

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, 福田 育夫, 藤崎 弘士, 森次 圭

所属 : H P C I 計算生命科学推進プログラム

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

本研究チームは昨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、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 (コード名: $\mu 2lib$) を行ってきた。特に、全原子シミュレーション法と疎視化モデル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、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、 $\mu 2lib$ 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 や barnase-barster 複合体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 ($\mu 2lib$) の開発を継続しており、今年度は高速化に向けたコード改良やマニュアル・チュートリアルの整備を行った。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。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) 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 つのドメイン構造からなる巨大分子である。上下二つのドメイン複合体の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。今年度の研究では昨年度に引き続きシミュレーション時間を延ばし、得られた構造アンサンブルの解析を行った。

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 $C\alpha$ 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 32 個のレプリカによりハミルトニアンレプリカ交換 MSES シミュレーションを約 40 ns 実行した (図 1)。

得られた全原子構造サンプリングからまず、Form 2 の非対称構造が Form 1 に比べて不安定であることが分かった (図 2)。本シミュレーションでは脂肪酸分子を入れていないため、Form 2 への構造変化には脂肪酸のチャネリング移動が必須であることが示唆される。また、構造変化における α/β サブユニット間の原子相互作用の変化を観測したところ、ドメイン間の柔軟な運動により原子相互作用を適宜変化させながら構造を大きく変化させる分子メカニズムを見出した。この構造変化機構は、異なる活性部位での反応を受け渡すような脂肪酸代謝チャネリング分子機構の理解につながると考えられる。

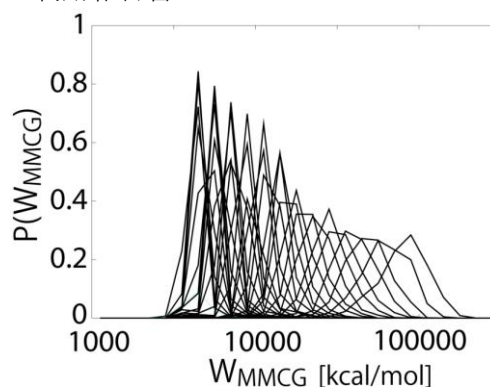


図 1: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での計 32 レプリカの $P(W_{MMCG})$ 。平均 acceptance ratio = 0.20。

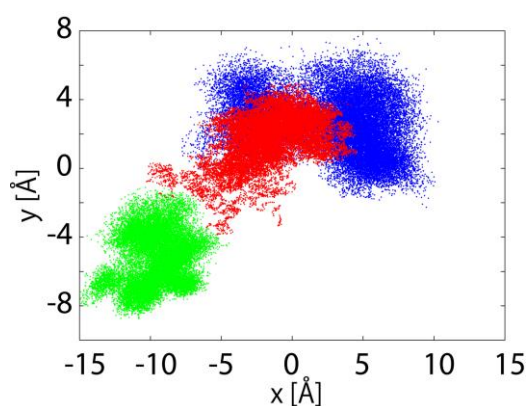


図 2: 脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での構造分布 (赤)。Form 1 (青) と Form 2 (緑) から始めた平衡 MD (100 ns) の結果と重ね合わせた。

(2) EIN-HPr 複合体の形成シミュレーション

細菌のリン酸転移酵素系である Enzyme I の N 末端ドメイン (EIN) と HPr タンパク質の複合体に MSES 法を適用した。EIN-HPr 複合体は NMR により複合体構造が解かれており、また、最近では、常磁性緩和促進法 (PRE) の実験データから遷移中間体のモデル構造が提案されている。このモデルは遷移中間体が複合体構造から比較的離れた境界面でも接触しうることを示唆しており、分布確率の小さな複数の遷移中間体構造を含んだ構造アンサンブルを得ることを目指し MSES 法を適用した。

本研究ではまず、PRE データをもとに、HPr が EIN 表面周辺を十分に運動するような CG モデルを構築した (図 3)。MM/CG 拘束は 2 つの EIN と HPr 間の $C\alpha$ 原子ペアのうち原子間距離が 12\AA 以内のものに適用した。MM と CG のばね強度を変えた 20 個のレプリカを用いたハミルトニアンレプリカ交換 MSES シミュレーショ

ンを 100 ns 実行した。

まず得られた全原子構造サンプリングが NMR の PRE データをある程度再現することから、MSES 法による全原子構造探索の妥当性を示した。また、自由エネルギー面を計算することにより、複合体構造が比較的動きやすく固定された安定構造でないこと、また、複合体構造とは離れた遷移中間体構造が存在することが分かった(図 4)。さらに、準安定構造である遷移中間体構造から複合体構造に到達するパスが比較的ダウンヒルであることが明らかになった。これは、EIN-HPr の複合体形成が主に静電相互作用により起こることを示唆している。今後の解析では非特異的に結合した側鎖構造の原子コンタクトや水和水の離脱過程にも注目し、複合体構造を探索するターゲットサーチ過程の詳細を明らかにする予定である。

