

課題名 (タイトル) :

タンパク質・核酸など生体高分子の分子シミュレーション

利用者氏名 : ○木寺 詔紀、寺田 透、福田 育夫、藤崎 弘士、森次 圭

所属 : 社会知創成事業 次世代計算科学研究開発プログラム

次世代生命体統合シミュレーション研究推進グループ 分子スケール研究開発チーム

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

本研究チームでは、次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムの分子スケール研究の一環として、生体分子 (タンパク質等) のシミュレーション法とそのソフトウェアの開発研究 (コード名: $\mu 2lib$)、を行ってきた。特に、全原子シミュレーション法と疎視化モデルとの連成手法を新規開発することを目指した。プロジェクトでの研究目的は以下の 2 点である:

- ・次世代スーパーコンピュータ「京」の全計算機資源を用いて高効率で計算することができる
- ・それによって従来の分子シミュレーションの方法ではできなかったレベルの計算をすることができる

生命活動をタンパク質や核酸などの生体分子のレベルからシミュレーションによって解こうという分野における問題は、その巨大な系の大きさと生命現象の時間スケールの大きさである。その大きさのために、全原子シミュレーション法には巨大な計算機資源を用いても多くの場合、生命現象の解明が可能な系の大きさと計算時間の長さを実現するシミュレーションは不可能である。そこで不可避免的に疎視化モデルの利用が求められるが、そこには精度の制約が生まれる。従って、その両者の利点を併せ持つ連成計算 (全原子シミュレーション法の精度と疎視化モデルの効率) が必要となる。また、数十万コアという並列計算を実現するためには、不可避免的に弱連成のアルゴリズムであることが要請される。これらを可能とするため、新規アルゴリズムである MultiScale Enhanced Sampling (MSES) 法を開発した。

MSES 法は、全原子モデルと低自由度の疎視化モデルによる連成シミュレーションである。疎視化モデルのポテンシャルが規定する運動空間に全原子モデルをドライブし、全原子モデルと疎視化モデルとを接続するバネ強度を 0 に外挿することで、全原子モデルの空

間での分布関数を得ることができる。バネ強度の 0 への外挿は、バネ強度を変数としたハミルトニアンレプリカ交換法によって行う。従って、MSES 法はバネ強度の異なる多数のコピーを用いた弱連成のシミュレーションであり、高度の並列計算が可能である。レプリカ交換が疎視化モデルの自由度により決まることから、通常温度レプリカ交換法と異なり全原子モデルの自由度の制限なく巨大系のサンプリングが実行可能となる画期的な方法である。昨年度までの研究において、 $\mu 2lib$ への MSES 法の実装および高度化は完了している。まずテストケースとして小タンパク質のフォールディング過程に適用することで方法論の妥当性を示した。また、従来の拡張アンサンブル法では難しかった、天然変性タンパク質である sortase の (溶媒水を取り入れた) 生理学的環境下での構造アンサンブル計算を実現し、sortase 変性領域の折れたたみ過程やシグナルペプチド結合におけるカルシウムイオンの働きといった生物化学的な知見を得ることができた。

2. 具体的な利用内容、計算方法

本研究チームでは、次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムの一環としてマルチコピー・マルチスケール分子動力学シミュレーションのためのクラスライブラリ ($\mu 2lib$) の開発を行っており、その高速化に向けたコード改良を行った。また、アプリケーションとして、前述の新規アルゴリズム (MSES 法) を $\mu 2lib$ に実装した。マルチコピーシミュレーションでは、異なるパラメータを与えた数十の系のコピー (レプリカ) を発生させ、それらの間の相互作用を考慮しながら並行してシミュレーションを行う。各コピーについて数十のコア、合計数百のコアを用いた並列計算を flat MPI、または OpenMP と組み合わせたハイブリッド並列により実行した。本年度は下記のようなアプリケーションに適用し、これらの方法の妥当性と物理

化学的意味づけを評価した。

3. 結果

(1) タンパク質複合体形成シミュレーション

昨年度に引き続き、タンパク質複合体のモデルとして数多くの実験・計算をとおして研究がすすんでいる *barnase-barster* 複合体に MSES 法を適用した。2つのタンパク質合わせて 194 残基、系としては 3 万原子程度であるが、タンパク質側鎖を含めた全原子モデルにより溶媒水を含めた生理学的環境下でのタンパク質間相互作用過程をシミュレートすることは MSES 法によって初めて可能になった試みである。今年度の計算では、全原子力場として最新のもの(Amber 99SBildn)を用いて計算し直すことにより、後述の複合体形成に決定的な役割をもつ水素結合ネットワークを再現することができた。

