

令和3年度高性能汎用計算機高度利用事業
「富岳」成果創出加速プログラム
「プレシジョンメディスンを加速する
創薬ビッグデータ統合システムの推進」
成果報告書

令和4年5月30日
国立研究開発法人 理化学研究所

奥野 恭史

目次

1. 補助事業の目的.....	- 1 -
2. 令和3年度（報告年度）の実施内容.....	- 1 -
2-1. 当該年度（令和3年度）の事業実施計画.....	- 1 -
2-2. 実施内容（成果）.....	- 4 -
2-3. 活動（研究会の活動等）.....	- 42 -
2-4. 実施体制.....	- 42 -

別添1 学会等発表実績

補助事業の名称

「富岳」成果創出加速プログラム

プレジジョンメディスンを加速する創薬ビッグデータ統合システムの推進

1. 補助事業の目的

ポスト「京」重点課題1で「富岳」のために開発してきた GENESIS、創薬ビッグデータ統合システムを用いることで、患者由来の遺伝子多型・変異が、タンパク質の構造やダイナミクスに与える影響を分子シミュレーションにより明らかにする。これによって得られる分子レベルでの病態解明・薬剤反応性・薬剤設計に関する知見を臨床現場、創薬現場に提供することで、プレジジョンメディスンの加速を目指す。

2. 令和3年度（報告年度）の実施内容

2-1. 当該年度（令和3年度）の事業実施計画

（1）分子病態解析

① 動的構造機能解析（横浜市大・池口）

本研究課題では、キナーゼやその他の希少疾患関連タンパク質を対象として、変異導入による立体構造変化、構造ダイナミクスの変化を研究する。令和3年度は、「富岳」にて、分子動力学(MD)計算の本格実施をスタートするとともに方法の精密化を行う。具体的には対象タンパク質1種類のマルコフ状態遷移モデル(MSM)による大規模構造ダイナミクス計算、および、変異体等数十種類についての分子動力学計算を完了する。

② タンパク質活性予測（京大理・林）

ハイブリッドQM/MM自由エネルギー法であるQM/MMRWFE-SCF法を適用し、キナーゼのリン酸化反応解析、及び共有結合型阻害剤の反応性に関する計算を行う。令和3年度には、キナーゼ野生型1種類を対象に、MD計算予測で得られた出発構造に対してテスト計算を行い、計算法の精密化を行う。

（2）薬剤反応性推定

① 結合自由エネルギー計算（京大医・奥野）

Virtual Ligand法、MP-CAFEE法やFEP法を適用し、がんゲノムで観測された各種変異に対して、キナーゼタンパク質と非共有結合型阻害剤やATPとの結合自由エネルギーを推定することで、各種変異型キナーゼと薬剤との反応性を見積もり、各種変異に対して最適な薬剤選択を可能にする。令和3年度には、キナーゼ-阻害剤数十ペアを対象としたテストランによって計算条件の最終精密化を行った後、「富岳」を用いてプロダクトランを実施し、キナーゼ-阻害剤数百ペアを対象に結合自由エネルギー計算を行う。

② 結合経路・ポーズ推定（理研BDR・杉田）

本課題では、重点課題1で開発したgREST/REUS法を適用し、がんに関連するキナーゼと阻害剤の結合に対して、X線結晶構造などで観測しうる最安定な結合ポーズだけでなく、準安定的・過渡的なポーズ

ズを含めた複数の結合ポーズと、それらに至る結合経路を自由エネルギー地形に基づいて特定する。さらに、阻害剤との結合だけでなく、基質タンパク質（ペプチド）の結合ポーズを特定して、特異性の高い阻害剤の創出を目指す。令和3年度には、キナーゼ-阻害剤複数ペアの計算を「富岳」を用いて行い、結合ポーズと結合経路を特定することを目標とする。

③ 結合速度論解析（東工大・北尾）

PaCS-MD/MSM法を用いて、キナーゼと阻害剤などの結合や解離の過程を詳しく調べ、結合のメカニズムを明らかにする。令和3年度は、令和2年度に引き続き複合体1ペアでテストランを行い、結合親和性の計算精度の精密化を行う。「富岳」始動とともに、プロダクトランを開始し、具体的にはキナーゼ-阻害剤複数ペアの計算を行う。

（3）薬剤分子設計

① 低分子デザイン（筑波大・広川）

ポスト「京」重点課題1で構築したMD計算と標的タンパク質モデリングおよびドッキング計算法を融合したSBDD技術とChemTSによるデノボデザインを可能にする「創薬ビッグデータ統合システム」を用いて、薬剤耐性キナーゼを回避する低分子デザインおよび希少疾患関連タンパク質を標的とした低分子探索とデザインを行う。令和3年度には、既知の薬剤耐性キナーゼと回避ドラッグ設計の成功報告などをベンチマークに回避ドラッグ設計のトレースやモデリング手法の評価を行い、計算方法の精密化にフィードバックさせる。「富岳」始動後すぐに、数百種のキナーゼ変異体について低分子設計を完了する。

② 抗体医薬デザイン（東大先端研・山下）

これまで「京」コンピュータを活用して構築した大規模MDシミュレーション技術を駆使して、タンパク質抗原が変異することによる抗体医薬品薬効への影響の予測を可能にしていく。さらに、抗原-抗体相互作用が低下する抗原変異に対して、抗体改良によって再び抗原との相互作用が回復できないかをMDシミュレーションに基づき推定する。令和3年度には、引き続き抗原変異体-野生型抗体4種のテストランを行い、計算の精密化を行う。「富岳」始動後すぐに、プロダクトランを開始する。具体的には、変異体抗原-野生型抗体数種、変異体抗原-変異体抗体数種の計算を行う。

（4）AI・データサイエンス・社会実装基盤

① 疾患ゲノム構造機能データベース（京大医・鎌田）

本研究は、京都大学大学院医学研究科で開発している日本人の疾患関連ゲノム情報（遺伝子多型・変異）を集積するデータベースMGeND（Medical Genomics Japan Variant Database）において、明確な疾患との関連が同定されていないゲノム情報を標的タンパク質の探索に活用することを目的としている。令和3年度には、MGeNDに登録されている疾患関連遺伝子を大規模なタンパク質ネットワークにマッピングし、グラフ深層学習の一種であるGraph convolutional networkにより別の立体構造情報を有する標的タンパク質の探索に挑戦する。このようにして得られた標的タンパク質の構造情報は、随時、他の研究チームに提供し、モデリングやシミュレーションの準備を進めてもらう。

② AI・シミュレーション融合（横浜市大・寺山）

（3）①低分子デザインと連携し、これまで開発してきた ChemTS 等の AI を用いた新規分子生成手法を用いてターゲットタンパクに対する分子設計を実施する。令和3年度は、「富岳」始動後すぐに、プロダクトランを開始する。具体的には、ChemTS を用いて数百万規模の化合物を発生させるとともに、キナーゼ-阻害剤ペアを対象としてベイズ最適化や木探索を用いた MD シミュレーションの効率化と手法検討を行う。

③ 創薬ビッグデータ統合システム（理研・本間）

神戸医療産業都市推進機構の分子シミュレーション GUI である K4 や京都大学と理研の AI 構築インターフェイス Knime-GCN に基づいて、計算時間のかかるシミュレーションや AI のハイパーパラメータ最適化について「富岳」と連携できるプラットフォームを構築する。令和3年度は、FMO 自動計算プロトコルの有償ソフトウェアで実行する部分について無償ソフトウェア化することにより、「富岳」を使った AI 用の FMO データセット構築を効率的に行うことで、シミュレーションデータに基づいた AI 構築を推進する。

（5）プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくための会議を適宜開催する。プロジェクト内の研究の進捗状況および成果の発表のためのワークショップ等を開催する。プロジェクトで得られた成果については学会発表等により、積極的に公表する。また、他のプロジェクトとの連携などにより、効率的・効果的な研究の推進を行う。

2-2. 実施内容（成果）

(1) 分子病態解析

① 動的構造機能解析

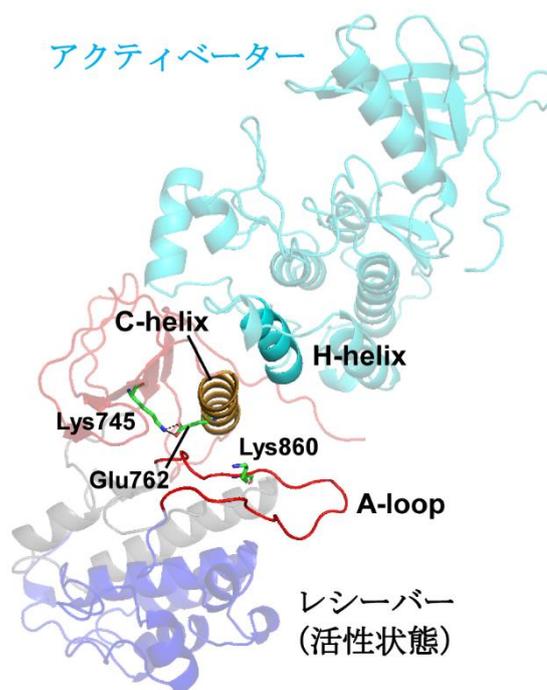
横浜市立大学生命医科学研究科 池口 満徳

令和3年度は、スーパーコンピュータ「富岳」にて、上皮成長因子受容体(EGFR)キナーゼドメインを対象とした分子動力学(MD)計算の本格実施を開始した。具体的には、EGFR キナーゼのダイマー野生型についての構造経路探索 MD (STRING 法)、経路上の大規模 MD 計算、マルコフ状態遷移モデル(MSM)の構築まで完了させた。また、EGFR キナーゼダイマーの変異体 90 種類について、活性化に関わる準安定または安定な三つの状態を初期構造として、それぞれ長さ 400 ns (変異体 1 種類あたり計 1.2 μ s) の MD 計算を完了させた。更に、これら変異体の MD トラジェクトリと MSM 解析に用いた野生型の MD トラジェクトリを、機械学習を用いて比較、解析することで、変異導入による活性化過程への影響を推定する手法を精密化した。これら研究内容および成果についての詳細を以下に記載する。

(i) MSM を用いた EGFR キナーゼダイマーの活性化ダイナミクスの研究

EGFR の活性化過程では、細胞内のキナーゼドメインがアシンメトリックダイマーを形成し、レシーバー側のキナーゼが活性化することが実験的に知られている。図(1)-1 では、活性状態の EGFR キナーゼダイマーの結晶構造を示している。結晶構造を多数解析した先行研究から、レシーバー側のキナーゼが活性化する際には activation loop (A-loop)と C-helix という部位の構造・配置が特に変化することが判明している。また、不活性状態では Glu762-Lys860 間で塩橋が形成されるのに対して、活性状態では Lys745-Glu762 間の塩橋に切り替わることも知られている。ダイマー化が関与する EGFR キナーゼの活性化過程は、活性状態に至る構造変化経路が複数想定されるため、通常 MD では詳細な解析が困難である。そこで、構造変化経路の探索 MD と、MSM による状態間遷移の解析を組み合わせ、その活性化ダイナミクスを調べる。

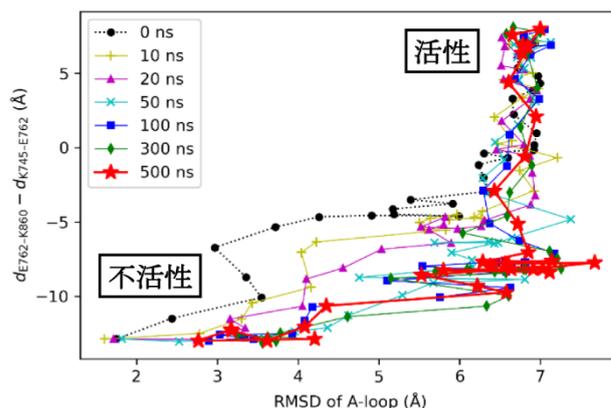
まず、Targeted MD (TMD)と STRING 法を用いて、EGFR キナーゼ活性化における構造変化の最小自由エネルギー経路を取得する。この TMD では、活性状態のダイマー結晶構造を始状態、不活性モノマーの結晶構造を基に作成した不活性ダイマー構造を終状態として、拘束力を掛けた MD を実施し、これら二状態を繋ぐ構造変化経路を得た。TMD から得られた



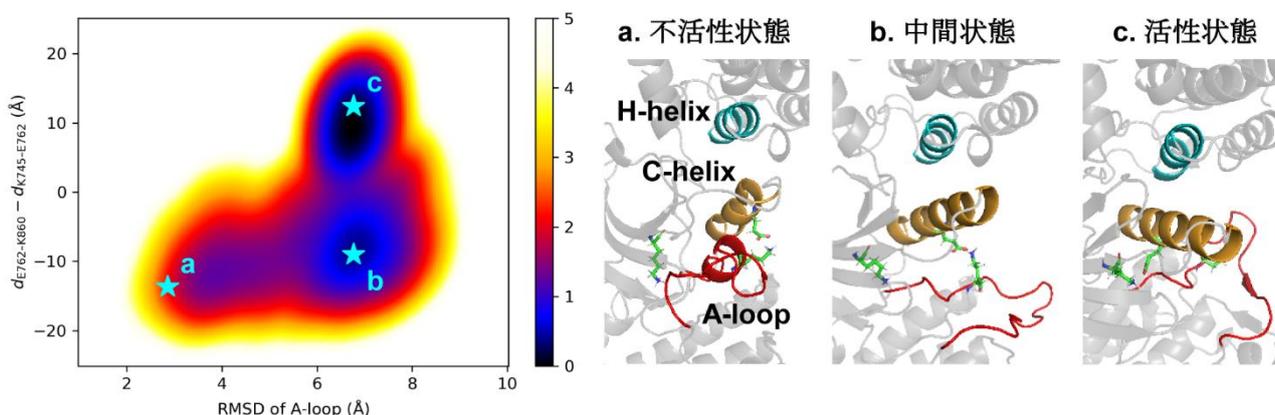
図(1)-1: 活性状態の EGFR キナーゼダイマーの構造。活性化で構造・配置が特に変化する部位を強調している。アクティベーター側は水色で表示。

構造変化経路は自由エネルギーの観点で不安定なため、これを STRING 法によって緩和させて最小自由エネルギー経路を取得する。この STRING 法では、TMD で得た構造変化経路を 32 個のイメージに分割し、それぞれを 500 ns の MD で自由エネルギー安定な構造へと緩和させた。この時、活性化過程で大きく変化する（重要そうな）原子間距離を 22 箇所選定することで、これら原子間距離の観点で等間隔になるように経路を 32 個のイメージに分割し、更に、緩和後も等間隔となるように STRING 法ではこれら原子間距離に拘束を加えた。図(1)-2 は、STRING 法の 500 ns の MD によって、TMD から得た経路（破線）が最小自由エネルギー経路（赤線）へと収束していく様子を示した結果である。この図から、TMD から得た不安定な経路では A-loop の構造変化（X 軸正方向への遷移）と塩橋の切り替え（Y 軸正方向への遷移）が同時に起きるのに対して、最小自由エネルギー経路では A-loop の構造変化が完了してから塩橋が切り替わることが分かった。このような EGFR キナーゼ活性化における構造変化の順序は、他のキナーゼの先行研究で報告されているものとも一致する。前述した MD 計算は、MD 計算ソフト GENESIS を用いて実施した。

次に、MSM 解析に用いる MD トラジェクトリを用意するために、STRING 法から得た最小自由エネルギー経路上の構造イメージ 32 個を初期構造とした大規模 MD 計算を実施した。この計算では、MD 計算ソフト GENESIS を用いて、32 個の各構造について長さ 420 ns の通常 MD を 10 回ずつ実施し、計 134.4 μ s のトラジェクトリを得た。このトラジェクトリ群からマイクロ状態 2,000 個の MSM を構築し、各マイクロ状態について自由エネルギーを計算した結果、図(1)-3 の自由エネルギー平面が得られた。この図から、不活性状態と活性状態の間に準安定な中間状態が存在することが分かった。この中間状態は、A-loop の



図(1)-2: STRING 法による構造変化経路の収束の様子。X 軸は不活性状態を基準にした A-loop の平均二乗偏差(RMSD)。Y 軸は活性化で切り替わる塩橋を形成する残基間距離の差。活性状態では、Y 軸の数値は正になる。



図(1)-3: MSM 解析から得た自由エネルギー平面。X 軸と Y 軸は、図(1)-2 のものと一致する。図右側の a, b, c は、自由エネルギー平面上に示した三点の構造を示しており、それぞれ不活性・中間・活性状態の三状態に対応している。

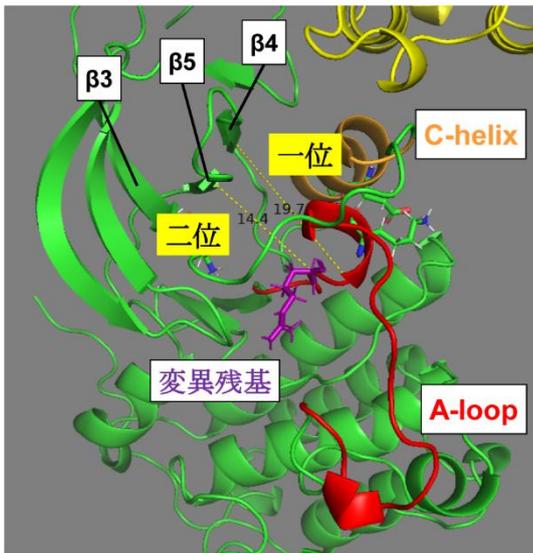
構造は不活性状態から大きく変化した活性状態に近い構造であるのに対して、塩橋は不活性状態と同じ Glu762-Lys860 間で形成されている。他のキナーゼの先行研究においても、同様の特徴を持つ中間状態の存在が報告されていることから、この MSM 解析の結果は妥当と考えられる。以上、EGFR キナーゼダイマーの活性化過程の MSM を構築することで、令和 4 年度における更なる解析（レシーバーキナーゼの構造変化とダイマー形成との関係の解析）に向けた準備を完了させた。

(ii) EGFR キナーゼ変異体の MD 計算

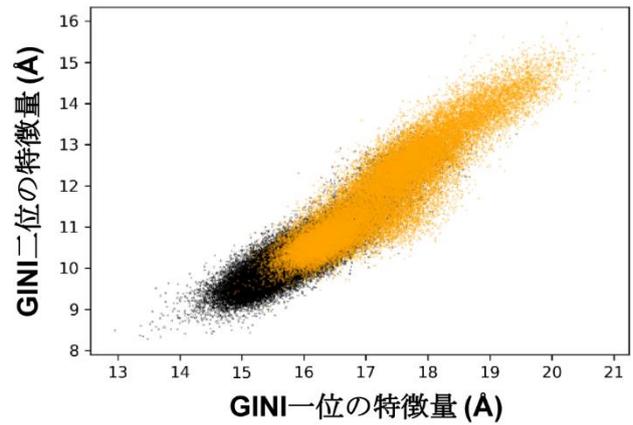
臨床では現在までに 100 種類を超える EGFR キナーゼドメインの変異体を確認されており、それらの中には、立体構造からだけでは理解が困難な、意義不明変異も含まれている。これらのうち 90 種類の変異体について、EGFR キナーゼのダイマー構造に変異を導入して MD 計算を実施した。MD の初期構造として、(i)の MSM を用いた研究で取得した活性化過程の最小自由エネルギー経路上の不活性・中間・活性状態に該当する三つの構造に変異を導入した。これら三つの初期構造について、それぞれ 400 ns の MD を実施し、変異体 1 種類あたり計 1.2 μ s のトラジェクトリを取得した。また、変異体の MD トラジェクトリから、各変異が EGFR キナーゼの活性化に及ぼす影響を推定する手法を精密化させるために、発癌性とされる L858R 変異をモデルケースとして詳細に解析した。そのために、L858R 変異については、三つの初期構造に対して 400 ns の MD を 10 回ずつ実施した。

L858R 変異は、キナーゼドメインの A-loop の不活性構造を不安定化させ、異常活性を引き起こすと考えられている。この変異が活性化過程に及ぼす影響を推定する手法として、変異体の MD トラジェクトリと、変異体の MD と同じ初期構造の野生型のトラジェクトリ((i)の MSM 解析に用いたもの)を GINI importance によって解析した。この解析は、決定木を用いた機械学習アルゴリズムによって、二種類のトラジェクトリ間の違いを見出すことができる。具体的には、特定残基の C α 原子間距離や二面角などの特徴量を説明変数とした決定木をランダムに生成し、野生型と変異体の MD トラジェクトリを合わせた構造群を二つのグループに分けるというプロセスを複数回実行させる（ランダムフォレスト）。この時、より正確に野生型と変異体でグループ分けできた特徴量、すなわち、二種類のトラジェクトリの違いが特に反映される特徴量を GINI importance で順位付けて選出する。図(1)-4 では、不活性状態と中間状態を初期構造とした野生型および変異体の MD トラジェクトリについて、C-helix と A-loop 周辺の C α 原子間距離を特徴量とした解析結果を示している。図(1)-4a, c では、GINI importance が一位、二位となった C α 原子間距離の箇所を示しており、A-loop の変異残基周辺の振舞いに違いが見出されていることが分かる。図(1)-4b, d では、GINI importance 一位、二位となった C α 原子間距離の平面に、野生型（黒）および変異体（橙）の MD トラジェクトリ中の構造をプロットしている。これらから、変異体の MD トラジェクトリでは、野生型と比べて A-loop の変異残基が β 3, β 4, β 5 から離れて活性状態の構造へと向かう傾向が強いことが分かった。一方で、活性状態を初期構造とした MD トラジェクトリについて同様の解析を実施したところ、図(1)-4 と同じ傾向を示す結果は得られなかった。従って、EGFR キナーゼ活性化に関わる三つの状態を MD の初期構造とすることで、変異が活性化過程に及ぼす影響を効率的に推定できることが分かり、GINI importance による解析手法を精密化できた。以上、EGFR キナーゼの変異体 90 種類の MD 計算、および、GINI importance によるトラジェクトリ解析手法の精密化を実施し、令和 4 年度における変異体 200 種類の影響推定に向けた準備を完了させた。

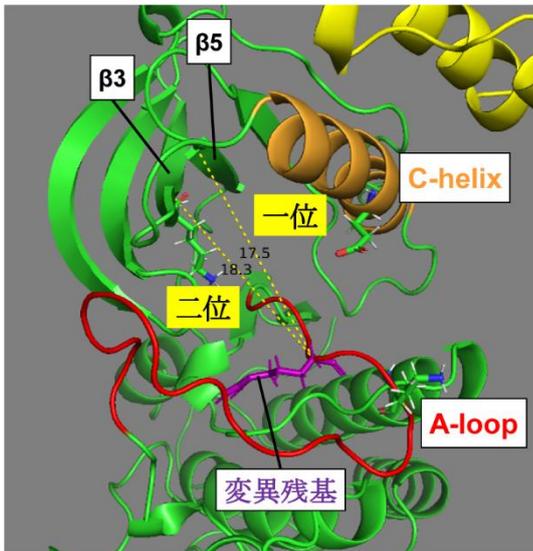
a. MD初期構造が不活性状態の場合



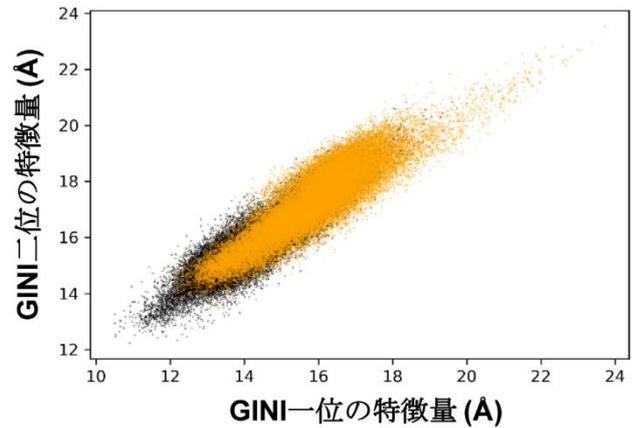
b. MD初期構造が不活性状態の場合



c. MD初期構造が中間状態の場合



d. MD初期構造が中間状態の場合



図(1)-4: 初期構造を不活性状態(a, b)または中間状態(c, d)とした野生型および L858R 変異体 MD トラジェクトリを GINI importance によって解析した結果。a, c: GINI 一位および二位となった C α 原子間距離を図示 (黄色の破線)。変異残基は紫色、アクティベーター側は黄色で表示。b, d: 野生型 (黒) と変異体 (橙) の MD トラジェクトリの 200 ps 毎の構造 (野生型と変異体それぞれ計 40,000 個) を GINI 一位、二位の平面にプロット。

本課題では、ハイブリッド QM/MM 自由エネルギー法である QM/MM RWFE-SCF 法を適用し、キナーゼのリン酸化反応解析、及び共有結合型阻害剤の反応性に関する計算を行う。令和 3 年度は上皮成長因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ、及び SARS-CoV-2 メインプロテアーゼ (M^{pro}) に作用する共有結合型阻害剤の反応性に関する研究を行った。共有結合型阻害剤は、標的タンパク質と強い共有結合を形成することにより、強力な持続的な薬効が期待される。しかし、その共有結合形成の化学反応は電子状態変化を含む複雑な過程であり、従来のドッキングや分子動力学 (MD) シミュレーションの適用は困難である。そこで QM/MM RWFE-SCF 法を用いて、共有結合形成過程を含む薬剤分子結合を解析する手法を開発することにより、その高い薬効の分子メカニズムの解明を目指す。特に、QM/MM RWFE-SCF 法は、薬剤分子結合によるタンパク質の構造変化を長時間 MD シミュレーションで考慮しながら、共有結合エネルギーの直接的な計算が可能であるため、非共有結合に対するタンパク質および基質分子の構造変化による結合エネルギー変化も同時に考慮することが可能である。従って、異なる共有結合部位を有する薬剤分子間の比較も可能となる。

