdf](#) [FMO 2 NA.pdf](#)

5 PEACH

[PEACH 1 BPTI.pdf](#) [PEACH 2 1FM9.pdf](#)

6 AutoDock

[AutoDock 1.pdf](#) [AutoDock 2.pdf](#) [AutoDock 3.pdf](#)

7 General Exercises

[CADU 0 Data.pdf](#) [CADU 1 RET.pdf](#) [CADU 2 MM.pdf](#)
[CADU 3,4 FMO.pdf](#) ([CADU 3A Facio1.pdf](#) [CADU 4A FMO.pdf](#))
[CADU 5 Facio2.pdf](#) [CADU 6 Dock.pdf](#)

PDBデータの利用

計算に用いる分子の座標データは、X線結晶解析などで得られたデータを元にする。そのデータがない場合は、分子構造作成プログラムを用いて理論的に求める。

創薬計算の場合はタンパク質とか核酸分子が対象となるので、PDBというデータベースを利用することになる。

そこでPDBの利用法について詳しく説明する。

参照: [PDB_use.pdf](#)

PDBデータの問題点

- 1 X線結晶解析で得られた構造を計算科学に用いるためには、不足している情報がある。
 - 主鎖、側鎖の全てが見えている訳ではない。
 - 普通はデータに水素原子の座標が入っていない。
水素原子の座標を発生させるプログラムが必要である。
利用できるプログラム; PEACH, FACIOなど
 - 結晶水のデータが含まれているが、その価値判断が必要

2 高精度な結晶構造の場合、ひとつの原子に対して
A, Bふたつの座標があることがある。
どちらかの座標を消去する。

例; 1aph.pdb

ATOM	29	N	GLN	A	5	18.366	45.838	34.342	1.00	16.84	N
ATOM	30	CA	GLN	A	5	18.616	44.618	35.114	1.00	15.77	C
ATOM	31	C	GLN	A	5	20.018	44.082	34.913	1.00	14.74	C
ATOM	32	O	GLN	A	5	20.577	43.525	35.903	1.00	19.09	O
ATOM	33	CB	AGLN	A	5	17.729	43.396	34.885	0.70	8.35	C
ATOM	34	CB	BGLN	A	5	17.665	43.424	34.928	0.30	15.39	C
ATOM	35	CG	AGLN	A	5	16.235	43.597	35.046	0.70	16.68	C
ATOM	36	CG	BGLN	A	5	16.192	43.768	35.114	0.30	14.06	C
ATOM	37	CD	AGLN	A	5	15.397	43.000	33.942	0.70	35.32	C
ATOM	38	CD	BGLN	A	5	15.903	44.598	36.336	0.30	18.03	C
ATOM	39	OE1	AGLN	A	5	14.518	42.148	34.137	0.70	37.74	O
ATOM	40	OE1	BGLN	A	5	16.583	44.539	37.362	0.30	26.17	O
ATOM	41	NE2	AGLN	A	5	15.653	43.468	32.714	0.70	37.11	N
ATOM	42	NE2	BGLN	A	5	14.873	45.437	36.298	0.30	23.44	N

3 PDBフォーマットの間違いのため結合などが表示できない場合がある。

例; 1a13.pdb

```
ATOM 229 HB3 LEU A 14 -5.994 -5.230 1.872 1.00 0.00 H
ATOM 230 HG LEU A 14 -8.022 -3.133 1.679 1.00 0.00 H
ATOM 231 HD11 LEU A 14 -6.646 -4.116 -0.840 1.00 0.00 H
ATOM 232 HD12 LEU A 14 -8.195 -3.275 -0.810 1.00 0.00 H
ATOM 233 HD13 LEU A 14 -6.732 -2.447 -0.278 1.00 0.00 H
ATOM 234 HD21 LEU A 14 -8.261 -5.666 2.044 1.00 0.00 H
ATOM 235 HD22 LEU A 14 -9.340 -4.941 0.851 1.00 0.00 H
ATOM 236 HD23 LEU A 14 -7.915 -5.836 0.323 1.00 0.00 H
HETATM 237 N NH2 A 15 -4.346 -3.518 4.868 1.00 0.00 N
```

231, 232, 233の原子名が1HD1, 1HD2, 1HD3でなければいけない。

4 異常接近した原子が存在することがある。 何らかのプログラムを使って、座標を修正する必要がある。

参照例; [CADU 2 MM. pdf](#)

FMO/GAMESSとは

受容体蛋白質と薬物リガンドの結合における結合相互作用の解析が、FMO/GAMESSを使うことにより非経験的分子軌道法の精度近似で調べることができます。

従来、非経験的分子軌道法計算を蛋白質の様な生体高分子に適用することは不可能と考えられていました。しかしFMO法という手法により計算が可能となりました。

What is GAMESS ?

