

課題名 (タイトル) :

計算科学的手法を用いたタンパク質の動態と機能・制御分子の研究

利用者氏名 :

○二木紀行  
沖本憲明  
末永敦  
野内涼子  
森本元太郎  
大塚教雄  
近藤寛子  
山岸純也  
新保雄大  
曾田邦嗣  
泰地真弘人

所属 :

和光研究所 基幹研究所 先端計算科学研究領域  
システム計算生物学研究グループ 高速分子シミュレーション研究チーム

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

近年の構造生物学の進歩により、膨大な生体高分子の立体構造が解明されてきている。これらの生体高分子の機能・構造・ダイナミクスをより深く理解するためには、計算機シミュレーションは必須である。特に、分子シミュレーション(分子動力学(MD)計算や量子力学(QM)計算)は、この研究において非常に効果的である。これまで、当研究チームでは、MD 計算や QM 計算を使って、生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの研究を行ってきた。そこで、従来の研究を踏まえて、生体高分子機能を制御する分子を設計する研究を行う。

本研究の目的は「生体高分子機能を制御する分子の設計」であり、

1. 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解
2. 標的分子を制御する分子の設計
3. 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張性向上

の 3 つの研究を行う。そのうち現在までに 1 および、2 と 3 の一部について遂行した。以下にその内訳を記す。

ハミルトニアンレプリカ交換法の開発: 現在、広く用いられている温度交換によるレプリカ交換法(REM)は、小さい系においては非常に良く機能するが、巨大な生体タンパク質においては原子数の増加およびレプリカ数の増大により現実的な時間内でのシミュレーションが困難である。そのため、水分子を除外した Generalized Born (GB) モデルや、レプリカ交換時に真空中(もしくは僅かな水分子)でエネルギーを見積もるハイブリッド REM などの方法が存在する。しかし、精度の点で疑問が残る。そこで、低温部では明示的に水分子を配置し、高温部では GB モデルを使用したハミルトニアン REM の開発を行う。

大規模系に対する電子状態計算によるタンパク質-制御分子複合体間に働く相互作用の解析: 近年、大規模分子系を取り扱うための電子状態計算手法が開発・整備されつつあるが、簡易なテスト分子系での手法評価がほとんどである。本課題では、計算機支援による創薬研究といった応用に向け、大規模系電子状態計算手法による問題点の発掘を行い、実用性向上のための手法改良と開発を行う。

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果: 温度とは全く異なる摂動を与える圧力が、球状蛋白質の熱力学的構造に及ぼす効果とその分子機構を解明する。

球状タンパク質の遅い構造揺らぎの検出と特性解析: 熱平衡状態では出現確率は低いが、機能発現の際に重要な役割を果たすと予測されている、蛋白質の遅い構造揺らぎの検出と特性解析を行う。

タンパク質複合体モデル構造の構築: 細胞内情報伝達系は、複雑なタンパク質間相互作用ネットワークによって構成されている。それらネットワークの乱れは癌と密接な関係があることが知られている。細胞内情報伝達系は、多くのタンパク質が関与する複雑なタンパク質間相互作用のネットワークから構成されるため、その理解のためにはシステムの網羅的検索が必要であり、それらネットワークの静的・動的特性を含む包括的な様式を特定するがある。しかしながら、細胞内情報伝達系において、そのようなタンパク質複合体構造が決定されているものはほとんどない。そのため、本研究ではまずタンパク質複合体モデル構造の構築を行っている。

計算の効率化のためのソフトウェア: 分子動力学計算ソフトウェア CppMD を RICC へ移植開発することにより高精度の自由エネルギー計算を可能とする。

## 2. 具体的な利用内容、計算方法

### 拡張アンサンブルの手法を用いた構造サンプリング

ハミルトニアン REM を開発するにあたって、既存の REM・ハイブリッド REM の精度を見積もる必要がある。また、現在用いられている REM で精度上問題になる点についても調べた。対象として、4 種(正常体および 3 つの変異体)の BPTI (bovine pancreatic trypsin inhibitor) を用い、1000 ステップの交換で 1 ステップ 1fs とし、42