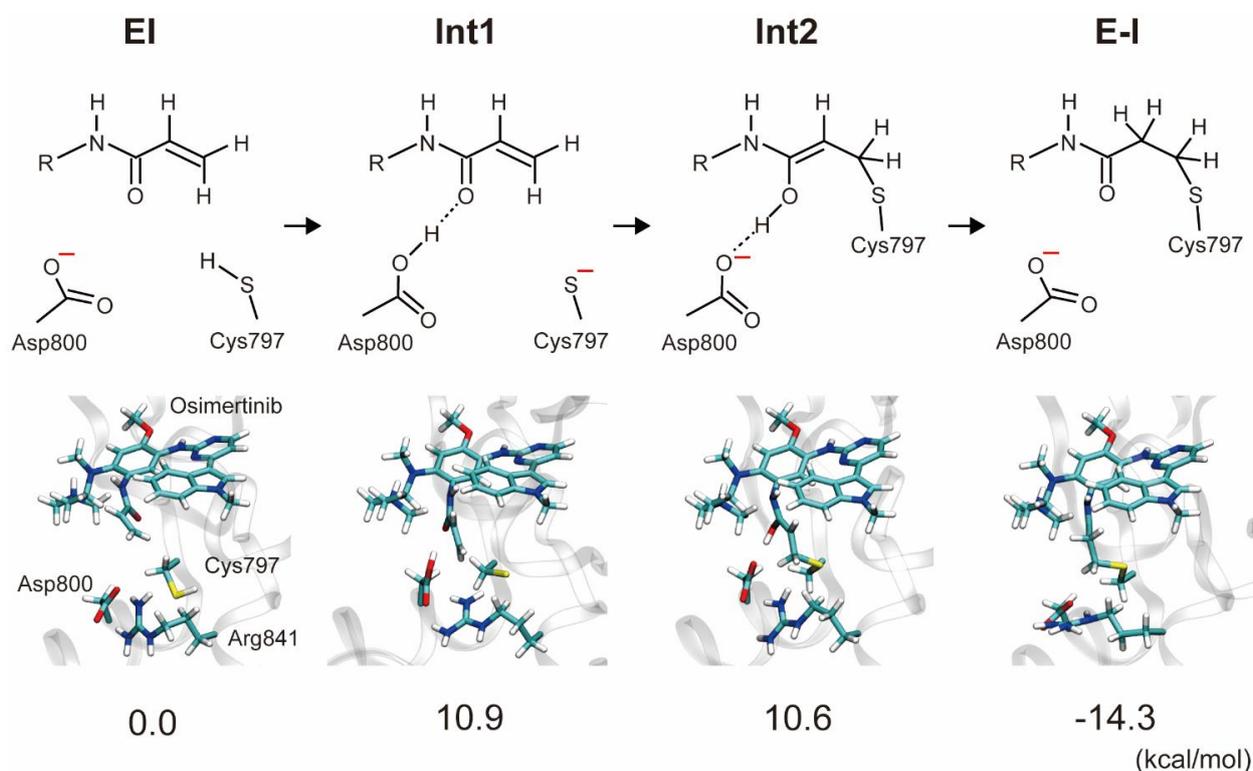
EGFR チロシンキナーゼと osimertinib の結合 EGFR はがん薬物療法の標的タンパク質であり、そのチロシンキナーゼに対する様々な阻害剤分子が開発されてきた。その中でも、EGFR チロシンキナーゼの活性部位ポケット近傍のシステイン (Cys797) 側鎖とマイケル付加反応で共有結合を形成する共有結合型阻害剤が高い薬効を示している。本研究では、代表的な共有結合型阻害剤である osimertinib の共有結合形成過程を解析した。

分子シミュレーション系は、osimertinib が共有結合形成をせずにポケットに結合している L858R/T790M/C797S mutant の X 線結晶構造 (PDB ID: 6LUD) と本プログラムのメンバーである奥野グループの MD シミュレーションのスナップショットを基に作成した。タンパク質部分は Ala698-Asp984 の 287 残基を取り扱った。Osimertinib の分子力場は GAFF を使い、古典 MD トラジェクトリ計算用に GAMESS を用いて B3LYP/6-31G**/PCM (水) で ESP 電荷を決定した。薬剤分子が結合したタンパク質は周期境界水ボックスに配置した。全原子数は 93,844 である。QM/MM RWFE-SCF 自由エネルギー計算は、タンパク質環境の古典的分子力場 (MM) を用いた長時間 MD シミュレーション (1 サイクル 10 ns) と化学反応部位の非経験的 QM/MM 構造最適化計算のサイクルを繰り返すことにより、自由エネルギーを最適化する。QM/MM 計算は、GAMESS に本研究室で開発した QM/MM インターフェイスを組み込んだプログラムを用いた。QM 計算は、thio-Michael 付加反応に関する先行研究 (Smith, et al., *J. Chem. Theory Comput.* 2013, **9**, 11, 4860–4865) が推奨する ω B97X-D/6-31G** 法を用いて行った。また MM 領域の MD 計算は Amber16 プログラムパッケージを用いて行った。

QM/MM 計算における適切な QM 系の設定は非常に重要である。周辺の側鎖などの反応基質分子と直接相互作用している分子は相互作用計算精度の向上のため、QM 領域に入れるのが望ましい。一方で、QM/MM RWFE-SCF 法では、QM 領域内の分子の運動が抑えられてしまうため、反応過程において大きな構造変化をする側鎖の取り扱いには注意をする必要がある。そこで、まず osimertinib が共有結合を形成せずにポケットに結合している系 (EI) と、Cys797 と共有結合をしている系 (E-I) の両者について、

それぞれ 100 ns の予備的古典的 MD 計算を行った。その結果、結晶構造では結合部位に存在しなかった Arg841 側鎖が、水中のシミュレーションでは大きく構造変化し、Cys797 からプロトンを引き抜くと考えられる Asp800 と塩橋相互作用を形成することが分かった。このような塩橋相互作用を与える周辺側鎖は反応活性に大きく関わると考えられる。そこで、反応にかかわる側鎖の分子配置を適切にモデリングするために、各反応ステップにおいて QM 領域を徐々に大きくしていくことにより、周辺の側鎖の分子配置をモデリングした。用いた QM 領域系は、osimertinib + Cys797 (small 系 : 776 基底関数 (BF))、osimertinib + Cys797 + Asp800 (medium 系 : 848 BF)、および osimertinib + Cys797 + Asp800 + Arg841 (large 系 : 985 BF) である。

図(1)-5 に反応スキームと各反応ステップの自由エネルギー最適化構造を示す。この検討しているマイケル付加反応経路においては、まず、EI 状態から近傍の Asp800 が Cys797 のプロトンを引き抜き中間状態 Int1 が生成する。次に、Cys797 が osimertinib のマイケル受容基に求核攻撃をすることにより、共有結合形成したエノール型中間状態 Int2 が生成する。最後にエノール-ケト転換のプロトン移動により、最終付加体 E-I が生成する。自由エネルギー最適化計算においては、EI 状態に対して 1.86 μ s、Int1 に対して 640 ns、Int2 に対して 830 ns、および E-I に対して 1.07 μ s の MD 計算を要した。Int1 および Int2 中間状態においてはプロトンを引き抜いた Asp800 が osimertinib のマイケル受容基のカルボニル基に近づき強い水素結合を形成している。また、Int2 においては、マイケル受容基における電子共役が弱まるため osimertinib のアミド基の窒素原子が sp^3 的に歪み、マイケル受容基を Cys797 方向に向けている。このような特徴は、分子力場のみの MD 計算や短時間の QM/MM 計算では捉えることが出来ず、本研究で使用した QM/MM RWFE-SCF 法による高精度の QM 計算と長時間 MD シミュレーションの組み合わせにより



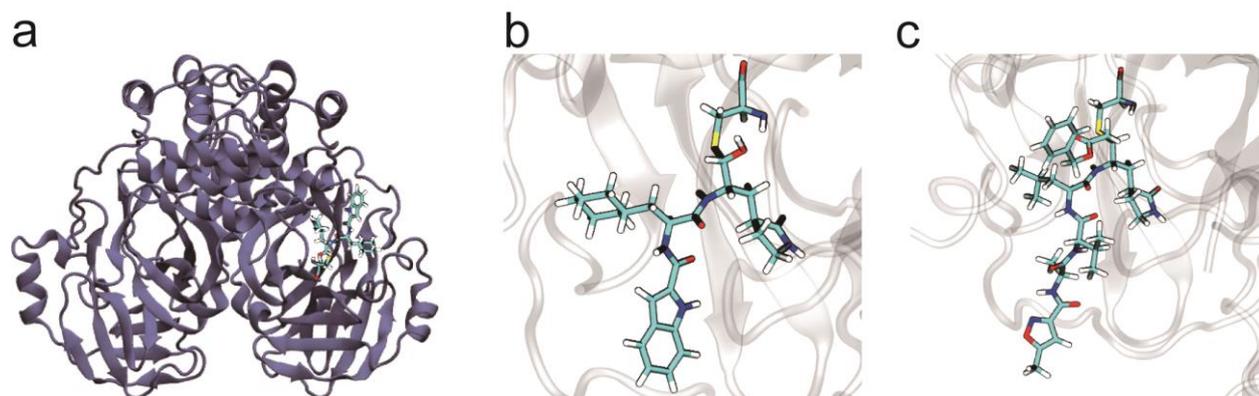
図(1)-5 EGFR における osimertinib の共有結合形成反応の反応スキーム (上段)、各反応ステップの自由エネルギー最適化構造 (中段)、および短時間の線形応答近似による自由エネルギー変化 (下段)。

適切な中間状態のモデリングに成功している。

また、これらの反応ステップの自由エネルギー差を短時間の線形応答近似で概算した (図(1)-5)。その結果、マイケル付加反応による共有結合形成により大きな結合自由エネルギー (-14.3 kcal/mol) が得られており、共有結合型阻害剤の高い持続力の定量化に成功した。また、中間状態の自由エネルギーも比較的 low、効率的な付加反応を示唆している。一方、短時間の線形応答近似による概算は精度が低いため、現在、自由エネルギー摂動法による高精度な自由エネルギー計算を行っている。

SARS-CoV-2 M^{pro} 阻害剤の共有結合形成 SARS-CoV-2 M^{pro} は COVID-19 の標的となるタンパク質であり、様々な阻害剤が開発されている。興味深いことに、それらの多くの阻害剤は共有結合型阻害剤である。本研究では、共有結合部位が異なる 3 種類の薬剤分子の SARS-CoV-2 M^{pro} への共有結合過程を解析することにより、その分子機構を明らかにする。

本研究で用いた阻害剤は、共有結合部位としてカルボニル 1,2 付加体 (Dai et al., Science (2020))、マイケル付加体 (Jin et al., Nature (2020))、および Pfizer 社が開発したニトリル付加体 (nirmatrelvir, Owen et al., Science (2021)) を解析した。上記の EGFR に対する osimertinib 結合解析と同様の手法を用いて、EI および E-I 状態の自由エネルギー構造最適化を行った (図(1)-6)。カルボニル 1,2 付加体の EI および E-I 状態に対しては 2.92 μ s および 510 ns の MD シミュレーションによる構造最適化、マイケル付加体に対しては 980 ns および 960 ns のそれらを要した。ニトリル付加体に関しては、現在自由エネルギー最適化計算が進行中である。これらの共有結合による自由エネルギー差を短時間の線形応答近似で概算したところ、カルボニル 1,2 付加体に対しては -7.7 kcal/mol、マイケル付加体に対しては -22.1 kcal/mol であった。従って、マイケル付加体は非常に高い共有結合安定性を有していることが明らかになった。一方、IC₅₀ はマイケル付加体よりカルボニル 1,2 付加体の方が小さいと報告されており、薬効に関しては共有結合の安定性のみならず、EI 錯体の安定性や反応活性が重要となることが示唆される。



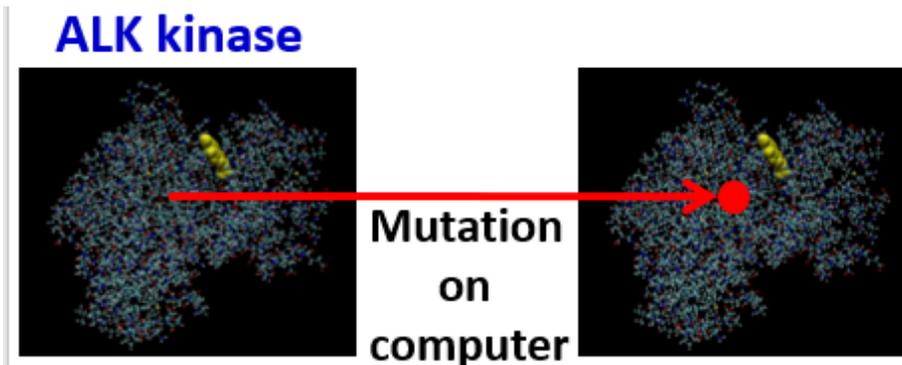
図(1)-6 SARS-CoV-2 M^{pro} の共有結合阻害剤。a SARS-CoV-2 M^{pro} の構造と阻害剤結合部位。b カルボニル 1,2 付加体の E-I 状態の自由エネルギー最適化構造。c マイケル付加体の E-I 状態の自由エネルギー最適化構造。

(2) 薬剤反応性推定

① 結合自由エネルギー計算

京都大学大学院医学研究科 奥野 恭史

令和3年度は、キナーゼ-阻害剤数十ペアを対象としたテストランによって計算条件の最終精密化を行った後、「富岳」を用いてプロダクトランを実施し、キナーゼ-阻害剤数百ペアを対象に結合自由エネルギー計算のための分子動力学シミュレーションを実施した。まず、EGFR, RET, ALKキナーゼ遺伝子を対象とし、MGeNDおよび公的データベースを利用して、臨床的意義が分かっていない変異を含む体細胞がん変異をそれぞれ435, 367, 297種類抽出した。次に、共結晶構造が既知の非共有結合型阻害剤として、EGFR阻害剤3種 (gefitinib, erlotinib), RET阻害剤2種 (selpercatinib, pralsetinib) ALK阻害剤3種 (crizotinib, alectinib, lorlatinib) を選定し、野生型キナーゼ-薬剤複合体の結晶構造に基づいて各キナーゼ変異体の立体構造をモデリングした (図(2)-1)。薬剤応答性が実験的に測定されている代表的な変異体を用いて、結合自由エネルギーを推定するMP-CAFEE法の計算条件を精密化した後、変異型キナーゼ-薬剤複合体の平衡化MDシミュレーション (50ns×5本/変異体) を実施した。更に、膨大な数のキナーゼ変異体に対して薬剤の結合自由エネルギーを算出することを可能にするため、MP-CAFEE法における非平衡計算の初期構造を情報科学的に選抜する方法論を開発・実装すると共に、アミノ酸変異による ΔG の変化を直接的に推定するMutationFEP法の自動化を行った。



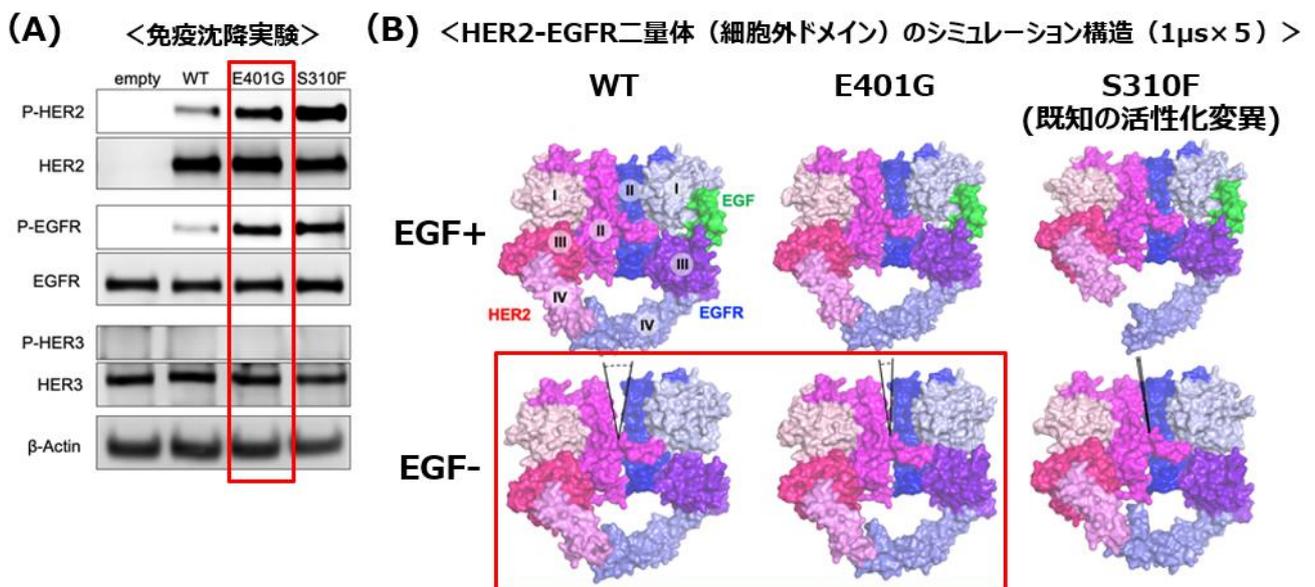
図(2)-1 キナーゼ変異体の立体構造モデリング。野生型-薬剤共結晶構造 (左) に基づいて、変異アミノ酸 (右) をコンピュータ上でモデリングした。薬剤、変異アミノ酸をそれぞれ黄色、赤色でハイライトした。

更に、上述のテーマと関連した研究成果として、HER2細胞外ドメイン上の変異によるがん化の分子メカニズムを推定したことに加えて、生体分子と医薬品の結合プロセスを加速する新しいシミュレーション技術を開発した。下記に詳細な研究内容 (i)-(ii) を記載する。

(i) HER2細胞外ドメイン上の変異によるがん化の分子メカニズムの推定

がん遺伝子パネル検査の結果をがん治療に役立てる上で、variants of unknown significance (VUS) の機能的意義の解明は重要な課題である。実臨床での原発不明がん症例に対して行った同検査で、新規VUSとして *ERBB2* (*HER2*) 遺伝子の細胞外ドメインコード領域に生じた E401G 変異を認め病原性が疑われたため、細胞生物学的実験と計算科学的手法を統合することで当該変異の機能解析を実施した。

変異型 HER2 を発現させた細胞株を用いた機能解析においては、既知の活性化変異として知られている S310F と同様に、E401G 変異は HER2 自身及び他の HER ファミリーである EGFR のリン酸化を促進したことから (図(2)-2A)、これらの変異を導入した細胞株では HER2-EGFR ヘテロダイマーあるいは HER2 ホモダイマーを介して増殖シグナルが活性化されている可能性が示唆された。そこで、細胞外ドメインの MD シミュレーションによって HER2-EGFR 及び HER2-HER2 ダイマーの構造安定性を評価した。その結果、E401G 及び S310F 変異体では、活性化リガンド EGF が結合していない条件においても EGFR-HER2 ヘテロダイマーが安定に維持されたことから (図(2)-2B)、リガンド非依存的な EGFR-HER2 ダイマー形成が活性上昇の原因と推察された。本研究によって推定した活性化メカニズムは、HER2 細胞外ドメインに生じた変異によるがん化を抑制する新薬の開発に役立つと期待される (Harada Y., et al., *Cellular Oncology*, 2022; 45(1): p121-134; 佐賀大学医学部 荒金博士との共同研究)。

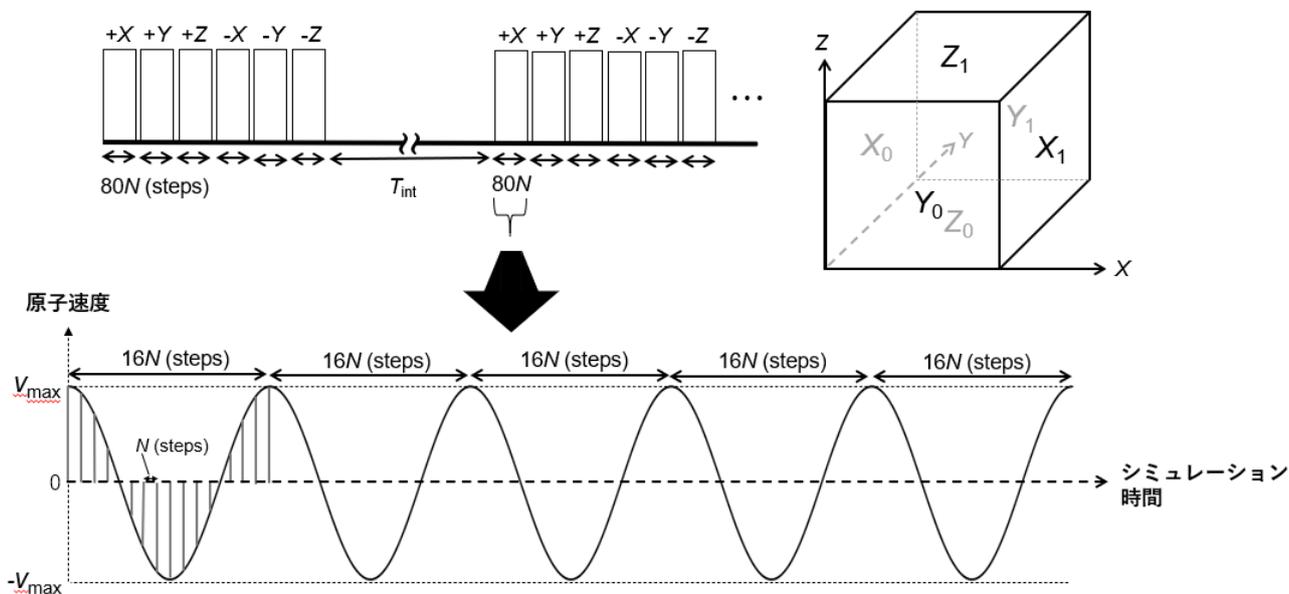


図(2)-2 (A) HER2野生型、E401G、及びS310F変異体を発現させたNIH3T3細胞において、HER2, HER3, EGFRのリン酸化レベルをイムノブロッティング法によって定量化した結果。(B) HER2(野生型)-EGFR, HER2(E401G)-EGFR, HER2(S310F)-EGFR二量体 (細胞外ドメイン) のシミュレーション構造。活性化リガンドEGF存在下あるいは非存在下の条件において実施したMDシミュレーション (1 μ s \times 5本) から算出した平均構造を表面モデルで表示した。

(ii) タンパク質と医薬品の結合過程を効率的に捉えるシミュレーション技術の開発

タンパク質の折り畳み過程、タンパク質と医薬品の結合、酵素反応といった生体分子プロセスの多くは、マイクロ秒よりも長いタイムスケールで起こっている。近年、生体分子の立体構造解析技術は目覚ましい進歩をとげているが、現在のところ、これらの動的プロセスを分子レベルで観測することは、実験科学技術・計算科学技術のどちらを用いても容易ではない。計算科学的アプローチの一種である分子動力学 (MD) シミュレーションは生体分子の動きを分子レベルで観測できるものの、通常の汎用大型コンピュータでは数マイクロ秒のシミュレーションが限界であるため、タイムスケールが比較的短い動的プロセスしか捉えることができなかった。今回、我々は、汎用コンピュータでも比較的遅い動的分子プロセスを捉えられるようにするために、分子サイズの波長をもつ超高周波超音波 (hypersound shock

waves) を利用して動的プロセスを加速する新しい MD シミュレーション手法を開発した。実験科学の分野においては、様々な種類の化学反応や分子集合体形成が超音波照射によって加速されることが分かっている。我々は、これらの実験事実をヒントにして、溶液に対して超音波を照射できるように MD シミュレーションプログラムを改良し(図(2)-3)、サイクリン依存性キナーゼ 2 (CDK2) と低分子阻害剤の結合を題材として、生体分子プロセスに対する超音波の影響を調べた。



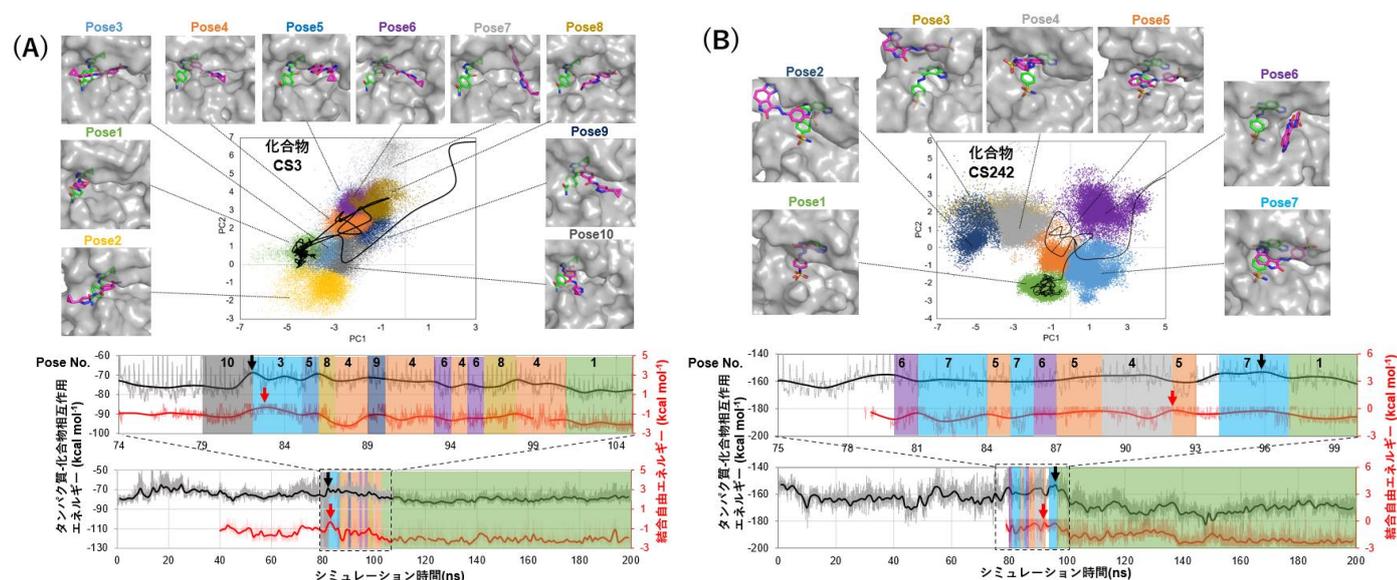
(図(2)-3) MD シミュレーションにおける超高周波超音波の照射方法

(上) タンパク質・化合物・水が入っているシミュレーションボックスを構成する各面 (X_0 , Y_0 , Z_0 , X_1 , Y_1 , Z_1) から、壁面の水分子に付加的な速度を与える形で、衝撃波を中心方向 (+ X, + Y, + Z, -X, -Y, -Z 方向) に向かって順次照射する。(下) 各衝撃波は、合計 80 の速度パルス (16×5 周期、垂直方向のバーで表示) で構成されている。

