

課題名(タイトル):

大規模生体分子系におけるマルチレゾリューション手法の開発

利用者氏名:

○田村 康一(1)、Jaewoon Jung(1,2)、岩橋-小林 千草(1)、松永 康佑(1)、信夫 愛(1)

理研における所属研究室名:

(1) 計算科学研究センター 粒子系生物物理研究チーム

(2) 開拓研究本部 杉田理論分子科学研究室

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

本研究課題では、機能に関わるタンパク質の大規模構造変化を明らかにすることを目的としている。そこで我々は、所属チームで開発中の分子動力学法(MD)ソフトウェア GENESIS を基盤に、反応経路解析手法などの計算手法、粗視化モデルの開発などを行ってきた。これらの手法を組み合わせ、広い構造空間をサンプリングしながら、反応経路の原子論的な解析と、更に自由エネルギープロファイルの取得といった、一連のマルチレゾリューション手法の構築を目指している。これまでの研究で、プログラムの開発、力場パラメータの精製、シミュレーションプロトコルの最適化を行った。具体的には、以下の 4 つの研究を行なった。

- 1) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析(担当:岩橋-小林、信夫)
- 2) 分子動力学計算によるヘム輸送体の化学-力学共役機構の解明(担当:田村)
- 3) Development of accurate temperature and pressure evaluation for long time MD simulation (担当:Jung)
- 4) Protein G フォールディングのデータ同化解析 (松永)

2. 具体的な利用内容、計算方法

1) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

本年度は、より複雑な反応に適用すべく、複数の反応状態間を遷移可能な粗視化モデルの開発を行った。基になる粗視化モデルは、DoME モデルを用い、全ての計算は GENESIS を用いた。

モデル開発のプロトコルを、複数の水溶性タンパク質、カルシウムイオンポンプの複数の反応ステップに対して適用した。(図 1)

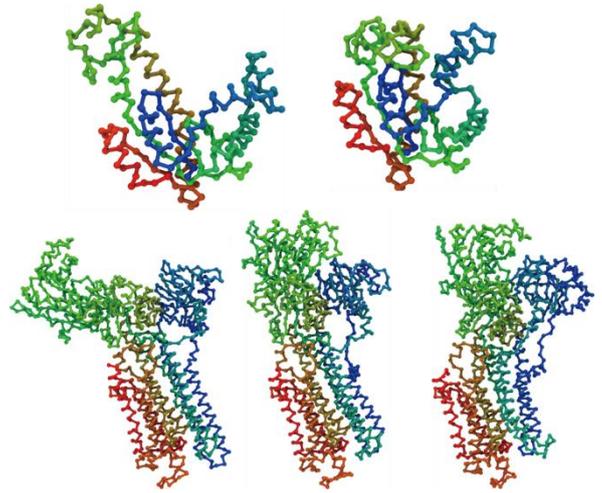


図 1 (上段) 水溶性タンパク質の例

(下段) カルシウムイオンポンプの反応ステップの例

2) 分子動力学計算によるヘム輸送体の化学-力学共役機構の解明

分子動力学法(MD)によって、ヘム ABC 輸送体の安定な閉塞構造をモデリングする。さらに、この構造と、前年度までにモデリングした外向き構造を基づく長時間(>1 μ s)の MD を実行することで、ABC 輸送体ファミリーで共有されている LSGGQ モチーフが加水分解活性を制御する仕組みを明らかにする。蛋白質と脂質膜の力場パラメータは CHARMM36 を用いる。MD は当研究室で開発している GENESIS を使用する。計算は BigWaterfall の 32 ノードを 1 単位で使用する。

3) Development of accurate temperature and pressure evaluation for long time MD simulation

In this fiscal year, we developed accurate temperature and pressure evaluation enabling long time MD simulations with large time step up to 5 fs. In MD integration, two kinds of kinetic energy can be defined: full- and half-time step kinetic energies. Even with small time step such as 2 fs, half-time

step kinetic energy should be used in pressure evaluation. To enable very large time step like 5 fs, we develop new temperature by combining the two kinetic energies. Several tests were performed on Hokusai machines including BigWaterfall and GreatWave for proteins and lipids.