レプリカ・84 ノードで計算した。

### 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明・標的分子を制御する分子の設計

制御候補化合物の最適化手法の開発: 大規模系電子状態計算手法によるタンパク質-制御分子複合体間の相互作用エネルギーの算出として、フラグメント分子軌道法(GAMESS 版)を用いて計算した。系として 10 種類のリガンドに対して結合能実験結果が分かっている FKBP-binding ligand 系(約 1800 原子数)を用いた。複合体の全エネルギーからタンパク質とリガンド分子の全エネルギーを差し引く事で相互作用エネルギーを見積もった。ここで、複合体、タンパク質、制御分子であるリガンド分子のそれぞれの構造緩和と基底関数の重なり誤差の除去を考慮していない。10 種類の FKBP-binding ligand 系における相互作用エネルギー計算値と実験値より相関係数を求めた。

### 生体高分子に対する構造・体積揺らぎの解析

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果: 常圧と高圧下の lysozyme 水溶液に MD 模擬計算法を適用し、全原子座標の時系列データを得、その解析により体積揺らぎのパワースペクトル  $S(\nu)$  を得る。

球状タンパク質の遅い構造揺らぎの検出と特性解析: 常温・常圧での 5 種の蛋白質水溶液に MD 模擬計算法を適用し、全原子座標の時系列データにより、立体構造の時間変化を追跡する。

### 情報伝達系タンパク-タンパク間相互作用の構造予測とその解析

タンパク質複合体モデル構造の構築: 構造未決定のタンパク質の構造モデリングを行い、タンパク質複合体モデル構造はドッキングシミュレーションにより構築している。より精密なモデル構造構築のため、本研究では分子動力学シミュレーションを用いている。

### 高精度自由エネルギー計算のソフトウェア開発

自由エネルギー摂動法による自由エネルギー計

算には分子動力学シミュレーションソフトウェア `gromacs-3.1.4` を改変した `mpcaffé` を利用する予定であったが、並列性能があまり高くないため、同等の計算が可能な `Desmond` の評価と、高度化チームで開発中の `CppMD` へのフィードバックを行う。

### 3. 結果

#### 拡張アンサンブルの手法を用いた構造サンプリング

REM で 8ns、ハイブリッド REM で 40ns の計算を行った。その精度を比較するために、熱容量の算出と RMSD による構造の比較を行ったが、現時点では有意な差が得られなかった。ただし、BPTI は原子数が約 2 万の系であり、少なくとも数十 ns の計算を行わなければ熱容量等を求めることが難しいと考えられるため、これは予想の範囲内である。

#### 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明・標的分子を制御する分子の設計

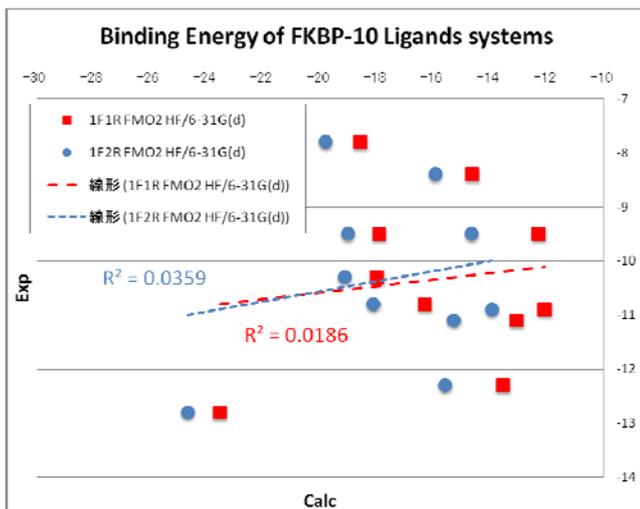


図 1. FKBP-10 ligands 系の相互作用エネルギー計算値と実験値の相関 (FMO2-HF/6-31G(d))