まず、CDK2 の ATP 競合阻害剤として知られている CS3 と CS242 を用いて、これらの化合物の標的部位である ATP ポケットへの結合を評価した。CDK2 と化合物がお互いに離れた状態を初期状態として、100 ns という短いシミュレーションを独立に複数回実施したところ、超音波を照射しない従来型の MD シミュレーションでは、化合物の結合イベントが観測される割合は 0.7%(CS3)、0.5%(CS242)に留まった。一方、超音波照射条件下のシミュレーションでは、12.4% (CS3) 及び 4.8% (CS242) まで上昇し、結合プロセスが 10-20 倍加速される結果となった。シミュレーションデータを詳しく解析したところ、超音波照射は、化合物とタンパク質ポケットとの衝突頻度を上昇させる効果があることに加えて、ポケットに入り込む際のエネルギー障壁 (活性化エネルギー) を乗り越えやすくしていることが分かった。その一方で、CDK2 タンパク質の立体構造は、シミュレーション中に壊れることなく安定して維持されていた。これらの結果は、溶媒 (水) の協調的分子運動を局所的に誘起する超音波照射が、タンパク質の立体構造に大きな影響を与えることなく、タンパク質と化合物の結合プロセスを加速することを示唆している。

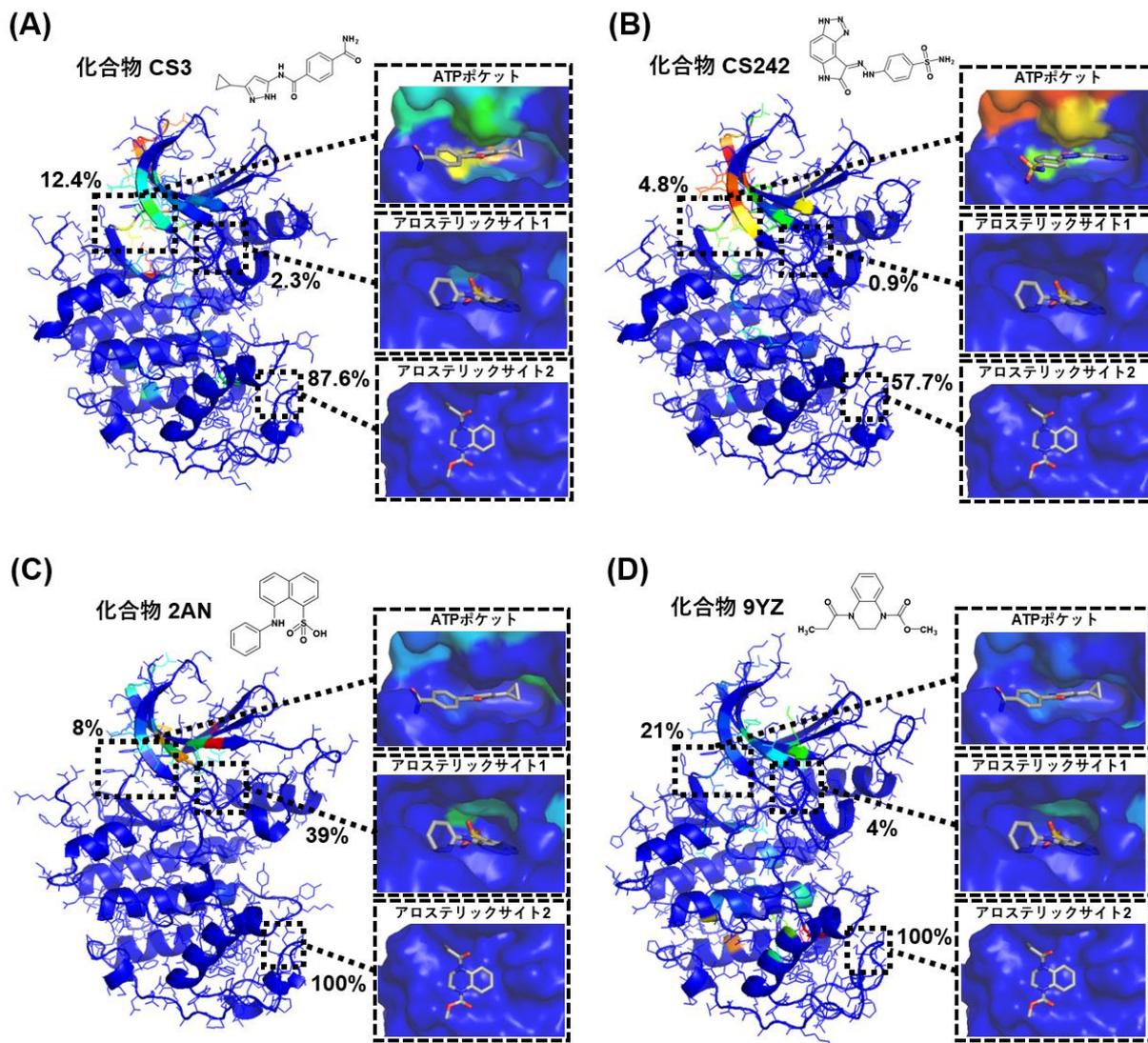
超音波照射条件下のシミュレーションによって捉えられた複数の化合物結合経路を詳細に分析したところ、化合物がタンパク質ポケットに入った後、様々な結合ポーズを経由し、最終的に安定な結合ポ一

ズにたどり着いていることが明らかになった (図(2)-4A、B)。また、結合経路によって、化合物がタンパク質ポケットに入り込む瞬間がエネルギー的に最も不安定 (遷移状態) になる場合と (図(2)-4A)、ポケットに入った後にポケットの中で化合物が向きを変える瞬間が遷移状態に位置づけられる場合とが見られた (図(2)-4B)。これまでは、医薬品はタンパク質ポケットに対して単一の経路で結合すると考えられてきたが、実際には多様な結合経路が存在する可能性が示された。



(図(2)-4) CDK2-化合物結合経路の微視像。(A、B) CDK2 の ATP ポケットに対する (A) CS3 および (B) CS242 の代表的な結合経路。(上) 超音波照射下のシミュレーションで捉えた全ての化合物結合ポーズを 10 色 (CS3)、7 色 (CS242) の点で示し、代表的な一つの結合経路を黒線で示した。各色の点に対応する結合ポーズを図の上部に示した (CDK2: 灰色の表面モデル、化合物: ピンク色のスティック)。ここで、pose1 が実験的に観測されている結合ポーズ (緑色のスティック) に最も近い。(下) 結合経路に沿った CDK2-化合物相互作用エネルギー (黒色) 及び結合自由エネルギー (赤色) の軌跡。結合経路上で最もエネルギーが高い遷移状態を矢印で示した。

更に、ATP ポケット以外の部位に対する結合特性を調べるために、ATP 阻害剤 (CS3, CS242) に加えて、ATP ポケットとは別の部位に結合することが分かっているアロステリック阻害剤 2AN と 9YZ の結合シミュレーションを実施した。その結果、4 種類の化合物全てにおいて、ATP ポケット/アロステリック部位への結合プロセスが超音波照射によって加速された。浅いポケット形状をしているアロステリック部位 2 はすべての化合物によって頻繁にアクセスされた事から (図(2)-5A-D)、この部位は非特異的な結合サイトであることを示唆している。対照的に、CS3 と CS242 は ATP ポケットに優先的に結合した一方で (図(2)-5A および B)、2AN はアロステリック部位 1 に優先的に結合しており (図(2)-5C)、CS3/CS242 と 2AN がそれぞれ ATP ポケットとアロステリック部位 1 に安定に結合するという共結晶構造データに矛盾しない結果となった。このように、複数の化合物の結合シミュレーションデータを統合することで、特異的・非特異的結合サイトの選別、化合物ごとの結合部位選択性の予測、およびタンパク質の機能活性をアロステリックに調節できる新たな薬剤結合部位の探索に役立つ可能性が示された。

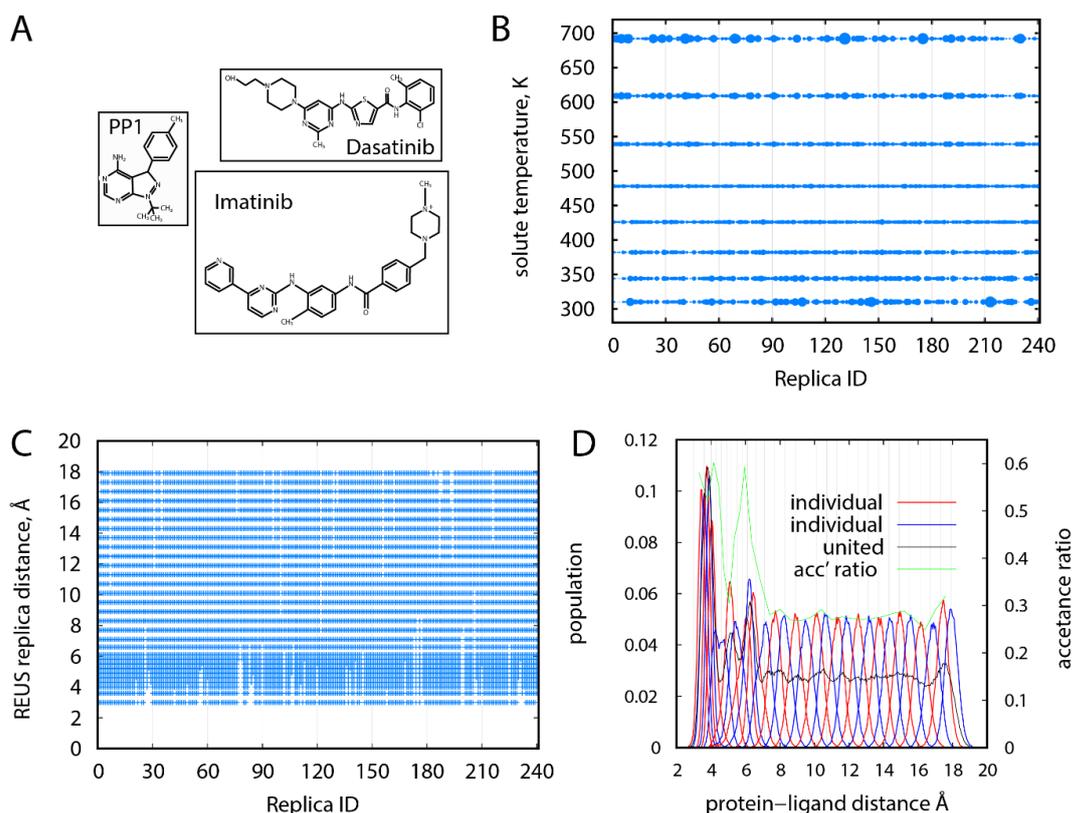


(図(2)-5) (A-D) 4種類の化合物 (A) CS3, (B) CS242, (C) 2AN, (D) 9YZの各々に対するCDK2表面上の結合部位。各化合物の化学構造を図の上部に示している。CDK2主鎖・側鎖をそれぞれリボンモデル・スティックモデルで表示し、結合頻度が高い/低いアミノ酸を暖色/冷色で着色した。ここで、4種類すべての化合物が高頻度にアクセスしたアミノ酸残基は非特異的サイトとして冷色で着色している。右側に、代表的な結合サイトの拡大図を表面モデルで表示し、実験的に結合が観測されている化合物 [CS3/CS242(ATPポケット)、2AN(アロステリックサイト1)、および9YZ(アロステリックサイト2)]の結合ポーズと共に示した。図中に記載されているパーセンテージは、超音波照射下のシミュレーションによって結合プロセスを捉えた割合を示す。

② 結合経路・ポーズ推定

理化学研究所生命機能科学研究センター 杉田 有治

令和 3 年度は、generalized Replica Exchange with Solute Tempering (gREST) 法と Replica-Exchange Umbrella Sampling (REUS) 法を二次元的に組み合わせた gREST/REUS 法を、阻害剤の大きさが異なる 3 種類の複合体系 (cSrc-PP1 (小)、cSrc-Dasatinib (中)、cAbl-Imatinib (大)) の結合予測に応用した (図(2)-6A)。各系に対して 8 個の溶質温度と 30 個のタンパク質-阻害剤間距離の組み合わせ (合計 $8 \times 30 = 240$ 個のレプリカ) を用い、阻害剤がタンパク質とコンタクトしてない距離から結合過程のサンプリングを行った。この規模の系では、gREST 法の溶質温度、REUS 法のレプリカの位置と力定数の選び方によって、サンプリング効率が大きく低下してしまうことがわかった。また、Imatinib のような柔軟性が高い阻害剤に対しては、タンパク質-阻害剤間距離の定義の調整も必要になることがわかった。本研究では、サンプリング効率の高いパラメータを決定するため、gREST/REUS 法のパラメータ調整プロトコルを構築した。

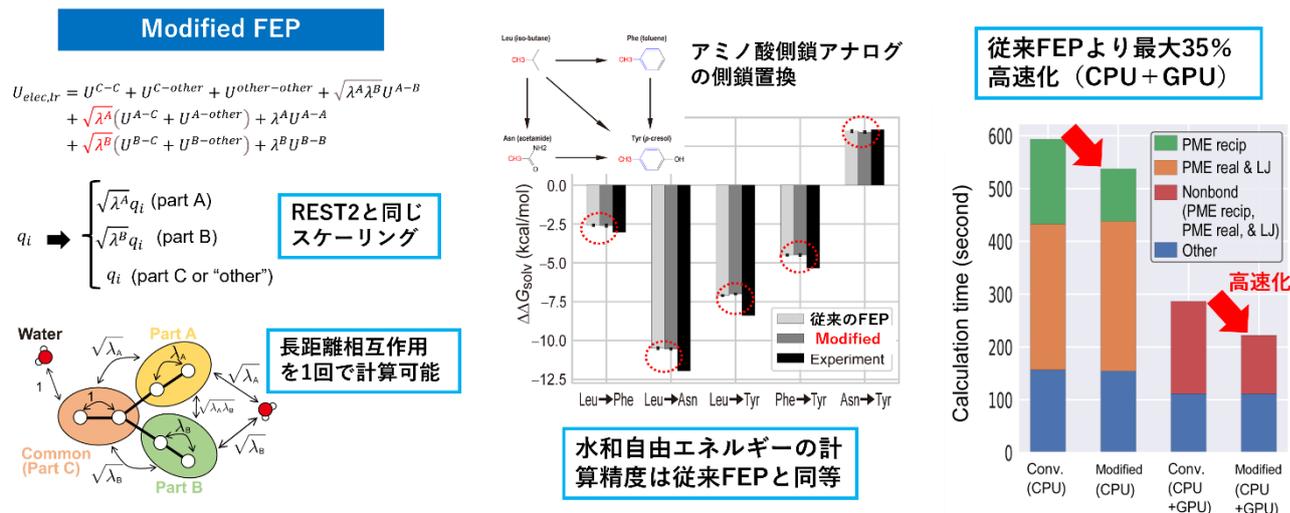


図(2)-6 阻害剤の化学構造 (A)、Src-PP1 のシミュレーションの各レプリカの溶質温度分布 (B)、各レプリカが訪れることができた距離パラメータ (C)、310K での各レプリカの距離分布とレプリカ交換率 (D)。

最初に、gREST 法の溶質温度の調整を MD 計算ソフトウェア「GENESIS」の Automatic Tuning 機能を用いて行った。タンパク質-阻害剤間の距離を「結合ポーズ」、「中間距離」、「遠距離」の 3 種類に固

定し、それぞれで gREST テストシミュレーションを実行し、目標交換率が満たされるまで溶質温度の調節を行った。最終温度範囲は 3 つの距離レプリカで得られた値の平均として決定した。次に、REUS 法のレプリカの位置と力定数の調整を行った。溶質温度を「低温」、「中温」、「高温」の 3 種類に固定し、それぞれの溶質温度で REUS テストシミュレーションを実行し、距離空間が均等にサンプリングされるまでパラメータの調整を行った。最後に、柔軟性が高い Imatinib に対して、タンパク質-阻害剤の重心距離の定義に使われるタンパク側と阻害剤側の原子を決めた。タンパク質側では、2-site, 3-site, 4-site, 5-site (いくつの残基を選ぶか) の候補を用意し、リガンド側では、5 つあるリングの組み合わせ (Ring3, Ring135, ring234, Ring all) を用意し、二次元の gREST/REUS テストシミュレーションを行い、結合ポーズを見つける確率が最も高い組み合わせを選んだ。最適パラメータを用いて各系に対して gREST/REUS サンプリング MD を行い (合計 660 μ 秒)、サンプリング効率を調べた。最適パラメータでは、レプリカの交換率が高く、gREST と REUS のそれぞれの次元で均等にサンプリングできることが確認できた (図(2)-7B-D)。パラメータ調整プロトコールの研究成果は国際誌に掲載された (A. Shinobu, S. Re, Y. Sugita, Front. Mol. Biosci.(2022))。さらにこのシミュレーションのトラジェクトリ解析を進めたところ、Dasatinib のような阻害剤はその形を変えながら結合経路に沿って移動する仕組みがあることがわかった (論文準備中)。

また、令和 3 年度は、重点課題 1 で GENESIS に実装した自由エネルギー摂動法(Free-Energy Perturbation: FEP)の長距離相互作用計算の高速化を行った。FEP 法はリガンドの結合親和性や水和自由エネルギーを高精度に予測できるため、in-silico 創薬において重要な手法となっている。特に、異なるリガンド同士の結合自由エネルギー差 (相対結合自由エネルギー) の予測は、より親和性の高い薬剤候補の探索に必須となっている。従来の FEP 法では、摂動部 (リガンドや溶質等) とそれ以外の原子との相互作用にスケーリングパラメータ (λ) をかけ、パラメータを変化させることで自由エネルギー差を計算する。しかし、このスケーリング法では、長距離静電相互作用計算で Particle Mesh Ewald 法を用いた場合、 λ が導入されたポテンシャルエネルギーの計算には高速フーリエ変換 (FFT) が通常の MD 計算 (conventional MD: cMD) と比べて 2 倍必要となってしまう。系の自由度を N とした場合、FFT の計算には $O(N \log N)$ の計算量が必要なため、系の大きさによって計算コストが増大してしまい、計算できる薬剤候補の個数や系の大きさに限界があった。計算コストを削減するため、本研究では部分電荷にスケーリングを導入した Modified FEP 法を提案した。このスケーリングは Replica-Exchange with Solute Tempering 2 (REST2)法で用いられているものと同等で、部分電荷に λ をかけることでポテンシャルエネルギーに自然に λ を導入することができる (図(2)-7 の左)。このスケーリングによって FFT の計算回数を抑えることで長距離静電相互作用の計算を高速化できる。また、部分電荷のスケーリングをするだけなので、プログラムの長距離静電相互作用計算部分を変更する必要がなく、実装が容易となる。Modified FEP 法を GENESIS に実装し、自由エネルギー計算の精度と計算速度を検証した。



図(2)-7 REST2 と同様のスケーリングを導入した Modified FEP 法 (左)、アミノ酸側鎖アナログの相対水和自由エネルギーの比較 (中央)、27,000 原子の系における計算時間の比較 (右)。

Modified FEP 法でアミノ酸側鎖アナログの相対水和自由エネルギーを計算し、従来の FEP 法と比較した (図(2)-7 の中央)。2つの FEP 法では λ の導入方法が異なるため、自由エネルギー計算経路が異なっているが、Modified FEP 法は従来の FEP 法の結果を再現することができた。Barnase-Barstar 複合体の Y29A 置換による結合自由エネルギー変化の予測でも、両 FEP 法の結果は一致した。

Modified FEP 法と従来の FEP 法の計算速度を比較した (図(2)-7 の右)。CPU のみを用いた場合、長距離静電相互作用の計算時間 (PME recip) が大きく減少しているが、計算全体の高速化は限定的 (10%程度) となった。一方、CPU と GPU のハイブリッド計算の場合、Nonbond 相互作用計算が高速化しており、全体として大きな高速化 (20~35%) となった。CPU/GPU ハイブリッド計算では、長距離相互作用計算を CPU に、短距離相互作用計算を GPU に割り当てるため、CPU での計算がボトルネックになりやすい。Modified FEP 法では CPU での FFT 計算の回数を抑えることで高速化できる。並列計算では系が大きくなるほど FFT がボトルネックとなるため、Modified FEP 法は大きな生体系 (膜タンパクや混雑系) で特に有効になる。現在、Modified FEP 法をスーパーコンピュータ「富岳」に向けて最適化しており、「富岳」を用いることで、これまで不可能であった大規模な系でも創薬応用計算が可能になると期待される。Modified FEP 法の研究成果は国際誌に掲載された (H. Oshima and Y. Sugita, J. Chem. Info. Modeling, in press (2022))。

令和 3 年度は、令和 2 年度に開発した gREST+FEP 法を用いて RET キナーゼの薬剤耐性の予測も行った。RET キナーゼは部分変異によって阻害剤の親和性が低下することが知られているが、ドッキングとホモロジーモデリングを用いた先行研究では実験結果をうまく再現できていなかった。阻害剤と RET キナーゼの複合体構造が最適ではない可能性があるため、本研究では、generalized Replica Exchange with Solute Tempering (gREST) 法で結合サイトとリガンドの構造揺らぎ・運動性を向上させることで最適な複合体構造を効率的に探索した。活性状態の RET キナーゼに結合する 4 種類の阻害剤 (Vandetanib, CEP701, Alectinib, Nintedanib) を用いた。共結晶構造が存在する Vandetanib では結晶構造が最安定構造として正しく得られ、CEP701, Alectinib, Nintedanib はドッキングポーズから少し横にずれた最安定な構造が得られた。FEP 法を用いて、得られた複合体構造のアミノ酸変異による自由エネルギー変化を求め、

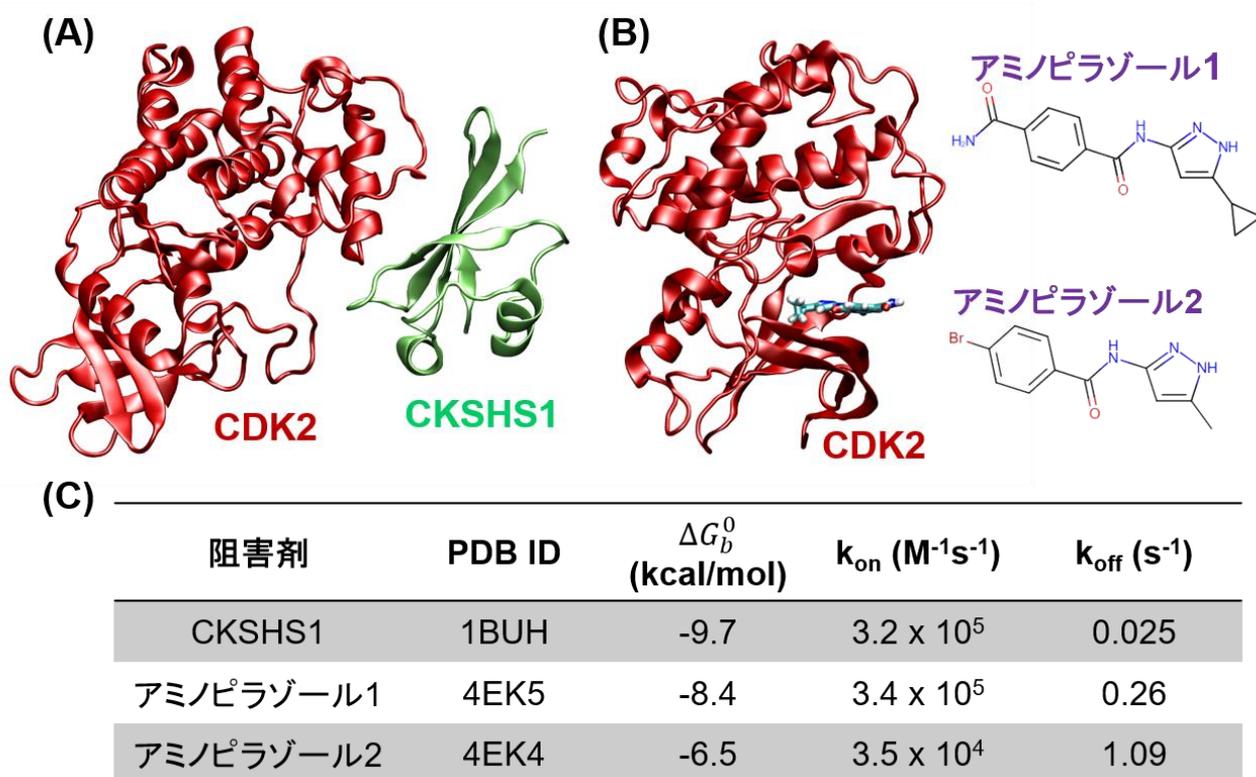
そこから相対結合自由エネルギーを高精度に予測した。MP-CAFEE 法を用いて絶対結合自由エネルギーを求めた先行研究と比較して、FEP 法では実験結果をよく再現できる傾向があることがわかった。今後は不活性状態に結合する阻害剤に対しても同様の計算を行い、薬剤耐性を効率的に予測するプロトコルの構築を目指す。また、本研究で扱っている阻害剤にはハロゲン原子を含むものがあるが、GENESIS はハロゲン原子用の力場パラメータに対応していない。阻害剤-RET キナーゼ間の相互作用が不正確になっている可能性があるため、GENESIS のハロゲン原子への対応を検討している。

