

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, 古田 忠臣, 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・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、特に、全原子シミュレーション法と疎視化モデルとの新規の連成の方法論の開発を行っている。この研究の目的は以下の 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 MSES 法の実装は完了し、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、その高速化にむ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

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。

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。

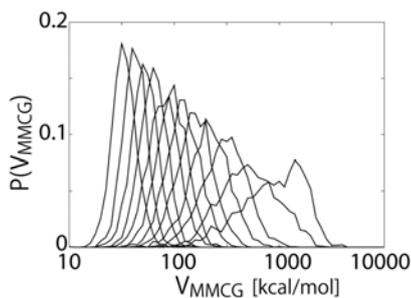


図 1: barnase-barster 複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での各レプリカの $P(V_{MMCG})$ 。

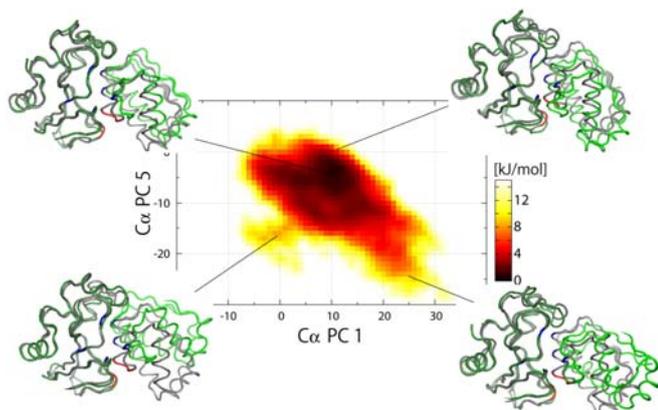


図 2: barnase-barster 複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法で得られた自由エネルギー地形。

得られた構造アンサンブルから自由エネルギー地形を計算した結果 (図 2)、2 つのタンパク質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複合体形成過程が確かめられた (Approaching)。

Approaching でのタンパク質間の接触原子ペア数と水と

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、それに従い水と水が離れる脱水が起こることがわかった。

しかしながら、MSES 法で得られる複合体近傍構造と X 線の複合体構造とは構造に小さな差異がみられた。その違いをより明らかにするため、X 線の複合体構造を初期構造としてシミュレーションを行い、両方の構造アンサンブルを比較した。タンパク質間の水素結合に注目した結果、Approaching による複合体近傍で形成される水素結合とそこからさらなる側鎖のパッキングや脱水 (Arrangement) を経て形成される水素結合に分類できることを見出し、Approaching と Arrangement 過程において水素結合が形成される順序を決定した。また、Arrangement 過程での遷移状態における水素結合状態を特定した。この水素結合には比較的少数のアミノ酸残基が関わっており、これらの残基は 1 残基置換実験で $\Delta\Delta G$ が大きい、つまり、複合体形成における相互作用形成に必須であることが実験で示されている。

これらのシミュレーション結果を今後論文にまとめて発表する予定である。

(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こと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 (図 3) 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 α 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、28 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 4)。今後、MSES 法による構造サンプリングを十分な時間スケールで行い、Form 1 か Form 2 への構造変化パスを調べる予定である。

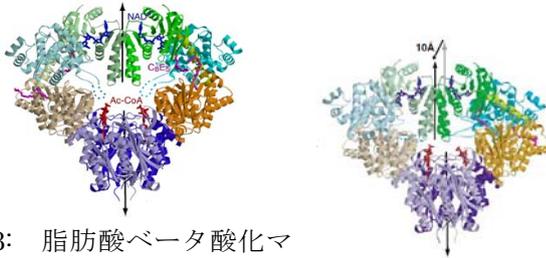


図 3: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体の立体構造。対称構造 (Form 1) と非対称構造 (Form 2)。

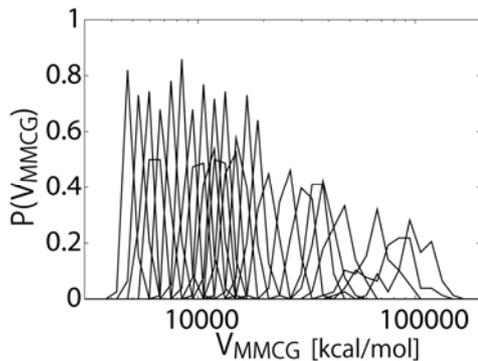


図 4: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での各レプリカの $P(V_{MMCG})$ 。

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 複合体の形成過程については、これまでの研究では粗視化シミュレーションや 2 つのタンパク質の重心間距離のみを自由度にした自由エネルギー計算が行われてきた。本研究でははじめて、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て行い、側鎖のパッキングや脱水和、水素結合形成といった原子情報を用いた詳細な解析により複合体形成の原子レベルでの描像を明らかにした。

5. 今後の計画・展望 (これまで利用した状況や、継続して利用する際に行う具体的な内容)

プログラムの公開と「京」での実行に向けて、 $\mu 2lib$ の更なる高速化にむけたコード改良を行う。

MSES 法のアプリケーションとしては、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、タンパク質複合体の別の適用例として、最近「構造を持たない機能性タンパク質」として注目されている天然変性タンパク質に適用し、ターゲット分子との結合により変性領域が折れたたむ folding-via-binding 過程のシミュレーションを行う。

平成 23 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. Ikuo Fukuda, Yasushige Yonezawa, and Haruki Nakamura, "Molecular Dynamics Scheme for Precise Estimation of Electrostatic Interaction via Zero-Dipole Summation Principle" *Journal of Chemical Physics*, 134, 16417 (2011).
2. Tohru Terada and Akinori Kidera, "Comparative molecular dynamics simulations study of crystal environment effect on protein structure" submitted to *Journal of Physical Chemistry B*.
3. 森次圭、「粗視化モデルを用いたマルチスケールシミュレーションシステムの構築」、*生物物理学会誌*、52, 026 (2012).
4. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera, "Disorder-to-order transition of an intrinsically disordered protein revealed by multiscale enhanced sampling", submitted to *Journal of the American Chemical Society*.

【国際会議などの予稿集、proceeding】

1. I. Fukuda, N. Kamiya, and H. Nakamura, "Zero-dipole summation method for precisely estimating electrostatic interaction in molecular dynamics" *International Society for Theoretical Chemical Physics (ISTCP-VII)*, Waseda Univ., Tokyo, Japan, Sep. 2, 2011.

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 寺田 透
「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プログラム開発のためのクラスライブラリ」
日本生物物理学会第49回年会、兵庫、2011年9月
2. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera
"Multiscale enhanced sampling simulation for protein-protein interaction"
日本生物物理学会第 49 回年会、兵庫、2011 年 9 月
3. 森次 圭、木寺 詔紀
「マルチスケール・マルチコピーシミュレーション (MSES 法) による天然変性タンパク質 sortase の構造サンプリング」
日本物理学会 2011 年秋季大会、富山、2011 年 9 月
4. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera
"Molecular mechanism of allosteric regulation of an intrinsically disordered protein, sortase, revealed by comprehensive all-atom conformational sampling simulations"
Conference on Computational Physics (CCP) 2011, アメリカ、2011 年 10-11 月

【その他】

該当なし