

課題名 (タイトル) :

大規模生体分子系におけるマルチレゾリューション手法の開発

利用者氏名 : ○松永 康佑*, 岩橋—小林 千草*, Jaewoon Jung**, 神谷 基司*
八木 清**, Re Suyong**

所属 :

*計算科学研究機構 粒子系生物物理研究チーム

**本所 杉田理論分子科学研究室

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、結晶構造解析などから、生体分子の詳細な構造情報の取得が可能となり、それらの分子機能に対する理解が進んでいる。詳細な構造情報を用いた分子動力学法(Molecular Dynamics; MD)等の計算機シミュレーションもまたその一端を担っている。シミュレーションは、生体分子が機能するときの詳細な機能ダイナミクス情報を得られることが強みであり、分子機能を物理化学的に解明するために不可欠のアプローチとなってきた。我々のチームでは、京や RICC で高効率に動作する超並列 MD プログラム「GENESIS」を開発・公開してきた。本課題では、GENESIS の高速 MD エンジンを中心に、HOKUSAI において大規模生体分子系に対するマルチレゾリューション連成計算法を開発する。GENESIS の高速 MD エンジンと、マルチレゾリューション計算を組み合わせることで、これまで計算不可能であった生体分子機能をシミュレートすることを目的とする。そのために以下の 4 つの応用研究を行う。

- 1) 翻訳時におけるリボソームの構造変化の解析
- 2) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析
- 3) WW domain タンパク質フォールディングのデータ同化解析
- 4) 模式的細胞内環境における GTP 加水分解反応機構の解析

2. 具体的な利用内容、計算方法

- 1) 翻訳時におけるリボソームの構造変化の解析
Our calculation system is the ribosome in explicit water molecules. It consists of 30S, 50S RNA, mRNA and 2 tRNAs. The total

number of particles is 2,012,725. Out of them, solvents include 585,303 water molecules, 649 Mg^{2+} , 4427 K^+ , and 984 Cl^- ions. From this system, we prepared two different structures: pre and post states of tRNA translocation. Coordinates and velocities are updated using velocity Verlet integrator for all simulations. To increase the time step of update, we constraint bonds related with hydrogen atoms using SHAKE/RATTLE algorithm. Internal motions of water molecules are constrained by SETTLE algorithm. The first calculation is the targeted MDs between the pre and post states where we assign restraint force given target value of RMSD. Based on the trajectories from the targeted MD, free energy profiles were obtained from the umbrella sampling applied to the RMSD coordinate

2) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

共同研究者の名古屋大学の太田教授らのグループが開発したドメイン運動解析手法である Motion Tree を、Adenylate Kinase、SERCA に適用する。更に Motion Tree で得られたドメイン運動の情報をパラメータに使った粗視化モデル (Domain Motion Enhanced (DoME) モデル) を開発した。(論文 1) 粗視化モデルを用いた分子動力学法(MD)、レプリカ交換 MD(REMD)、string 法計算には我々のグループが開発している GENESIS を用いた。

3) WW domain タンパク質フォールディングのデータ同化解析

1 分子 FRET データと直接比較するために、蛍光色素分子をラベルした WW domain の全原子モデルを構築し、TIP3P 溶媒モデル下でのフォールディングシミュレーションを行った。ただし、GENESIS の高速な MD エンジンを用いても、WW-domain のフォールディング時間である 50 マイクロ秒を達成することは困難である。そこで、88 レプリカを用いたレプリカ交換 MD(REMD) を行って効率的に構造空間をサンプリングした。

4) 模式的細胞内環境における GTP 加水分解反応機構の解析

擬似細胞環境内にある Ras/GAP 複合体における GTP 加水分解反応の反応物、遷移状態の構造を GAMESS に実装された QM/MM RWFE SCF 法で最適化した。各状態それぞれについて約 40 回の QM/MM RWFE SCF 構造最適化を行った。

3. 結果

1) 翻訳時におけるリボソームの構造変化の解析

Two structures in the translocation procedure of a ribosome (pre- and post-states) were revealed by Dr. Sanbonmatsu's group in Los Alamos. At first, we performed targeted MD simulations (from pre state to post state, and from post state to pre state) to get an initial pathway for sampling simulations. We confirmed that the RMSD of heavy atoms decrease up to 0.5 Å in the simulation and the conformational change of a whole ribosome. We also analyzed important local conformations, in particular, movement of tRNA. The distances between U47 of the aa-tRNA and U8 of the P-site tRNA (named R_{elbow}), is such kind of example. R_{elbow} values are 50.28 Å and 36.65 Å for the pre and post states, respectively (Figure 3). According to the targeted MD from the post state to pre state, R_{elbow} changes from 36 Å to 40 Å. In the case of the targeted MD from pre to post, it changes from 50 Å to 46 Å. At this moment, the conformational changes of tRNA are not exhibited. Therefore, the effect