特異性の高い阻害剤の開発には、阻害剤との結合だけでなく、基質タンパク質（ペプチド）の結合も理解する必要がある。令和 3 年度は、gREST 法を適用することにより、cSrc チロシンキナーゼと基質ペプチドの結合ポーズの特定を目指した。cSrc チロシンキナーゼに対して、これまで 2 つの結合ポーズが提案されてきた。1 つは cleft orientation、もう 1 つは C-lobe orientation と呼ばれており、これらの結合ポーズはセリン/スレオニンキナーゼやレセプター型のチロシンキナーゼで散見される。一方、最近になって、ディープラーニングを用いた構造予測法である AlphaFold2 が複合体の構造予測にも適用できるようになったが、それを用いたところ、cleft orientation と C-lobe orientation のちょうど中間に位置するような結合ポーズ(以下、AlphaFold2 orientation)を予測した。しかし、この結合ポーズの信頼性スコアはかなり低く、この予測をそのまま鵜呑みにすることはできない。本研究では、まず基質ペプチドとその周囲にある cSrc キナーゼの Activation loop を solute region として gREST シミュレーションを実行し、結合ポーズに関する構造サンプリングを行った。その結果、cleft orientation と AlphaFold2 orientation はよくサンプリングされるが、C-lobe orientation は、ほとんどサンプリングされなかった。これは C-lobe orientation が結合ポーズとして不適當であることを意味する。次に、サンプリングされた結合ポーズの構造安定性を調べるために、3 本の独立な 1 μ 秒の分子シミュレーションを行った。その結果、AlphaFold2 orientation は 1 μ 秒の時間スケールにわたって安定していたが、cleft orientation は不安定であることがわかった。また、AlphaFold2 orientation が最近の NMR 実験 (paramagnetic relaxation enhancement) の結果とコンシステントであることを確認した。これらの結果により、cSrc キナーゼと基質ペプチドの結合ポーズが AlphaFold2 orientation であると結論づけることができる。

③ 結合速度論解析

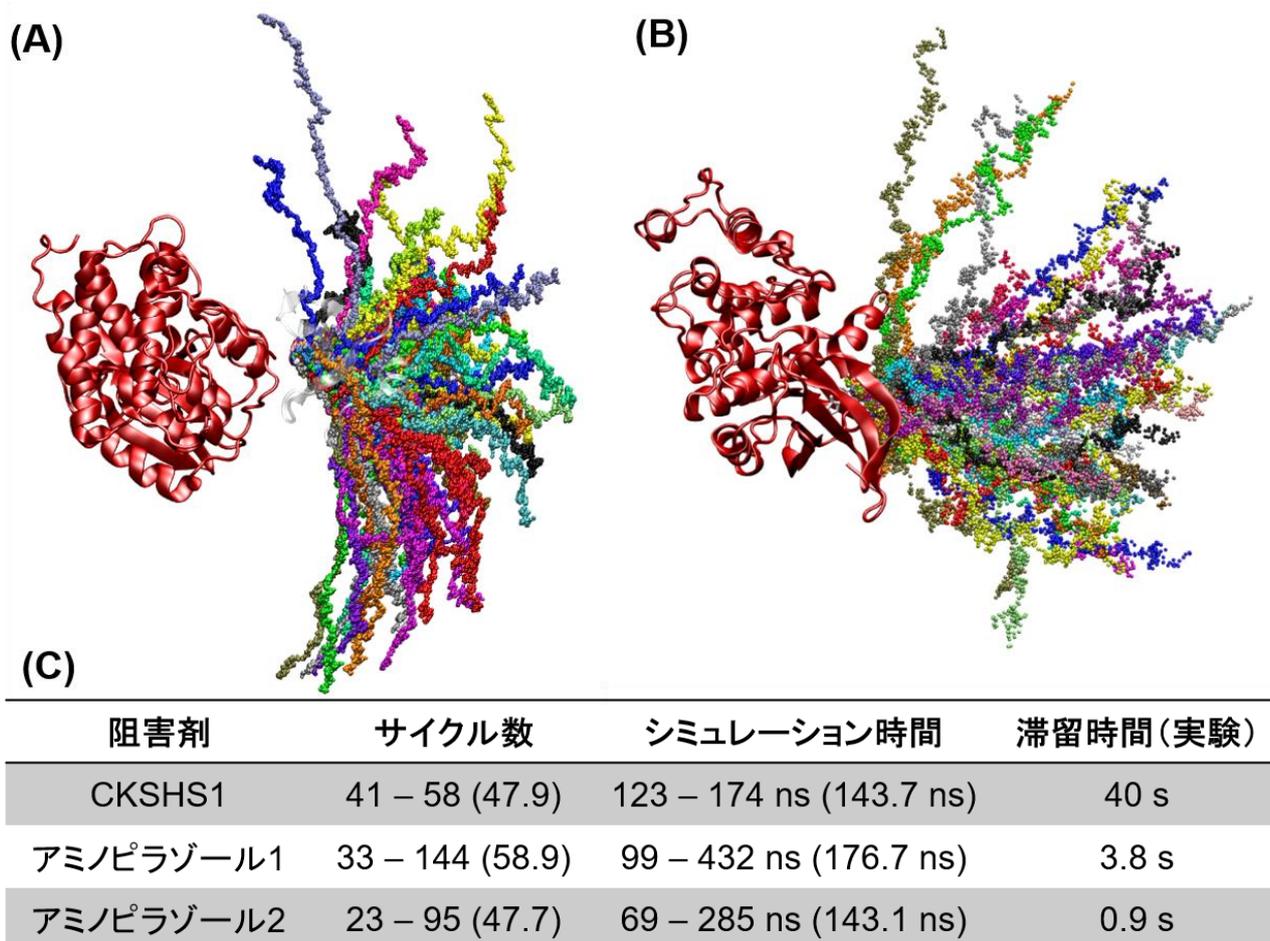
東京工業大学生命理工科学院 北尾 彰朗

令和3年度は、これまで開発してきた PaCS-MD/MSM 法を用い、まず令和2年度から開始したキナーゼタンパク質-阻害剤タンパク質の複合体である CDK2-CKSHS1 系を引き続き対象として追加の計算を行うことで結合親和性の計算の精密化を行った。また、新たなキナーゼ-阻害リガンド複合体として CDK2 と親和性の異なる 2 種類のアミノピラゾールとの複合体を対象として解離シミュレーションを行った。PaCS-MD 法は、①比較的短時間の分子動力学計算を同時並列で実行、②得られた構造からターゲットに近い構造を選択、③それらを初期構造として分子動力学計算を再度行う、というサイクルを繰り返す手法で、外力を与えることなしにタンパク質の構造変化やタンパク質複合体の結合・解離を誘起することができる。PaCS-MD 法の一つである Dissociation PaCS-MD (dPaCS-MD)による解離シミュレーションでは、上記②の「ターゲットに近い構造」として複合体の分子間距離が大きい構造を選択することにより、効率よく複合体の解離を観測できる。図(2)-8 (A)に示したキナーゼタンパク質である CDK2 と阻害タンパク質 CKSHS1 が形成する複合体に関しては、分子間距離として複合体界面を形成するアミノ酸残基の重心間距離を用いた。また、図(2)-8 (B)に示した CDK2 と阻害リガンドであるアミノピラゾールが形成する複合体に関しては、複合体界面を形成する CDK2 のアミノ酸残基の重心と阻害リガンド全体の重心間の距離を選択に用いて解離シミュレーションを行った。それぞれの複合体の標準結合自由エネルギー(ΔG_b^0)、結合速度定数(k_{on})、解離速度定数(k_{off})を図(2)-8 (C)に示した。



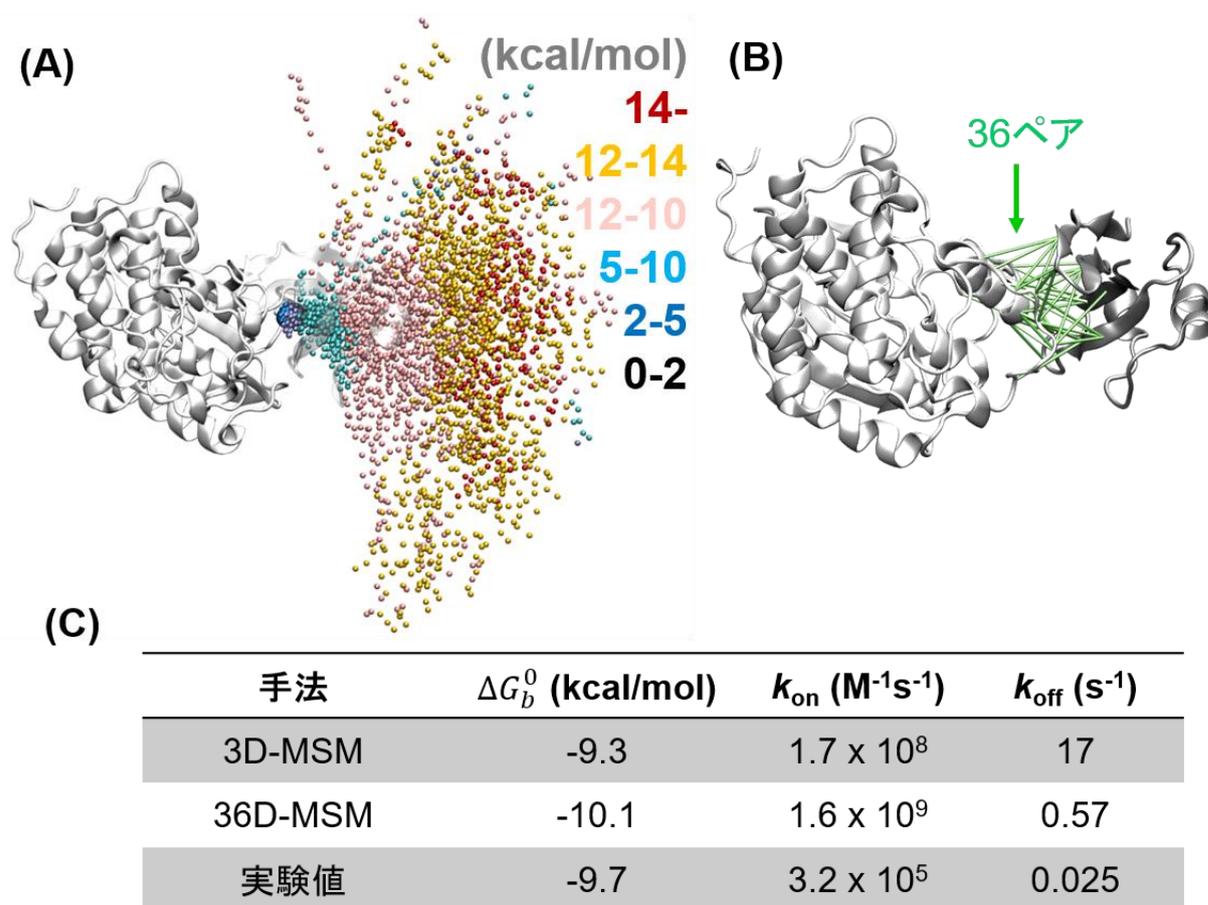
図(2)-8 (A)タンパク質-タンパク質複合体と (B)タンパク質-リガンド複合体の構造、
(C)各複合体結合自由エネルギーと速度定数

dPaCS-MD 法における、1 サイクルの MD を 100 ps、各サイクルで界面間距離が大きい構造を選択、界面間距離が 60 Å に到達するまで計算する条件で解離シミュレーションを実行した。図(2)-9 (A)に CDK2 –CKSHS1 複合体、図(2)-9 (B)に CDK2–アミノピラゾール 1 複合体の解離シミュレーションより得られたパスウェイを表示した。CKSHS1 は界面残基の重心をアミノピラゾール 1 はリガンド全体の重心を表している。それぞれのパスウェイを得るために必要なサイクル数は対象や試行ごとに異なり、図(2)-9 (C)に示したように平均して約 50 サイクル程度必要であった。図(2)-9 (C)に示した結果は同時実行する MD の数を 30 とした時の値であるため、1 回の解離に必要なシミュレーション時間は約 150 ns (100 ps x 50 サイクル x 30 同時実行) 程度である。解離速度定数から予測される結合状態の滞留時間が 0.9 – 40 秒であることを考えると非常に効率が良いことが分かる。結合のより強いアミノピラゾール 1 の方がアミノピラゾール 2 よりも 10 サイクル多く必要であったことから分かる通り、系に応じて必要なサイクル数はある程度の増大が予想されるが、必要なシミュレーション時間が滞留時間と比較して遥かに短いことから dPaCS-MD は様々なタンパク質複合体の解離シミュレーションにも有効であることが分かった。



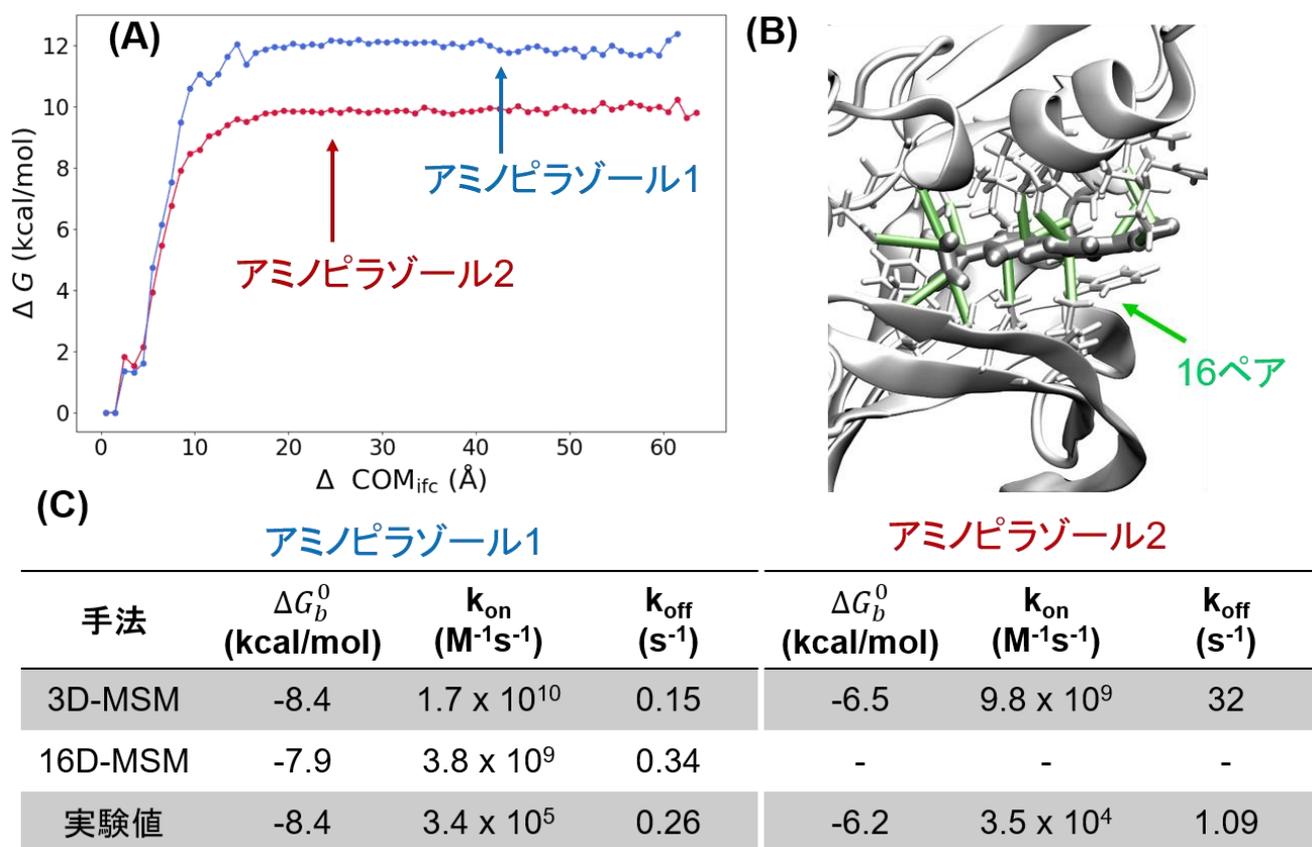
図(2)-9 (A) CDK2–CKSHS1 の解離経路 (B)CDK2–アミノピラゾール 1 の複合体解離経路 (C)解離に必要なサイクル数とシミュレーション時間 (括弧内の値は平均値)

CDK2-CKSHS1 複合体に関しては、令和2年度より計算を行っており、令和3年度は追加計算を行い速度定数評価の精密化を試みた。CDK2 の界面残基重心に対する CKSHS1 の界面残基重心の相対位置を反応座標として MSM 解析(3D-MSM)を行った結果、図(2)-10 (A)に示したようなエネルギー地形が得られた。界面距離が 30 Å 以上では 12-14 kcal/mol である程度一定しており、界面距離 30 Å 以上を非結合状態と定義して計算した ΔG_b^0 は実験値とよく一致した。2つの速度定数に関しては、実験値から大きく外れているが、界面間の相対位置を反応座標に用いているため、構造変化や相互作用などの詳細に対する分解能が十分でないことが原因として挙げられる。そこで界面の相互作用に着目し、ある程度構造変化も反映できる反応座標として界面を形成する残基ペアの距離を反応座標とした MSM 解析を行った。図(2)-10 (B)に示した 36 ペア間の距離を用いた(36D-MSM)。3D-MSM 同様に界面距離 30 Å 以上を非結合状態と定義し、 ΔG_b^0 及び速度定数評価を行った。3D-MSM と同様に ΔG_b^0 は実験値とよく一致し、特に解離速度定数に大きな改善が見られた。このようにタンパク質-タンパク質複合体の界面を形成する残基ペアの距離という反応座標を新たに導入することにより速度定数評価の改善に成功した。しかしながら、まだ実験値とは一致していないため、MSM解析を行う上でのクラスタリングにおけるクラスター数や構造変化により着目した反応座標の導入などを現在検証している。



図(2)-10 (A)3D-MSM より得られたエネルギー地形 (B)36D-MSM に用いる残基ペア (C)結合自由エネルギーと結合および解離速度定数

CDK2-アミノピラゾール複合体は令和3年度に新たに対象とした系である。阻害リガンドとして結合の強さの異なる二つのアミノピラゾールを対象としてPaCS-MDによる解離シミュレーションを行った。PaCS-MD法により得られたトラジェクトリに対して、CDK2の界面残基重心に対するアミノピラゾールの重心相対位置を反応座標としてMSM解析(3D-MSM)を行った結果、図(2)-11(A)に示したようにリガンドにより異なるエネルギー地形が得られた。いずれのリガンドに対しても ΔG_b^0 は実験値とよく一致し、リガンドによる結合の強さの違いをPaCS-MD/MSM法によりよく再現できることが分かった。一方、速度定数に関しては、アミノピラゾール1の解離速度定数を除き実験値から大きく外れていた。そこでCDK2-CKSHS1複合体と同様に界面におけるペアを定義した解析により改善がみられると考え、図(2)-11(B)に示したように16ペアの原子間距離を定義しMSM解析を行った。16ペアは、結合状態においてリガンドに接触している残基を抽出し、それぞれの残基とリガンド間の最近接原子ペアを選択し、そのペア間の距離を反応座標として用いた。図(2)-11(C)に示したように3D-MSMと比較して速度定数の改善に成功しており、特に解離速度定数は実験値と非常によく一致している。今後は更に最適な条件の検証、アミノピラゾール2に対しても同様の反応座標の導入、解析するリガンドの追加を検討している。



図(2)-11 (A)3D-MSMより得られたエネルギー地形 (B)原子間ペアの定義
(C)結合自由エネルギーと結合および解離速度定数

(3) 薬剤分子設計

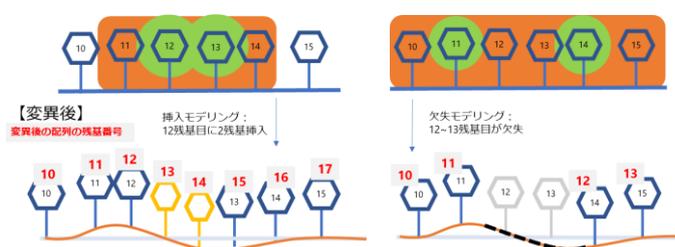
① 低分子デザイン

筑波大学医学医療系生命医科学域 広川 貴次

重点課題 1 で構築した、MD 計算と標的タンパク質モデリングおよびドッキング計算法を融合した SBDD 技術と ChemTS によるデノボデザインを可能にする「創薬ビッグデータ統合システム」を用いて、薬剤耐性キナーゼを回避する低分子デザインおよび希少疾患関連タンパク質を標的とした低分子探索とデザインを行う。令和 3 度は、①モデリング手法の改善と評価、②ClinVer 変異データベースに対する網羅的モデリングと評価、を実施した。

(i) モデリング手法の改善と評価

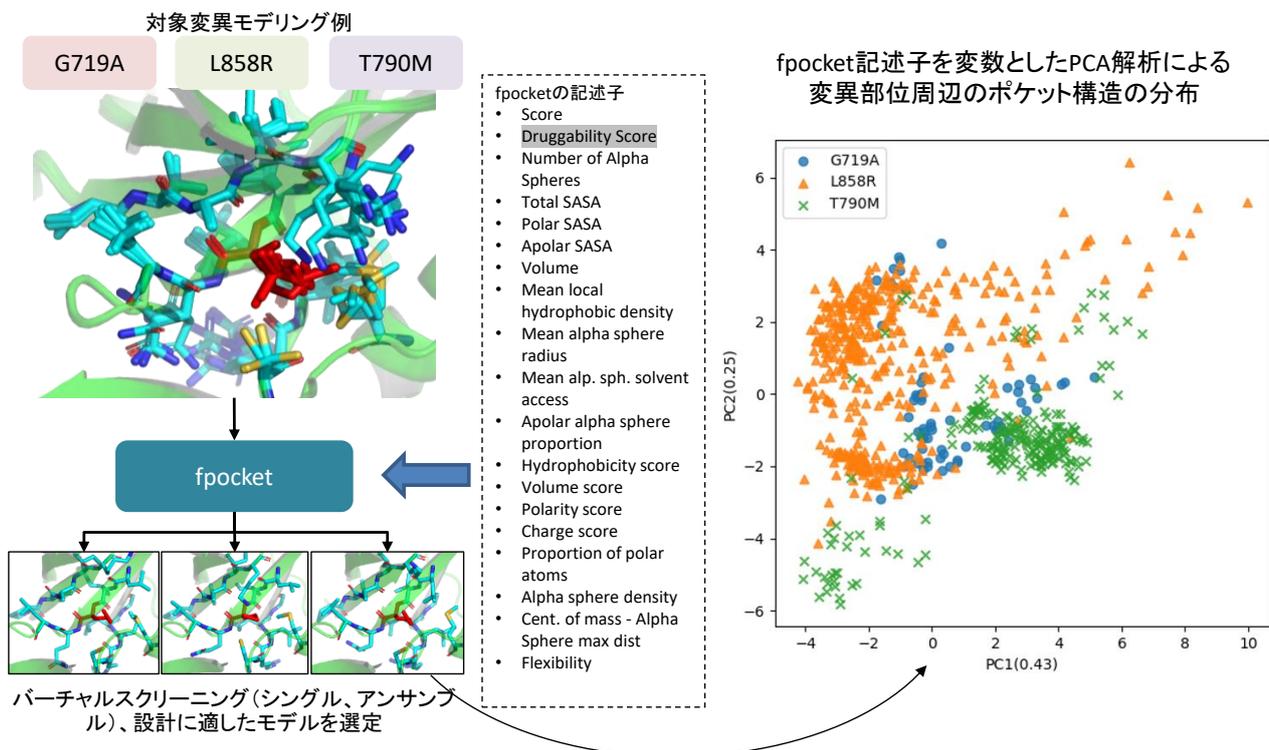
変異モデリングの対象には、点変異だけではなく、欠失や挿入が対象となる場合がある。今回実施した改善では、図(3)-1 に示すように欠失、挿入残基を挟み込む両端残基（変異前の構造を用いる）から周囲 4Å以内の残基についても最適な側鎖構造の探索と極小化計算を行う対象と定義した。これにより、欠失や挿入による周辺残基への歪が生じない最適化モデルが構築されることになる。



