

# スーパーコンピュータを用いた 膜蛋白質の分子シミュレーション

理研シンポジウム

“理研におけるスーパーコンピュータの最新動向と  
HPCにおけるシステム性能評価の今後”  
鈴木梅太郎ホール(2010年3月24日)

理化学研究所・基幹研究所

杉田 有治

# 生体膜の基本的な機能: 物質輸送をブロックする

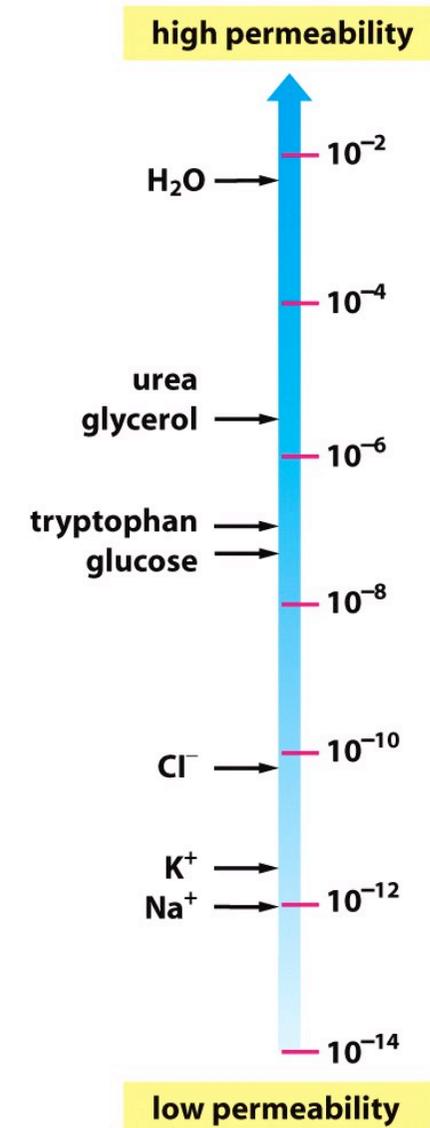
**Table 11-1** A Comparison of Ion Concentrations Inside and Outside a Typical Mammalian Cell

COMPONENT	INTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)	EXTRACELLULAR CONCENTRATION (mM)
<b>Cations</b>		
Na <sup>+</sup>	5–15	145
K <sup>+</sup>	140	5
Mg <sup>2+</sup>	0.5	1–2
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>-4</sup>	1–2
H <sup>+</sup>	7 × 10 <sup>-5</sup> (10 <sup>-7.2</sup> M or pH 7.2)	4 × 10 <sup>-5</sup> (10 <sup>-7.4</sup> M or pH 7.4)
<b>Anions*</b>		
Cl <sup>-</sup>	5–15	110

\*The cell must contain equal quantities of positive and negative charges (that is, it must be electrically neutral). Thus, in addition to Cl<sup>-</sup>, the cell contains many other anions not listed in this table; in fact, most cell constituents are negatively charged (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, proteins, nucleic acids, metabolites carrying phosphate and carboxyl groups, etc.). The concentrations of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> given are for the free ions. There is a total of about 20 mM Mg<sup>2+</sup> and 1–2 mM Ca<sup>2+</sup> in cells, but both are mostly bound to proteins and other substances and, for Ca<sup>2+</sup>, stored within various organelles.

Ion concentration inside and outside of the cells are very different.

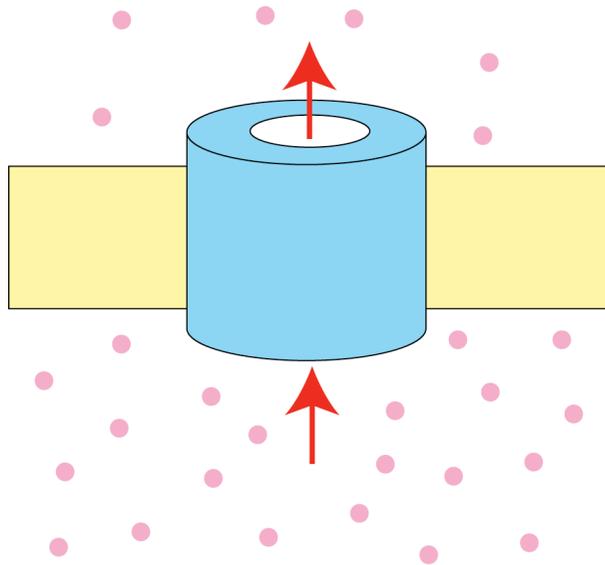
Molecular Biology of THE CELL (fifth ed.)



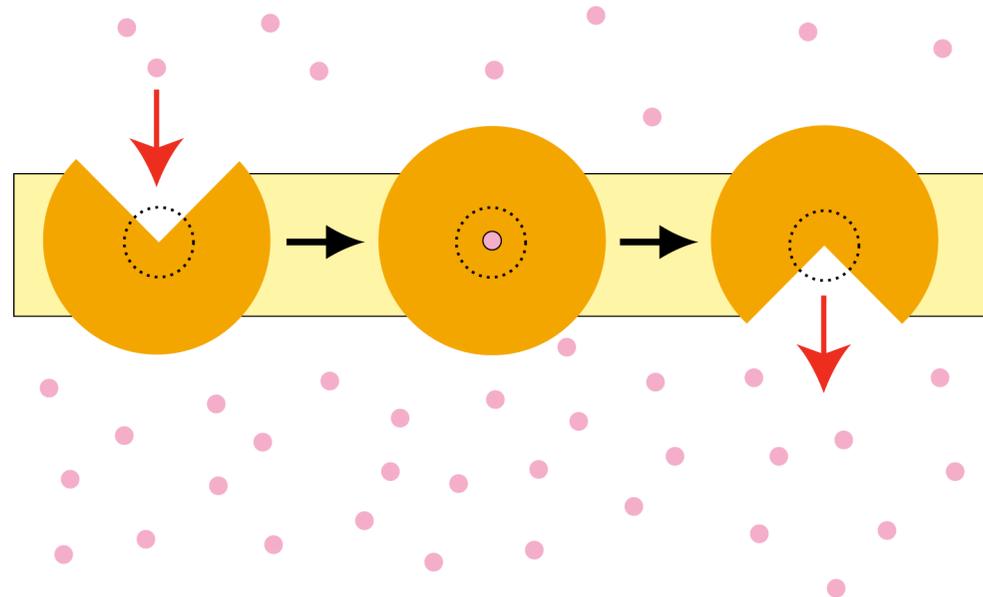
# イオン輸送蛋白質：チャネルとポンプ

	Channel	Pump
Concentration Gradient	Depend	Against
External Energy	Not Necessary	Necessary
Transport Efficiency	High	Low
Conformational flexibility	RIGID	FLEXIBLE