GAMESS is a program for *ab initio* molecular quantum chemistry. Briefly, GAMESS can compute SCF wavefunctions ranging from RHF, ROHF, UHF, GVB, and MCSCF. Correlation corrections to these SCF wavefunctions include Configuration Interaction, second order perturbation Theory, and Coupled-Cluster approaches, as well as the Density Functional Theory approximation. Excited states can be computed by CI, EOM, or TD-DFT procedures. Nuclear gradients are available, for automatic geometry optimization, transition state searches, or reaction path following. Computation of the energy hessian permits prediction of vibrational frequencies, with IR or Raman intensities. Solvent effects may be modeled by the discrete Effective Fragment potentials, or continuum models such as the Polarizable Continuum Model. Numerous relativistic computations are available, including infinite order two component scalar corrections, with various spin-orbit coupling options. The Fragment Molecular Orbital method permits use of many of these sophisticated treatments to be used on very large systems, by dividing the computation into small fragments. Nuclear wavefunctions can also be computed, in VSCF, or with explicit treatment of nuclear orbitals by the NEO code.

from GAMESS Home Page

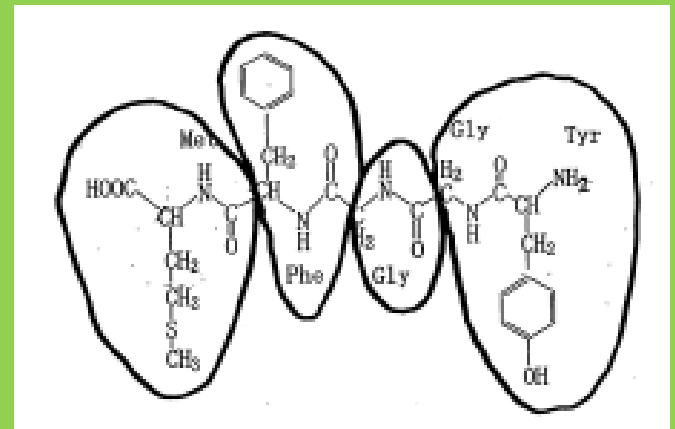
Fragment MO Method

An approximate *ab initio* molecular orbital method for large molecules

Outline of the method:

- A molecule is divided into N fragments and *ab initio* MO calculations on the fragment and fragment pairs are performed.
- The total energy of a molecule (E) is calculated using the energies of the fragment (E_i) and fragment pair (E_{ij});

$$E = \sum E_{ij} - (N-2) \sum E_i$$



Advantages of the method:

- has *ab initio* MO quality,
- runs on small computers,
- is efficient in massively parallel processing.

GAMESSの使い方と演習

- 1 自分のパソコンにFacio（フリーソフト）をインストールして、
GAMESSの入力ファイルを作成する。

Facio は蛋白質座標データから FMO/GAMESS 用入力ファイルを作成し、
結果を見るためのソフトウェアです。

Facio 15.1.1の導入 開発元 <http://www1.bbiq.jp/zzzfelis/>

ダウンロード <http://www.scc.kyusyu-a.ac.jp/Facio/Facio1511.zip>

使用法 <http://www.cbi.or.jp/Facio/FMOWorkshop.heml>

- 2 CBI-Cloudに入力ファイルを転送して、計算を行う。
- 3 計算結果を自分のパソコンにダウンロードして、Facioで結果を表示し検討する。

演習課題

- 1 PDBより蛋白質データをダウンロードして、入力ファイルを作り、FMO (GAMESS) 計算を行う。

参照ファイル： [FMO_1_PR.pdf](#)

- 2 核酸データの入力ファイルを作り、FMO (GAMESS) 計算を行う。

参照ファイル： [FMO_2_NA.pdf](#)

What is PEACH ?

コンピュータ上で分子の挙動をシミュレーションする手法がある。その一つが、MD (Molecular Dynamics method; 分子動力学法) という計算法である。たとえばタンパク質の高次構造を推測するために、安定な状態を探したり、分子の折りたたみシミュレーションなどが可能である。

PEACHは古明地ら*によって開発された生体分子のための分子動力学計算システムである。さらにABINIT-MPというFMOプログラムが組み込まれているので、量子分子動力学計算も可能である。