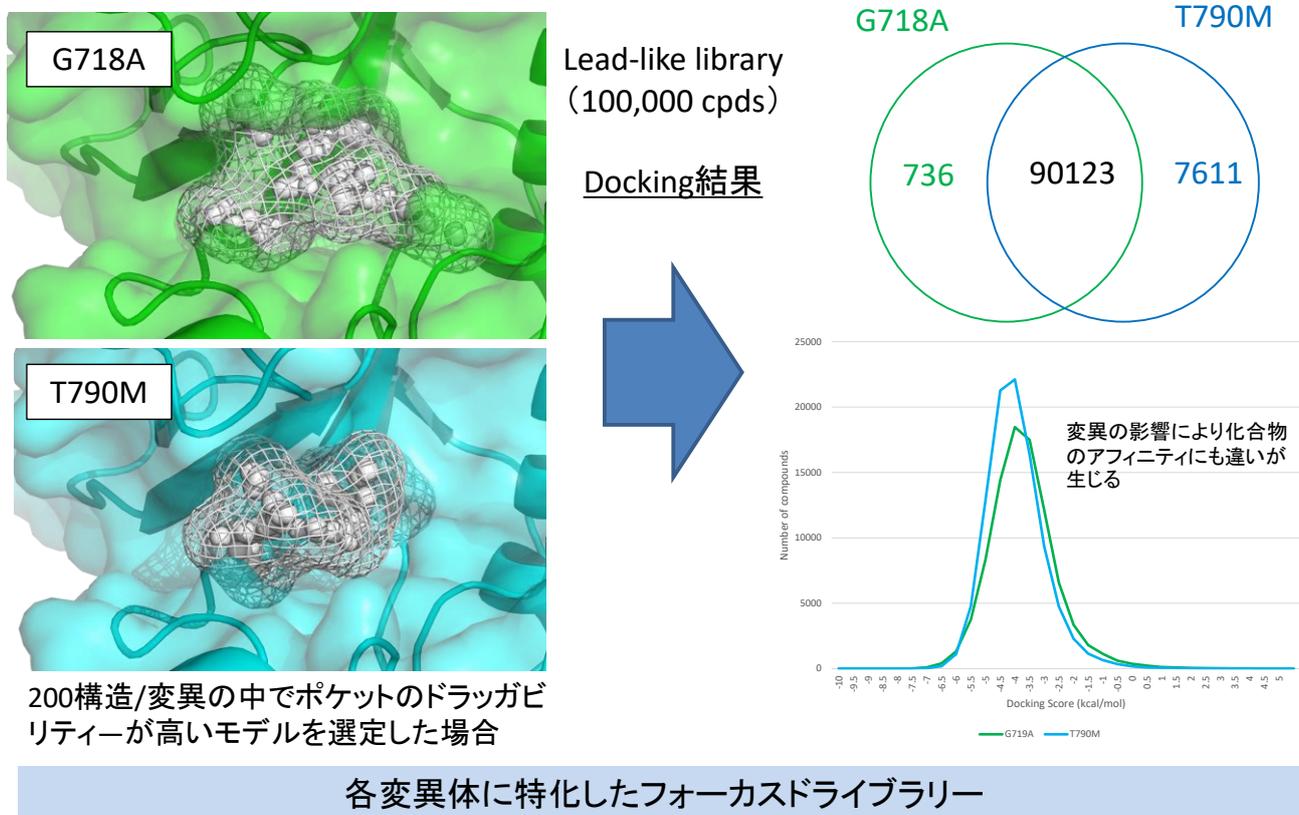
図(3)-1 欠失・挿入変異モデリングの導入

本課題では、モデリング構造は、変異モデル間のリガンド結合部位の比較や、化合物ライブラリーへのスクリーニングに用いられる。大規模なモデリングの実施に向けて、ベンチマークとして、G719A、L858R、T790M の 3 変異体モデリング構造に対し、リガンド結合部位（ATP 結合部位）の特性評価と化合物ライブラリースクリーニング結果の比較解析を行った。モデリング構造は、各変異に対し 200 構造を構築し、それぞれの構造に対し、リガンド結合部位を fpocket プログラムによりポケット内の物理化学的特性を 18 の記述子により表現した（図(3)-2 中央）。更にこれらの記述子を変数とした主成分分析によりポケット構造の性質を俯瞰した（図(3)-2 右）。その結果、3 つの変異体間で共通のポケット空間と同時に、各変異モデルに特異的な分布を有していることが明らかになった。今後、それぞれの変異体に有効な医薬品等と比較することで、ポケット構造の分布が類似する変異体間では同じ薬剤の適用可能性を予測できるのではと考察している。また回避ドラッグ設計のベンチマークのため、G718A と T790M の両モデルに共通の化合物ライブラリー（MOE Lead-like library 100,000 cpds）をドッキングし、両者でヒットした化合物の共通性を調べた。ドッキングにはシュレーディンガー社製の Glide SP モードを利用した（パラメータはデフォルト）。各変異体モデル構造 200 の中から、fpocket の Druggability Score の高い構造を鋳型とし、Alpha 球を偽リガンドとして Grid ファイルを作成、ドッキング部位とした。ドッキングスコアの分布の比較では、T790M に対するヒット化合物がドッキングスコアが低く（親和性が高い）、変異体ごとにドラッグビリティが異なることが示唆された（図(3)-3）。また 90,123 化合物が両変異体に対して共有にヒットしており、これらは、変異にロバストな回避性の性質を有する化合物である可能性が高いことを示した。同時に、それぞれの変異体でのみヒットした化合物は、それぞれの変異体特異

的なフォーカスライブラリーとして活用できることも考えられる。



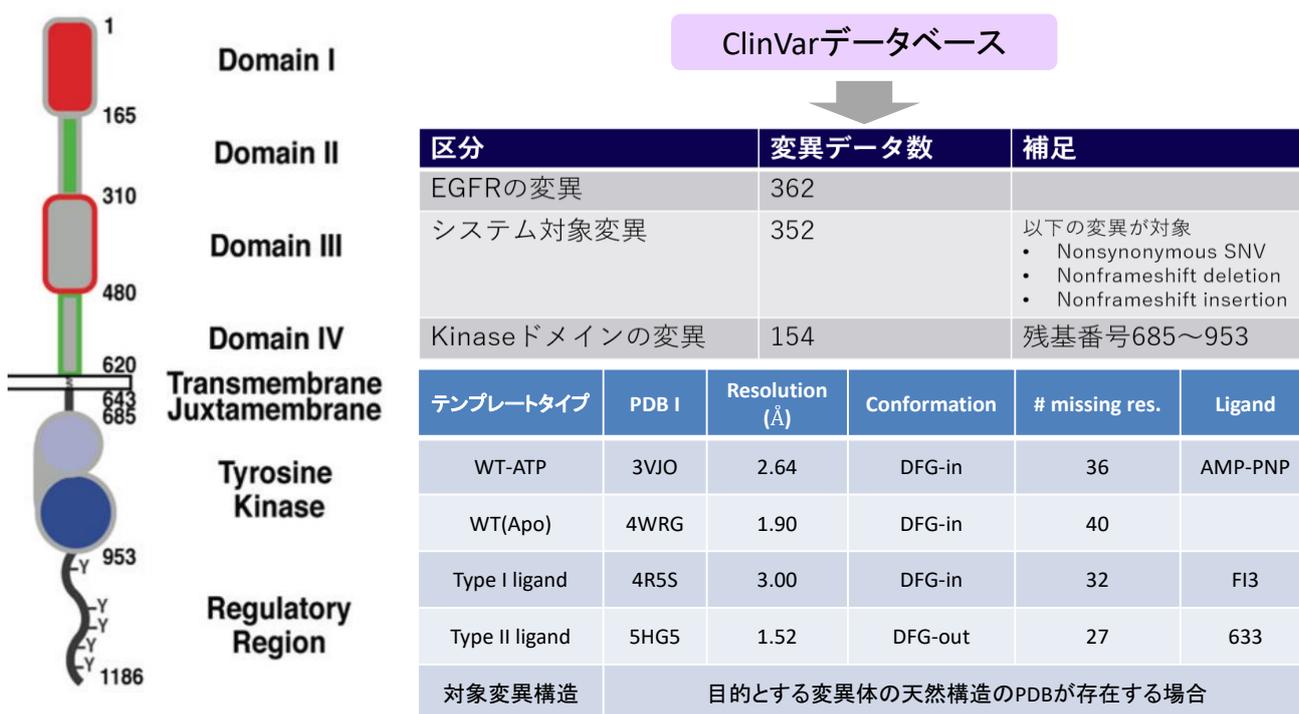
図(3)-2 3つの変異体モデリングによるベンチマーク解析：ポケット構造の特性抽出と俯瞰図の作成



図(3)-3 G718A、T790M 変異体モデリング構造に対する化合物ライブラリースクリーニング

(ii) ClinVer 変異データベースに対する網羅的モデリングと評価

- ① の結果を受けて、ClinVer 変異データベースに対する網羅的モデリングを行った。まず、より多様な活性型を検討できるよう、WT の Apo、Holo に加え、薬剤結合様式の TypeI、II 型の鋳型を用いて 1 変異体あたり 400 構造のモデルを構築する仕様に拡大した (図(3)-4)。また①と同様に fpocket 解析機能も実装した。データの選定については、既知の薬剤耐性キナーゼ EGFR について、ClinVer 変異データベースからキナーゼドメインに対する薬剤耐性変異全 154 種について、61,600 モデルを構築した。

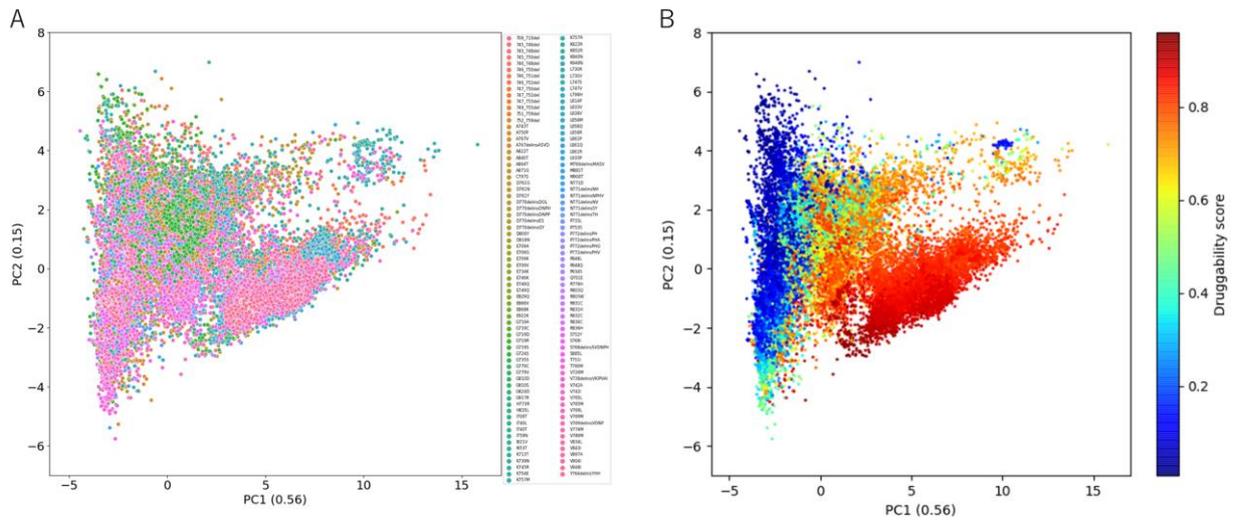


化合物スクリーニングを考慮した様々なモデル構造(4テンプレート(×100構造))の生成

図(3)-4 ClinVer 変異データベースに対する網羅的変異体モデリングの概要

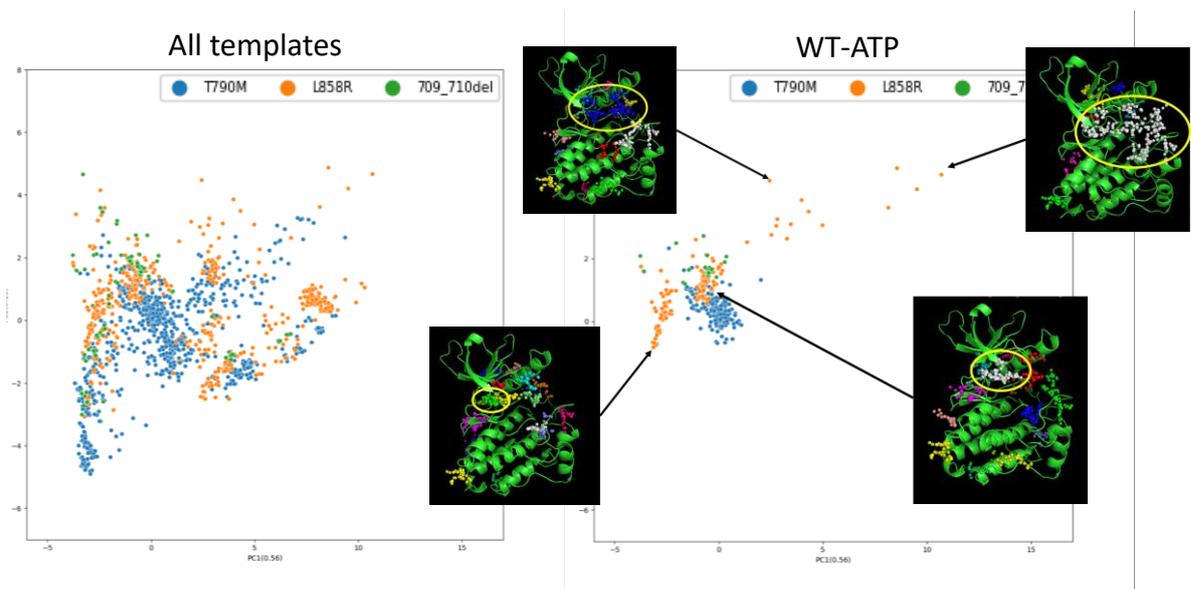
61,600 モデルについて、ATP 結合部位ポケットの特性 (fpocket 記述子) を主成分分析し、ポケット空間を俯瞰することに成功した (図(3)-5)。その結果、医薬品の結合が好まれる特定の空間 (暖色寄りのプロット分布) が存在することが明らかになった。また PC1 軸は、主にサイズに関する記述子、PC2 は、物理化学的記述子の寄与が高い結果となった。実際に、3 種の変異間 (T790M、L858R、709-710del) 比較を行った結果、L858R は、他の変異体に比べ、WT-ATP 鋳型によるホモロジーモデルのみでも広がりを持ったポケットが存在する傾向にあることがわかった (図(3)-6)。これは医薬品設計の際に、多様な分子サイズの化合物が検討できる可能性を示唆している。

今後は、各変異体モデルに対し、①で実施した化合物ライブラリースクリーニングを実施し、変異体間でのヒット化合物の比較、ドッキングスコア分布の比較等を行い、変異回避性の高いリガンドの特性を検討する予定である。または、本プロトコルを他の変異モデルに適用予定である。



PC1は、主にサイズに関する因子、PC2は、物理化学的性質に関する因子が寄与

図(3)-5 全モデリングのATPポケットに対するポケット記述子の主成分解析結果



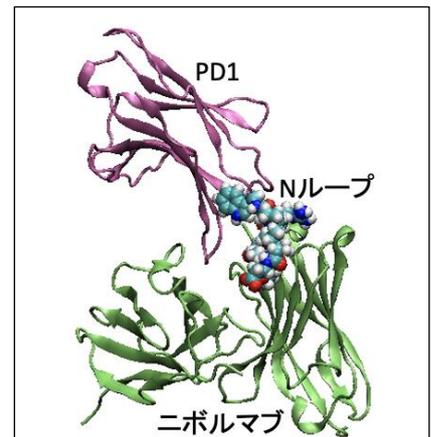
図(3)-6 T790M、L858R、709-710del 変異間の分布の比較

② 抗体医薬デザイン

東京大学先端科学技術研究センター 山下 雄史

本研究では、スーパーコンピュータ「富岳」を用いた大規模分子動力学(MD)シミュレーションを活用して、抗体の改変設計とその原理に挑む。抗体は、人間の体において自己と非自己を見分け、非自己を抗原として認識し強く結合することができるタンパク質である。抗体は免疫系で重要な働きを持つだけでなく、医薬品としても注目される。例えば、がん治療に限っても様々な作用機序を持つ抗体ベースの医薬品が登場している。例えば、乳がん治療に使用されるハーセプチン(トラスツズマブ)は HER2 に特異的に結合し、抗体依存性細胞傷害作用(ADCC)を引き起こす。また、2018年にノーベル医学生理学賞を受賞した本庶佑博士らが開発したオプジーボ(ニボルマブ)も抗体医薬品である。オプジーボは T 細胞に発現する PD-1 に結合して、がん細胞が免疫系の攻撃から逃れる作用を抑制する。すなわち、免疫系のブレーキを停止することで免疫系ががん細胞を活発に攻撃できるようにする医薬品となっている。いずれにせよ、抗体が強く抗原を認識することが抗体を医薬品として利用するために重要な条件である。

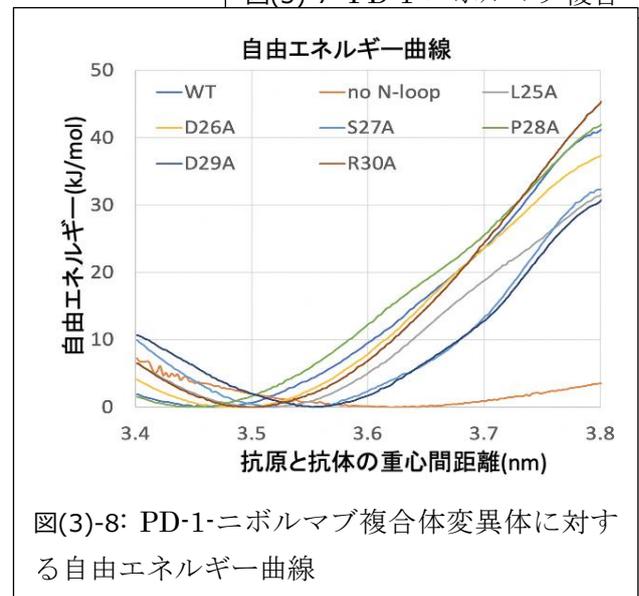
我々は前年度に、まず、抗原(PD-1)側の変異により相互作用が減退する可能性を調査した。PD-1のN末端側にはN-loopと呼ばれる構造があり、その部位がニボルマブとの結合で重要な役割を果たしている(図(3)-7)。実際に、N-loopを欠損させると親和性が大きく低下することが実験で示されている。まず、N-loopに含まれるアミノ酸残基を1つずつアラニンに置換して、相互作用の変化を調べた。その結果、抗原-抗体間の相互作用エネルギーを予想通り減退させているものに加え、相互作用が強まっているものも見つかった。



図(3)-7: PD-1-ニボルマブ複合

本年度は、自由エネルギー的な観点からこの結果を再解析し、得られた知見の精度を高めていった。具体的には、PD-1のL25A変異体・D26A変異体・S27A変異体・P28A変異体・D29A変異体・R30A変異体を抗原抗体の重心間距離を解離座標に取って、アンブレラサンプリングを実施しWHAM法を使って平均力ポテンシャル(PMF)を計算した。また、比較の対象として、野生型(WT)とN-loopが完全に欠損した変異体(no N-loop)も計算をおこなった。この計算結果を図(3)-8に示す。

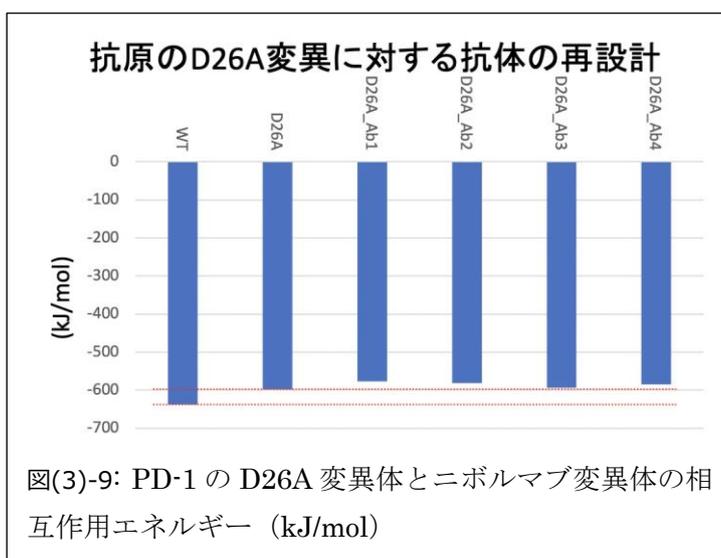
まず、N-loopを完全に欠損させた系に関しては、WTに比べ、解離の自由エネルギー障壁が劇的に低



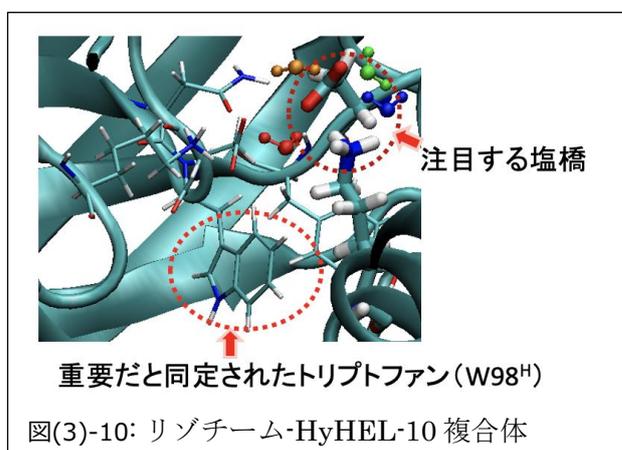
図(3)-8: PD-1-ニボルマブ複合体変異体に対する自由エネルギー曲線

くなっている。これは、先行研究で報告されている実験結果と一致する結果である。L25A 変異体・S27A 変異体については、相互作用エネルギー解析が示す通り、大きく自由エネルギー障壁が下がった。D29A 変異体は、相互作用エネルギー低下は小さかったが、自由エネルギー障壁の低下が大きかった。D26A 変異は、相互作用エネルギー低下が大きく、自由エネルギー障壁低下が小さくなった。R30A 変異体は、相互作用エネルギーの増大は小さいものの、有意に解離の自由エネルギー障壁が増大していた。この効果を誘起するメカニズムとして、我々が見出した新しいアラニン置換効果が働いている可能性があると思われる (Yamashita et al., Structure, 2019)。興味深いことに、個別のアラニン置換で得られる自由エネルギー障壁低下を足し合わせても、N-loop 全体を欠損させた場合の自由エネルギー障壁低下に及ばない。このことは、変異効果の単純な加法性を否定するもので、多変異の影響を予測するためには高精度な MD シミュレーションが必須であることを示すものである。

また、相互作用エネルギーが低下した D26A 変異体に対して、抗体 (ニボルマブ) 側に変異を入れることで相互作用を回復できる可能性がないか調査した。数種類の変異体を設計したが、さらに相互作用エネルギーを低下させるものがほとんどであった。代表的な例を図(3)-9 に示す。候補変異体 Ab3 が D26A に迫ったが、WT ほどにはならなかった。この変異体に関しては、自由エネルギー的にはもう少し回復している可能性がある。また、網羅的な変異探索をすることで、もっと回復を促す変異体が見つかる可能性がある。

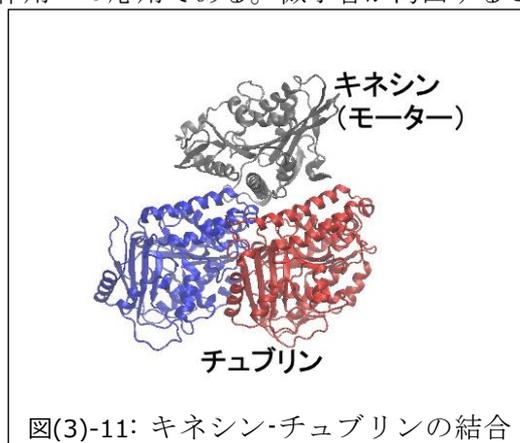


抗原抗体間の相互作用を改良するための鍵となる構造モチーフの 1 つは塩橋であると考えられる (Yamashita et al., Structure, 2019)。昨年度、我々はこの塩橋の安定化を促している環境因子を特定することに成功している (Okajima et al., J. Phys. Chem. B, 2021)。このような環境因子をもっと簡便に MD シミュレーションから取り出せるようになると、変異体設計が効率的・効果的になっていくと考えられる。そこで、今年度、機械学習解析により MD シミュレーションから重要環境因子を取り出すことに挑戦した。計算した対象は抗リゾチーム抗体 HyHEL-10 (野生型) とリゾチームの複合体である (図(3)-10)。まず、塩橋の解離の遷移状態付近のトラジェクトリーをサンプルし、塩橋形成ダイナミクスを予測する機械学習モデルを構築した。次に、この機械学習モデルに使われている特徴量の重要度を評価する。今回の機械学習では、コンフォメーションを表

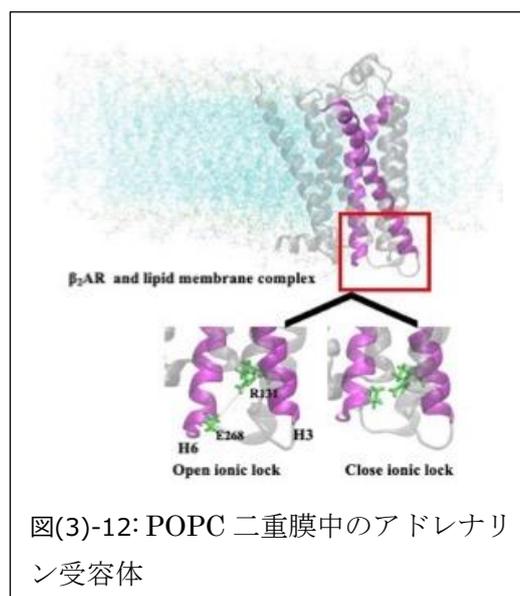


す特徴量が使われているため、重要な特徴量に関わる部位が塩橋形成ダイナミクスに強く影響を与えていると考えることができる。本解析の結果として、重鎖のトリプトファン (HW98) が同定されたが、これは以前の構成論的解析の結果(Okajima et al., J. Phys. Chem. B, 2021)と一致している。現在、投稿論文を準備中である。

本課題で開発している手法は、抗原-抗体間の相互作用だけでなく、一般的なタンパク質間相互作用や環境-タンパク質の相互作用にも適用可能である。実際に、様々な研究が派生し、インパクトのある研究成果に結びついている。第1に、キネシンと微小管との相互作用への応用である。微小管が湾曲することでキネシンの歩行速度が遅くなることが実験で観測されたが、なぜそのようになるのかが不明であった。そこで、我々のMD解析を適用すると、チューブリン間の微小な伸縮によりキネシンとの相互作用が増大していることが分かった(図(3)-11)。これは抗原抗体で見られた現象 (Yamashita et al., Structure, 2019) と類似しているものである。このことがキネシン歩行を遅くしている要因と考えられる。この結果は、Science Advances (2021)に掲載されている。また、論文の掲載後すぐに日刊工業新聞でも取り上げられた。