粗視化モデル (CG) の自由度としてはアミノ酸の $C\alpha$ 原子を考え、粗視化モデル力場としては複合体構造を安定状態とするような弾性ネットワークモデルを用いた。全原子モデル (MM) と CG のばね強度を変えたテスト計算により、12 個のレプリカ計算により十分な構造サンプリングができることを確認した (図 1)。1 レプリカに 16 コアを用い、12 x 16 = 192 コアでのシミュレーションを 100 ns にかけて実行した。

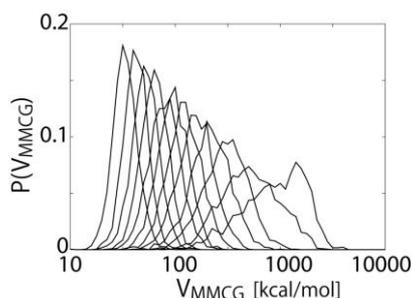


図 1: *barnase-barster* 複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での各レプリカの $P(V_{MMCG})$ 。

得られた構造アンサンブルから、*barnase* と *barster* 二つの重心間距離と相対的な回転角を軸として自由エネルギー地形を計算した (図 2)。その結果、両者が離れた構造から複合体近傍に向けて特定のパスを経ることなく downhill なエネルギー面を滑り降りるように近づくことによりまず遷移複合体ができることが分かった。また、界面で形成される水素結合について複合体形成にいたる全構造アンサンブルにわたって調べた結

果、完全な複合体構造が形成されるために必須の水素結合ネットワークの存在を示した。その水素結合ネットワークは界面中央部にある残基の側鎖が水素結合により複雑に結びついた構造をとっており、その形成が複合体構造への遷移を促すことが分かった (図 3)。

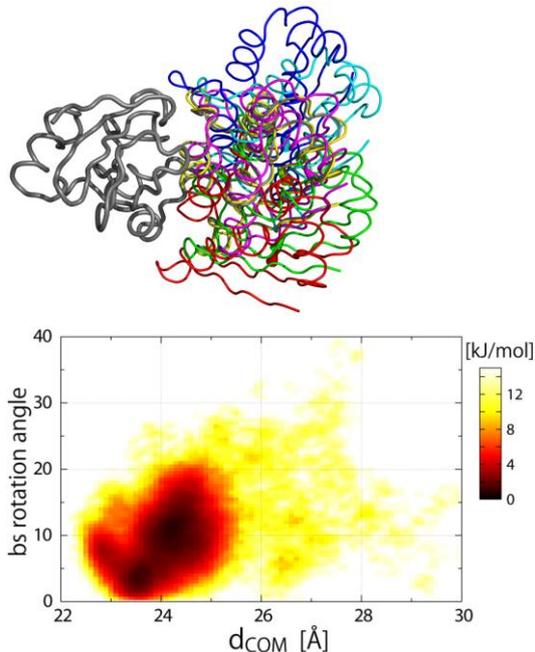


図 2: *barnase-barster* 複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法で得られた構造と自由エネルギー地形。

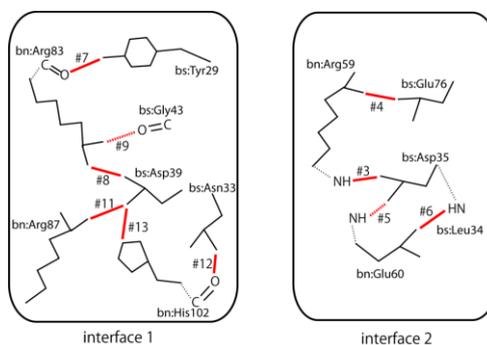


図 3: *barnase-barster* 複合体形成に必須の水素結合ネットワーク

さらに、前述の自由エネルギー面と同じ軸においてタンパク質間の接触原子ペア数と水和水の数を計算したところ、複合体に近づくにつれて原子間相互作用が形成され、それに従い水和水が離れる脱水和が起こることがわかった。また、側鎖二面角の分布の変化を見ることにより、複合体形成において側鎖分子がパッキングされる過程を原子レベルで明らかにした (図 4)。