of the targeted MD is just the global conformational change without the specific translocation procedure. We selected representative 30 images from the targeted MD trajectory from pre to post state and calculated a free energy profile by umbrella sampling simulations. In other words, we performed independent 30 MD simulations by using an umbrella potential with different target RMSD values and obtained distributions along RMSD from the structure of the post state (Figure 4). We find that the structures at the free energy minimum are deviated from the experimental one around 2.7 Å RMSD. This means that the stable structures in the pre state are also involved in making the free energy minimum state in the post state. We suggest that this phenomenon could give an effective clue in identifying mixed ribosome conformations in a polysome.

2) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

前年度までの研究では、Motion Tree がタンパク質における構造変化の最小単位である rigid domain と、それらのドメイン運動の大きさの情報をよく記述しており、実験結果とも対応する事を示した。粗視化モデルは長時間のダイナミクスの観測を可能にする反面、相互作用パラメータによりそのダイナミクスの性質が変化するという問題点も存在している。そこで、Motion Tree により得られたドメイン運動の情報を粗視化モデルのパラメータとして用いる DoME モデルを開発した。更に異なる反応状態間遷移を可能とする multi-basin モデルも併せて導入した。その結果、このモデルは従来のモデルに比べ、広い構造空間をサンプル可能なことを示した。更に multi-basin モデルで用いる状態間を結ぶパラメータを REMD を用いてより効率的に精製するスキームも開発した。これらのモデル、スキームを SERCA に適用した。更に ATP が結合する反応ステップ対して string 法による最小自由エネルギー経路計算を行った。その結果、水溶性ドメイ

ンと膜貫通部位がカップルしながら構造変化を行う様相を示した。

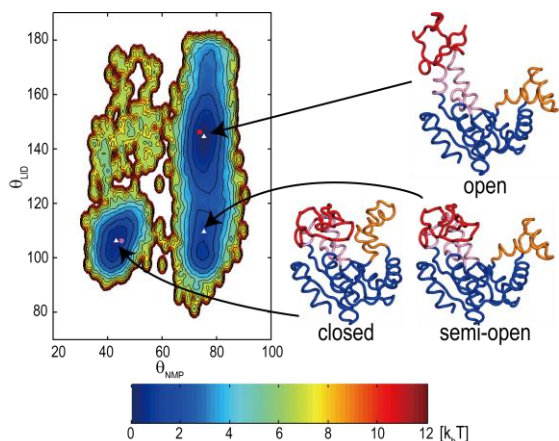


図 1 DoME モデルでの自由エネルギー面

3) WW domain タンパク質フォールディングのデータ同化解析

88 レプリカを用いたレプリカ交換 MD(REMD) を、各レプリカにしておよそ 1 マイクロ秒のシミュレーション時間を行うことができた。最初の数百ナノ秒においては、高温(>500K)のレプリカは中々低温と交換せずに、交換レートのギャップができて、フォールディングイベントをサンプリングすることが困難であった。しかし、1 マイクロ秒付近になると、高温のレプリカが交換し初めて、フォールディングイベントをサンプルすることができた。その後、このシミュレーションデータの一部と、GPGPU を用いた長時間 MD シミュレーションの結果を組み合わせ、マルコフ状態モデルを構築した。そして、構築したマルコフ状態モデルに対して、1 分子 FRET データを用いた機械学習を適用し、遷移確率行列をアップデートした(Baum-Welch アルゴリズムをマルコフ状態モデル向けに改変したものを適用)。その結果、1 分子 FRET 計測データをよく再現するマルコフ状態モデルを構築することができた。

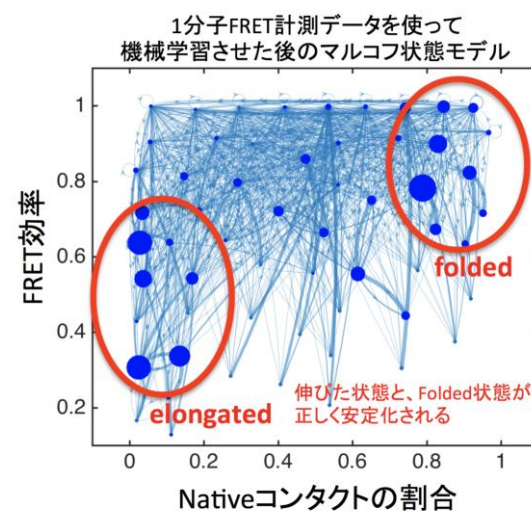
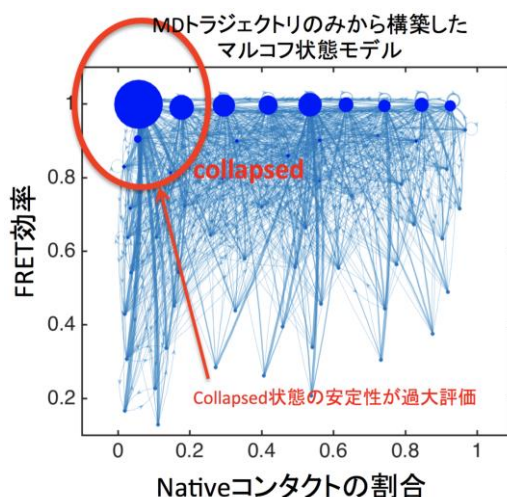