HF/6-31(d)計算における 1 フラグメント 1 残基 (1F1R) と 1 フラグメント 2 残基 (1F2R) の相関係数  $R$  は、それぞれ、0.13、0.19 となりほぼ相関が無い、という結果だった。一方、MP2/6-31(d) 計算における 1F1R と 1F2R の相関係数  $R$  は、それぞれ、0.77、0.79 となり、HF 計算に比べ、

MP2 計算の方が実験値との相関を強く示した。電子状態計算による相互作用エネルギー計算では、MP2 計算の必要性が示唆された。

#### 生体高分子に対する構造・体積揺らぎの解析

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果：実時間 320 ns の模擬計算で、常圧から 300 MPa 迄の加圧により、(1)  $\nu < 1$  THz の中・低周波数域のスペクトル強度が著しく低下する、(2)  $\nu = 0.5$  THz 近傍にピークを持つ広幅の振動帯のピーク周波数は、高周波側にシフトする、ことを見出した。振動帯の成因と加圧効果の機構の解析を進めている。

球状タンパク質の遅い構造揺らぎの検出と特性解析：myoglobin,  $\beta$ -lactoglobulin, lysozyme, cytochrome c, lysozyme の体積揺らぎの、 $\nu < 0.2$  THz の低周波数成分は、(1) 何れもスペクトル強度が  $1/\nu$  に比例する、拡散緩和型の挙動を示し、(2) 分子内の近距離残基間でのみ弱い相関を示すことを明らかにした。

#### 情報伝達系タンパク-タンパク間相互作用の構造予測とその解析

タンパク質複合体モデル構造の構築：膜受容体型チロシンキナーゼ (RTK) の ErbB ファミリー (4 種) について、その結合タンパク質である Grb2、Shc タンパク質のドッキングシミュレーションを行いタンパク質複合体モデル構造を構築した。計 87 構造をモデル化した。

#### 高精度自由エネルギー計算のソフトウェア開発

`Desmond` の通常の MD 計算では 1024 並列程度までスケールすることが確認された。`mpcaffé` と同等の計算をするためには、分子構造パラメータ等を変換する必要がある、現状では評価段階にとどまっている。`CppMD` の開発はまだ途上段階であり、自由エネルギー計算の手法はまだ実装されていない。

### 4. まとめ

本年度は、以下の 3 つの目的、

1. 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解

2. 標的分子を制御する分子の設計

3. 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張性向上

のうち、1および、2と3の一部の計算・解析・開発を行った。1については、精度の高い生体シミュレーション、分子設計、創薬を行うにあたって必要不可欠であることから、今後の研究の基礎を為す重要な成果である。今後については、現時点で問題になっているREM計算のエラーや超並列計算時の不具合を解消し、継続して生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの解析を行うとともに、制御分子の設計・ソフトウェアの拡張についての研究を進める。

5. 今後の計画・展望

#### 拡張アンサンブルの手法を用いた構造サンプリング

継続してREM/ハイブリッドREMによる計算を行う。さらに、REM/ハイブリッドREMの解析結果をもとにして、開発中のハミルトニアンREMの計算と解析を行う。ただし、現在、原因不明のエラーにより計算が破綻するケースが存在し、そのため長時間のシミュレーションが困難になっており、調査中である。

#### 生体高分子の基質認識、触媒反応、構造変化の解明・標的分子を制御する分子の設計

フラグメント分子軌道法を用いて、タンパク質-薬物候補分子複合体間の相互作用エネルギー計算手法の1例結果を得たが、今後は、各分子に対して電子状態計算による構造緩和、基底関数重なり誤差の評価、必要ならばその除去に関する検討を予定している。また、この計算では大容量のストレージが必要である事が判明し、RICC運用上における調査も行う予定である。

#### 生体高分子に対する構造・体積揺らぎの解析

球状タンパク質の体積揺らぎ動力学に対する圧力効果：上の結果を得ているが、(1) 振動帯の詳細な成因解析が未だ完了していない、(2) 実験で

検出されており、機能発現にも重要な、多様な「高エネルギー構造」の生成が観測できていない。これを達成するためには、数 $\mu$ 秒以上、即ち最低10倍程度の実時間の模擬計算が必要であり、是非これを実現したい。