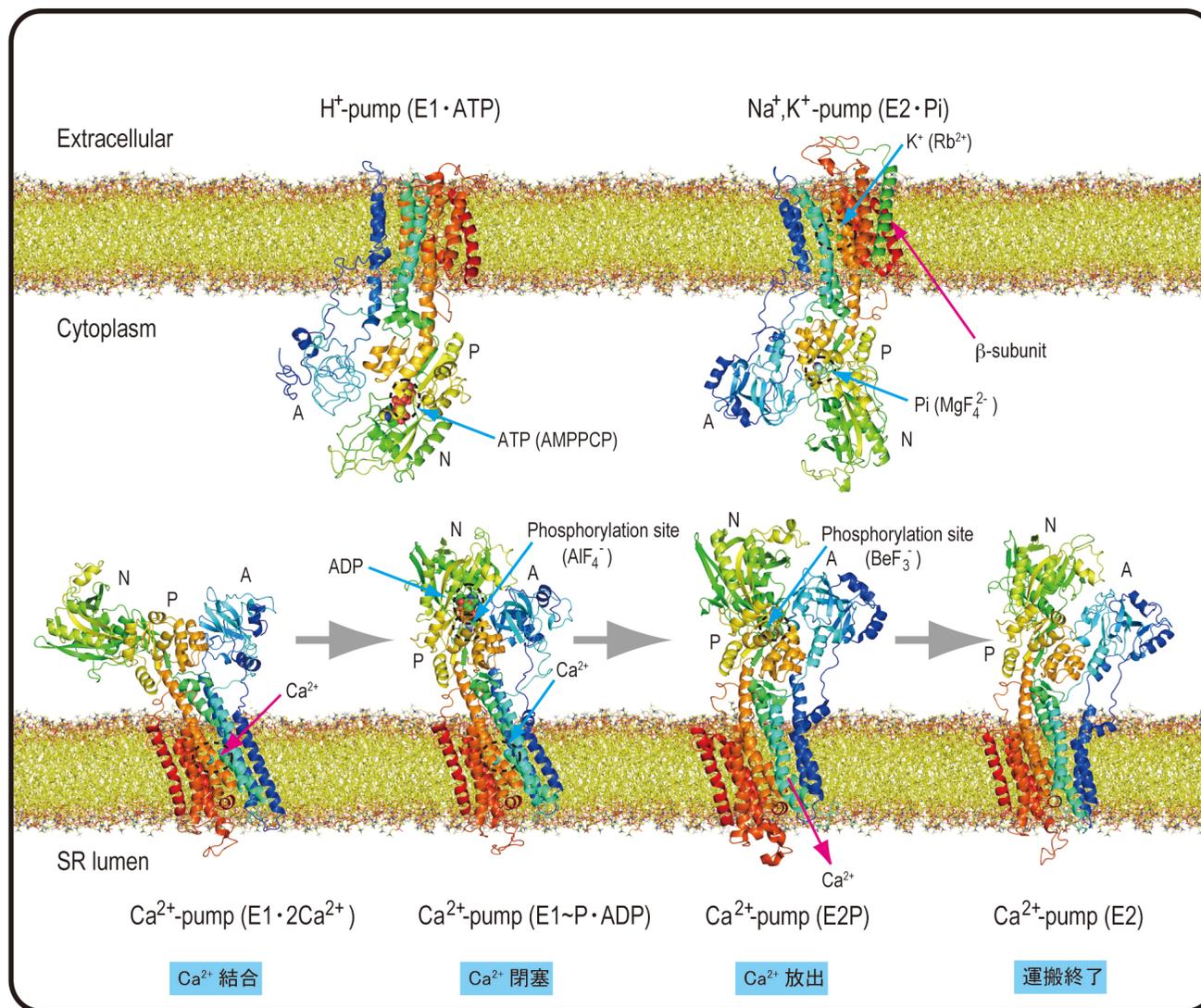
Passive transport by Channel



Active transport by Pump

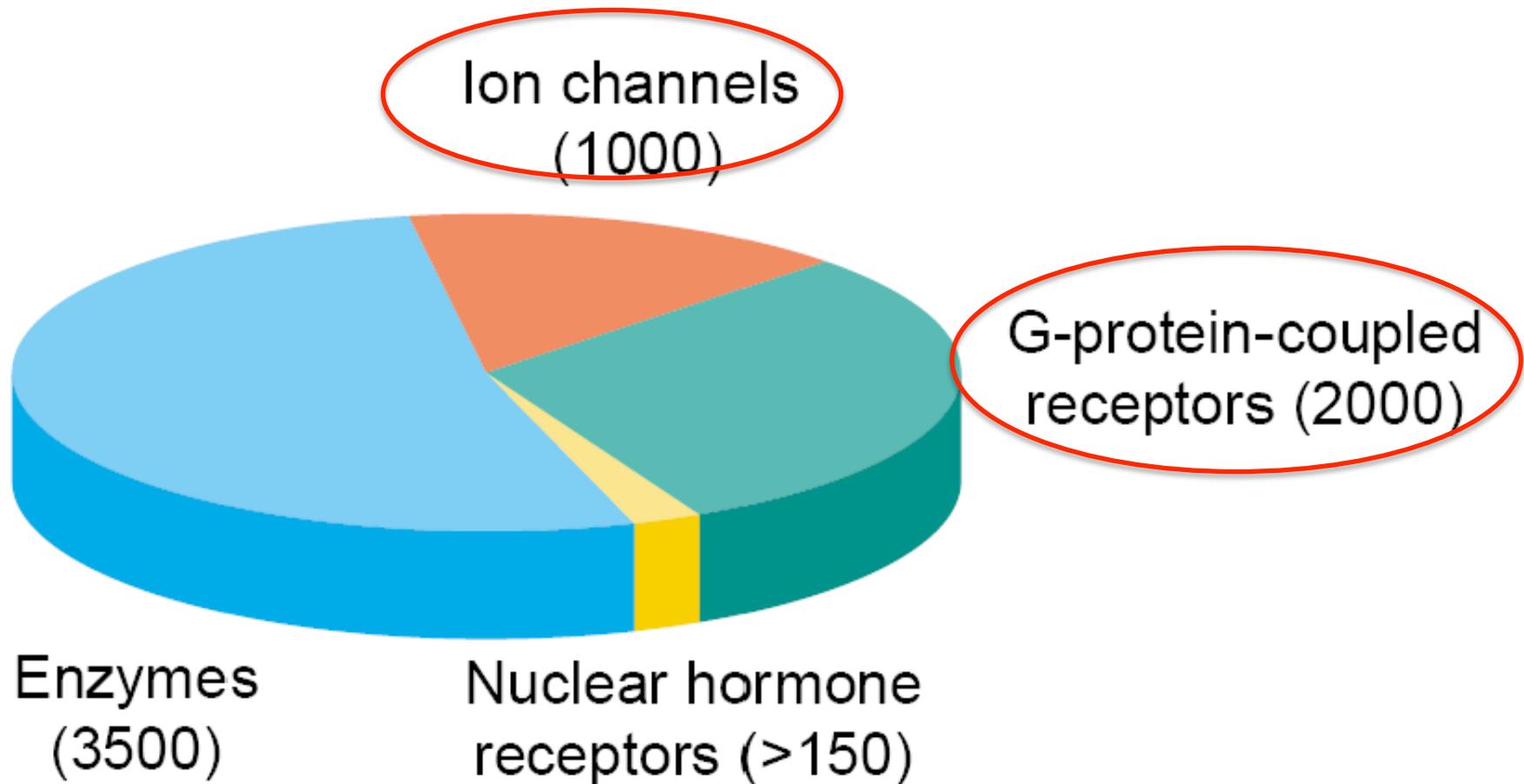


# X線結晶構造解析で複数の状態の構造が解けている： 計算機の中で**できるだけリアル**に動かしてみたい！



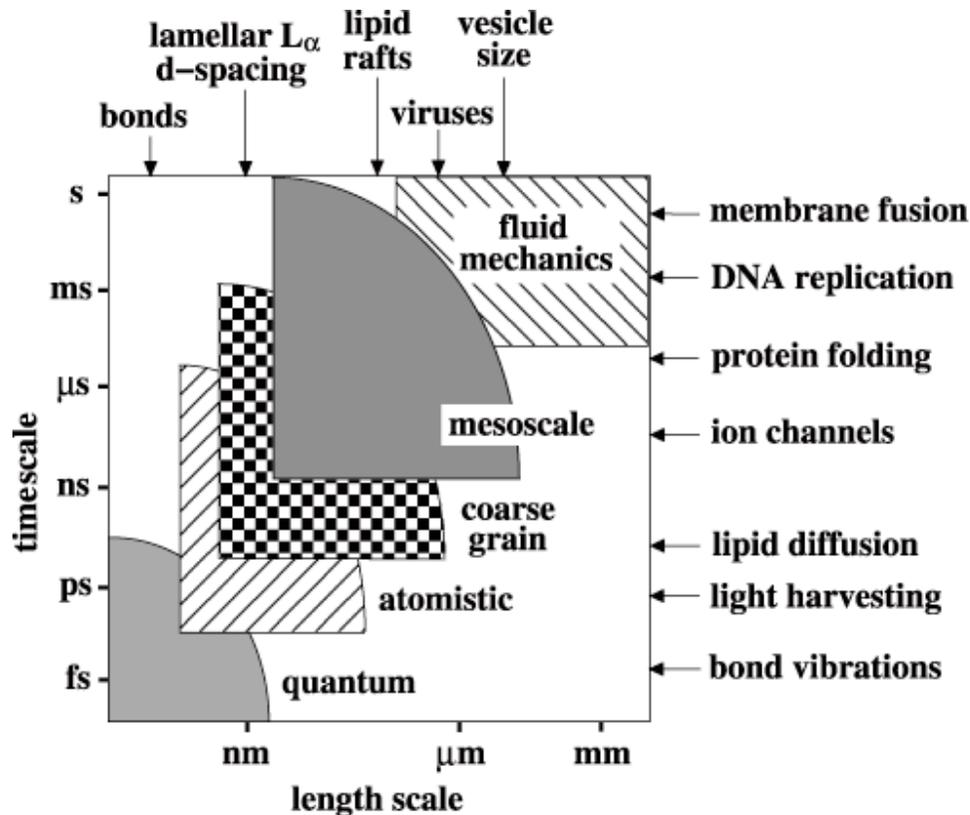
# 膜蛋白質は創薬ターゲットとしても重要

An estimation of the number of drug target proteins



# 生体系の分子シミュレーションの動向： マルチスケールシミュレーション

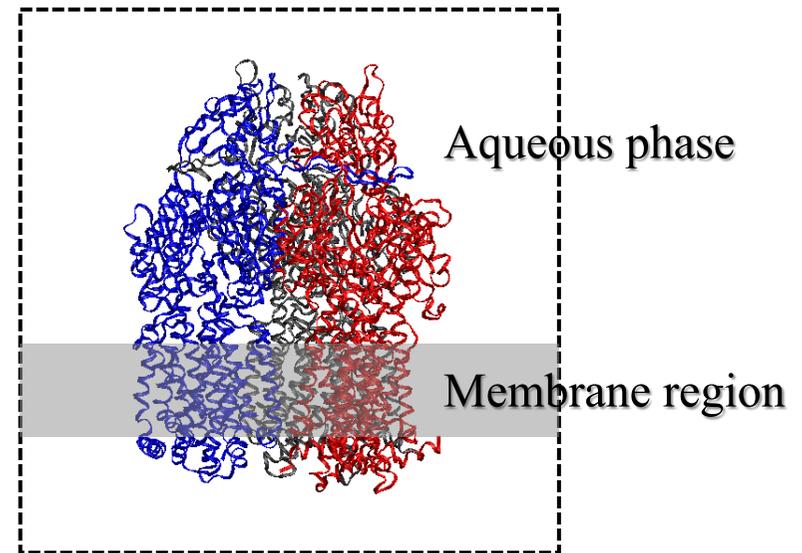
計算の精密化(QM or QM/MM)・粗視化(CG or MM/CG)・大規模化(All-atom or MM)により、  
複雑な生命現象を解明する



S. O. Nielsen et al.

J. Phys. (Condens. Matter.) 2004

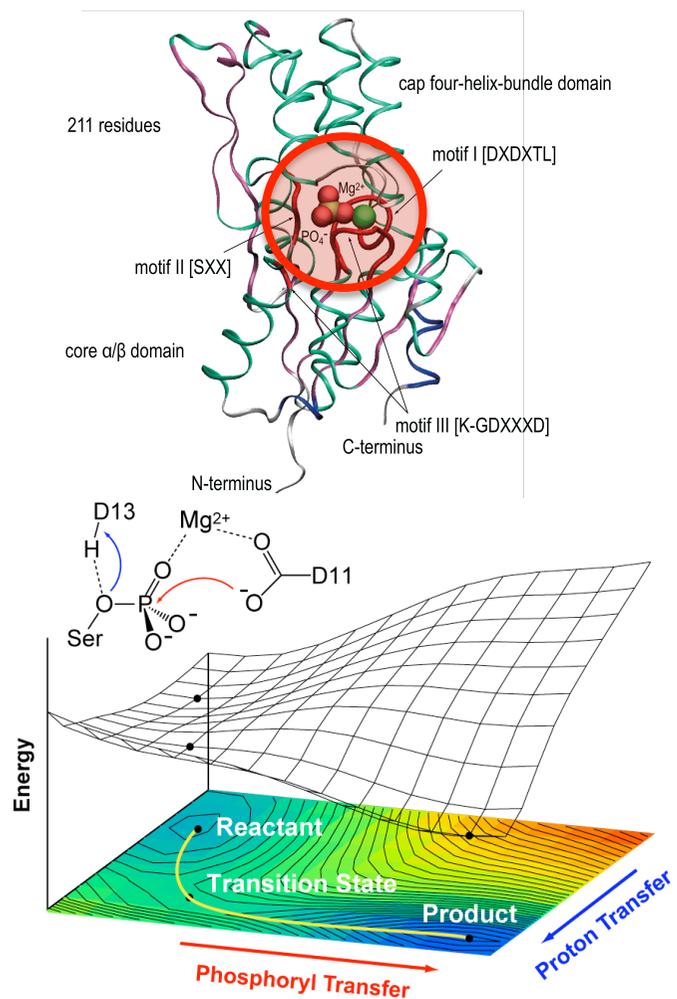
多剤排出トランスポーターAcrBに  
関するマルチスケールシミュレーション  
(GC分子チーム (木寺))



QM/MM: proton transfer: 林(京大)  
All-atom MD: dynamics: 池口(横浜市大)  
MM/CG: 3D-RISM: 今井(理研)  
MM/CG: constant-pH MD: 宮下(理研)  
CG: Multi-state Go model: 高田(京大)

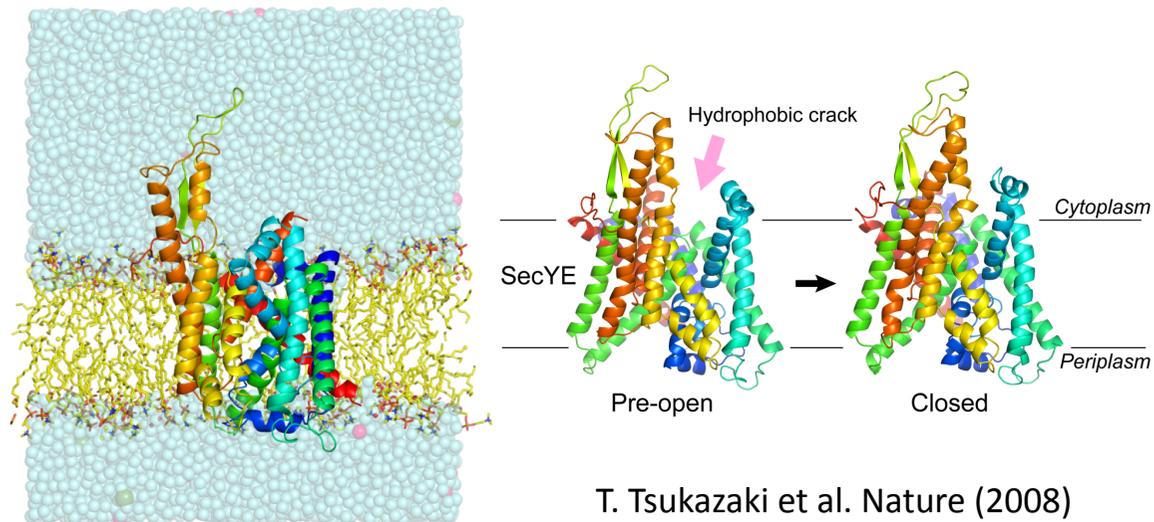
# RICCを用いて行ったマルチスケールシミュレーション

## 計算の精密化 (酵素反応のQM/MM計算)



S. Re et al. CPL (2009)

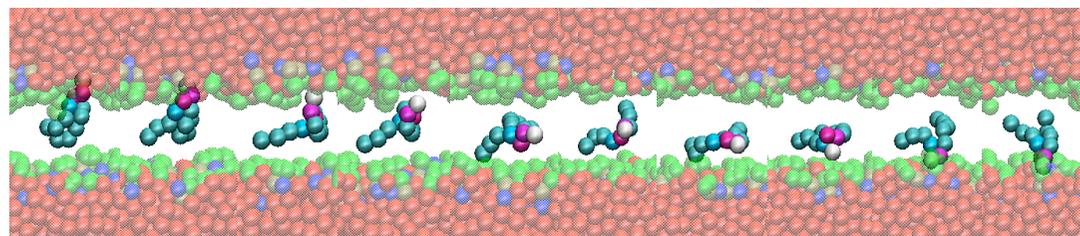
## 計算の大規模化 (膜蛋白質の構造変化)