4) Protein G フォールディングのデータ同化解析

去年までに Adaptive sampling を用いることで効率的に Protein G の構造空間をサンプルすることができた。今年度は、このデータからフォールディングダイナミクスを表現するモデル(マルコフ状態モデル)を構築し、計測データを取り入れてデータ同化の手法を用いてモデリングを行った。

3. 結果

1) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

複数の水溶性タンパク質において、反応状態間を遷移するモデルの構築に成功した。単純に大規模な構造変化が確認できただけでなく、モデルパラメータの精製を通して、そのタンパク質の構造変化が揺らぎの延長上にあるものか、他の運動の要因があるものかを分類できることが明らかとなった。

2) 分子動力学計算によるヘム輸送体の化学-力学共役機構の解明

ターゲット MD 法によって、ヘム輸送体の閉塞構造をモデリングした。外力をかける原子を 2 通り試し、安定な構造を得ることができた(図 2)。

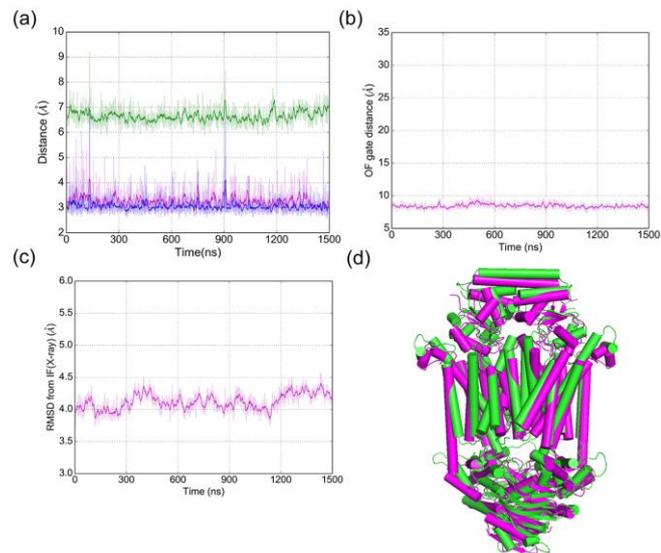


図 2. ヘム輸送体の閉塞構造の MD シミュレーション。(a) 細胞内側ゲ-

ートを構成する原子(Leu110 と Asn108)間の距離。(b) 細胞外側ゲートを構成する原子(Leu203)間距離。(c) X 線結晶構造に対する C α -RMSD。(d) 類似のビタミン輸送体(紫)に、モデリングしたヘム輸送体(緑)を重ねて表示した。

さらに、閉塞構造の MD と、前年度にモデリングした外向き構造の MD のトラジェクトリをそれぞれ解析したところ、ABC 輸送体に共通の LSGGQ モチーフの Ser 残基が、閉塞構造では頻繁に ATP から解離するが、外向き構造では ATP に完全に結合していた。この Ser 残基のフリッピングは、タンパク質全体の大域的構造変化と共役していることがわかった。

3) Development of accurate temperature and pressure evaluation for long time MD simulation

From various tests on BigWaterfall and GreatWave machines, we found that our new evaluation of temperature and pressure makes the consistent results irrespective of the time step while exiting ways do not (Figure 3).

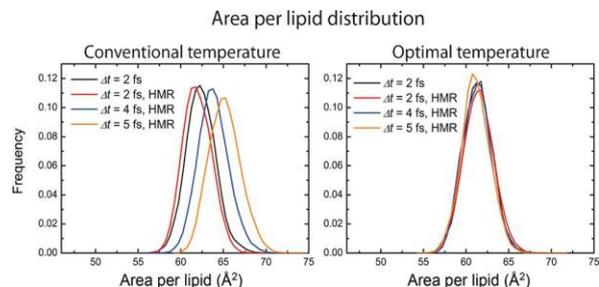


Figure 3. Area per lipid distribution using the conventional (left) and new (right) temperature evaluations.