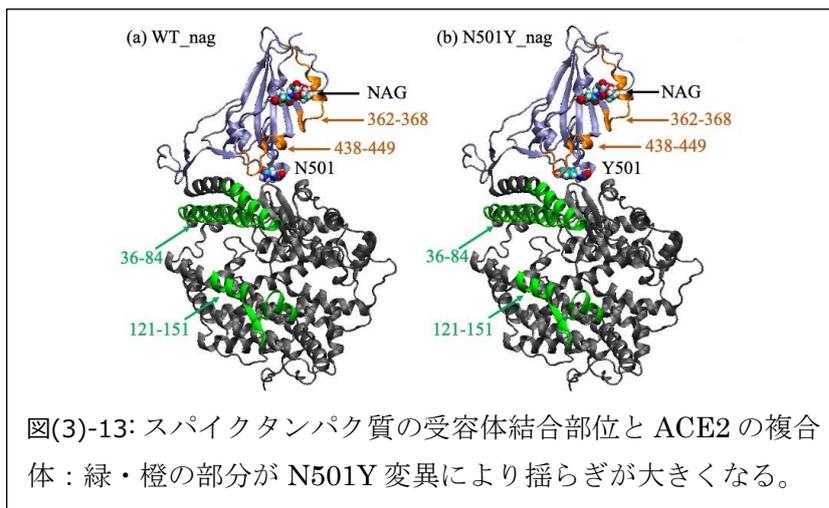


第2に、タンパク質と脂質二重膜との相互作用への応用である。現在、タンパク質のAMBER力場に対し、高精度とされる脂質力場がいくつか提案されている。我々は、POPC二重膜中にアドレナリン受容体を埋め込み、タンパク質構造が脂質力場の違いによりどのような影響を受けるのかを調べた(図(3)-12)。その結果、同じPOPC膜中でのダイナミクスをシミュレーションしているにも関わらず、使っている力場によりタンパク質中の塩橋の安定性に大きな違いが現れた。例えば、LIPID14力場の系に比べ、Slipids力場の系は塩橋がより安定になっている。このことは、タンパク質にとって環境因子が重要であることを再確認するだけでなく、脂質力場の適切な準備の重要性も示すものとなっている。この結果は、Bull. Chem. Soc. Jpn誌に掲載され、BCSJ論文賞を受賞した。



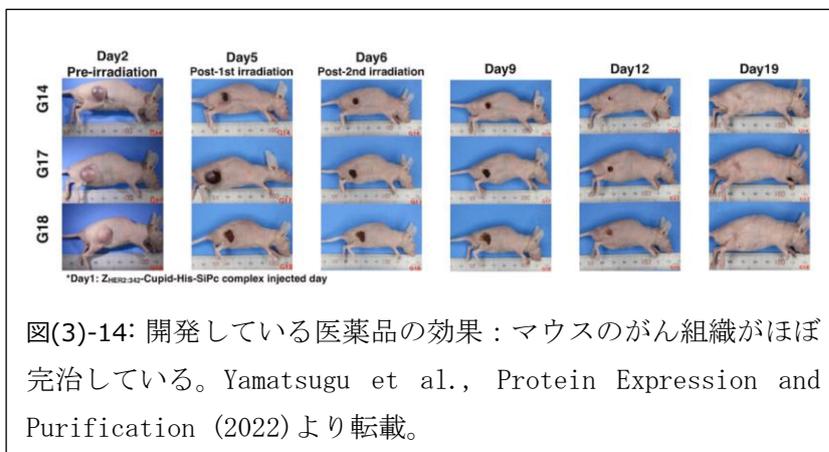
第3に、新型コロナウイルス感染症に関する応用である。新型コロナウイルスのスパイクタンパク質は、ヒトの受容体タンパク質 ACE2に特異的に結合する。これが感染の最初に起こる現象で、スパイクタンパク質と ACE2 との結合の強さが感染の強さに影響する。例えば、新型コロナウイルスのアルファ株では N501Y 変異を含む。このアミノ酸残基は ACE2 との結合部位に位置し、直接的に ACE2 との結合強度に影響を与えている。したがって、この変異が、アルファ株が従来株よりも強い感染性を示す要

因の1つであると考えられている。しかしながら、N501Yがスパイクタンパク質とACE2の結合にどのような影響を与えているのか不明であった。そこで、我々のMD解析技術を本問題に応用し、N501Yの影響について調査を行った(図(3)-13)。その結果、N501Yによる変異で相互作用エネルギー自体はむしろ減少することが分かった。一方で、N501Y変異によりタンパク質の揺らぎが大きくなり、エントロピー的に結合状態が有利になることも分かった。また、N501Y変異の影響には、N343を修飾している糖鎖も関係していることが分かった。N343はACE2との結合界面にはなく少し離れた位置に存在する点も興味深い発見であった。現在、投稿論文を準備中である。



図(3)-13: スパイクタンパク質の受容体結合部位とACE2の複合体: 緑・橙の部分がN501Y変異により揺らぎが大きくなる。

最後に、新たなタンパク質医薬品開発への貢献である。我々は、スーパーコンピュータ「京」でのプロジェクトより継続して、児玉龍彦名誉教授(東大先端研)らが進める進行がんに対する治療薬開発をスパコン技術で支援してきた。具体的には、改変ストレプトアビジン(Cupid)-改変ビオチン(Psyche)による新たな抗体-薬剤共役の技術開発である(Tanaka et al., US Patent App. 17/418,475, 2022)。薬剤は、薬効を発揮するペイロードと結合したPsyche、抗体と連結し4量体を成すCupidからなり、含まれる非常に多様な分子間相互作用が医薬品の安定性や効果に影響を与えている。こうした相互作用の制御をMDシミュレーションで支援している。



図(3)-14: 開発している医薬品の効果: マウスのがん組織がほぼ完治している。Yamatsugu et al., Protein Expression and Purification (2022)より転載。

その成果の一部が、論文として公開された(Yamatsugu et al., Protein Expression and Purification, 2022)。これは、ペイロードとしてフタロシアニン系化合物(Kanai et al., US Patent App. 17/266,190, 2022)を用いているが、近赤外光を吸収し細胞殺傷効果を発揮する。図(3)-14にも見られるように、マウスでの実験でもがん治療への有効性が確認された。この成果は、YouTube ホリエモンチャンネルでも取り上げられ、計算科学の重要性も言及されている。

(4) AI・データサイエンス・社会実装基盤

① 疾患ゲノム構造機能データベース

京都大学大学院医学研究科 鎌田 真由美

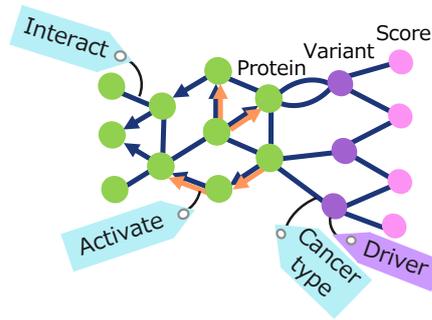
令和3年度は、疾患関連遺伝子を大規模なタンパク質ネットワークにマッピングし、グラフ深層学習の一種である Graph convolutional network (GCN) を用いた関連標的タンパク質の探索に取り組んだ。また、前年度に実施したバリエーションのアノテーションに対し、対象データベース拡張と代表構造選出基準となるアノテーションの追加を行うとともに、疾患ゲノム構造データベースのプロトタイプ開発を実施した。各成果の詳細を下記に記載する。

(1) GCN を用いたネットワーク解析による関連標的タンパク質の探索

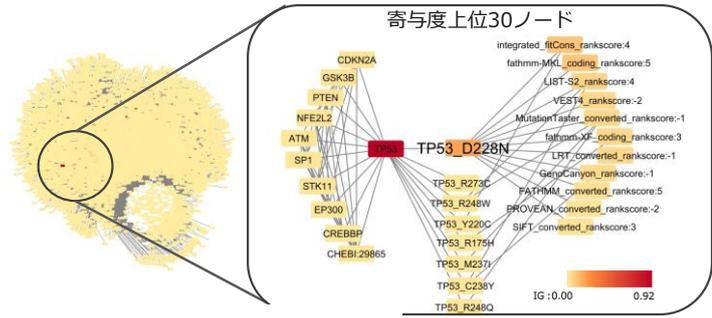
令和3年度は、体細胞がんを主な対象にバリエーションの疾患関連性予測モデルの開発を行った。まず、Pathway Commons(<https://www.pathwaycommons.org/>)から大規模生体ネットワークを取得し、ネットワークを構成するタンパク質に対し、体細胞がん関連性データベース CHASMPplus [Tokheim, C. and Karchin, R., *Cell Syst*,9(1):9-23.e28, 2019]に基づくバリエーション情報と、がんを引き起こすバリエーションか否か (driver/passenger) を示すラベル情報をマッピングした。そして、各バリエーションに対して、dbNSFP (<https://sites.google.com/site/jpopgen/dbNSFP>) から取得可能なバイオインフォマティクスアルゴリズムによるバリエーション評価スコアと、大規模がんゲノムデータベースである The Cancer Genome Atlas (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) に基づくがん種ラベル (バリエーションが検出されたがん種情報) を付与した。さらに、Pathway Mapper (<https://www.pathwaymapper.org/>) からがんに関連する10のパスウェイ情報を取得し、生体ネットワークにアノテーションを行った。以上のアノテーションの組み合わせ (図(4)-1A) により、最大ノード数 35,125・エッジ数 2,738,299 からなる大規模知識グラフを構築した。

この知識グラフを入力データとして GCN の学習を行い、バリエーションががんを引き起こすか否かを予測するモデルを構築した。3-fold cross validation による内部評価では、AUC 0.9981 の高精度を示し、さらに CHASMPplus が提供する5つの外部評価データを用いて精度評価を行ったところ、3つのデータセットでは Random forest による既存手法を上回る精度 (AUC 0.702~0.889) を示した。さらに、Integrated Gradients [Sundararajan, M., et al., In ICML, vol.70, pp.3319-3328, 2017]を用いて、遺伝子・バリエーション・評価スコアを表す各ノードの予測に対する寄与度を算出し、可視化を行うフレームワーク (図(4)-1B) を構築した。本予測モデルの改良により、疾患関連性未知のバリエーション (VUS) に対して関連性のスコアづけが可能となることから、計算対象バリエーションおよびタンパク質選定に役立てることを検討している。

(A) 知識グラフを構成するアノテーション情報



(B) IGによる予測寄与度の可視化例 (TP53 D228Nの予測)



図(4)-1. 知識グラフと IG による可視化の例

(2) バリエントアノテーションシステムの拡充

前年度は、京都大学で開発してきた MGeND (<https://mgend.med.kyoto-u.ac.jp/>) に記載されているバリエントのうち、「稀少・難治性疾患領域」・「がん領域」より登録のあった約 15 万のバリエントを対象に構造アノテーションを実施し、計算ターゲットとして活用可能なバリエントの選出を行った。対象バリエントのうち、約 15,000 バリエントに Protein Data Bank (PDB) より取得可能な立体構造情報の紐付けが可能であったが、計算結果の妥当性検証が必要となる、詳細な結合情報が利用可能なバリエントの数が限られていること、そして、代表的トランスクリプトとして取得した情報 (Ensemble Transcript ID) が一般的に各遺伝子を代表するとされるタンパク質 (UniProt) と紐づかない事例が明らかになったことから、令和 3 年度は、対象データベースの拡充とアノテーションパイプラインの改修および追加を行った。

- 対象データベースの拡充

令和 3 年度は、MGeND に加えて、ゲノム医療において世界的に活用されている疾患ゲノムデータベース ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) と体細胞がん大規模データベース COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/>) に記載されているバリエントも対象にアノテーションと計算対象バリエントの選出を行った。対象データ拡充の結果、計 929,016 バリエントが構造情報 (PDB ID) に紐付けが可能であり、前年度に比べて大幅に増加した (表(4)-1)。また、結合情報を有するバリエントについて、前年度は全データセットに対して 5,796 バリエントであったのに対し、がん研究者と連携可能な 12 遺伝子 (計算結果が検証可能な対象遺伝子) に絞った場合でも 13,279 バリエントであった。

表(4)-1. 構造アノテーション結果

type of variant	MGeND (Cancer, Rare disease)		COSMIC	ClinVar		Total	
	hg19	hg38	hg38	hg19	hg38	hg19	hg38
Unique variants	54,075	9,796	11,587,232	789,580	789,782	830,281	12,261,012
Exonic variants	28,975	6,175	3,309,268	438,039	439,240	457,936	3,676,561
Variants with PDB ID	15,674	2,776	641,919	150,293	150,853	160,696	768,320

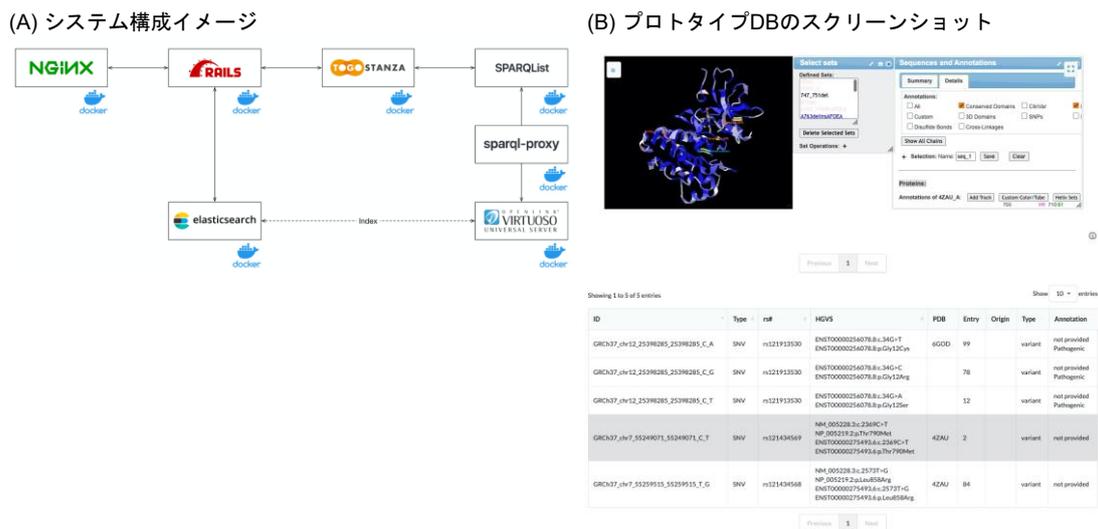
- アノテーションパイプラインの改修と拡充

データベースに登録されているバリエントはゲノム位置で表現されるため、構造情報にマッピングするためのアノテーションパイプラインが必要となる。具体的には、アノテーションソフトウェア ANNOVAR[Wang K. et al., *Nucleic Acids Research*, 38:e164, 2010]を用いて、全バリエント一様にトランスクリプトレベルの情報を付与し、タンパク質レベルの情報 (UniProt ID) にマッピングして構造情報 (PDB ID) への紐付けを行っている。前年度は、Ensemble Transcript ID をもとに UniProt ID の Canonical isoform へのマッピングを行っていたが、この自動 ID 間マッピングでは、必ずしも代表的な UniProt ID (一般的にヒトタンパク質として用いられるエントリ) に紐づけできない事例があることが明らかになった。そこで、ANNOVAR で各バリエントに GenBank ID をアノテーションを行い、全 GenBank ID に対して MyGene (<https://mygene.info/>) の Python ライブラリを用いて UniProt の Canonical isoform への紐付けを行う仕様に変更した。この変更により代表的 UniProt ID への紐付けが可能となった。

さらに、アノテーションの拡充として、代表 PDB 情報とがん関連アノテーションの追加を行った。まず、UniProt ID には複数の PDB ID が紐づく場合が多く、計算に利用する構造選択には一定の基準が必要となる。そこで、各タンパク質における代表 PDB 構造を選出する基準の策定を行い、アノテーションスクリプトへの統合を行った。具体的には、UniProt の canonical isoform と紐づく全 PDB の各配列に対して Blast を用いたペアワイズアライメントを行い、配列一致度とアライメント長、欠損残基数からランクづけを行い、代表構造 PDB を選出する。計算バリエントの選出で優先度をつけるため、がん関連アノテーションの追加を行った。具体的には、がん統合データベース OncoKB (<https://www.oncokb.org/>) から取得可能な Oncogenic ラベル (がんに関連することを示すラベル) と、バリエントのがん関連性予測を高精度に行うことが可能な OncodriveCLUSTL [Arnedo-Pac C. et al., *Bioinformatics*, vol.35(22),pp. 4788–4790, 2019]の予測スコアを計算し、バリエント選出の指標として追加した。

(3) 疾患ゲノム構造データベースのプロトタイプ開発

最終年度の計算結果公開に向け、アノテーション情報および計算結果を収載した、疾患ゲノム構造データベースの開発を進めており、令和3年度は計算結果描画に関するヒアリングとプロトタイプ作成を行った。まず、分子動力学計算をはじめとした構造情報解析に携わる研究者に、有用な計算結果の提示方法についてヒアリングを行った。具体的な案として、計算結果に基づく RMSD/RMSF のプロット、Dynamic Cross Correlation Analysis (DDC) Map などの描画、野生型構造と変異体の平均構造の重ね合わせ等が挙げられた。今後、得られた意見を基に描画イメージ及びデータモデルを策定し、後述のプロトタイプへの統合行なう。また、令和3年度は、MGeNDに収載されているバリエントと、それらに対するアノテーションパイプラインで得られた情報を対象に、データベースのプロトタイプを作成した (図(4)-2)。プロトタイプシステムでは、RDF 形式に変換した各データを Virtuoso に格納し、検索の高速化のために elasticsearch (<https://www.elastic.co/jp/>) で indexing を行っている。クエリ検索及び描画には、ライフサイエンス統合データベースセンター(DBCLS)の SPARQLList(<https://github.com/dbcls/sparqlist>)と TogoStanza (<http://togostanza.org/>)を用いている。また、構造情報の描画には、NCBI iCn3D (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/icn3d.html>)を用いた。最終年度の公開に向け、計算結果のデータモデル策定を行い、本プロトタイプの拡張によりデータベース実装を進める。



図(4)-2. データベースシステム概要とプロトタイプイメージ

② AI・シミュレーション融合

横浜市立大学生命医科学研究科 寺山 慧

本課題では、これまで開発してきた ChemTS 等の AI を用いた新規分子生成手法を用いてターゲットタンパク質に対する分子設計を実施する。令和 3 年度は、ChemTS の高速化及び、「富岳」での ChemTS およびシミュレーションと AI を組み合わせた手法検証の実装を実施した。分子設計実施例として、ドッキング計算・結合親和性予測モデルと組み合わせ数百万規模の化合物の生成・最適化を行った。また、ベイズ最適化を用いた MD シミュレーションパラメータの効率的探索手法の開発・検証を行った。

(1) 分子生成手法の高度化と数百万規模の分子生成・最適化

昨年度までの計算高速化に引き続き、ユーザビリティの向上とさらなる高速化のために ChemTS を全面的にリファクタリングした。特に RNN による分子生成部を高速化し、CPU1 コアで比較した際にオリジナルの手法と比較して約 10 倍の高速化を達成した。また、ユーザーの利便性を向上させるために、種々のパラメータや設定、評価関数を一括で管理できるシステムに改修した。これまでに開発してきた並列化手法も実施可能な形でまとめ、ChemTSv2 (<https://github.com/molecule-generator-collection/ChemTSv2>) としてリリースした。現在本システムに関して論文化を進めている。

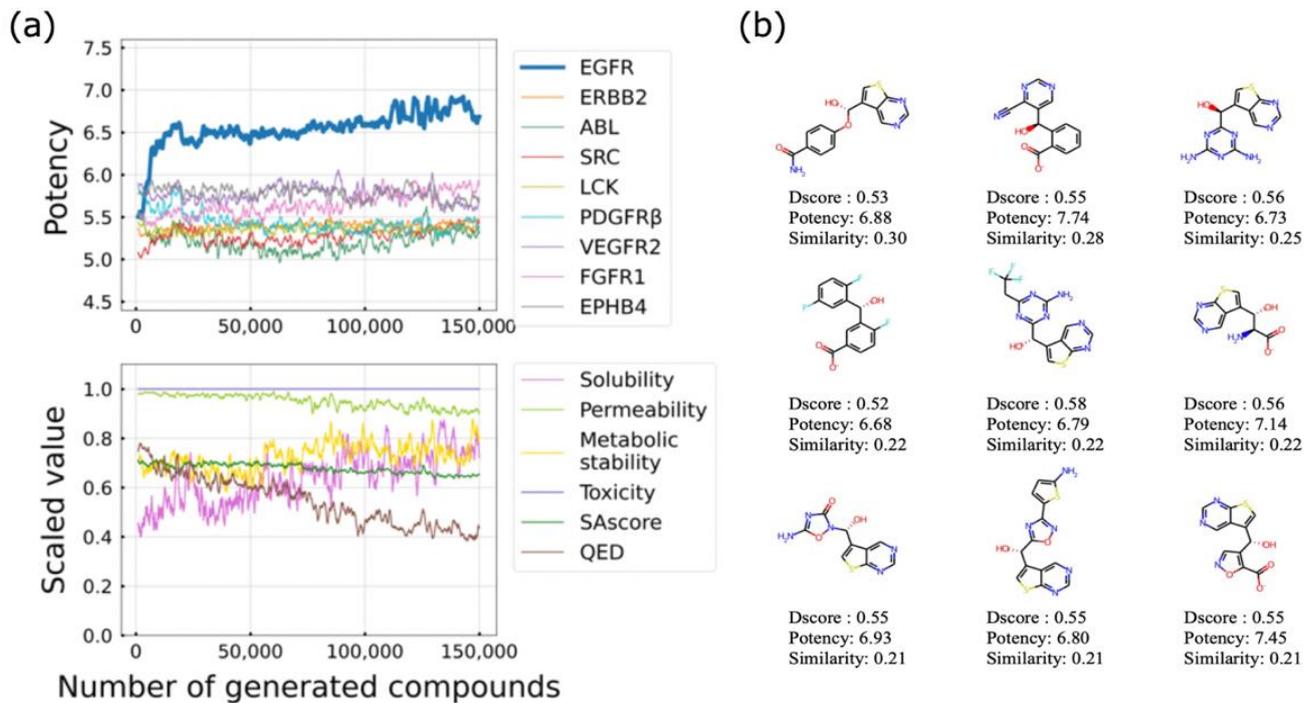
また、薬剤設計にあたっては主ターゲットタンパク質への結合のみならず、選択性や ADMET 特性など多数の項目を同時に満たすことが求められる。そこで、多目的最適化戦略を ChemTS に組み込み、多数の項目を同時に満たす分子設計手法開発に取り組んだ。本年度は Dscore(各目的変数の重み付き積)による多目的戦略を上記 ChemTSv2 に組み込み、多目的最適化が実際に行えるか 10 種のタンパク質を主ターゲットとして設定し評価を行った。肺がん治療の代表的なターゲットタンパク質 EGFR に対して ChemTS で多目的最適化した結果について図(4)-3 (a)に示す。ここで各項目のスコアについては公共データと機械学習に基づく予測モデルを用いて算出している。15 万分子程度発生させることで、主ターゲットである EGFR に対する活性予測値を向上させ、他のタンパク質に対する活性予測値は下げ(図(4)-3 (a)上図)、ADMET 項目は要求範囲内に収める(図(4)-3 (a)下図)ことができた。また生成した分子の例を

図(4)-3 (b)に示す。これまでの ChemTS 高速化により、多数の分子が生成可能になったため、異なる条件やパラメータを細かく調整しつつ分子生成の多目的最適化が現実的な時間で可能になった。これらの成果についても現在論文化を進めている。

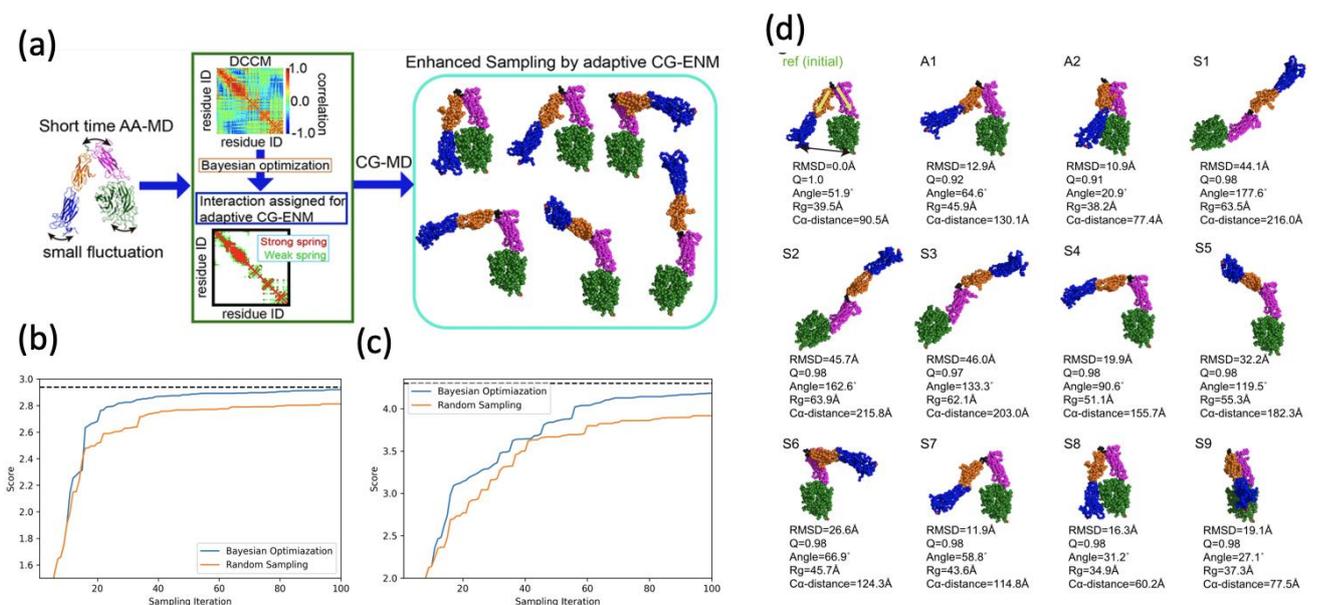
(2) AI・機械学習による分子シミュレーションの効率化・高速化

分子シミュレーションを効率化するために昨年度から取り組んでいたグレイボックス最適化(Gray-box optimization; GBO)を用いた分子の最安定構造探索手法とその評価をまとめ論文として発表した(Terayama et al., *JCTC*, 2021)。