これらのシミュレーション結果について現在論文にまとめており、今年度中に投稿する予定である。

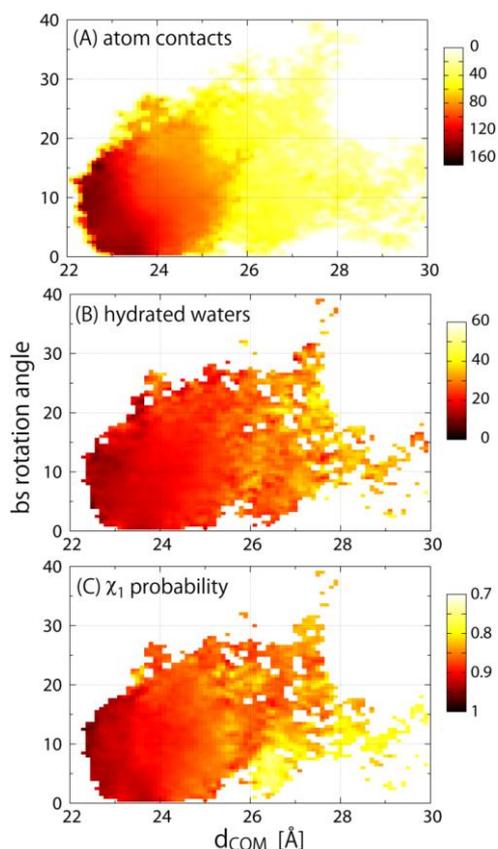


図 4: barnase-barstar 複合体形成における接触原子ペア(a)と水と水の数(b)、側鎖二面角の分布(c)。

(2) 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体の構造空間探索

脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体は次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムにおけるターゲット分子の一つで、数万原子の 8 つのドメインからなる巨大分子である。ダイナミックな構造変化とカップルして結合する脂肪酸を複数の活性部位に移動させることにより効率的に脂肪酸の代謝を行うと考えられており、その構造変化パスとパスに沿った脂肪酸の結合様式を見るのが研究の目的である。

X 線結晶解析により解かれた上下 8 つのドメインが対称 (Form 1) と非対称 (Form 2) の二つの構造間の構造変化をシミュレートするため、二構造を安定状態としてその間をなめらかに遷移するような粗視化モデル (Mixed elastic network model) 力場を構築した。全原子モデルを粗視化モデルによりドライブするには MM と CG 間の拘束が必要であるが、拘束エネルギーが大きすぎるとレプリカ交換 MSES 法において多くのレプリカが必要になり、サンプリングの収束に時間がかかる。そのため、MM/CG 拘束は α サブユニットと β サブユニットの 6 つの各ドメイン間の $C\alpha$ 原子ペアのう

ちで原子間距離が小さなもののみにかけた。全原子モデル (MM) と CG のばね強度を変えたテスト計算により、32 のレプリカ計算により十分な構造サンプリングができることを確認した (図 5)。

ハミルトニアンレプリカ MSES 法による構造サンプリングは現在のところ 20 ns しか計算しておらずまだ収束には至っていないが、multienzyme complex の大きな構造変化の一端は見る事ができた (図 6)。

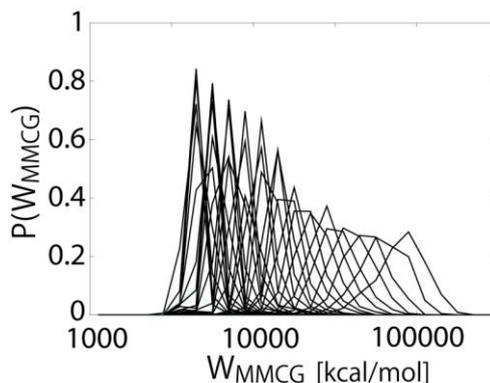


図 5: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での計 32 レプリカの $P(W_{MMCG})$ 。