**PEACH(Program for Energetic Analysis of bioCHemical molecules) is a
Molecular dynamics simulation software.**

CBI-CloudでのPEACHの使い方

PEACHの各プログラムは `/usr/local/peach/EXE` のところに置いてある。

計算に必要なパラメータなどのデータファイルは `/usr/local/peach/data` にある。

オリジナルのマニュアル(英文)は `/usr/local/peach/doc` にある。

オリジナルのソースファイルは `/usr/local/peach/src` にある。

実行例は `/usr/local/peach/demo` にある。

PEACHの計算の進め方は

`/usr/local/peach/demo` にある実行例(4つの分子系がある)を参照するとよい。

DNA_RNA GAS_PEPT PROT PROT_DNA

手順は `moltop_v moltop_w heat mdprod(md_mpi) analyze` の順に

シェルスクリプト(`*.csh`)を実行する。

PEACHの使い方と演習

A 自分のパソコンで、用いたいPDBファイルをダウンロードする。

B CBI-CloudにPDBファイルを転送して、計算を行う。

- 計算の手順は
- 1 PDBファイルの加工
 - 2 溶質分子の真空中の分子トポロジーの作成
 - 3 溶質、イオン、溶媒を含んだ分子トポロジーの作成
 - 4 エネルギー極小化と昇温
 - 5 本計算

C 計算結果を自分のパソコンにダウンロードして、結果を検討する。

演習課題1： Protein Data BankよりBPTIの結晶構造を取ってきて、MD計算を行う。

参照ファイル： [PEACH_1_BPTI.pdf](#)

演習課題2： Protein Data Bankより1FM9の結晶構造を取ってきて、MD計算を行う。

参照ファイル： [PEACH_2_1FM9pdf](#)

What is AutoDock?

コンピュータ上で分子の挙動をシミュレーションする手法の一つに、分子間のドッキングシミュレーションがある。ある分子が、別の分子のどの部位に、どのような形でドッキングするかを推定する。計算により、エネルギー的に安定なものをその候補とするのである。これは、例えば、生体内の分子の相互作用の解明に役立つほか、応用的には新薬の候補となる分子を探したりすることにも役立つ。

そのために使うことができるオープンソースのツールとして Autodock (<http://autodock.scripps.edu/>)がある。提供元はScripps研究所の、A. J. Olson教授率いる分子グラフィックス研究室である。AutoDockは、Grid ModelによるLigand-Receptor Dockingシミュレーションを行なうプログラムシステムである。

これはコマンドラインから使うツールだが、同研究室が提供するAutodock toolなるものを利用するとグラフィカル・ユーザー・インターフェイス上から利用できる（このツールはMGLToolsの一部である。<http://mgltools.scripps.edu/>）。これによって、画面上に3Dグラフィックスとして表示された分子模型を参照しながら作業することができる。

AUTODOCKの使い方と演習

- 1 自分のパソコンにCygwin、AutoDock, AutoDockTool (フリーソフト) をインストールして用いる。

参照：[AutoDock Inst.pdf](#)

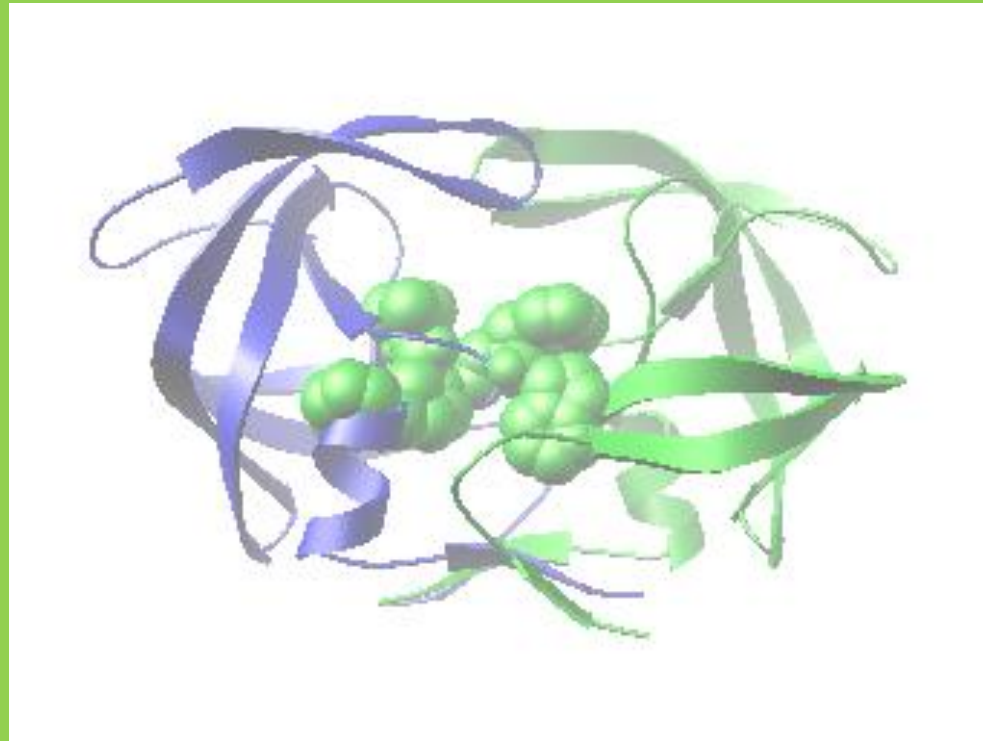
- 2 長時間かかる計算の場合は、C B I - C l o u dに入力ファイルを転送して、計算を行う。
- 3 計算結果を自分のパソコンにダウンロードして、AutoDockTool (A D T) で結果を表示し検討する。