T. Tsukazaki et al. Nature (2008)

T. Mori et al. Biochemistry (2010)

## 計算モデルの粗視化 (脂質分子のFlip-flop運動)

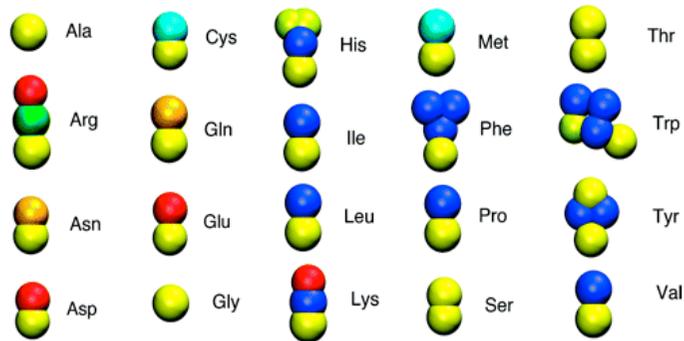
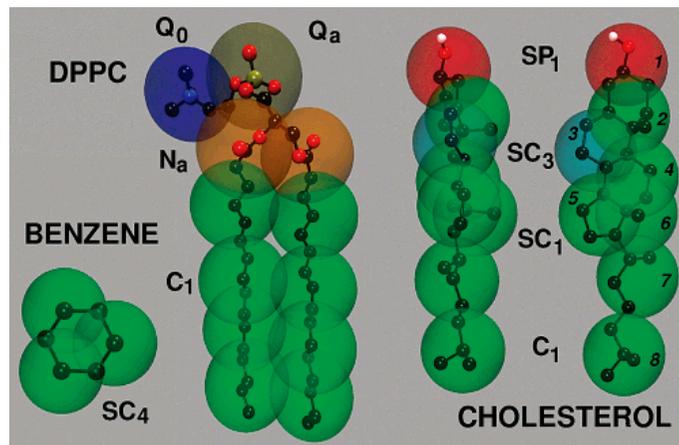


