

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 : ○森次 圭、福田 育夫

所属 : 情報基盤センター・計算工学応用開発ユニット

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

本研究チームは平成 24 年度までの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・分子スケール研究において、タンパク質を中心とした生体分子のシミュレーション法とそのソフトウェアの研究開発 (コード名: $\mu^2\text{lib}$, 公開サイト: <http://www.mu2lib.org>) を行ってきた。特に、全原子シミュレーションと疎視化モデルシミュレーション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、一つの応用研究として、利用者らは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、通常の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、 $\mu^2\text{lib}$ への MSES 法の実装および高度化は完了している。また応用研究としては、ミニタンパク質シニョリンのフォールディング過程だけではなく、天然変性タンパク質 sortase の網羅的構造探索や barnase-barster 複合体の自由エネルギー地形といった従来の拡張アンサンブル法では難しかった大規模系への適用も進めてきた。

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 ($\mu^2\text{lib}$) の開発を継続しており、今年度は MSES 法を拡張した手法の開発を進め $\mu^2\text{lib}$ に実装した。 $\mu^2\text{lib}$ ではマルチコピーシミュレーションを行っており、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実行する。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行なう。今年度は下記のような応用研究を行い、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) MSES 拡張手法の開発

MSES 法を巨大タンパク質のような広範な構造探索を必要とする系に適用するにあたり、全原子モデル

(MM)の運動を効率的に高速化できるかという問題が生じる。昨年度の研究では、複数の CG モデルを用いた手法の拡張を試み、多数の CG で連成系により多様な動的摂動を加えることにより局所構造にトラップされた MM をより効率的に引っ張る手法を開発した。今年度は、更なる拡張として、断熱分離 (adiabatic separation) の考えに基づき粗視化モデルを運動エネルギー的に全原子モデルから切り離すことで粗視化モデルに高い運動エネルギーを与える近似手法を適用した。この拡張法では、Gibbs サンプリングに基づき CG シミュレーションを MM によらず単独で実行するため、従来法では時間を要した CG パラメタ決定が容易になる点においても、大規模系への応用に適していると考えられる。

この拡張法を溶媒中シニョリンのフォールディング過程に適用し、手法の妥当性を示した。折れ畳み構造からの RMSD 分布を見るとほぼ同じアンサンブルを生成することから、この近似手法でも十分な精度で正しい構造分布が得られることを示した (図 1)。また、CG 質量が小さいような近似適用範囲外の場合には、得られる分布も正しくないことを実証した。

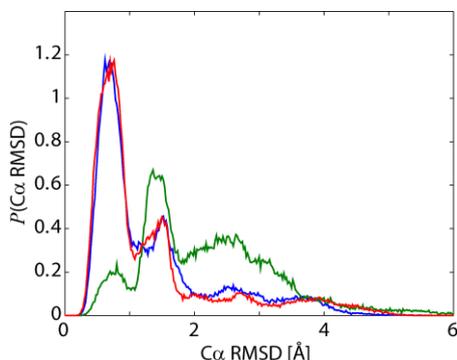


図 1: シニョリン折れ畳み構造からの RMSD 分布。従来法 (青) と拡張法 (赤、 $m_{CG} = 20000$)。緑は拡張法で $m_{CG} = 200$ の場合。

(2) グルタミン結合タンパク質(GlnBP)の全原子構造サンプリング

タンパク質への低分子化合物 (リガンド) の結合は、代謝系や細胞内・外のシグナル伝達系に数多くみられる、生命活動の特徴づける重要な化学過程の 1 つである。タンパク質とリガンドの複合体の立体構造は数多く決定されているが、そのリガンドがタンパク質に結合する過程に関する知見は、実験の困難さから、ほとんど得られていない。また、分子シミュレーション研究でも、タンパク質の立体構造変化を伴うようなリガンド結合過程に関する知見は得られていない。

本研究では、リガンド結合過程の物理化学的理解を目指し、リガンド結合タンパク質のモデルとして実験・理論で用いられている GlnBP に対して MSES 法を適用し全原子構造探索を行った。粗視化力場としては、タンパク質・リガンド間相互作用に対してはリガンド分子からの距離に依存して結合構造に引力を与えるような Lennard-Jones 型ポテンシャルを、タンパク質構造に対してはリガンド結合・非結合の 2 構造をつないだ double-well 弾性ネットワークモデルを適用した。昨年度に引き続き 16 個のレプリカを用いたハミルトニアンレプリカ交換 MSES を実行し、計 250 ns のプロダクトランを完遂した。

得られた全原子トラジェクトリについてまず GlnBP の結合構造からの RMSD と GlnBP/グルタミン間の native な原子コンタクトの割合 (Q) を計算した結果、タンパク質構造・リガンド相互作用の両方に対して従来の brute-force MD に比べて広範なサンプリングが実現されることが示された。2次元の自由エネルギー地形を見ると、概してリガンド結合構造を中心とした downhill なランドスケープであることがわかる (図 2)。