球状タンパク質の遅い構造揺らぎの検出と特性解析：3.で述べた成果から、より低い周波数域には大きな構造揺らぎが存在する可能性が強く示唆される。低周波数揺らぎの詳細な分子描像の解析と局所構造転移の検出には、更に長時間のMD模擬計算が必要であり、継続利用によりこれらを達成したい。

#### 情報伝達系タンパク-タンパク間相互作用の構造予測とその解析

タンパク質複合体モデル構造の構築：ErbBファミリーについて、他の結合タンパク質についても同様のモデル構造を構築していく予定である。

#### 高精度自由エネルギー計算のソフトウェア開発

引き続き、同等の計算をmpcaffeとDesmondで計算した場合の精度と計算速度を比較する。ターゲットは新型インフルエンザウィルスのノイラミナーゼとリレンザの複合体の系を準備している。次世代スパコンでの運用に向けたCppMDへのフィードバックも続ける。

6. RICCの継続利用を希望の場合は、これまで利用した状況(どの程度研究が進んだか、研究においてどこまで計算出来て、何が出来ていないか)や、継続して利用する際に行う具体的な内容

本研究の遂行期間は昨年の10月から今年の9月までの一年間であり、現時点で期間の半分を過ぎていない。また、RICCのシステム不具合もあり、目的で示した3項目のうち、研究成果としては「1. 生体高分子の機能・構造・ダイナミクスの理解」および「2. 標的分子を制御する分子の設計」と「3. 計算の効率化のためのソフトウェアの拡張性向上」の一部となっている。

## 平成 21 年度 RICC 利用研究成果リスト

### 【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. Kunitsugu Soda, Yudai Shimbo, Yasutaka Seki and Makoto Taiji: “Analysis of Volume-Fluctuation Dynamics of Proteins and Pressure Effects”, *5-th International Meeting on Biomolecules under Pressure*, Regensburg, Aug. 2009.
2. Kunitsugu Soda, Yudai Shimbo, Yasutaka Seki and Makoto Taiji: “Effects of Pressure on Volume-Fluctuation Dynamics of Proteins”, *47th Annual Meeting Of Biophysical Society of Japan*, Tokushima, Oct. 2009.
3. 曾田邦嗣, 新保雄大, 関安孝, 泰地真弘人: “蛋白質の体積揺らぎ動力学と水和効果”, 理研シンポジウム
4. 動的水和構造と分子過程□, 佐用町, 2009 年 11 月.
5. 曾田邦嗣, 新保雄大, 関安孝, 泰地真弘人: “蛋白質の体積物性と水和効果”, 蛋白研セミナー・分子スケールワークショップ: ペタスケールの生体分子シミュレーション, 横浜, 2010 年 1 月.
6. 新保雄大, 関安孝, 泰地真弘人, 曾田邦嗣: “分子動力学計算による非極性分子の水和熱容量の物理的起源の解析”, 第 32 回溶液化学シンポジウム, 新潟, 2009 年 11 月.
7. 新保雄大, 泰地真弘人, 曾田邦嗣: “非極性分子の水和熱容量の分子的起源”, 蛋白研セミナー・分子スケールワークショップ: ペタスケールの生体分子シミュレーション, 横浜, 2010 年 1 月.
8. 大塚教雄, 沖本憲明, 泰地真弘人, “大規模分子系電子状態計算手法によるタンパク質-リガンド結合エネルギー予測の性能査定”, 大阪大学蛋白質研究所セミナー次世代生命体統合シミュレーション研究開発プロジェクト分子スケールワークショップ ペタスケールの生体分子、横浜、2010 年 1 月
9. N. Futatsugi, N. Okimoto, A. Suenaga, H. Fuji, T. Narumi, Y. Ohno, R. Yanai, M. Taiji. *In Silico Prediction of Side Effects via the Specificities of Kinase Inhibitors. CBI-KSBSB Joint Conference*, Busan, Korea, Nov. 2009.