また、粗視化分子動力学シミュレーション(CGMD)において、効率的に大きな構造変化を実現する手法について手法開発を行った(図(4)-4 (a))。一般にCGMEによるタンパク質のシミュレーションでは、実験的に得られた結晶構造に基づいて力場パラメータを設定することで、対象タンパク質の動的情報の解析が行われる。しかし、実験構造に基づくパラメータの影響が大きいため、大きな構造変化を起こすことは難しい。そこで短時間全原子MDの結果(Dynamic Correlation Coefficient Map)から適切なパラメータ設定



図(4)-3 EGFRを主ターゲットにした ChemTS による多目的最適化例。(a)各ターゲット項目に対する予測値の推移を示している。15万分子程度発生させることでEGFRの活性予測値(pIC50)が上昇する一方、他の類縁タンパク質に対する予測値は低いままであることがわかる(上図)。また ADMET 等のスコアも要求される値を概ね維持している(下図)。(b)生成された分子例。Dscore は全項目の値をまとめたスコア、Potency は EGFR に対する予測活性値、Similarity は既知 EGFR 阻害薬との Tanimoto similarity を示している。



図(4)-4 AIを用いた新しい構造サンプリング手法 Adaptive-ENM の概略。(a)手法の全体像。(b)・(c)ベイズ最適化(青線)により少ない試行回数で適切なパラメータ(高いスコア)が選択可能になる。(d)本手法による Integrin の構造サンプリング例。

を行うことで大きな構造変化を実現する手法 adaptive-ENN の開発に取り組んだ。解決すべき課題として、設定可能なパラメータの候補が膨大になるため、適切なパラメータの探索に時間がかかってしまう。そこで求められる条件(十分大きな構造変化を起こしつつ、元の構造に戻ることもあり、かつ構造全体が壊れない)をスコア化し、ベイズ最適化で探索することで効率的なパラメータ探索を行うシステムを開発した。図(4)-4 (b) (c)にランダムサンプリングによる探索(オレンジ)とベイズ最適化(青)による探索の様子を示す。少ない探索回数でスコアの高いパラメータを発見できていることが確認できる。また図(4)-4 (d)に本手法を適用することで得られたインテグリンの構造変化の様子を示す。以上のようにタンパク質の機能解析で重要な構造変化を効率よくサンプリングする手法を CGMD と AI(ベイズ最適化)を組み合わせることで実現した。本成果は、論文(Kanada, Terayama, et al., *JCTC*, 2022.)として発表を行った。

③ 創薬ビッグデータ統合システム

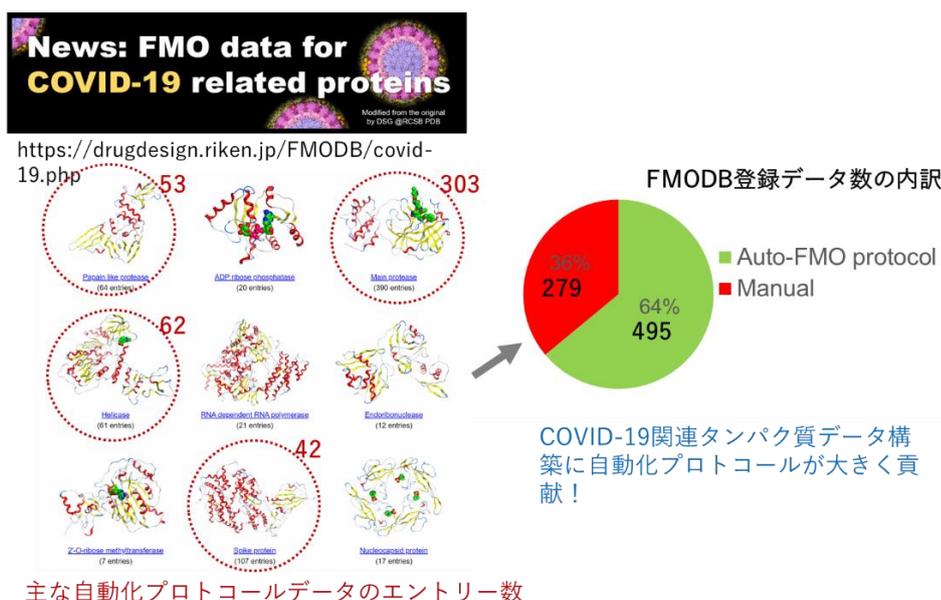
理化学研究所計算科学研究センター 本間 光貴

今年度は、タンパク質の量子化学計算を可能とする FMO 法を広く多くのユーザーが使えることと、世界初のタンパク質の量子化学計算値データベース FMO DB における AI 構築用のデータの充実を目的として、一部有償プログラムに依存していた FMO 自動計算プロトコルの無償化を実施した。FMO 自動計算プロトコルは、COVID-19 関連タンパク質の FMO 計算にも大きく貢献した。特に SARS-CoV2 変異ウイルスの S protein や抗体医薬候補の ACE2 への親和性予測への応用を行い、論文を出版した。AI 力場の開発については、従来力場では力場パラメータが不十分であった中分子（特に環状ペプチド）に関するデータ収集を開始した。このために必要となる多くの種類の環状ペプチドについて配列から 3D コンフォメーション発生、そのコンフォメーションに基づく FMO 計算を実施するスクリプトを作成した。以下に詳細を述べる。

(1) FMO 自動計算プロトコルの無償化

FMO 計算は、タンパク質やリガンドに対して、欠損補完、最適化、互変異性、プロトン化/脱プロトン化等の前処理を施した上で、アミノ酸残基に近い大きさにフラグメント化し、適切な基底関数・電子相関を設定して計算を実施する必要があるが、熟練した量子化学研究者以外にはハードルがあった。理研の本間グループでは、これらの操作を半自動化するために FMO 自動計算プロトコルを開発しているが、前処理の部分を中心に有償のプログラムに依存していた。今年度は、最適化、互変異性、プロトン化/脱プロトン化等の前処理について無償プログラムでの実施が可能ないように開発した。この改修によって、多くのユーザーによる利用が可能となった。

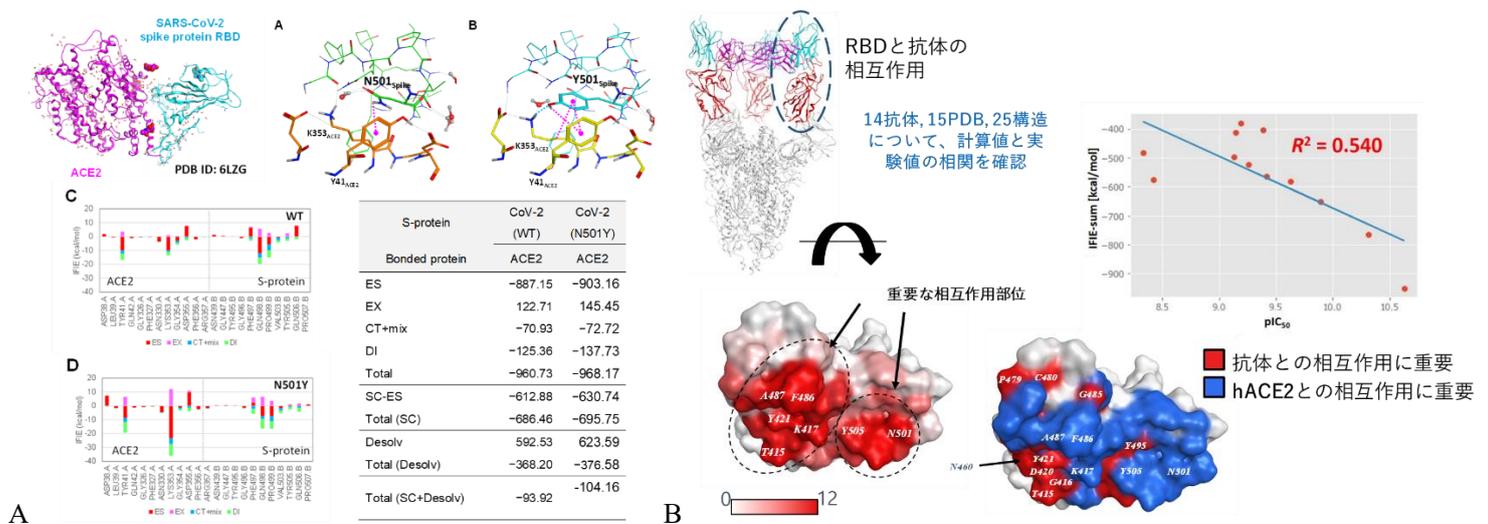
特に以下の図(4)-5 に示すように FMO DB を通して公開している COVID-19 関連タンパク質の FMO 計算結果 800 件程度のうち、64%が FMO 自動計算プロトコルによる計算であった。



図(4)-5. COVID-19 関連タンパク質の FMO 計算への応用

(2) FMO 計算による COVID-19 関連タンパク質の解析

COVID-19 治療薬研究に貢献するために、SARS-CoV2 wild type 及びその変異ウイルスの S protein と ACE2 の相互作用エネルギー解析 (図(4)-6A)、及び S protein と抗体の相互作用エネルギー解析 (図(4)-7B) を実施した。図(4)-6A に示すように、N501Y 変異 (英国株、アルファ株) では、wild type に比べて Tyr501 と Lys353 の間の相互作用が強くなり、結合エネルギーが 10 kcal/mol 近く増えることが予測され、強い感染力の原因であることが示唆された。また、S protein と抗体との相互作用については、結合親和性が実測されている 14 種類の抗体に対して FMO 計算を実施したところ、IFIE の合計値と pIC50 の間に高い相関が認められ、結合親和性予測に有用であることが示された。以上の結果は、論文に出版した。



(5) プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくための会合を定期的で開催し、協力機関との連携・調整にあたった。

令和3年9月13日に開催したワークショップ(課題内進捗報告会)では、課題内10チームが研究進捗について報告し、質疑応答・議論を行った。令和4年3月4日には昨年続き一般公開型で「『富岳』創薬活用ワークショップ」を開催し、創薬・ゲノム医療への応用を視野に入れながら各課題の研究内容の紹介を行うとともに、連携する産業分野、臨床研究分野の方を交えて意見交換を行った。

令和3年9月17日の「『富岳』BEGINS～活躍の場を無数に広げて～」の一般公開イベントでは、課題代表の奥野恭史が「『富岳』によって加速する次世代創薬」と題したパネルディスカッションで「富岳」の活用や期待について議論を交わした。

令和4年3月14日に開催された「『富岳』成果創出加速プログラム 研究交流会」では、当課題から分野別セッション、合同セッション(AI)、合同セッション(次世代研究者:女性、若手)において4人の研究者が発表し、研究者間の情報交換と他分野との交流を深めた。

令和4年3月29日の「『富岳』成果創出加速プログラム公開シンポジウム 富岳百景」では、「『富岳』FORWARD～Society 5.0のソリューション創出に向けて～」に課題代表の奥野恭史が登壇した。

これらの活動を通して、連携する機関や研究者以外の一般市民、他の分野へも当課題の研究成果のプレゼンスを高めることができた。

また、研究成果の推進では、分子動力学シミュレーションソフトウェア「GENESIS」の活用を大学や研究機関、産業界などに普及するため、一般社団法人 ライフインテリジェンスコンソーシアムと連携し、勉強会(令和3年12月15日)、講習会(令和4年3月23日)を開催した。

2-3. 活動（研究会の活動等）

令和3年度は、以下の（1）ワークショップ（課題内進捗報告会）、（2）スーパーコンピュータ「富岳」創薬活用ワークショップを主催した。

（1）ワークショップ（課題内進捗報告会）

概要	課題内 10 チームの研究進捗報告と研究計画に基づくプロジェクトの進め方、「富岳」利用、ツール利用などの情報交換
日時	令和3年9月13日(月) 12:30-16:30
参加者	プロジェクト参加者 33名
開催方法	オンライン

（2）スーパーコンピュータ「富岳」創薬活用ワークショップ

概要	一般公開型。研究内容の紹介を中心に、連携する産業分野、臨床研究分野の方を交えて、意見交換
日時	令和4年3月4日(金) 12:00-15:50
参加者	172名（ライフ系企業82名、IT系企業30名、大学・研究機関54名、官公庁6名）
開催方法	オンライン
プログラム	<p>13:00 - 13:05 開会（課題代表：理化学研究所／京都大学大学院医学研究科 奥野 恭史） -----1部：研究成果紹介</p> <p>13:00-14:25 分子病態解析（横浜市立大学 生命医科学研究科 池口 満徳） 薬剤反応性推定（京都大学大学院医学研究科 奥野 恭史） 薬剤分子設計（筑波大学医学医療系 生命医科学域 広川 貴次） AI・データサイエンス・社会実装基盤（京都大学大学院医学研究科 鎌田 真由美） -----2部：臨床実験、産業界などから</p> <p>14:35 - 14:55 「がんゲノム医療拡充に向けた臨床研究視点から「富岳」に期待すること」 国立がん研究センター 中奥 敬史 先生</p> <p>14:55 - 15:15 「LINC、KBDDの創薬応用事例」 一般社団法人 ライフ インテリジェンスコンソーシアム（LINC） 志水 隆一 氏</p> <p>15:15 - 15:45 意見交換（30分）</p> <p>15:45 - 15:50 閉会（課題代表：理化学研究所／京都大学大学院医学研究科 奥野 恭史）</p>

2-4. 実施体制

業務項目	担当機関	担当責任者
（1）分子病態解析 ①動的構造機能解析	横浜市鶴見区末広町1-7-29 公立大学法人横浜市立大学 生命医科学研究科	池口 満徳 教授
②タンパク質活性予測	京都市左京区北白川追分町 国立大学法人京都大学	林 重彦 教授

	大学院理学研究科 化学専攻	
<p>(2) 薬剤反応性推定</p> <p>①結合自由エネルギー計算</p> <p>②結合経路・ポーズ推定</p> <p>③結合速度論解析</p>	<p>京都市左京区聖護院川原町53 人間健康科学科 京都市左京区聖護院川原町54 先端医療機器開発・臨床研究センター 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 人間健康科学系専攻 ビッグデータ医科学分野</p> <p>埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所 神戸市中央区港島南町6-7-1 融合連携イノベーション推進棟 国立研究開発法人理化学研究所 生命機能科学研究センター</p> <p>東京都目黒区大岡山2-12-1 国立大学法人東京工業大学 生命理工学院</p>	<p>奥野 恭史 教授</p> <p>杉田 有治チームリーダー</p> <p>北尾 彰朗 教授</p>
<p>(3) 薬剤分子設計</p> <p>①低分子デザイン</p> <p>②抗体医薬デザイン</p>	<p>茨城県つくば市天王台1-1-1 国立大学法人筑波大学 医学医療系 生命医科学域</p> <p>東京都目黒区駒場4-6-1 国立大学法人東京大学 先端科学技術研究センター</p>	<p>広川 貴次 教授</p> <p>山下 雄史 特任准教授</p>
<p>(4) AI・データサイエンス・社会実装基盤</p> <p>①疾患ゲノム構造機能データベース</p> <p>②AI・シミュレーション融合</p> <p>③創薬ビッグデータ統合システム</p>	<p>京都市左京区聖護院川原町54 先端医療機器開発・臨床研究センター 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 人間健康科学系専攻 バイオメディカルデータサイエンス分野</p> <p>横浜市鶴見区末広町1-7-29 公立大学法人横浜市立大学 生命医科学研究科</p> <p>横浜市鶴見区末広町1-7-22 国立研究開発法人理化学研究所 計算科学研究センター HPC/AI 駆動型医薬プラットフォーム部門</p>	<p>鎌田 真由美 准教授</p> <p>寺山 慧 准教授</p> <p>本間 光貴 副部門長</p>

(5) プロジェクトの総合的 推進	埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所 神戸市中央区港島南町7-1-26 国立研究開発法人理化学研究所 計算科学研究センター HPC/AI 駆動型医薬プラットフォーム 部門	奥野 恭史 部門長
----------------------	--	-----------

別添1 学会等発表実績
(別紙記載)

別添 1 学会等発表実績

1. 学会等における口頭・ポスター発表(国際会議)

No	発表題目	発表者氏名	発表した場所 (学会名等)	発表した時期	国内外の別
1	Mutation-induced drug sensitivity prediction for computer-assisted personalized medicine	Araki M and Okuno Y	2021 American Chemical Society Spring National Meeting, April 5, 2021 - April 16, 2021, online	令和3年 4月5日	国際
2	Mutation-induced drug sensitivity prediction using massively-parallel molecular dynamics free energy simulations	Araki M and Okuno Y	2021 American Chemical Society Spring National Meeting, April 5, 2021 - April 16, 2021, online	令和3年 4月5日	国際
3	Simulated dissociation/association dynamics between proteins and other molecules	Akio Kitao	TSRC WS「Protein Dynamics」, online	令和3年 7月13日	国際
4	Predicting the complex conformations of protein/intrinsically disordered peptide complexes using a method termed a/dPaCS-MD	Duy Phuoc Tran、 Akio Kitao	The Protein Society-35th Anniversary Symposium, online	令和3年 7月13日	国際
5	In silico Drug Discovery using Molecular Modeling and Simulation	Takatsugu Hirokawa	13th symposium on Discovery, Fusion, Creation of New Knowledge by Multidisciplinary Computational Sciences CCS International Symposium 2021	令和3年 8月1日	国際
6	Atomic mechanism of the complete association of intrinsically disordered peptide to protein	Duy Phuoc Tran、 Akio Kitao	XXXII IUPAP Conference on Computational Physics(ccp2021), online	令和3年 8月5日	国際
7	Enhanced Sampling Techniques	Yuji Sugita	CECAM CHARMM-GUI Workshop	令和3年 9月1日	国際
8	Salt Bridge Stability in the Antigen-Antibody Interface and its Impact on the Binding Affinity: Insight from Molecular Dynamics Simulations	Takefumi Yamashita	17th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering (QS symposium of ICCMSE	令和3年 9月17日	国際

			2021) ,Keynote speech, online		
9	Physical Insight into Protein Surface through High Performance Computation: Prof. Fujitani' s research and idea	Takefumi Yamashita	Stockholm-Tokyo University Partnership Online Workshop2021: Theme 4.1: Large-scale Computation in Life Science with the Memorial of Prof. Fujitani, online, Invited	令和 3 年 9 月 27 日	国際
10	In silico Drug Discovery using the Structural Biology Data and Molecular Simulation	Takatsugu Hirokawa	The 19th Awaji International Forum on Infection and Immunity	令和 3 年 9 月 28 日	国際
11	Mechanisms for conformational changes of proteins upon ligand bindings	Yuji Sugita	Polish-Korean Protein Folding Conference	令和 3 年 10 月 1 日	国際
12	Towards a more usable database: MGeND 2021 update	Mayumi Kamada, Rei Ashine, Masahiko Nakatsui, Yasushi Okuno	American Society of Human Genetics (ASHG) 2021 Annual Meeting	令和 3 年 10 月 1 日	国際
13	Development of data infrastructure and in silico prediction method to promote genomic medicine	Mayumi Kamada	The 4th International Conference on Bioinformatics, Biotechnology, and Biomedical Engineering (BioMIC)	令和 3 年 10 月 1 日	国際
14	Observing biomolecules through a lens of computer simulation	Akio Kitao (Presenter: Duy Phuoc Tran)	C2C Program Kick off symposium, online	令和 3 年 10 月 26 日	国際
15	Binding free energy calculation with dPaCS-MD/MSM	Duy Phuoc Tran, Akio Kitao	C2C Program Kick off symposium, online	令和 3 年 10 月 26 日	国際
16	Parallel computing algorithms in molecular dynamics simulations for extremely large-scale biological systems	Yuji Sugita	HITS Colloquium	令和 3 年 11 月 1 日	国際
17	High Efficient Sampling of Proteins via Adaptive Multiscale Simulations	Akio Kitao	Symposium on Computer Simulations and Cryo-ET/EM of Complex Biomolecular Systems, online	令和 3 年 11 月 19 日	国際

18	How macromolecular crowding environments affect protein-ligand binding kinetics and thermodynamics	Yuji Sugita	Pachifichem 2021	令和3年 12月1日	国際
19	Roles of hydration/dehydration for dissociation, association and stabilization of protein complexes	Akio Kitao	Pacific Basin Societies 2021, online	令和3年 12月17日	国際
20	Atomistically deciphering functional processes of transporter proteins with molecular simulations	Shigehiko Hayashi	Pacificchem2021 Symposium "Crossing the Biological Membrane: Frontiers in the Computational Study of Membrane Transport"	令和3年 12月17日	国際
21	Transport mechanisms of ions, peptides and proteins through the biological membrane	Akio Kitao	Pacific Basin Societies 2021, online	令和3年 12月18日	国際
22	Reduced efficacy of a Src kinase inhibitor in crowded protein solution	Yuji Sugita	Prof. Sihyun Ham Memorial Symposium	令和4年 1月14日	国際
23	A multiscale molecular simulation approach to assess the effects of mutations on functional activity and drug sensitivity in kinases	Araki M and Okuno Y	Spring 2022 ACS National Meeting, Session Type: Oral - Hybrid	令和4年 3月22日	国際

学会等における口頭・ポスター発表(国内学会)

No.	発表題目	発表者氏名	発表した場所 (学会名等)	発表した時期	国内 外の 別
1	SARS-CoV-2 エンドリボヌクレアーゼのオリゴマー化阻害	北尾彰朗	新学術領域「高速分子動画」Webセミナー「構造生物学・化学・計算科学を融合させたウイルス・パンデミックに対する取り組み」、オンライン開催	令和3年 4月2日	国内
2	AIがもたらす創薬研究へのインパクト	奥野恭史	第68回日本実験動物学会総会、オンライン開催	令和3年 5月20日	国内

3	スーパーコンピュータ「富岳」によるシミュレーション創薬とAI創薬	奥野恭史	第85回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム、オンライン開催	令和3年5月22日	国内
4	インシリコシミュレーションで探るタンパク質複合体の結合親和性とキネティクス	北尾彰朗	日本薬学会構造活性相関部門構造活性フォーラム2021 次期スーパーコンピュータ「富岳」時代の計算創薬、オンライン開催	令和3年6月4日	国内
5	分子動力学シミュレーションを用いた抗体設計の可能性	山下雄史	日本薬学会構造活性相関部門構造活性フォーラム2021 次期スーパーコンピュータ「富岳」時代の計算創薬・招待講演、オンライン開催	令和3年6月5日	国内
6	人工イオンチャネルの全原子分子動力学シミュレーション	中川真由子、浴本亨、山根努、村岡貴博、佐藤浩平、金原数、池口満徳	第21回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和3年6月16日	国内
7	ヒトL型アミノ酸トランスポーター1と阻害剤JPH203の結合構造予測	吉田夏海、浴本亨、山根努、鈴木登紀子、遠藤仁、池口満徳	第21回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和3年6月16日	国内
8	Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics/Markov State Modelによるタンパク質-タンパク質複合体の結合親和性評価 (Evaluation of binding affinity for protein-protein complexes by Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics/Markov State Model)	宮澤佳希、Tran Duy Phuoc、竹村和浩、北尾彰朗	第21回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和3年6月16日	国内
9	Dynamics of Close-Open State of CALB Obtained by Parallel Cascade Molecular Dynamics Simulation and The Markov State Model	Wijaya Tegar Nurwahyu、北尾彰朗	第21回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和3年6月16日	国内
10	Investigating the dissociation process and kinetic rates of DBD-p53/DNA complex by PaCS-MD and MSM	Marzouk Mohamed Sobeh、北尾彰朗	第21回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和3年6月16日	国内

11	GENESIS と CHARMM-GUI を用いたリガンド結合自由エネルギー計算	尾嶋拓、李秀榮、杉田有治	第 21 回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和 3 年 6 月 17 日	国内
12	Coarse-grained simulations of multiple intermediates along conformational transition pathways of multi-domain proteins	信夫愛、小林千草、松永康佑、杉田有治	第 21 回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和 3 年 6 月 17 日	国内
13	PPI-ColDock 法を用いた蛋白質-蛋白質複合体形成 (Unguided Binding MD of Protein-Protein Complexes by PPI-ColDock)	竹村和浩、北尾彰朗	第 21 回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和 3 年 6 月 17 日	国内
14	Benchmarking the free energy calculation of PaCS-MD/MSM	Duy Phuoc Tran、畑宏明、中矢 光、北尾彰朗	第 21 回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和 3 年 6 月 17 日	国内
15	分子シミュレーションによるタンパク質分子機能活性化の解明	林 重彦	第 21 回日本蛋白質科学会・ワークショップ「高速分子動画:タンパク質の構造機能相関研究の最先端」、オンライン開催	令和 3 年 6 月 17 日	国内
16	深層学習と溶液理論のハイブリッドアプローチで可能にするタンパク質水和分布予測	河間光祐、福島悠朔、吉留崇、池口満徳、大田雅照	第 21 回日本蛋白質学会年会、オンライン開催	令和 3 年 6 月 18 日	国内
17	AI・スーパーコンピュータによるデータ駆動型創薬の可能性	奥野恭史	第 15 回ケミカルバイオロジー、オンライン開催	令和 3 年 6 月 22 日	国内
18	ビッグデータ・AI が拓く創薬・医療の未来	奥野恭史	2021 年 KEC セミナー「AI・ビッグデータによる進化のスパイラル」、オンライン開催	令和 3 年 7 月 2 日	国内
19	スーパーコンピュータ・AI が拓く創薬・医療の未来	奥野恭史	ものづくりなでしこ第六回総会 & 一般社団法人設立祝賀会、虎ノ門ヒルズ、東京	令和 3 年 7 月 9 日	国内
20	データ駆動型創薬・医療の実現に向けて	奥野恭史	武田薬品 第4回 TDC-JX 医薬品開発の分野での AI x BIG DATA の活用、オンライン開催	令和 3 年 8 月 3 日	国内
21	ビッグデータ・人工知能が拓く医療の未来	奥野恭史	公益社団法人医療・病院管理研究協会 医療における人工知能の活	令和 3 年 8 月 27 日	国内