F. Ogushi et al. in preparation.

# 全原子モデル vs 粗視化モデル

粗視化モデル 原子/分子間の相互作用を粗視化し計算コストを軽減

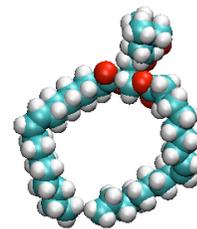
例) MALTINI model



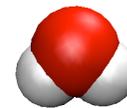
apolar intermediate polar charged

全原子モデル

DOPC - 138 原子



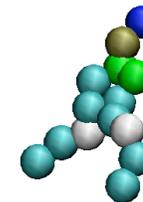
水 - 3 原子



時間刻み 2fs

粗視化モデル

DOPC - 14 粒子



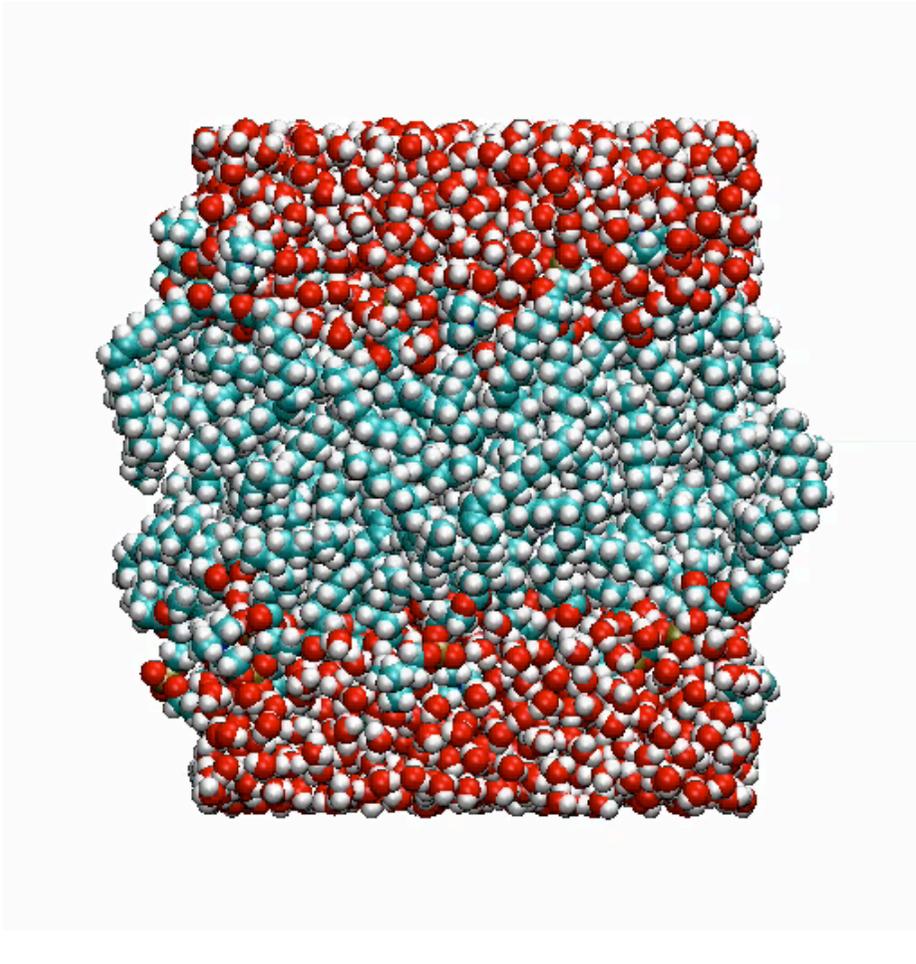
水 - 4分子を1粒子



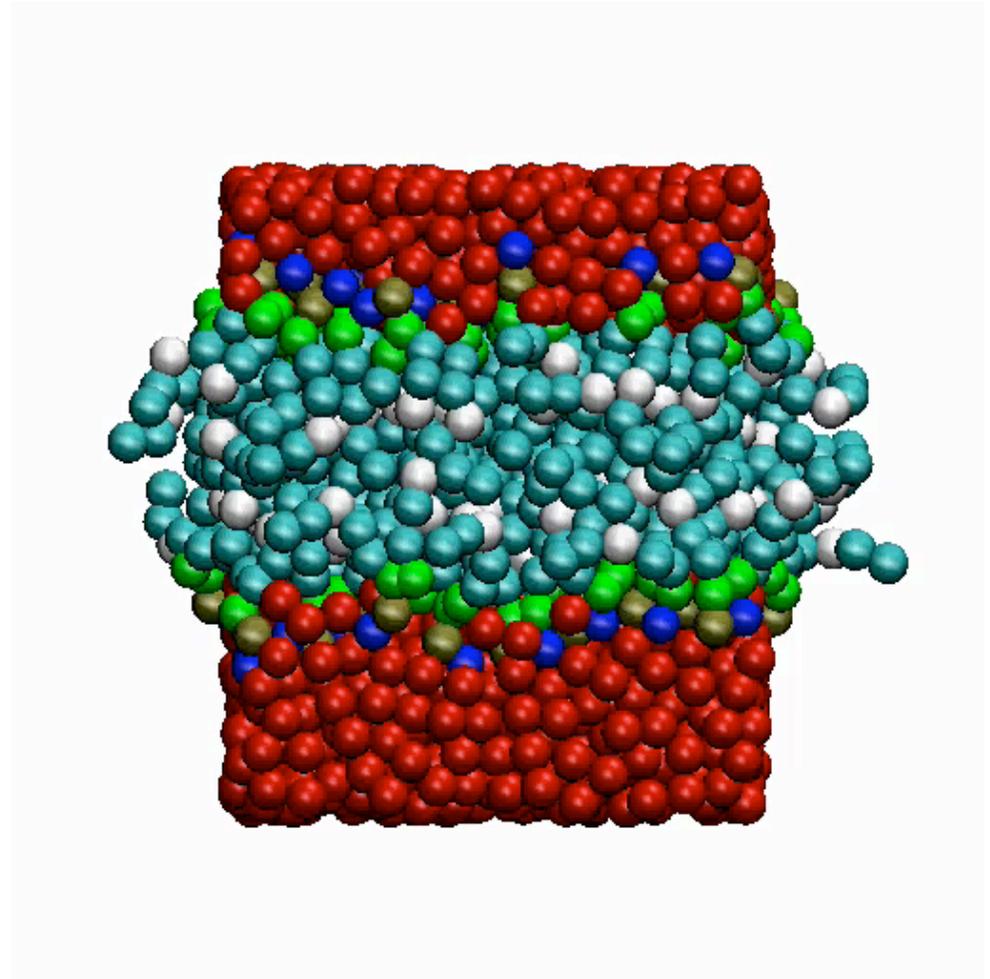
時間刻み 40fs

# MD simulations of DOPC membrane

全原子モデル



粗視化モデル

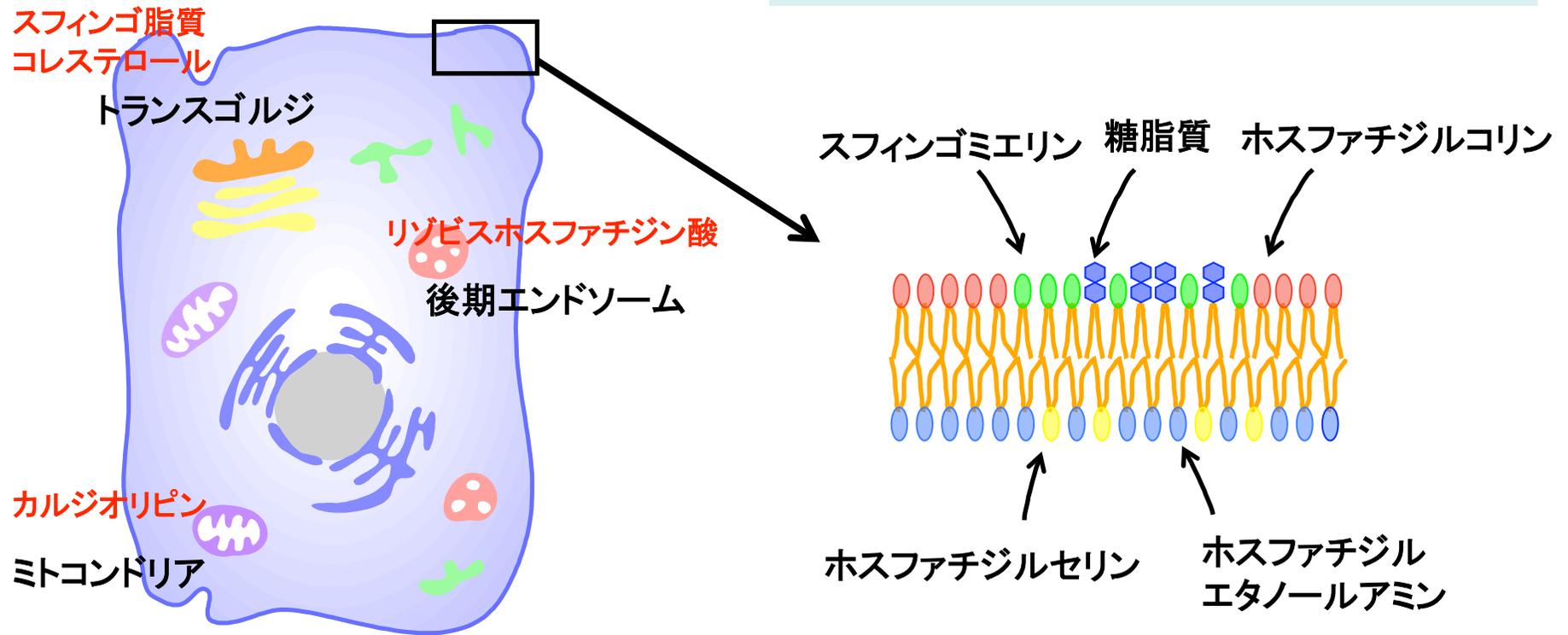


(粒子数 1/10) x (時間刻み x 20) = 200倍の計算効率化

# 細胞膜における脂質の分布は一様ではない

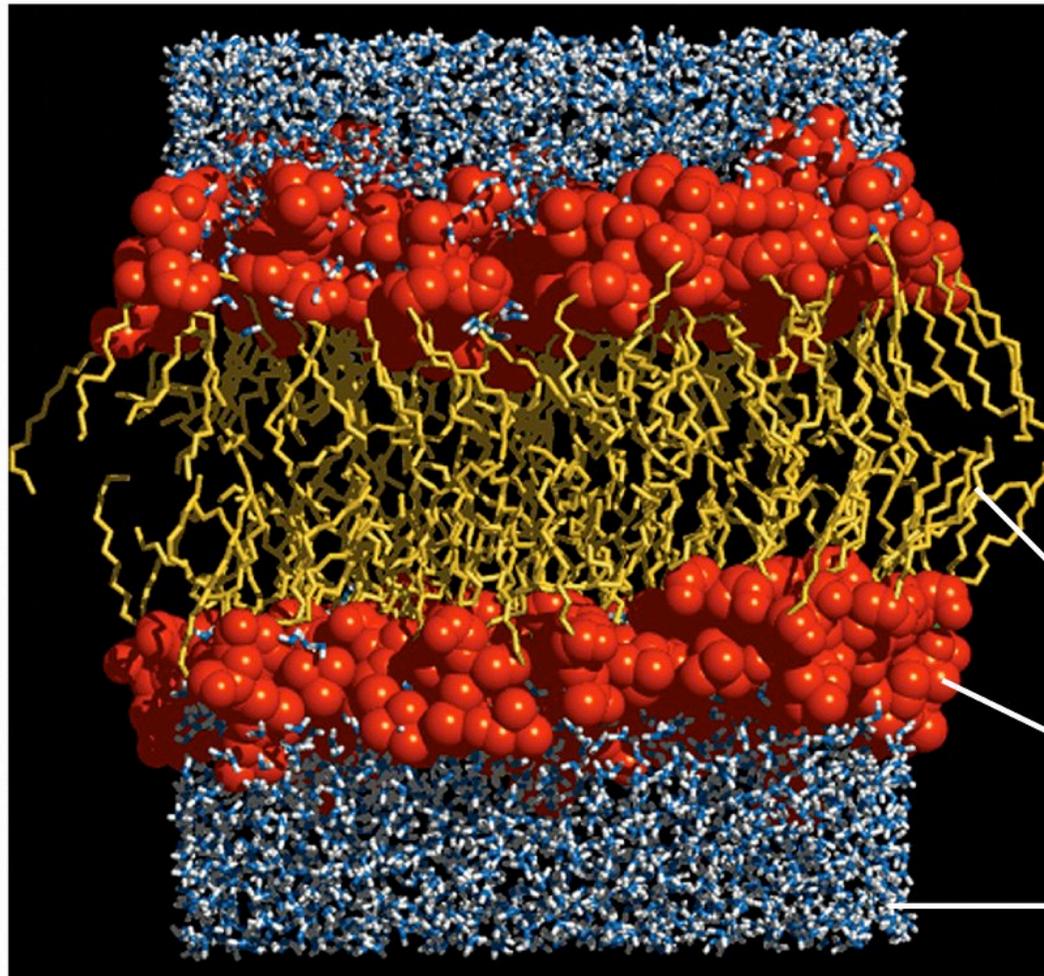
オルガネラ構成脂質の不均一性

二重膜の内側・外側の不均一性  
同一膜における不均一性

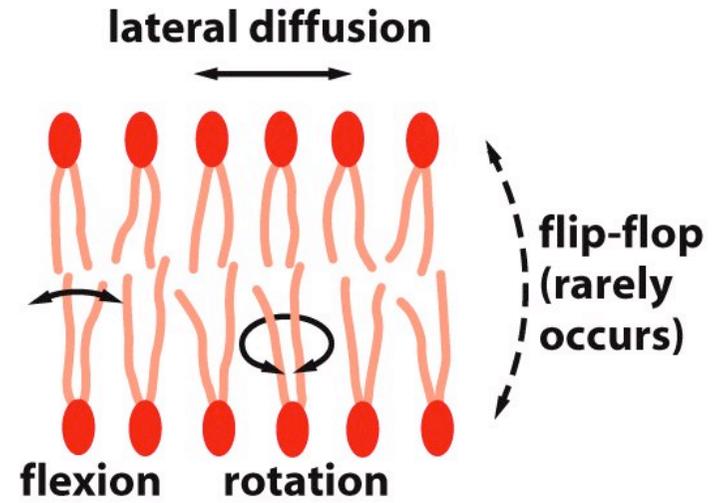


構造的・機能的に特徴のある環境をつくる

# 脂質分子のダイナミクス



(A)



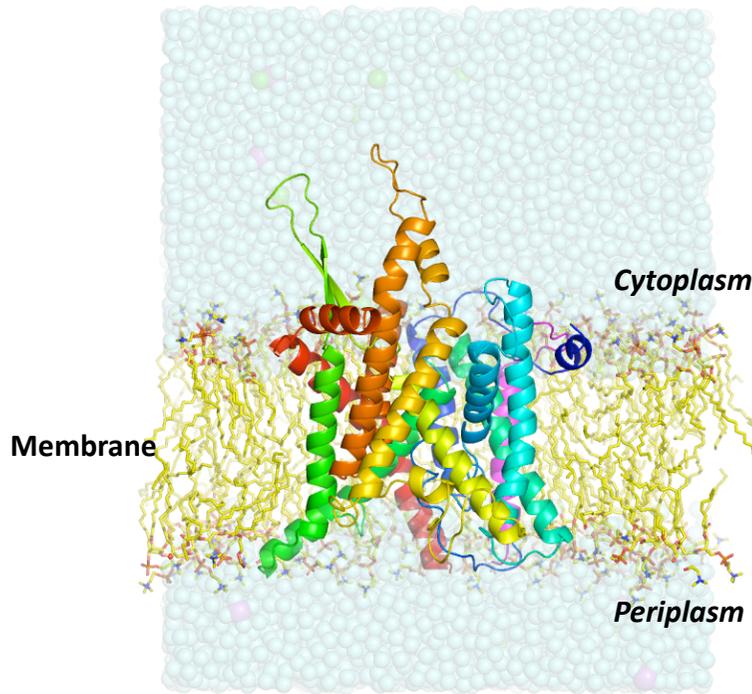
(B)

fatty acid tails

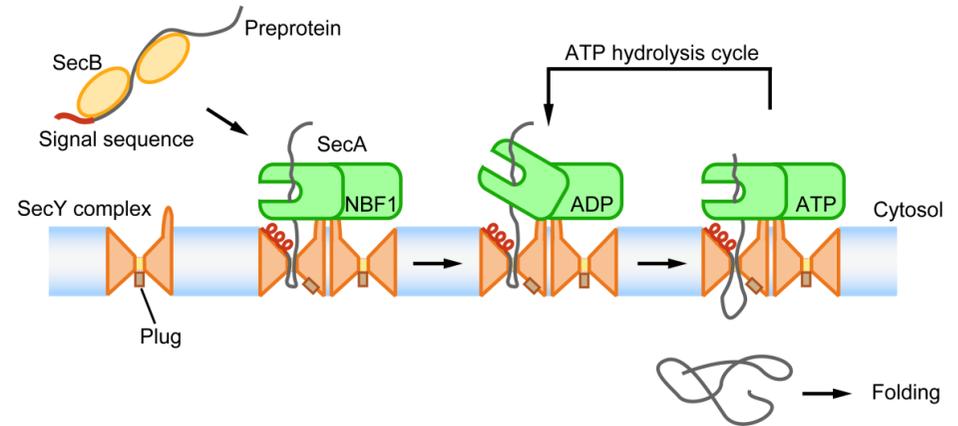
lipid head groups

water molecules

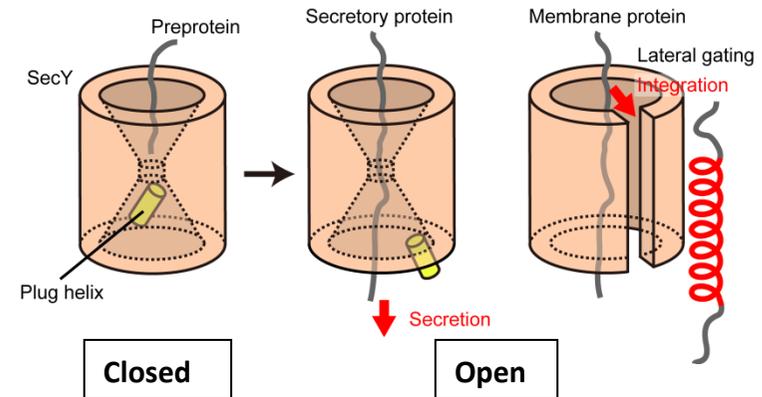
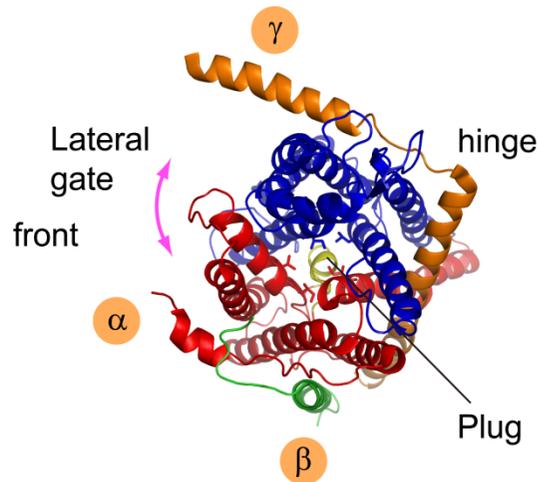
# タンパク質膜透過チャネル SecY