図 2 (上) MD トラジェクトリのみから構築したマルコフ状態モデルと (下) 1 分子 FRET 計測データを使って機械学習し、遷移行列パラメータをアップデートした後のマルコフモデル。各ノード(状態)の面積は平衡時の確率、エッジの太さは遷移確率を示す。

4) 模式的細胞内環境における GTP 加水分解反応機構の解析

得られた構造は水溶液中での最適化構造と大きな違いはなかった。しかしながら、周囲の場が反応中心近傍に作る静電場は水溶液中と擬似細胞環境で大きく異なっていた。この結果は現実的な細胞内の環境には理想的すぎる環境に比べて大きなゆらぎが自然に存在すること、そしてその影響がタンパク質複合体の内部にまで及んでいるということを示唆している。

4. まとめ

1) 翻訳時におけるリボソームの構造変化の解析

To understand the mechanism of ribosome,

we picked two conformations related with the translocation of tRNA (the pre and post states). We confirmed that targeted MD simulations observe global conformational changes. According to the umbrella sampling simulations, we found that the structures at free energy minimum are slightly different from that experimental structure.

2) カルシウムイオンポンプの反応機構の解析

Motion Treeにより解析されたタンパク質における構造変化の最小単位と、それらのドメイン運動の大きさの情報を粗視化モデルのパラメータとして用いる DoME モデルを新たに開発し、MD ソフト GENESIS に導入した。このモデルはドメイン運動を従来モデルより効率的にサンプルできることを示した。また REMD を用いてパラメータ精製を行う手法も開発した。更にこのモデルを SERCA に適用し、string 法による最小自由エネルギー経路計算を行い、それぞれのドメインがカップルしながら構造変化を行う様相を示した。

3) WW domain タンパク質フォールディングのデータ同化解析

大規模シミュレーションデータ(88 レプリカを用いたレプリカ交換 MD)と実験データ(1 分子 FRET データ)を組み合わせることで、実験データを正しく再現する統計モデル(マルコフ状態モデル)を構築することができることを示した。今後、構築したマルコフ状態モデルをパス解析することでフォールディング時の構造変化計算を行い、フォールディング機構に関する物理的知見を得ていく。

4) 模式的細胞内環境における GTP 加水分解反応機構の解析

模式的細胞内環境下における GTP 加水分解の QM/MM 計算を行い、水溶液中と細胞内環境における静電場の違いを示した。より具体的に擬似細胞環境の効果を調べるためには、反応の自由エネルギー変化そのものを計算することが必要であると思われる。水溶液中と細胞内で反応プロファイルを比較することで、その効果を具体化できると考えられる。

5. 今後の計画・展望

今年度は、GENESIS の高速 MD エンジンと、マルリレゾリューション計算を組み合わせることで、これまで計算不可能であった挑戦的な計算を行うことができた。既存の計算とは質的に異なる新しい結果が出てきているが、新たな物理モデル・知見とより直接結つく十分なデータを得るために、来年度も引き続き同様の課題を実行していく。

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. C. Kobayashi, Y. Matsunaga, R. Koike, M. Ota, Y. Sugita, "Domain Motion Enhanced (DoME) Model for Efficient Conformational Sampling of Multidomain Proteins" *J. Phys. Chem. B*, **119**, 14584-14593, (2015)
2. Y. Matsunaga, A. Kidera, and Y. Sugita, "Sequential data assimilation for single-molecule FRET photon-counting data" *J. Chem. Phys.* **142**, 214115 (13 pages) (2015)
3. J. Jung, C. Kobayashi, T. Imamura, and Y. Sugita, "Parallel implementation of 3D FFT with volumetric decomposition schemes for efficient molecular dynamics simulations", *Comput. Phys. Commun.* **200**, 57-65 (2016)