を近似する。マルコフ性をよく満たす空間を定義するために、まずシミュレーションデータから time structure-based Independent Component Analysis (tICA)を用いて座標を抽出した。その空間でクラスタリングを行い遷移確率を求めた結果、フォールディング・アンフォールディングを遅い運動(遷移確率行列の小さな固有値)として持つモデルを構築することができた(図 4)。

しかし一方で、その後実験データから遷移確率を補正しようとしたところ、遷移確率のパラメータ数が多すぎることが一因となって、過学習してしまう傾向が見られた。現在これを解決するためによりロバストな推定手法を考案中である。

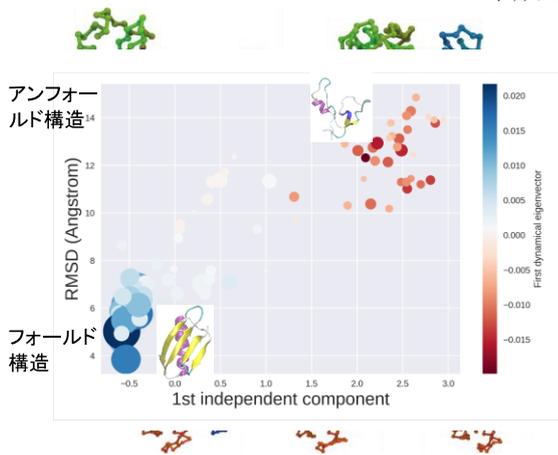


図 4 マルコフ状態モデルの構築結果。丸が各状態を示す。丸のサイズが固有値、色が固有ベクトル成分に対

4. まとめ

1) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

本年度は、複雑な構造変化を記述する粗視化モデルを開発し、複数の水溶性タンパク質やカルシウムイオンポンプの反応過程に適用させた。その結果、これらの構造変化と揺らぎとの関係について解析を行った。

2) 分子動力学計算によるヘム輸送体の化学-力学共役機構の解明

今年度は、ヘム ABC 輸送体の化学-力学共役機構を解明し、詳細が書かれた論文をプレプリントサーバーである bioRxiv に投稿した。

3) Development of accurate temperature and pressure evaluation for long time MD simulation

In the Fiscal year, we developed accurate MD integration scheme with accurate temperature and pressure evaluations

4) Protein G フォールディングのデータ同化解析

本年度は、シミュレーションデータからマルコフ性が成り立つ座標し、マルコフ状態モデルを構築することができた。一方で実験データを同化させることについては、過学習の課題が見られた。

5. 今後の計画・展望

BigWaterfall で高速に動作する GENESIS により、巨大な

系 (~360,000 原子) の全原子モデリングが容易になりつつあることを示せた。また、今回開発したモデル構築手法を自動化し、様々なタンパク質の構造変化に適用可能にし、GENESIS のツールの一つとして公開を目指す。今後、過学習を避けながら実験データを同化させるために、状態数の削減やよりロバストなパラメータ推定法の開発に取り組む。来年度も引き続き、高速な MD エンジンの開発と、巨大で複雑な生体系の構造機能解析を行い、実験に先駆けた知見を得ることを目指す。