			用と影響、オンライン開催		
22	日本人疾患ゲノム情報統合データベース“MGeND”	奥野恭史	第 29 回日本組織適合性学会大会、オンライン開催	令和 3 年 9 月 3 日	国内
23	スーパーコンピュータ「富岳」・AI によるデータ駆動型創薬の可能性	奥野恭史	第 61 回生物物理若手の会 夏の学校、オンライン開催	令和 3 年 9 月 10 日	国内
24	FMO 計算による SARS-CoV-2 変異株 RBD-中和抗体間の相互作用解析	渡邊一樹、渡邊千鶴、本間光貴、田雨時、川嶋裕介、川下理日人、星野忠次、西田紀貴、福澤 薫、高木達也	第 65 回日本薬学会関東支部大会	令和 3 年 9 月 11 日	国内
25	「富岳x創薬」に関する事例紹介	奥野恭史	「富岳」BEGINS ~活躍の場を無数に広げて~、オンライン開催	令和 3 年 9 月 17 日	国内
26	医療におけるデジタルツール活用の展望	奥野恭史	中外製薬 京都婦人科臨床研究ミーティング、オンライン開催	令和 3 年 9 月 24 日	国内
27	スーパーコンピュータ「富岳」で目指す創薬 DX	奥野恭史	ONE NTTDATA ライフサイエンスイベント、オンライン開催	令和 3 年 9 月 29 日	国内
28	AI による薬効・ADMET 予測と企業間連合学習	奥野恭史	生命医薬情報学連合大会(IIBMP 2021)、オンライン開催	令和 3 年 9 月 29 日	国内
29	日本人疾患バリエーションデータベース MGeND	鎌田真由美、芦根 怜、中津井雅彦、奥野恭史	トーゴーの日シンポジウム 2021	令和 3 年 10 月 1 日	国内
30	MGeND update: Efforts to improve usability and continuous operation	Mayumi Kamada, Rei Ashine, Masahiko Nakatsui, Ryosuke Kojima, Yasushi Okuno	The 66th Annual Meeting of the Japan Society of Human Genetics (JSHG)	令和 3 年 10 月 1 日	国内
31	Research on Secure computation techniques for integrated and secure analysis of genomic and Real World Data	Akira Izumi, Mayumi Kamada, Ryosuke Kojima, Yasushi Okuno	The 66th Annual Meeting of the Japan Society of Human Genetics (JSHG)	令和 3 年 10 月 1 日	国内
32	特別企画①「ビッグデータ解析チーム最前線」	奥野恭史	弘前大学 COI ヘルシーエイジング・イノベーションフォーラム 2021、オンライン開催	令和 3 年 10 月 8 日	国内

33	ビッグデータ・AI が拓く医療の未来 (Future perspectives in medicine driven by big data and AI technologies)	奥野恭史	第 39 回日本骨代謝学会学術集会、オンライン開催 (事前収録)	令和 3 年 10 月 10 日	国内
34	分子モデリングおよびシミュレーションを活用したインシリコ創薬支援	広川貴次	Biojapan 2021、現地・オンライン同時開催	令和 3 年 10 月 13 日	国内
35	Inhibitor discovery targeting UHRF1 by MD simulations and biochemical analyses	Y.Shibahashi, T.Ekimoto, S.Kori, T.Yamane, K.Arita, M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
36	Comparison of molecular dynamics of cyclosporin A and cyclosporin E	A.Ito, T.Ekimoto, T.Yamane, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
37	Elucidation of binding interactions between neurotrophin receptor TrkAd5 and its binding peptide	M.Takahashi, T.Ekimoto, R.Suzuki, T.Yamane, H.Takahashi, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
38	Interaction analysis of cyclic artificial ion channel AmFF	M.Nakagawa, T.Yamane, T.Ekimoto, K.Sato, K.Kinbara, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
39	Transport simulation of human LAT1-CD98hc complex	N.Yoshida, T.Ekimoto, T.Yamane, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
40	Activation pathway of IL-2-inducible T-cell kinase explored by tree-search molecular dynamics	Y.Nakai, T.Ekimoto, T.Yamane, N.Ogawa, K.Terayama, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
41	QAEmap: Validation of low-resolution protein crystal structures using deep learning	H.Hata, M.Sato, I.Miyaguchi, A.Kashima, B.Ma, S.Matsumoto, A.Tokuhisa, M.Ohta, and M.Ikeguchi	情報計算化学生物学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
42	分子モデリングおよびシミュレーションを活用したインシリコ創薬支援	広川貴次	CBI 学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
43	COVID-19 から創薬 DX を考える (Thinking about DX in drug development from COVID-19)	奥野恭史	CBI 学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
44	FMO-based Intermolecular Interaction Energy Analysis between SARS-CoV-2 Spike Protein and Its Drug Candidate Molecules	Chiduru Watanabe, Yoshio Okiyama, Shigenori Tanaka, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma	CBI 学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内

45	Development of FMO DB and recent updates	Daisuke Takaya, Chiduru Watanabe, Kikuko Kamisaka, Yuma Handa, Kazuki Watanabe, Kaori Fukuzawa, Teruki Honma	CBI 学会 2021 年大会、オンライン開催	令和 3 年 10 月 26 日	国内
46	Characterizing the binding mechanism of Protein Kinases and their inhibitors using molecular dynamics simulations	信夫愛、李秀榮、杉田有治	BDR retreat	令和 3 年 10 月 28 日	国内
47	Mechanisms for conformational changes of proteins upon ligand bindings	杉田有治	第 59 回日本生物物理学会年会	令和 3 年 11 月 1 日	国内
48	様々な分子シミュレーションを駆使した創薬支援研究	広川貴次	日本コンピュータ化学会 2021 年秋季年会	令和 3 年 11 月 1 日	国内
49	個別化医療実現に資するデータ基盤の構築	鎌田真由美	第 26 回 国際個別化医療学会学術集会	令和 3 年 11 月 1 日	国内
50	特別企画セミナー「医療・創薬における AI・データ利活用の現状と可能性」	奥野恭史	ATR オープンハウス 2021 科学技術が描く明るい未来社会 ~大阪・関西万博に向けて~、オンライン開催	令和 3 年 11 月 11 日	国内
51	基調講演「AI・シミュレーションから見る創薬モデリティの New normal - COVID-19 を超えて」	奥野恭史	日本薬物動態学会 第 14 回ショートコース、オンライン開催 (Zoom ライブ配信)	令和 3 年 11 月 16 日	国内
52	Effect of water molecules on the activating S810L mutation of the mineralocorticoid receptor	武富啓、大田雅照、浴本亨、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
53	維持メチル化因子 UHRF1 の阻害剤探索: MD を組み合わせたインシリコスクリーニング	柴橋佑希、浴本亨、郡聡実、山根努、有田恭平、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
54	DNA メチル化制御薬の開発: 維持メチル化因子 UHRF1 の機能阻害剤のリード化合物の同定	郡聡実、柴橋佑希、浴本亨、西山敦哉、吉見早恵、長門石暁、大田雅照、津本浩平、中西真、池口満徳、有田恭平	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
55	中分子シクロスポリン A とシクロスポリン E の分子ダイナミクスの比較	伊藤朱里、浴本亨、山根努、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内

56	環状人工イオンチャネルの相互作用解析	中川真由子、山根努、浴本亨、佐藤浩平、金原数、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
57	全原子分子動力学シミュレーションを使ったヒト L 型アミノ酸トランスポーター-LAT1 のコンフォメーション変化の解析	吉田夏海、浴本亨、山根努、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
58	TS-MD による Interleukin-2-inducible T-cell kinase 活性化機構の解明	中居雪菜、浴本亨、山根努、小川直樹、寺山慧、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
59	Dscore に基づく多目的最適化による ChemTS を用いた選択的阻害剤の設計	吉澤竜哉、石田祥一、佐藤朋広、寺山慧	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 18 日	国内
60	ニューロトロフィン受容体 TrkAd5 結合ペプチドのデザイン	高橋真帆、浴本亨、鈴木里佳、山根努、高橋栄夫、池口満徳	第 49 回構造活性相関シンポジウム、オンライン開催	令和 3 年 11 月 19 日	国内
61	静電相互作用の計算コストを抑えた新規自由エネルギー摂動法の開発	尾嶋拓、杉田有治	第 59 回日本生物物理学会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 25 日	国内
62	Coarse-grained simulations of multiple intermediates along conformational transition pathways of multi-domain proteins	信夫愛、小林千草、松永康佑、杉田有治	第 59 回日本生物物理学会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 25 日	国内
63	特別講演会①「ビッグデータ・AI が拓くヘルスケアの未来」	奥野恭史	次世代ヘルスケアプロジェクト 2021 (日本能率協会)、録画配信	令和 3 年 11 月 25 日	国内
64	Molecular movie of protein association/dissociation dynamics (蛋白質結合解離ダイナミクスの分子動画)	北尾彰朗	第 59 回日本生物物理学会年会「シンポジウム原子レベルの動的構造解析が拓く生体分子機能の理解」、オンライン開催	令和 3 年 11 月 25 日	国内
65	Application of ColDock to docking of cryptic pockets	Ryunosuke Kiuchi, Kazuhiro Takemura, Akio Kitao (木内龍之介、竹村和浩、北尾彰朗)	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 25 日	国内
66	DNA bending enhances the dissociation of tetrameric p53' s core domains	Duy Phuoc Tran, Akio Kitao (北尾彰朗)	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 25 日	国内
67	Transport mechanism of human LAT1-CD98hc complex studied by all-atom MD	吉田夏海、浴本亨、山根努、池口満徳	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 26 日	国内

68	A hybrid approach of deep learning and solvation theory for predicting the hydration structures around proteins	河間光祐、福島悠朔、吉留崇、池口満徳、大田雅照	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 26 日	国内
69	Cytoskeletal component microtubules function as mechano-sensor to regulate intracellular transport	S.R.Nasrin, C.Ganser, A.M.R.Kabir, K.Sada, T.Yamashita, M.Ikeguchi, T.Uchihashi, and A.Kakugo	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 26 日	国内
70	Unguided Binding MD of Protein-Protein Complexes by PPI-ColDock	Kazuhiro Takemura, Akio Kitao (竹村和浩、北尾彰朗)	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 26 日	国内
71	AI・シミュレーションが拓く医療・創薬の未来	奥野恭史	山口大学大学院医学系研究科主催第4回シンポジウム「人工知能・システム医学による難治性疾患への新たな挑戦」、オンライン開催	令和 3 年 11 月 27 日	国内
72	抗原-抗体界面の塩橋の安定性とその役割に関する理論的研究(A theoretical study on the salt bridge stability on the antigen-antibody interface and its effect)	山下雄史	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 27 日	国内
73	Theoretical study on ion conduction of natural anion channel rhodopsin GtACR1	Takafumi Shikakura, Cheng Cheng, Shigehiko Hayashi	第 59 回日本生物物理学会年会、オンライン開催	令和 3 年 11 月 27 日	国内
74	ウィズコロナ時代の社会と情報科学	奥野恭史	第 13 回 総合科学を考えるセミナー、東北大学・オンラインによる同時開催	令和 3 年 12 月 4 日	国内
75	COVID-19 で加速する創薬デジタルトランスフォーメーション(Drug Discovery Digital Transformation Accelerated by COVID-19)	奥野恭史	第 3 回 ファーマラボ EXPO、幕張メッセ、千葉	令和 3 年 12 月 10 日	国内
76	AI 創薬の現状と未来 (Today and future of AI-based drug development)	奥野恭史	SEMI テクノロジーシンポ、東京ビッグサイト(東展示棟・会議棟)・オンラインによる同時開催	令和 3 年 12 月 17 日	国内

77	がん分子標的治療における AI・スーパーコンピュータの可能性	奥野恭史	第 25 回日本肝がん分子標的治療研究会、ホテル日航福岡(WEB 登壇)、オンライン開催	令和 4 年 1 月 8 日	国内
78	分子シミュレーションによるタンパク質分子機能活性化の理論的解明	林 重彦	自然科学研究機構・岡崎共通研究施設・計算科学研究センター・スーパーコンピュータワークショップ 2021「生体分子の構造・機能・デザインの計算科学」	令和 4 年 1 月 12 日	国内
79	Precision Medicine におけるオミクスデータ×AIの可能性	奥野恭史	トミーデジタルバイオロジー株式会社ウェビナーWEB講演、オンライン開催	令和 4 年 1 月 13 日	国内
80	スパコンを用いたタンパク質-医薬品結合親和性・結合解離パスウェイの高精度予測	荒木望嗣	第 429 回 CBI 学会研究講演会、オンライン開催	令和 4 年 1 月 21 日	国内
81	シミュレーションと機械学習の連携による材料探索	寺山慧	2021 年度ダイナミックアライアンス合同ウェブ分科会、オンライン開催	令和 4 年 2 月 2 日	国内
82	特別企画1「ビッグデータ解析チーム最前線」	奥野恭史	弘前大学 COI ヘルシーエイジング・イノベーションサミット 2022、オンライン開催	令和 4 年 2 月 4 日	国内
83	AI・ビッグデータが拓く医療の未来	奥野恭史	宮城県臨床細胞学会 共催セミナー、オンライン開催	令和 4 年 2 月 6 日	国内
84	Molecular Modeling of Kinase-Peptide Substrate Bound Structure Based on Generalized Replica Exchange with Solute Tempering	鄭誠虎、杉田有治	The 4th R-CCS International Symposium, online	令和 4 年 2 月 7 日	国内
85	Characterizing the binding mechanism of c-Src Kinase to its inhibitors using molecular dynamics simulations	信夫愛、李秀栄、杉田有治	The 4th R-CCS International Symposium, online	令和 4 年 2 月 7 日	国内
86	Introduction to HPC- and AI-driven Drug Development Platform Division	奥野恭史	The 226th R-CCS Café, online,	令和 4 年 2 月 10 日	国内

87	AIが拓くデータ駆動型医療・ヘルスケアの未来	奥野恭史	第56回糖尿病学の進歩、オンライン開催	令和4年 2月25日	国内
88	Binding Free-Energy Landscape of c-Src Kinase to its Inhibitors: Effect of Inhibitor Size and Flexibility	信夫愛、李秀榮、杉田有治	RIKEN BDR Symposium 2022	令和4年 3月1日	国内
89	創薬デジタルトランスフォーメーションに向けて	奥野恭史	第155回PIフォーラム医薬事業委員会会合、オンライン開催	令和4年 3月8日	国内
90	高血圧の個別化医療とAI	奥野恭史	第86回日本循環器学会学術集会、オンライン開催	令和4年 3月13日	国内
91	プレジジョンメディスンを加速する創薬ビッグデータ統合システムの推進	荒木望嗣	「富岳」成果創出加速プログラム研究交流会、オンライン開催	令和4年 3月14日	国内
92	結合自由エネルギーの定量的予測と分子設計のための構造モチーフ探索	山下雄史	CBI学会第432回講演会「結合自由エネルギー計算は創薬研究戦略を変えるか」	令和4年 3月17日	国内
93	AI・シミュレーションが拓く創薬・医療の未来	奥野恭史	京都大学サロンLHS2021 京都大学文理融合サロン【Life、Human、Society】、オンライン開催	令和4年 3月25日	国内
94	イクオリンの生物発光過程についての理論的研究	安東智大、林重彦	日本化学会第102春季年会	令和4年 3月25日	国内
95	「富岳」でめざす創薬イノベーション	奥野恭史	「富岳」成果創出加速プログラムシンポジウム、オンライン開催	令和4年 3月29日	国内
96	プレジジョンメディスンを加速する創薬ビッグデータ統合システムの推進	奥野恭史	「富岳」成果創出加速プログラムシンポジウム、オンライン開催	令和4年 3月29日	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

No.	掲載論文(発表題目)	発表者氏名	発表した場所(学会誌・雑誌名等)	発表した時期	国際共著(○を記入)
1	日本人疾患ゲノム情報統合データベース MGeND	鎌田真由美、中津井雅彦、奥野恭史	実験医学増刊, Vol.39 No.7	令和3年 4月20日	

2	Intermolecular Interaction Analyses on SARS-CoV-2 Spike Protein Receptor Binding Domain and Human Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor-Blocking Antibody/Peptide Using Fragment Molecular Orbital Calculation	Kazuki Watanabe, Chiduru Watanabe, Teruki Honma, Yu-Shi Tian, Yusuke Kawashima, Norihito Kawashita, Tatsuya Takagi, and Kaori Fukuzawa	J. Phys. Chem. Lett. 2021, 12, 16, 4059-4066	令和3年 4月21日	
3	Coarse-Grained Modeling of Multiple Pathways in Conformational Transitions of Multi-Domain Proteins	Ai Shinobu, Chigusa Kobayashi, Yasuhiro Matsunaga, Yuji Sugita	J. Chem. Inf. Model., 61, 2427-2443 (2021)	令和3年 5月6日	
4	Exploring ligand binding pathways on proteins using hypersound-accelerated molecular dynamics.	Araki M*, Matsumoto S, Bekker G.J, Isaka Y, Sagae Y, Kamiya N, Okuno Y*	Nature Communications. 12(1):2793, 2021	令和3年 5月14日	
5	Using molecular dynamics simulations to prioritize and understand AI-generated cell penetrating peptides	Duy Phuoc Tran, Seiichi Tada, Akiko Yumoto, Akio Kitao, Yoshihiro Ito, Takanori Uzawa, Koji Tsuda	Scientific Reports, V11(1), P10630(1-11) (2021) 【DOI: 10.1038/s41598-021-90245-z】	令和3年 5月20日	
6	AIM in Genomic Basis of Medicine: Applications	Mayumi Kamada, Yasushi Okuno	Artificial Intelligence in Medicine, Springer, Cham, pp 1-10, doi:10.1007/978-3-030-58080-3_264-1	令和3年 6月11日	
7	Regulatory Switching by Concerted Motions on the Microsecond Time Scale of the Oxygen Sensor Protein FixL	Takeo Yamawaki, Misao Mizuno, Haruto Ishikawa, Kazuhiro Takemura, Akio Kitao, Yoshitsugu Shiro, Yasuhisa Mizutani	The Journal of Physical Chemistry B, V125(25), P6847-6856 (2021) 【DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c01885】	令和3年 6月16日	
8	Mechanism of vitamin D receptor ligand-binding domain regulation studied by gREST simulations	T.Ekimoto, T.Kudo, T.Yamane, and M.Ikeguchi	Journal of Chemical Information and Modeling, Volume 61, Issue 7, Pages 3625-3637	令和3年 6月30日	
9	Structural insights from an in silico molecular docking simulation of complement component 3a receptor 1 with an antagonist	Misawa K, Sugai Y, Fujimori T, Hirokawa T.	J Mol Graph Model. 2021 Jul;106:107914. doi: 10.1016/j.jmglm.2021.107914. Epub 2021 Apr 5.	令和3年 7月	
10	Protein druggability assessment for natural products using in silico simulation: A case study with estrogen receptor	Katsuya Ohbuchi, Takatsugu Hirokawa	Gene. 2021 Jul 30;791:145726. doi: 10.1016/j.gene.2021.145726. Epub 2021 May 16.	令和3年 7月	

	and the flavonoid genistein				
11	Reduced efficacy of a Src kinase inhibitor in crowded protein solution	Kento Kasahara, Suyong Re, Grzegorz Nawrocki, Hiraku Oshima, Chiemi Mishima-Tsumagari, Yukako Miyata-Yabuki, Mutsuko Kukimoto-Niino, Isseki Yu, Mikako Shirouzu, Michael Feig, Yuji Sugita	Nature Communications, 12, 4099 (2021)	令和3年 7月2日	○
12	Effect of water molecules on the activating S810L mutation of the mineralocorticoid receptor	K.Takedomi, M.Ohta, T.Ekimoto, and M.Ikeguchi	Journal of Chemical Information and Modeling, Volume 61, Issue 7, Pages 3583-3592	令和3年 7月6日	
13	Efficient Search for Energetically Favorable Molecular Conformations against Metastable States via Gray-Box Optimizatio.	Terayama K, Sumita M, Katouda M, Tsuda K, Okuno Y	Journal of Chemical Theory and Computation, 17:5419-5427, 2021	令和3年 7月14日	
14	Optimized Hydrogen Mass Repartitioning Scheme Combined with Accurate Temperature/Pressure Evaluations for Thermodynamic and Kinetic Properties of Biological Systems	Jaewoon Jung, Kento Kasahara, Chigusa Kobayashi, Hiraku Oshima, Takaharu Mori, Yuji Sugita	J. Chem. Theory Comput, 17, 5312-5321 (2021)	令和3年 7月17日	
15	MDContactCom: a tool to identify differences of protein molecular dynamics from two MD simulation trajectories in terms of interresidue contacts	Chie Motono, Shunsuke Yanagida, Miwa Sato, Takatsugu Hirokawa	Bioinformatics, 38(1):273-274. doi: 10.1093/bioinformatics/btab538.	令和3年 7月21日	
16	Network-based pathogenicity prediction for variants of uncertain significance	Mayumi Kamada, Atsuko Takagi, Ryojoke Kojima, Yoshihisa Tanaka, Masahiko Nakatsui, Noriko Tanabe, Makoto Hirata, Teruhiko Yoshida, Yasushi Okuno	bioRxiv (https://doi.org/10.1101/2021.07.15.452566)	令和3年 8月14日	
17	The role of the half-turn in determining structures of	Steven Hayward, Akio Kitao	Journal of Structural Biology, V213(4), P107792(1-13)	令和3年 9月2日	○

	Alzheimer's A β wild-type and mutants		(2021) 【DOI: 10.1016/j.jsb.2021.107792】		
18	Special feature of COVID-19 in FMOB: Fragment molecular orbital calculations and interaction energy analysis of SARS-CoV-2 related proteins.	Kaori, Fukuzawa, Koichiro, Kato, Chiduru, Watanabe, Yusuke, Kawashima, Yuma, Handa, Ami, Yamamoto, Kazuki, Watanabe, Tatsuya, Ohyama, Kikuko, Kamisaka, Daisuke, Takaya, Teruki, Honma.	J. Chem. Inf. Model. 2021, 61, 9, 4594-4612.	令和3年 9月10日	
19	Influence of lipid bilayer on the GPCR structure: Comparison of all-atom lipid force fields	Md. Iqbal Mahmood and T. Yamashita	Bull. Chem. Soc. Jpn. 94, 2569-2574 (2021) doi:10.1246/bcsj.20210244 (BCSJ 賞受賞)	令和3年 9月25日	
20	Deformation of microtubules regulates translocation dynamics of kinesin	S.R. Nasrin, C. Ganser, S. Nishikawa, A.M.R. Kabir, K. Sada, T. Yamashita, M. Ikeguchi, T. Uchihashi, H. Hess, A. Kakugo	Sci. Adv. 7 (42), eabf2211 (2021) (プレスリリース、日刊工業新聞 10/20)	令和3年 10月13日	○
21	Binding Free Energy of Protein/Ligand Complexes Calculated using Dissociation Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics and Markov State Model	Hiroaki Hata, Duy Phuoc Tran, Mohamed Marzouk Sobeh, Akio Kitao	Biophysics and Physicobiology, V18, P305-316 (1-12) (2021) 【DOI: 10.2142/biophysico.bppb-v18.037】	令和3年 12月4日	
22	Structure-based screening combined with computational and biochemical analyses identified the inhibitor targeting the binding of DNA Ligase 1 to UHRF1	S.Kori, Y.Shibahashi, T.Ekimoto, A.Nishiyama, S.Yoshimi, K.Yamaguchi, S.Nagatoishi, M.Ohta, K.Tsumoto, M.Nakanishi, P.A.Defossez, M.Ikeguchi, and K.Arita	Bioorganic and Medicinal Chemistry, Volume 52, Article 116500	令和3年 12月15日	○
23	日本人疾患バリエーションデータベース MGeND	鎌田真由美、芦根 怜、峰晴陽平、奥野 恭史	遺伝子医学 39号 Vol.12 No.1	令和4年 1月1日	
24	Integrated approach to functional analysis of an ERBB2 variant of unknown significance	Harada Y, Sato A, Araki M, Matsumoto S, Isaka Y, Sagae Y, Abe T, Aoyagi	Cellular Oncology, 45, pages 121-134 (2022)	令和4年 1月8日	

	detected by a cancer gene panel test	Y,Sueoka E,Okuno Y, Kimura S & Sueoka-Aragane N			
25	Hybrid QM/MM free-energy evaluation of Drug-resistant mutational effect on the binding of an inhibitor Indinavir to HIV-1 protease	Masahiko Taguchi, Ryo Oyama, Masahiro Kaneso, and Shigehiko Hayashi	J. Chem. Inf. Model. 2022, 62, 5, 1328-1344	令和 4 年 2 月 25 日	
26	Dissociation Pathways of the p53 DNA Binding Domain from DNA and Critical Roles of Key Residues Elucidated by dPaCS-MD/MSM	Mohamed Marzouk Sobeh, Akio Kitao	Journal of Chemical Information and Modeling, V62(5), P1294-1307 (2022)	令和 4 年 3 月 2 日	
27	AI-Driven Synthetic Route Design Incorporated with Retrosynthesis Knowledge	S. Ishida, K. Terayama, R. Kojima, K. Takasu, Y. Okuno	Journal of Chemical Information and Modeling, 2022, 62, 6, 1357-1367	令和 4 年 3 月 8 日	
28	Inhibition of the hexamerization of SARS-CoV-2 endoribonuclease and modeling of RNA structures bound to the hexamer	Duy Phuoc Tran, Yuta Taira, Takumi Ogawa, Ryoga Misu, Yoshiki Miyazawa, Akio Kitao	Scientific Reports, V12(1), P3860 (1-15) (2022) 【DOI: 10.1038/s41598-022-07792-2】	令和 4 年 3 月 9 日	
29	Enhanced Conformational Sampling with an Adaptive Coarse-Grained Elastic Network Model Using Short-Time All-Atom Molecular Dynamics	R. Kanada*, K. Terayama*, A. Tokuhisa, S. Matsumoto, Y. Okuno	Journal of Chemical Theory and Computation, 2022, 18, 4, 2062-2074	令和 4 年 3 月 24 日	