細胞内で合成されるタンパク質の約 30 %は細胞の外に分泌されるか、膜タンパク質として膜に埋め込まれる

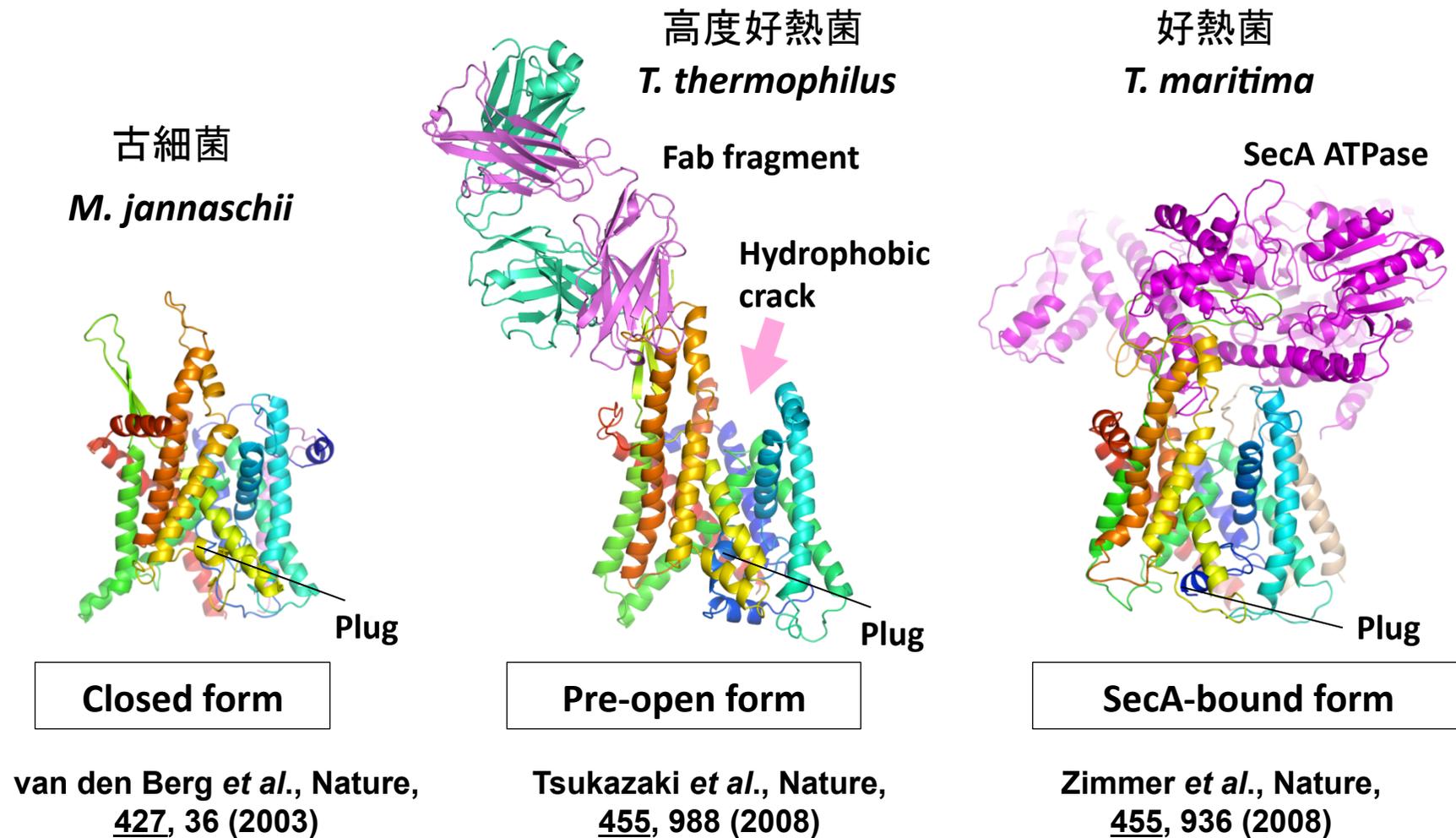


タンパク質を透過させるには、必ずチャネルパートナー(リボソームやSecA ATPase)が必要



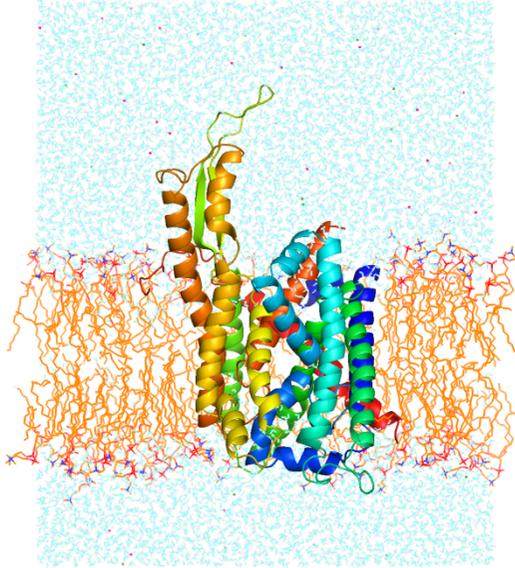
T. A. Rapoport *et al.*, *Nature* (2003)

# SecY 複合体の結晶構造

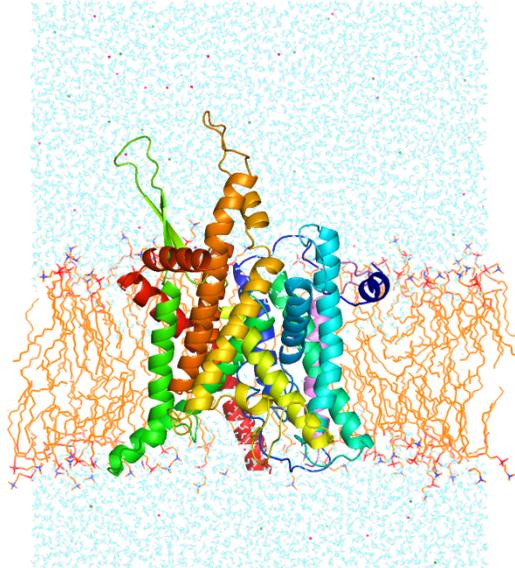


Fab は SecA と同じ C5 ループに結合する  
→ pre-open 構造はタンパク質透過過程の中間体のひとつ  
Pre-open 構造の機能における役割はよく分かっていなかった

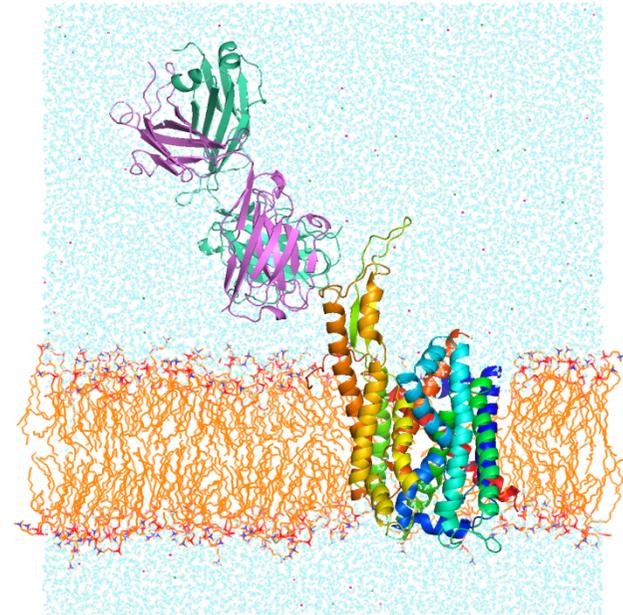
# Computational Details



ttSecYE (Sim1)



mjSecYEb (Sim2)



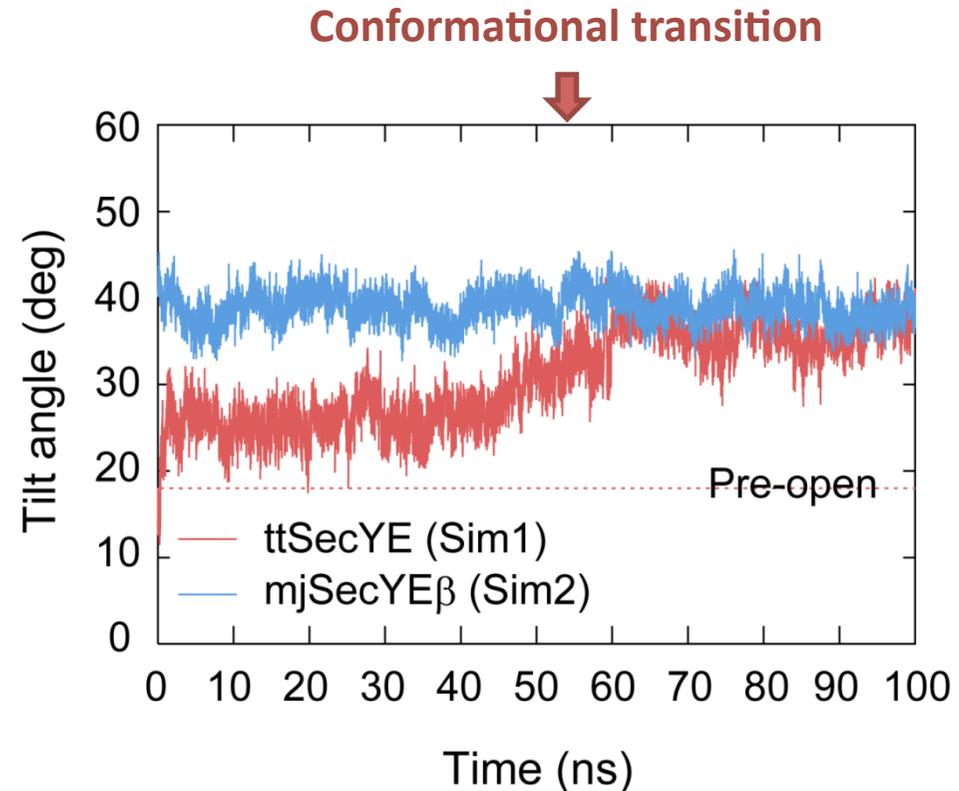
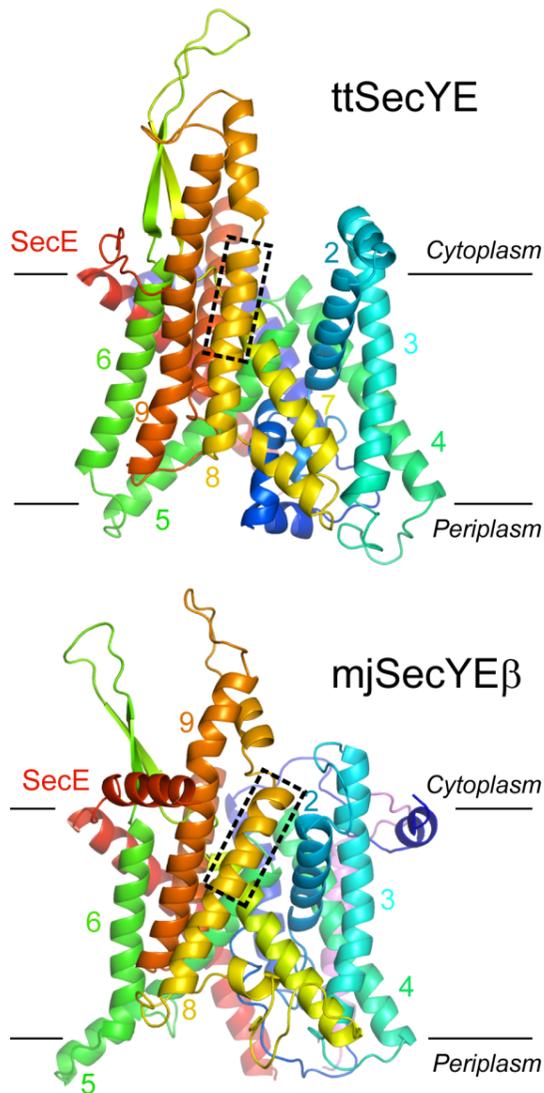
Fab-ttSecYE complex  
(Sim3, Sim4)