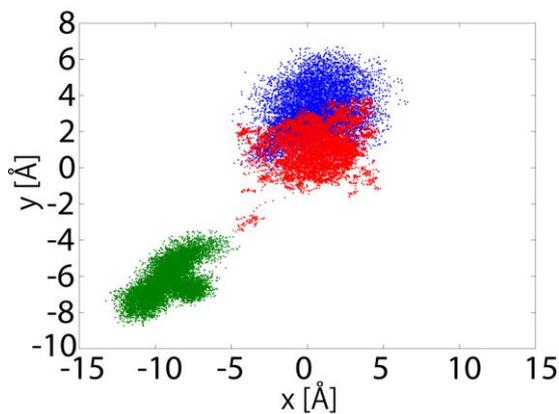


図 6: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での構造分布。Form 1 と Form 2 から始めた平衡 MD (100 ns) の結果と重ね合わせた。

4. まとめ

次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムの一環としてマルチコピー・マルチスケール分子動力学シミュレーションのためのクラスライブラリ ($\mu 2lib$) の開発を行い、そのアプリケーションとして MSES 法をタンパク質複合体と巨大タンパク質分子に適用した。系の自由度に応じて構造探索に必要なシミュレーション時間は指数関数的に増大するが、新規ア

ルゴリズムとマルチコピー・マルチスケール手法の組み合わせにより初めて可能になったシミュレーション成果であるといえる。

barnase-barster 複合体の結果は、複合体構造まわりの広範囲の全原子サンプリングを溶媒水を含めた系で行い、水素結合や水和水といった全原子構造でしかわからない観点から複合体形成過程を解明した点で、非常に独創的な研究結果であると言える。また、単純な平衡 MD できさえ時間がかかるような巨大な系である脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体への適用は非常にチャレンジングな試みである。

5. 今後の計画・展望

MSES 法のアプリケーションとして、引き続き脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体の構造サンプリングを行い、2 構造での平衡 MD の結果を参照しながらその構造変化パスとパスに沿った脂肪酸の結合様式を観測し、脂肪酸を複数の活性部位に移動させることにより効率的に脂肪酸を代謝する過程を原子レベルで明らかにする。また、実験データの計算機手法による解析を目指した研究課題として、NMR の常磁性緩和促進実験データから MSES 法により遭遇複合体構造を原子レベルで明らかにする応用研究を進めていく。

平成 24 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

1. Tohru Terada and Akinori Kidera, "Comparative molecular dynamics simulations study of crystal environment effect on protein structure", *Journal of Physical Chemistry B*, 116, 6810 (2012).
2. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera, "Disorder-to-order transition of an intrinsically disordered protein revealed by multiscale enhanced sampling", *Journal of the American Chemical Society*, 134, 7094 (2012).
3. Yasuhiro Matsunaga, Hiroshi Fujisaki, Tohru Terada, Tadaomi Furuta, Kei. Moritsugu and Akinori Kidera, "Minimum free energy path of ligand-induced transition in adenylate kinase", *PLoS Computational Biology*, 8, e1002555 (2012).
4. Motoyuki Shiga and Hiroshi Fujisaki, "Quantum generalization of intrinsic reaction coordinate using path integral centroid coordinates", *J. Chem. Phys.*, 136, 184103 (2012).
5. Ikuo Fukuda, Narutoshi Kamiya, Yasushige Yonezawa, and Haruki Nakamura, "Simple and Accurate Scheme to Compute Electrostatic Interaction: Zero-dipole Summation Technique for Molecular System and Application to Bulk Water" *J. Chem. Phys.* **137**, 054314 (2012).
6. Ikuo Fukuda and Haruki Nakamura, "Non-Ewald methods: Theory and Applications to Molecular Systems," *Biophys. Rev.* **4**, 161-170 (2012).

【国際会議などの予稿集、proceeding】

該当なし

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 木寺詔紀
"Multiscale simulation studies on protein structural changes upon ligand binding"
日英ワークショップ 英国大使館 東京 2012 年 12 月
2. 木寺詔紀
「MM/CG プログラム p2-lib によるタンパク質の大規模サンプリング」
ISLiM ソフトウェア研究開発報告会 東大武田ホール 東京 2013 年 1 月
3. Hiroshi Fujisaki, Hiroto Kikuchi, Toshiya Takami, Mikito Toda,
"Quantum dynamics algorithm using molecular tier model III"
日本物理学会 秋季大会 (横浜国立大) 2012 年 9 月
4. 藤崎弘士, 松永康佑, 木寺詔紀
「Onsager-Machlup 作用を用いたペプチドのパスサンプリング」
日本物理学会 年会 (広島大) 2013 年 3 月

【その他】

該当なし