平成 30 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

1. J. Jung, C. Kobayashi, and Y. Sugita, “Kinetic energy definition in velocity Verlet integration for accurate pressure evaluation”, *The Journal of Chemical Physics* **148**, 164109 (11 pages) (2018) 査読有り
2. T. Mori, M. Kulik, O. Miyashita, J. Jung, F. Tama, and Y. Sugita, “Acceleration of cryo-EM flexible fitting for large biomolecular systems by efficient space partitioning”, *Structure*, **27**, 161-174 (2019) 査読有り
3. J. Jung, C. Kobayashi, and Y. Sugita, “Optimal temperature evaluation in molecular dynamics simulations with a large time step”, *Journal of Chemical Theory Computation* **15**, 84-94 (2019) 査読有り
4. 松永康佑 “全原子分子動力学シミュレーションが解き明かす多剤排出トランスポーターAcrB の薬剤排出機構” *生物物理* **59** 巻 2 号, (2019 掲載決定) 査読有り
5. H. Fujisaki, K. Moritsugu, and Y. Matsunaga “Exploring Configuration Space and Path Space of Biomolecules Using Enhanced Sampling Techniques—Searching for Mechanism and Kinetics of Biomolecular Functions”, *International Journal of Molecular Sciences* **19**, 3177 (19 pages) (2018) 査読有り
6. Y. Matsunaga, and Y. Sugita, “Linking time-series of single-molecule experiments with molecular dynamics simulations by machine learning”, *eLife* **7**, e32668 (19 pages) (2018) 査読有り
7. Y. Matsunaga, and Y. Sugita, “Refining Markov State Models for conformational dynamics using ensemble-averaged data and time-series trajectories”, *The Journal of Chemical Physics* **148**, 241731 (7 pages) (2018) 査読有り
8. 松永康佑 “スーパーコンピューター「京」によって解明された多剤排出トランスポーターの薬剤排出機構” *バイオサイエンスとインダストリー* **76**, 410-412 (2018) 査読無し
9. K. Tamura, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Sugita, “Chemo-mechanical coupling in the transport cycle of a type II ABC transporter”, *bioRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/471920> (2018) 査読無し

【口頭発表】

1. Jaewoon Jung, Chigusa Kobayashi, and Yuji Sugita, “Accurate temperature evaluation in molecular dynamics for long time simulations of biological systems with large time step”, The 56th Annual Meeting of The Biophysical Society of Japan, Okayama University, Sep. 15-17, 2018
2. Jaewoon Jung, Chigusa Kobayashi, and Yuji Sugita, “Optimal temperature evaluation in MD with a large time step”, 第 32 回分子シミュレーション討論会, 産業技術総合研究所つくば中央 Nov. 28-30, 2018
3. 松永康佑 “全原子分子動力学シミュレーションで解き明かす多剤排出トランスポーターAcrB の薬剤排出機構” 研究会「化学反応のポテンシャル曲面とダイナミクス」理化学研究所計算科学研究センター 2019 年 3 月 22 日
4. 松永康佑 “ストリング法による多剤排出トランスポーターAcrB の機能ダイナミクス解析” 日本化学会 第 99 春季年会 (2019) イブニングセッション「複雑系の分子科学—集まって立ち現れる分子機能の理解と設計」甲南大学 2019 年 3 月 16 日
5. Y. Matsunaga “Energetics and conformational pathways of functional rotation in the multidrug transporter AcrB” 第 56 回日本生物物理学会年会 岡山大学 2018 年 9 月 15 日-17 日

【ポスター発表】

1. 小林千草、松永康佑、Jaewoon Jung、杉田有治 “Molecular dynamics simulations for dissociation of ligands in SR-Ca²⁺-ATPase” 第 56 回日本生物物理学会年会 2018/09/15 岡山大学、岡山市
2. Jaewoon Jung, Chigusa Kobayashi, Takaharu Mori, and Yuji Sugita, “GENESIS developments for high performance computation”, The 1st R-CCS International Symposium, Kobe, February 18-19, 2019
3. Jaewoon Jung, Chigusa Kobayashi, and Yuji Sugita, “Optimal temperature and pressure evaluation in molecular dynamics simulations with a large time step”, 63rd Annual meeting of the biophysical society, Baltimore, Maryland, March 2-6, 2019

平成 30 年度 利用報告書

4. Koichi Tamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, Yuji Sugita, “Computational modeling of the outward-facing form and the occluded intermediate of a heme importer with bound nucleotides”, the 256th ACS National Meeting & Exposition – Nanoscience, Nanotechnology and Beyond, COMP 329, Boston MA, 2018 年 8 月
5. Koichi Tamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, Yuji Sugita, “Deciphering chemomechanical coupling mechanism of a heme importer with molecular simulations”, 第 56 回生物物理学会年会, 3Pos017, 岡山, 2018 年 9 月