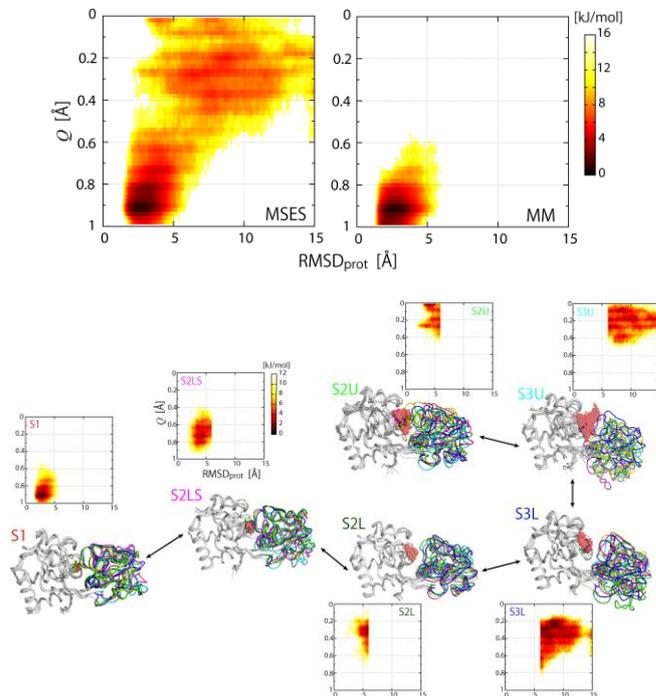


図 2: GlnBP の MSES シミュレーション。上図は GlnBP 構造変化とグルタミン相互作用を軸にした自由エネルギー地形。下図は構造クラスタリングで得られた 6 つの状態とその代表構造。

さらに、得られた構造アンサンブルについてタンパク質構造・リガンド相互作用を軸としてクラスタリングを実行した結果、図 2 のような 6 つの状態に分けられることがわかった。つまり、 $S3U \rightarrow S3L \rightarrow S2L \rightarrow$

S2LS → S1 のようなリガンドが先に左側のドメインに結合してから GlnBP の構造が閉じるといったリガンド結合過程のパスウェイが得られると同時に、GlnBP の構造が閉じつつもリガンド相互作用が正しくない S2U の状態が dead-end であることを見出した。また、S2L と S2LS の間に rate-limiting な状態変化があり、その間に脱水しつつリガンド相互作用が完成することを明らかにした。

(3) イオンチャネル共役型グルタミン酸受容体(iGluR)への MSES 法の適用

iGluR はグルタミン酸結合を介してイオンチャネルの開閉を制御しており、中枢神経系における記憶や学習等の脳の高次機能に重要な役割を果たしている。グルタミン酸結合・非結合の X 線結晶構造が解かれており、GlnBP よりサイズが大きい類似した動的構造をしている。本研究では、MSES 法により広範な全原子構造サンプリングを iGluR のグルタミン酸結合構造近傍で行うことで、グルタミン酸の結合解離経路を明らかにし、その分子認識機構を原子レベルで理解することを目的とした。

粗視化力場は GlnBP と同様に構築し、ハミルトニアンレプリカ交換 MSES に必要なパラメタ決定のためのテスト計算を行なった。16 個のレプリカを用いたハミルトニアンレプリカ交換 MSES を実行し、現在のところ 100 ns のプロダクトランを終えている。

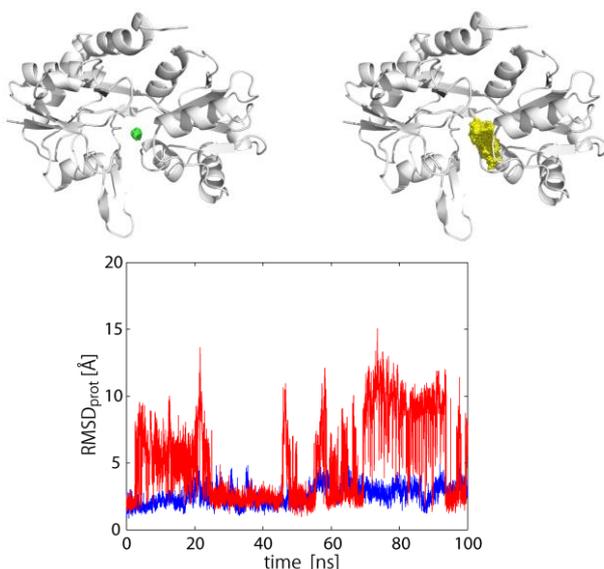


図 3 : iGluR の MSES シミュレーション。上図は左のドメインで固定したときのグルタミン酸の分布 (eqMD: 緑、MSES: 黄)。下図は結合構造からの RMSD (eqMD: 青、MSES: 赤)。

得られた全原子トラジェクトリを観察した結果、従来の brute-force MD に比べて広範なサンプリングが実現されることが示された(図 3)。ただし、解析をいくつかの指標で行ったところ、サンプリングシミュレーションが十分に収束していないことが確かめられた。今後はシミュレーションを継続して行い、リガンド相互作用とタンパク質立体構造を反応座標とした自由エネルギー地形の計算し、準安定状態や遭遇複合体に注目したりリガンド結合過程の網羅的解析を行う予定である。