**Software:** NAMD2 **Force Field:** CHARMM27 + CMAP

**Ensemble:** NPT (300 K, 1atm) **Time:** 100 ns (1 step = 2 fs)

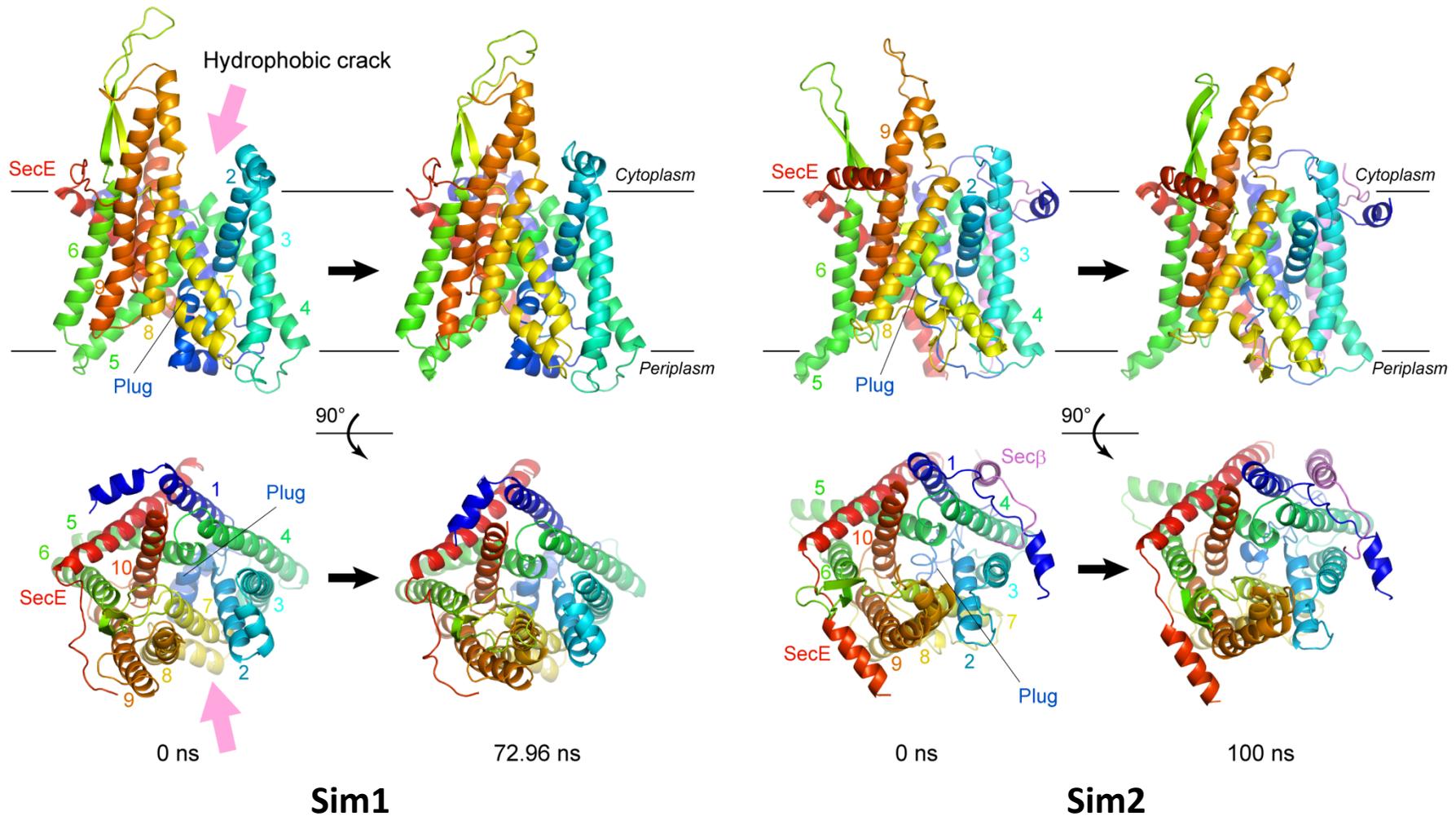
	Protein	Number of atoms	Number of molecules				Box size (X×Y×Z) [Å <sup>3</sup> ]	Restraint
			Water	Lipid	Na <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>		
Sim1	ttSecYE	106,078	22,548	230	59	69	93 × 93 × 127	No
Sim2	mjSecYEb	105,833	22,599	222	56	71	93 × 93 × 127	No
Sim3	Fab-ttSecYE	202,279	46,006	373	124	135	140 × 93 × 162	No
Sim4	Fab-ttSecYE	202,279	46,006	373	124	135	140 × 93 × 162	Fab

# TM8 ヘリックスの傾きの時間変化 (Sim1 and Sim2)



- ttSecYE はpre-open 構造から mjSecYEB の Closed 構造に近づく
- Conformational transition が 55 ns 前後で起こっている

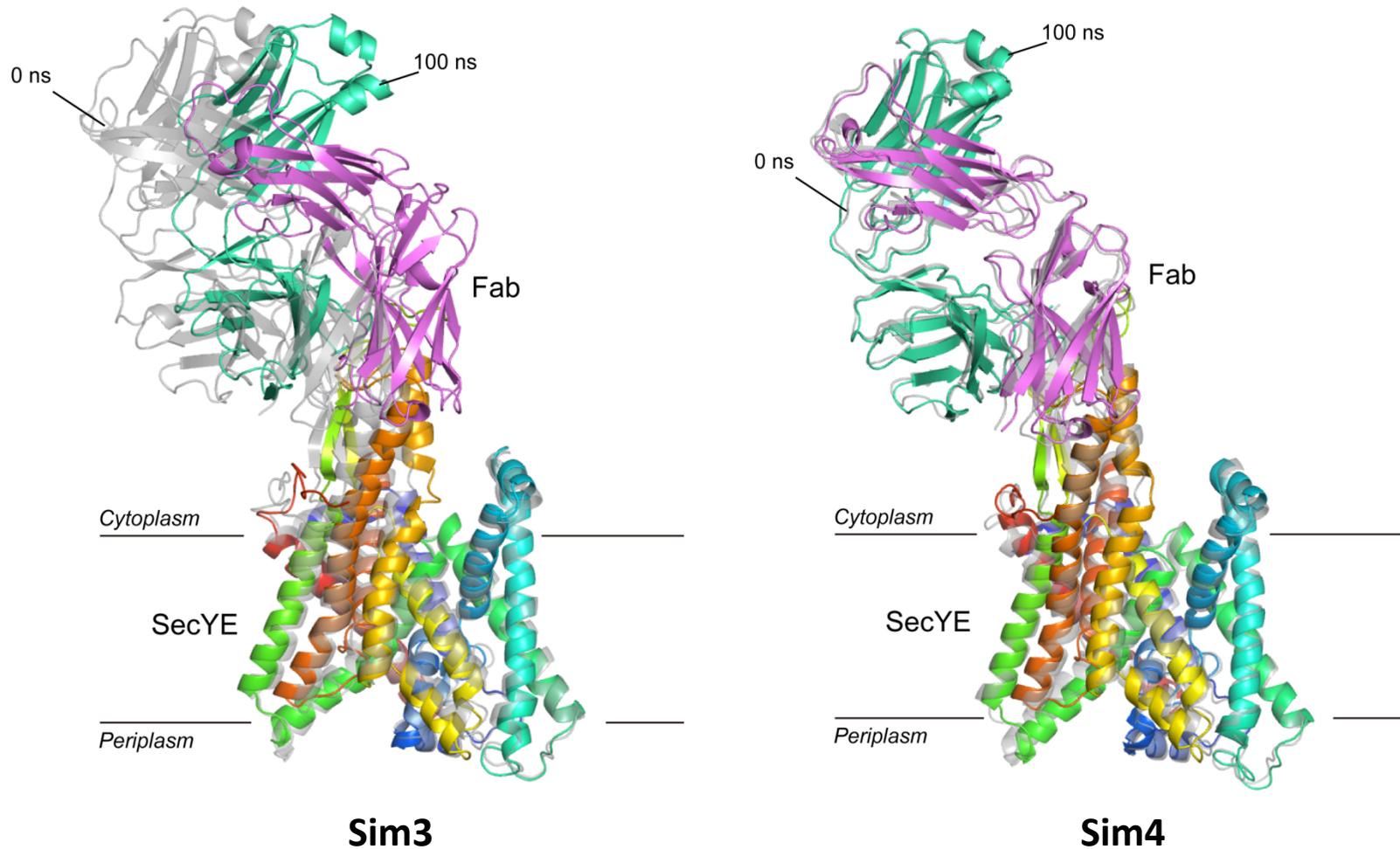
# Pre-open および Closed 構造の MD 結果



Sim1: Pre-open → Closed 構造へ変化 (Cross-linking の実験結果とも一致)