AutoDockの演習

AutoDockのチュートリアルとして提供されている、HIV1-プロテアーゼとプロテアーゼ阻害剤インディナビルのシミュレーションを演習として行う。この複合体のX線結晶解析構造はPDBに1HGS.pdbとして登録されている。

1: 基本的な使い方 [Autodock_1.pdf](#)

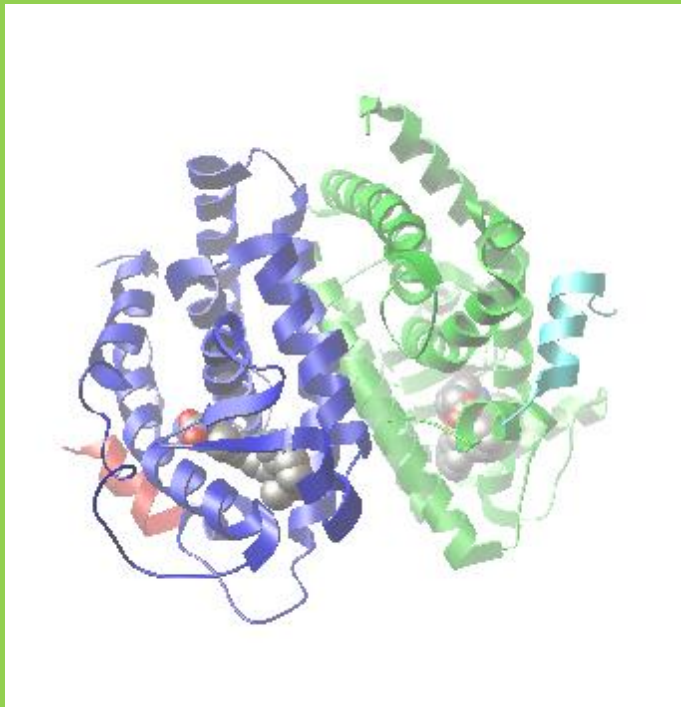
2: ADTを用いた例 [Autodock_2_ADT.pdf](#), [Autodock_3_ADT.pdf](#)



総合演習

1FM9.pdbのRXR(A鎖)とREA部分のドッキング・シミュレーションを行う。

The nuclear receptor PPARgamma/RXRalpha heterodimer (1FM9.pdb) regulates glucose and lipid homeostasis



1FM9. Pdb



RXR+REA

1 PDBより1FM9の座標をダウンロードする。

Firefox で <http://www.pdb.org/> へ接続する。

[CADU 0 DATA.pdf](#)

2 Peachを用いて原子間に衝突がない座標にする。

2-1 リガンドのトポロジーファイルを作成する。

[CADU 1 REA.pdf](#)

2-2 MM法により座標を修正する。

[CADU 2 MM.pdf](#)

3 Facioを用いてGAMMESの入力ファイルを作成する。

[CADU 3A Facio1.pdf](#)

4 CBI Cloudに入力ファイルを送り、FMO計算を行う。

[CADU 4A FMO.pdf](#)

3, 4 座標をCBI Cloudに送り、FMO計算を行う。

[CADU 3,4 FMO.pdf](#)

5 Facioを用いてGAMMESの出力ファイルを解析する。

[CADU 5 Facio2.pdf](#)

6 AutoDockを用いてドッキングシミュレーションを行う。

[CADU 6 Dock.pdf](#)

References

GAMESS: http://WWW.msg.ameslab.gov/GAMESS/License_Agreement.html

PEACH: <http://staff.aist.go.jp/y-komeiji/10.pdf>

Autodock <http://autodock.scripps.edu/wiki/AutoDock4>

Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice. [Cosconati10.pdf](#)

創薬全般 Drug Discovery in academia- the third way? [Frearson10.pdf](#)

Open PhACTS: semantic interoperability for drug discovery. [Williams12.pdf](#)

創薬教育 Activ-Learning Exercises to Teach Drug-Receptor Interactions in
a Medicinal Chemistry Course. [Satyanarayanajois10.pdf](#)

Intergrated Teaching of Structure-Based Drug Design and Biopharmaceutics:
A Computer-Based Approach. [Sutch12.pdf](#)

量子化学計算 The Quixote project: Collaborative and Open Quantum Chemistry
data management in the Internet age [Adams11.pdf](#)

FMO The Effective Fragment Molecular Orbital Method for Fragments
Connected by Covalent Bonds. [Steinmann12.pdf](#)