(4) EIN-HPr 複合体の形成過程シミュレーション

常磁性緩和促進(PRE)を始めとした分光実験で遭遇複合体を含めた構造解析が進んでいる EIN-HPr 複合体タンパク質複合体に MSES 法を適用し、蛋白質が遭遇してから遭遇複合体を経て特異的複合体を形成する過程を解析した。粗視化モデル (CG) の自由度としてはアミノ酸の C α 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 20 個のハミルトニアンレプリカ交換を 100 ns 実行することにより十分な全原子構造サンプリングを実現した。

複数のグループを用いた PRE データを再現するには一つの局所的な安定構造だけでは不十分であり、MSES 法により得られた広範な構造アンサンブルが必須であることが示された。このことは、EIN と HPr の遭遇から特異的複合体形成までの過程がこのシミュレーションにより全原子レベルでよくサンプリングできたことを意味している。構造アンサンブルの解析の結果、EIN-HPr 相互作用過程において、剛体的な HPr の運動が EIN の接触面上の静電相互作用を仲立ちとした一次的な動きとして記述されることがわかった (図 4)。つまり、遭遇から特異的複合体形成に至る過程が、比較的ゆるやかな自由エネルギー面に沿って静電相互作用のフレームをシフトさせつつ最適な相補的構造を探索する運動として説明できることを明らかにした。またその過程において、原子間相互作用の形成に伴う脱水や比較的柔軟な EIN の内部運動が重要な役割を果たすことが示唆された。

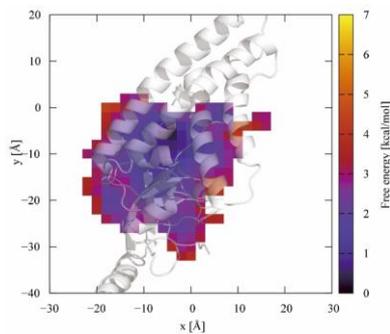


図 4: EIN-HPPr 複合体形成過程の自由エネルギー地形。EIN を固定したときの HPPr 分子の重心位置を計算した。

4. まとめと今後の計画・展望

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 $\mu^2\text{lib}$ の開発を進め、応用研究として MSES 法を GlnBP や iGluR のリガンド結合過程の解析、及び HPPr-EIN 複合体形成過程に適用した。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。GlnBP、HPPr-EIN 複合体については、実験との関連性についても検討しつつ、結果を論文にまとめていきたい。

来年度は、iGluR のシミュレーションを引き続き行う。グルタミン酸の基質への結合経路を網羅的に探索し、原子コンタクトの形成や脱水和といったリガンド結合過程の分子メカニズムの理解したうえで、構造探索で得られた遷移・中間状態でのリガンド結合様式を原子レベルで比較することで、アゴニストとの結合様式がマクロな解離定数にどう効くか、また、アンタゴニストの構造がリガンド結合経路のどこを阻害しているか、といった観点から解析をすすめる。また、新規の研究対象として、プロテインキナーゼの全原子構造探索を行う。キナーゼの活性型・不活性型間の構造変化をシミュレートし、自己リン酸化や基質結合により高度に活性を制御する分子機序を明らかにする。

平成 27 年度 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. Kei Moritsugu, Ryotaro Koike, Kouki Yamada, Hiroaki Kato and Akinori Kidera, "Motion Tree delineates hierarchical structure of protein dynamics observed in molecular dynamics simulation", PLoS ONE (2015) 10: e0131583.
2. Hiroshi Fujisaki, Kei Moritsugu, Yasuhiro Matsunaga, Tetsuya Morishita, and Luca Maragliano, "Extended phase-space methods for enhanced sampling in molecular simulations: a review", Frontiers in Bioengineering and Biotechnology (2015) 3: 125.
3. Ikuo Fukuda and Kei Moritsugu, "Double density dynamics: realizing a joint distribution of a physical system and a parameter system", Journal of Physics A (2015) 48: 455001.
4. Ikuo Fukuda and Kei Moritsugu, "Coupled Nosé-Hoover Equations of Motions: coupling the physical system Nosé-Hoover equation and temperature system Nosé-Hoover equation", Physics Reviews E, in press.

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. Kei Moritsugu
"Energy Landscape of Protein-protein and Protein-ligand Interactions Revealed by Multiscale Enhanced Sampling"
The 4th IGER International Symposium on Science of Molecular Assembly and Biomolecular Systems, Nagoya (Japan), October 2015.
2. Kei Moritsugu
"Energy landscape of protein-ligand Interaction revealed by multiscale enhanced sampling"
Rare Event Sampling and Related Topics III, Tachikawa (Japan), November 2015.
3. 森次 圭
「MSES シミュレーションとその応用」
計算統計物理学研究会第 6 回研究会、名古屋、2015 年 11 月