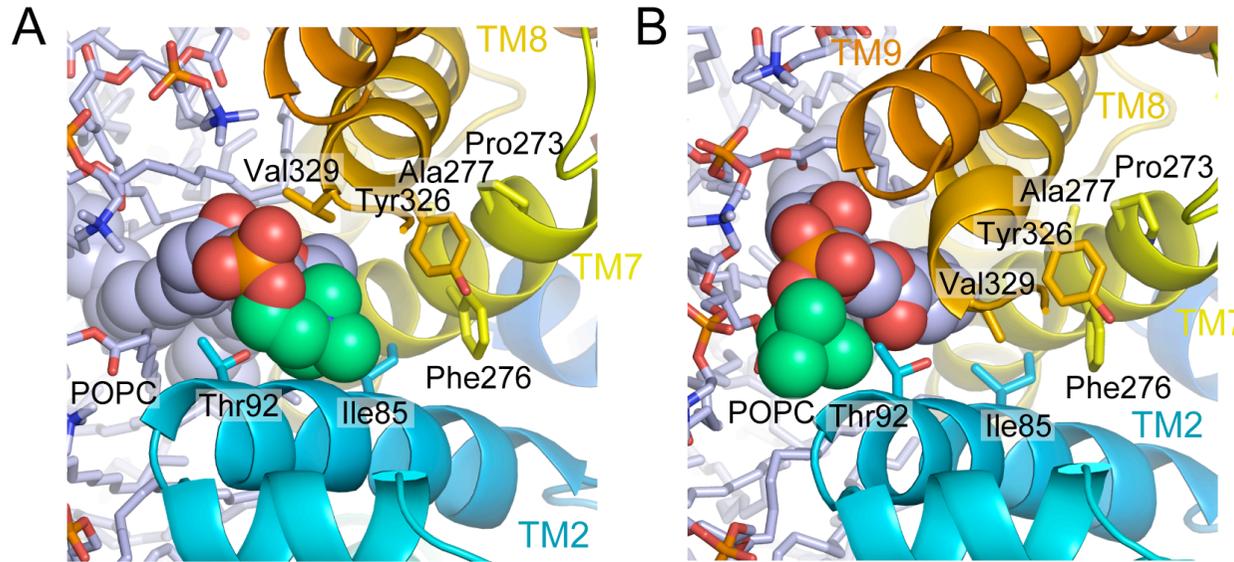
Sim2: ほとんど構造変化しなかった → closed 構造は非常に安定

# Fab 結合による SecY の構造変化への影響

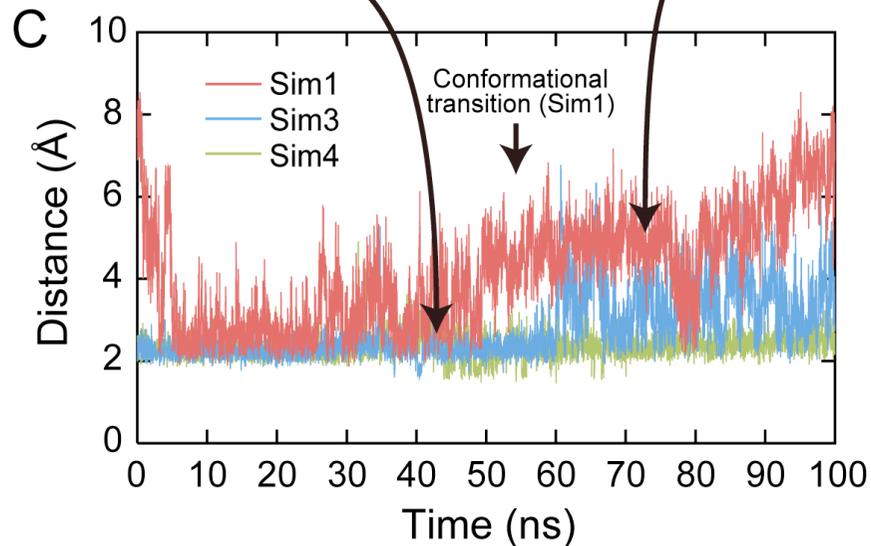


Sim3: わずかに Closed 構造に近づいた      Sim4: Pre-open 構造で安定  
→ 溶液中では Pre-open ⇄ Closed 状態で揺らいでいる可能性

# 脂質分子の lateral 運動による SecY の コンフォメーション変化

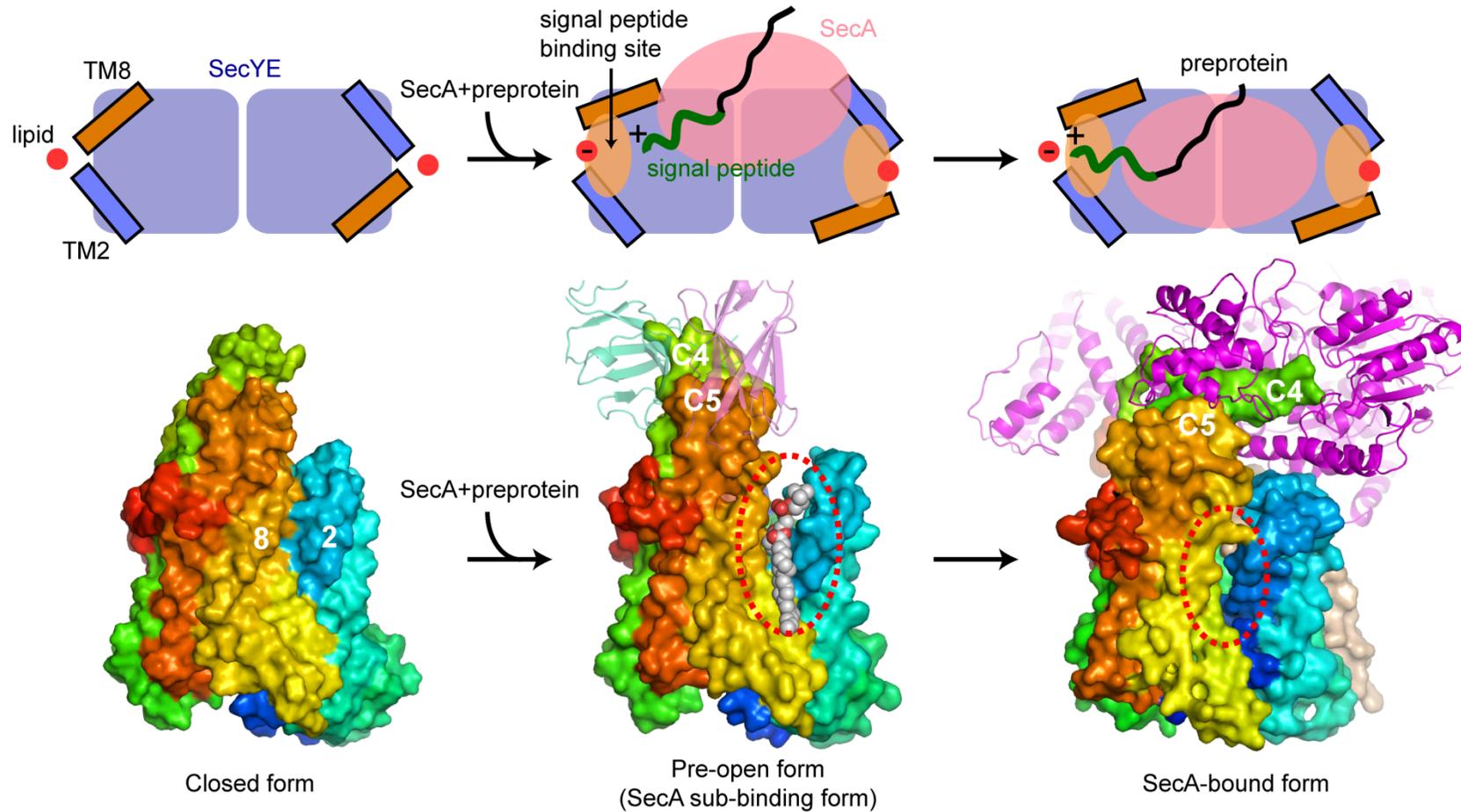


Pre-open (43 ns) Closed (73 ns)



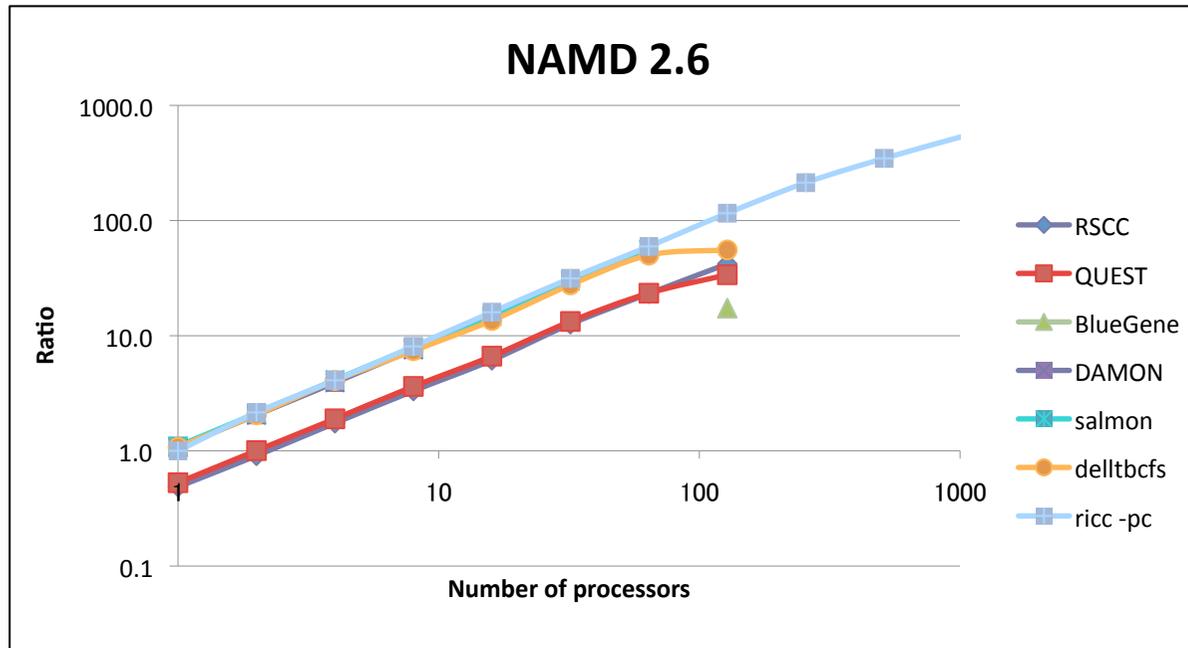
- Pre-open 状態では脂質分子が hydrophobic crack に入り込んでいる
- lateral 運動により脂質分子が抜けるとヘリックスが傾き、crack が閉じる
- Pre-open → Closed 構造変化は lipid との相互作用変化と関係

# Pre-open 状態の生化学的意義



- 脂質分子は pre-open 状態の hydrophobic crack を安定化
- 脂質分子の head group の負電荷が透過するタンパク質の N 端側の正電荷を、引き寄せる → 本研究で観察された lipid は機能的に重要な可能性

# RICCの計算能力で十分だろうか？



92224原子を含む系  
500ステップ実行

RSCCでは0.42day/ns (128cpu)  
RICCでは0.033day/ns(1024cpu)

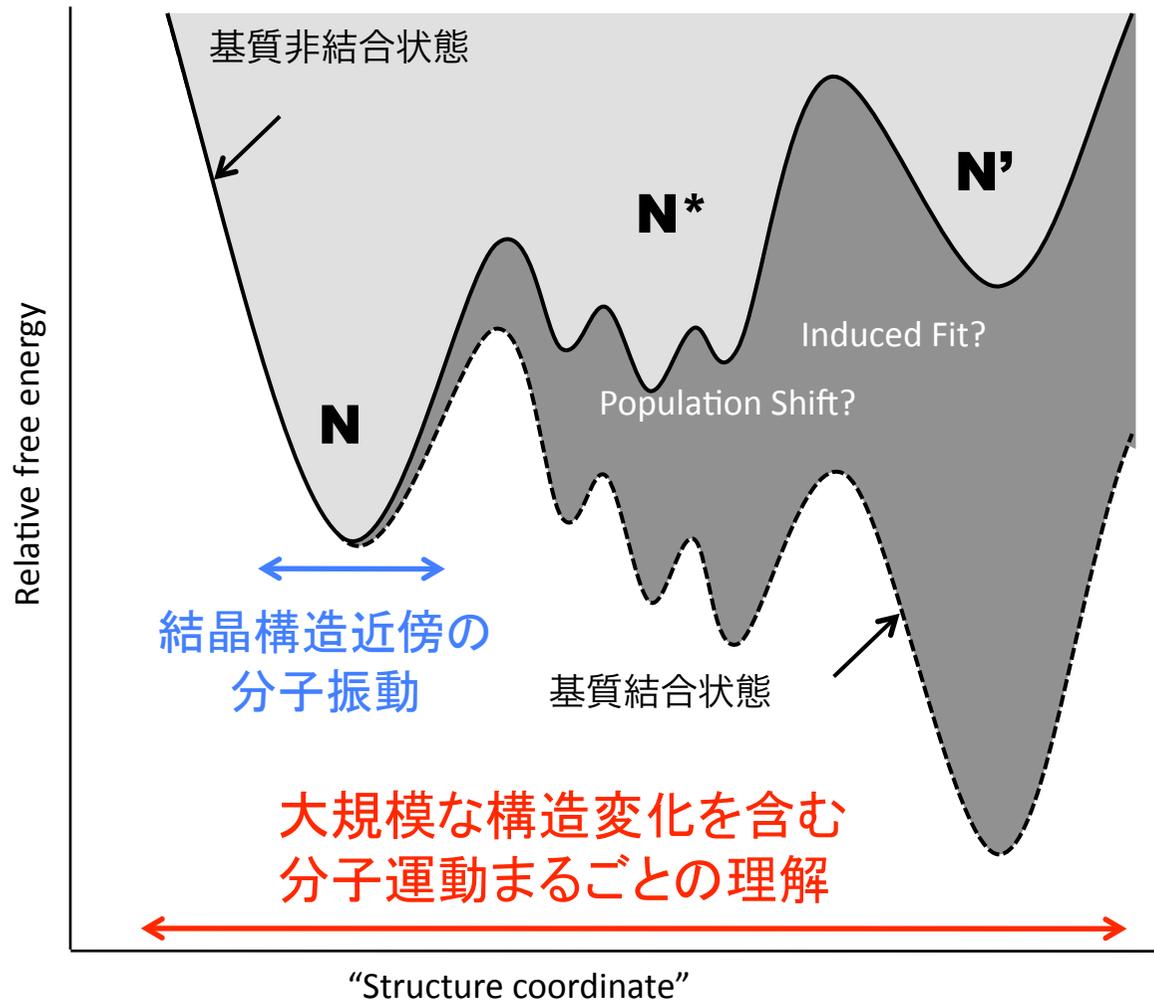
マイクロ秒のMDを実行するの  
に1ヶ月強→十分実行可能！

- 現在進行中のプロジェクト

- 膜蛋白質 : Sec translocon, Ca-pump, qNOR, APP, MIR
- 生体膜 : Flip-flop motion, Membrane Raft
- 蛋白質折れ畳み : Villin HP36, Pressure-denaturation
- 酵素反応 : PSP, PKA