【国際会議などの予稿集、proceeding】

なし

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. Jaewoon Jung, "Development of GENESIS for Large scale MD simulations", 4th JLESC workshop, 2-4 Dec, Bonn, Germany (oral)
2. Jaewoon Jung, "Development of GENESIS for Multiscale Molecular Dynamics simulations", 第 1 回 マルチスケール計算生物研究会、2016 年 11 月 11 日、神戸 (oral, invited)
3. Jaewoon Jung, "Parallelization of Molecular Dynamics (分子動力学法の並列化)", CMSI 計算科学技術特論 A 第 13 回、2015 年 7 月 9 日、大阪大学 (oral, invited)
4. Jaewoon Jung and Yuji Sugita, "Multiple time step integrator in molecular dynamics (MD) program GENESIS", 2015 年 3 月 26-28 日、京都 (invited)
5. Jaewoon Jung, Akira Naruse, Chigusa Kobayashi, and Yuji Sugita, "Efficient strong scale parallelization of molecular dynamics on hybrid CPU/GPUs for large scale simulations", 第 29 回 分子シミュレーション討論会、2015 年 11 月 30 日-12 月 2 日、新潟 (poster)
6. Jaewoon Jung, Tadashi Ando, Yasuhiro Matsunaga, and Yuji Sugita, "Development of multiple timestep integrator in isothermal and isobaric conditions for efficient MD simulations of biological systems", 第 53 回日本生物物理学会年会、2015 年 9 月 13 日-15 日、金沢大学 (poster)
7. 小林千草、松永康佑、Jaewoon Jung, 杉田有治, "Development of multi-resolution simulation methods for reactions with large conformational changes in biological system", 第 53 回日本生物物理学会年会、2015 年 9 月 13 日-15 日、金沢大学 (oral)
8. 小林千草、松永康佑、Jaewoon Jung, 杉田有治, "タンパク質の大規模構造変化を伴う反応モデル構築のためのマルチレゾリューションシミュレーション手法の開発", 日本生体エネルギー研究会 第 41 回討論会、2015 年 12 月 22 日、東京大学 (oral)
9. 小林千草, "分子動力学法ソフトウェア GENESIS の概要", CBI 学会講演会、2016 年 1 月 13 日、東京大学 (oral)
10. 松永康佑 "Drug extrusion mechanism of multidrug exporter AcrB studied by the string method", 第 53 回日本生物物理学会年会、2015 年 9 月 13 日-15 日、金沢大学 (oral)
11. 松永康佑、杉田有治 "Sequential data assimilation for single-molecule FRET photon-counting data", 第 53 回日本生物物理学会年会、2015 年 9 月 13 日-15 日、金沢大学 (poster)
12. Motoshi Kamiya, Keiei Kumon, Po-Hung Wang, Shigehiko Hayashi, Yuji, Sugita, "Molecular crowding effect on GTP hydrolysis reaction in Ras-GAP complex", SCLS Symposium 2015, 2015 年 10

平成 27 年度 利用報告書

月 20-21 日、東大浅野キャンパス

13. 神谷 基司、公文 啓瑛、Po-Hung Wang、林重彦、杉田有治、「モデル細胞内混雑環境中の Ras/GAP 複合体における GTP 加水分解反応の QM/MM 計算」、第 29 回分子シミュレーション討論会、2015 年 11 月 30 日、朱鷺メッセ
14. C. Kobayashi, Y. Matsunaga, J. Jung, and Y. Sugita, "Development of multi-resolution simulation methods or model of reaction with large conformational changes in biological system", The 6th AICS International Symposium, 22-23 Feb. 2016, RIKEN AICS Kobe, Japan (poster)
15. Yasuhiro Matsunaga, and Yuji Sugita, "Sequential data assimilation for single-molecule FRET photon-counting data", The 6th AICS International Symposium, 22-23 Feb. 2016, RIKEN AICS Kobe, Japan (poster)
16. J. Jung, and Y. Sugita, "Parallel implementation of molecular dynamics by combining multiple program/multiple data with multiple time step integrator", The 6th AICS International Symposium, 22-23 Feb. 2016, RIKEN AICS Kobe, Japan (poster)
17. M. Kamiya, K Kumon, P. Wang, S. Hayashi, and Y. Sugita, "Molecular crowding effect on GTP hydrolysis reaction in Ras-GAP complex", The 6th AICS International Symposium, 22-23 Feb. 2016, RIKEN AICS Kobe, Japan (poster)

【その他（プレスリリース、学術会議以外の一般向けの講演など）】

講習会 第 7 回 AICS 公開ソフト講習会「GENESIS」、2015 年 9 月 4 日、計算科学振興財団(FOCUS) 神戸