

論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

フリガナ 氏名 (姓、名)	アシダ タケン 芦田 剛士	授与番号 乙 574 号
学位の種類	博士(理学)	授与年月日 2020 年 9 月 11 日
学位授与の要件	本学学位規程第 1 8 条第 2 項該当者 [学位規則第 4 条第 2 項]	
博士論文の題名	自由エネルギー変分原理に基づくタンパク質-リガンドの相対的な結合自由エネルギーの予測	
審査委員	(主査) 高橋 卓也 (立命館大学生命科学部教授)	菊地 武司 (立命館大学生命科学部特別任用教授 A)
	加藤 稔 (立命館大学生命科学部教授)	
論文内容の要旨	<p>創薬における重要なステップは、医薬候補化合物（リード化合物）の分子構造の設計と、疾病の基となるタンパク質に対する阻害剤としての化合物の結合能を判定することである。特に近年、化合物データベースが非常に充実しており、既存の医薬化合物から標的のなるタンパク質と強く結合するタンパク質を高速で探索する方法が求められる。精度の高い方法はすでにいくつか存在する。その代表的方法は、自由エネルギー摂動法 (FEP 法)、MM-PB(GB)/SA 法、線形相互作用エネルギー (LIE) 法などである。これらの手法は計算コストが大きい、経験的なパラメータ調整が必要であり、多数の化合物をスクリーニングするには課題があった。本論文では、これらの問題を解決することを目的として、自由エネルギー変分原理(Free Energy Variational Principle, FEVP)に基づく新しい方法を用い、計算コストが比較的安く、精度のよい新たな計算手法を提案している。本論文の第一章では、創薬における一般論と結合自由エネルギー計算における問題点がまとめられている。第二章では、FEVP に基づく相対的結合自由エネルギーの計算手法を提案している。この方法は、分子動力学計算に、FEVP 計算のための新規プロトコルを加えたものである、さらに FKBP 阻害剤の相対的結合自由エネルギー計算に適用している。FKBP は免疫抑制剤 FK506 に結合するタンパク質で、その阻害剤は FK506 による副作用（腎毒性）を抑止する。その結果、相関係数の二乗 $r^2 = 0.80$、誤差平均 0.70 kcal/mol が得られた。この結果は計算コストの大きい MM-GB/SA 法の結果より優れており、また最も計算精度の高い FEP 法の結果と同等である。トレーニングセットを用いる LIE 法の結果ともほぼ同程度である。ただこのままでは、信頼できる構造のサンプリングが少数に留まるという問題点も明らかになった。第三章では、リガンドとタンパク質結合において、リガンドに構造の揺らぎを加え、信頼できる構造を増やすという、新しいプロトコルを提案し、血液凝固タンパク質 Pim-1 キナーゼ阻害剤に適用した。その結果、相関係数の二乗 $r^2 = 0.80$、誤差平均 0.70 kcal/mol という結果が得られ、LIE 法と同程度、MM-PB/SA 法より良い結果が得られた。計算コストも 27%程度減少していることが示された。すなわち、本方法は、計算コストが小さいが、精度的には、従来の方法と同程度か優れていることが明らかとなり、今後の応用に有望であることが示された。</p>	

本論文は、創薬を目的として、タンパク質とリガンドの相対的な結合自由エネルギーを自由エネルギー変分原理(Free Energy Variational Principle, FEVP)に基づいて予測するという新しい手法を提案し、現在有効とされる方法と比較を行っているというところに特徴がある。本論文は、以下の点において評価することができる。

(1) 本方法において重要であるのは、2つのリガンド間の相対的な結合自由エネルギーを、リガンドの差異を摂動と見做して計算するというところである。その際、問題となるのは、例えば非摂動系のハミルトニアンを平均値を、摂動系のハミルトニアンを用いて計算しなければならないという点であるが、本論文では2つのタンパク質-リガンド複合体の分子動力学トラジェクトリーにおいてリガンドを入れ替え計算を行う、という方法を提案している。このような計算は他に例がなく、大いに評価できる。

(2) 提案した方法を免疫抑制剤 FK506 に結合するタンパク質である FKBP-阻害剤系に適用し、さらに自由エネルギー摂動 (FEP) 法、MM-PB(GB)/SA 法、線形相互作用エネルギー (LIE) 法といった従来法の結果と同程度の精度 (相関係数の二乗 r^2 , 誤差平均にて評価) かさらに高い精度を得ている。すなわち本方法が有効な方法であることを示しており高く評価できる。

(3) 本論文では、2つのリガンドの入れ替えの際、有効なサンプリング構造の数が極めて少なく計算の信頼性が低下するという問題があることも指摘している。この問題に対し、2つのリガンドの入れ替えを行う際、入れ替え後のリガンドに、エネルギー極小化と短い分子動力学シミュレーションを施すことにより、信頼できるサンプリング構造数が増加し、計算の信頼性を担保することが出ることが示された。このことも評価できる点である。

(4) 改善した方法を、FKBP 阻害剤と血液凝固に関する Pim-1 キナーゼ阻害剤に適用し、やはり従来法と同程度か、より高い精度の結果が得られることを示した。この点も高く評価できる。

(5) 本方法は、従来法である MM-GB(PB)-SA 法や FEP 法に比べ、同等以上の精度で計算できるにも関わらず計算コストが少なく、創薬プロセスにおいて有利であることも評価できる。

本論文の審査に関して、2020年8月7日(金)11時00分から11時55分まで、リンクスクエア演習室2BからZoomにて配信を行う形で公聴会を開催し、学位申請者による論文要旨の説明の後、審査委員は学位申請者芦田剛士に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、サンプリングと力場の関係、エントロピー効果の寄与、結合自由エネルギーの算出方法などの質問がなされたが、いずれの質問に対しても学位申請者の回答は適切なものであった。また、本論文提出後、主査および副査はそれぞれの立場から本論文の内容について評価を行った。以上により、審査委員会は一致して、本論文は本研究科の博士学位論文審査基準を満たしており、博士学位を授与するに相応しいものと判断した。

本論文の公聴会は、2020年8月7日(金)11時00分から11時55分まで、リンクスクエア演習室2BからZoomにて配信を行う形で行われた。

本学学位規程第23条および24条に基づき、学位申請者に対して学力確認のために専門科目(計算機化学、統計熱力学、機能ゲノミクス)および外国語(英語)の試験を行った。試験結果を主査、副査で検討した結果、本学大学院博士課程後期課程修了者と同等以上の学力を有することが確認された。

以上の諸点を総合し、本学学位規程第18条第2項に基づき、学位申請者に対し、博士(理学立命館大学)の学位を授与することが適当であると判断した。