# 次世代スーパーコンピュータによる質的な向上

## 例：分子動力学シミュレーションによるタンパク質の機能解明



現在 (10Tflops)

～マイクロ秒

実験的に知られた構造の近傍のみシミュレーション



次世代 (10Pflops)

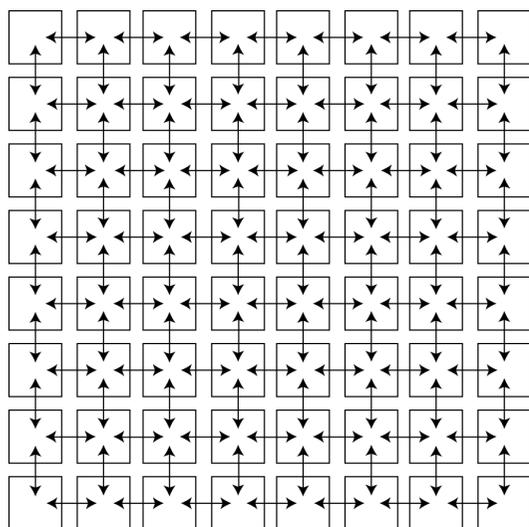
～ミリ秒

実験で見えていない構造変化、ダイナミクスが見える

「計算機顕微鏡」

# 次世代スパコンにおける効率的利用法

## (1) 分子動力学計算の並列化



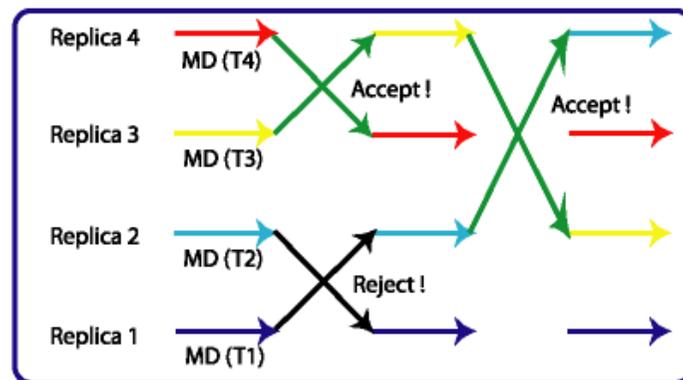
毎ステップ  
全ノード間の通信



高度な並列化技術が  
必要

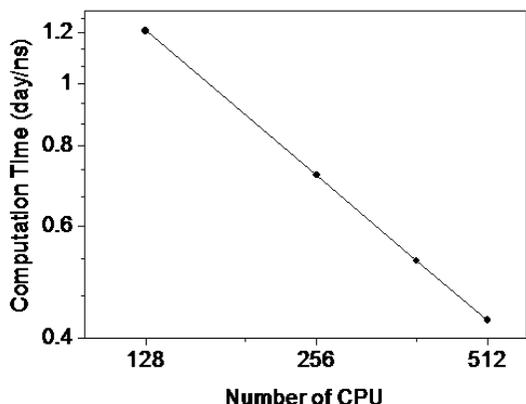
## (2) Replica-exchange MDの並列化

Sugita and Okamoto, CPL (1999)



REIN (宮下: 次世代計算科学)

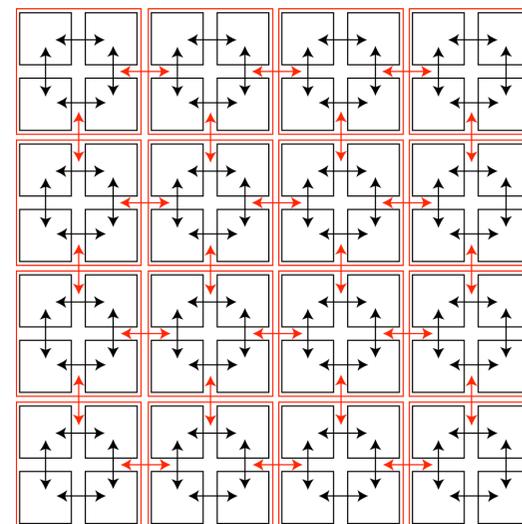
MARBLE (池口: 横浜市大) CRAY XT4 at YCU



毎ステップ  
レプリカ内の通信



レプリカ交換時  
全ノード間の通信  
(通信の負荷小)



(1)と(2)を組み合わせることで、数十万CPU coreを効率的に利用が可能である

# 創薬の革新に繋がる分子シミュレーション研究

## 従来の計算科学的方法

- グリッド探索 (GRIDなど)  
経験的スコア関数 / 全点計算
- シミュレーション (MCSSなど)  
力場関数 / エネルギー極小化・サンプリング

## 残された本質的課題

- タンパク質の構造変化・揺らぎ  
(induced fit/population shift)
- 溶媒効果  
原子レベル (架橋水など) から熱力学  
レベル (選択的溶媒和など) まで

## 次世代スパコンでの課題

- マルチスケールシミュレーション  
マイクロ秒～ミリ秒の揺らぎ  
網羅的シミュレーション  
結合定数の理論的予測
- シミュレーションと統計力学理論  
3次元RISM理論など

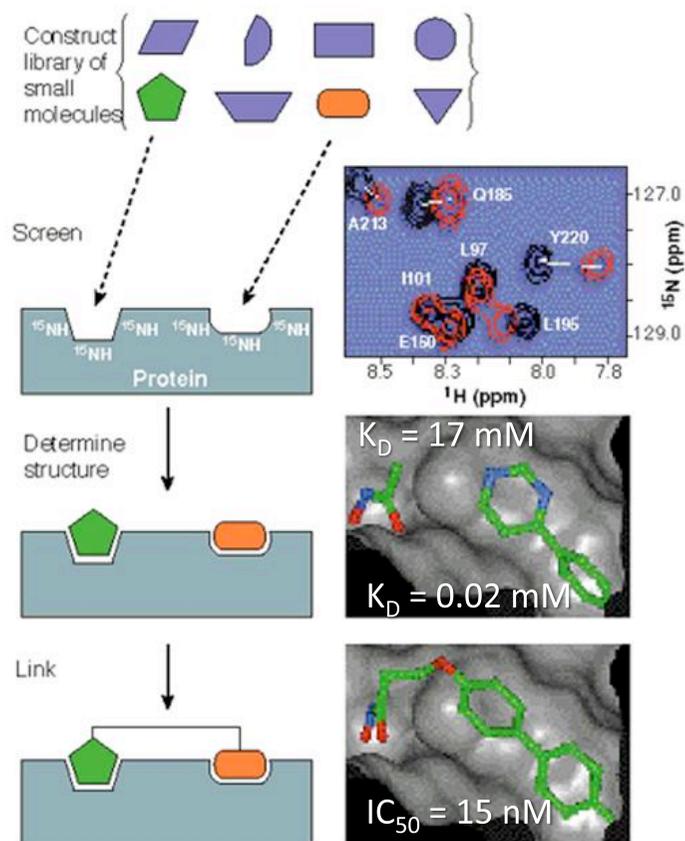


創薬の革新のためには、次世代スパコンの演算性能向上と、それを最大限に生かす新規方法論を開発し続けることが重要

# 研究開発例：統計力学理論に基づく阻害剤の予測

## Fragment-based drug design (FBDD)

High-throughput screeningに代わると期待される新しいアプローチ



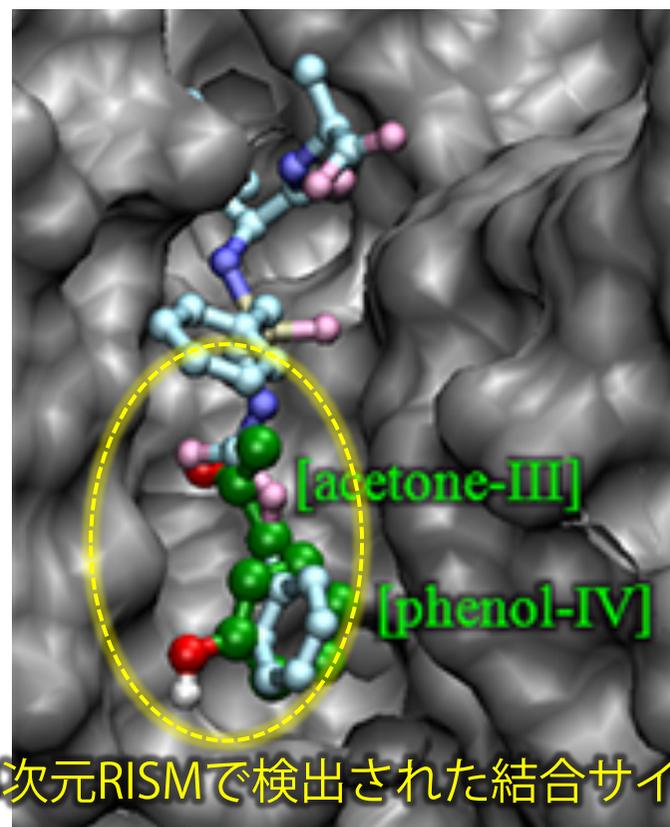
P.J. Hajduk et al. Science (1997)

## 3D-RISM理論に基づくリガンド・マッピング

統計力学に基づく分子液体の積分方程式

理論の創薬への応用

(GCナノ(平田:分子研)との連携研究)



3次元RISMで検出された結合サイト

T. Imai et al. JACS (2009)

# Acknowledgement

Andrei (EVB, Proton Pump)

宮下さん(REMD, Amyloid)

小串さん(CGMD, Membrane)

李さん(QM/MM, Pump)

小室君(中央大)  
(MD勉強中)

今井さん  
(RISM, Drug design)

Pai-Chi (REMD, MIR)

森さん(MD, Sec)

Jung (Kobe Univ)  
(QM/MM, Development)



JST-BIRD, JST-CREST, 特定領域研究(膜インターフェイス)、理研スタートアップファンド、次世代計算科学、理研理事長ファンド、理研連携の芽ファンド等の支援を受けました。ここに感謝いたします。