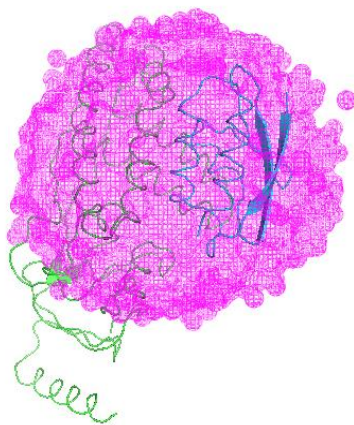


図 3: EIN-HPr 複合体粗視化 MD での Hpr の重心位置の動き。

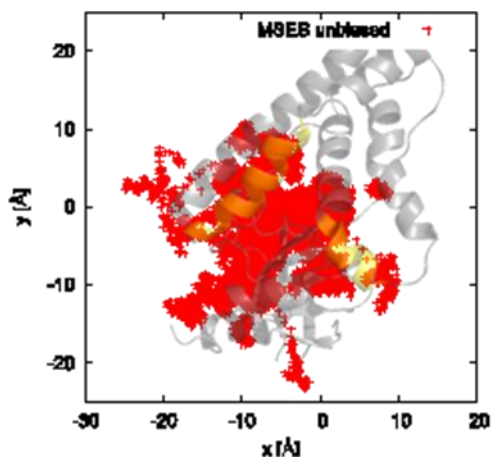


図 4: EIN-HPr 複合体ハミルトニアンレプリカ交換 MSES 法での構造分布。Hpr の重心位置を複合体界面に対してプロットした。

分子動力学 (MD) 計算において最も計算コストを要し、かつ適切に考慮された処理が必要になるクーロン力による長距離静電相互作用計算について、より効率的に計算する手法 (Zero-dipole (ZD)法) の検証研究を行った。ZD 法は本プロジェクトにて開発された方法であり、強結合イオン系や生体系のベースとなる水分子のバルク系では十分な精度を有することがこれまでに分かっていた。今年度の研究では、さらに、膜蛋白質系と DNA 系などのヘテロな系に ZD 法を適用し、その精度を検証した。カットオフ長において十分実用的な距離である 12 Å に対する全エネルギーの誤差で、各々 0.04%、0.007% 程度であることを確認した (図 5)。さらに、残基毎のエネルギー、分子種毎のエネルギーについても十分な精度を得た。また、動径分布関数などの静的因子、原子揺らぎの相関などの動的因子も全く問題なく再現できていることが分かった (図 6)。

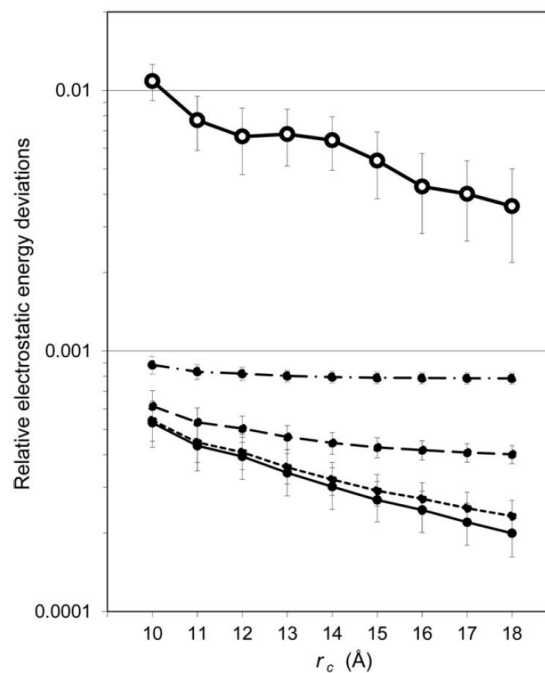


図 5: GPCR 系における静電相互作用エネルギー誤差。一番上の折線が従来のカットオフ法の結果。その他の折れ線が ZD 法の結果であり、違いは遮蔽因子値による。

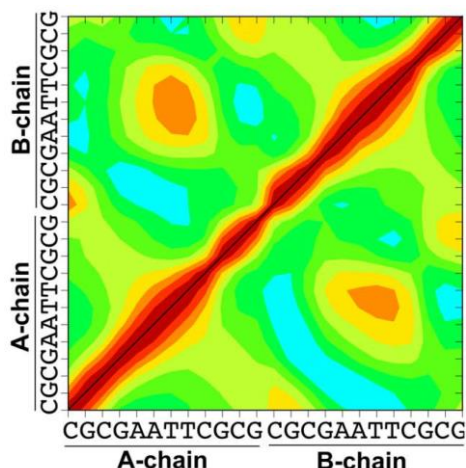


図 6: DNA 系における原子揺らぎの相関行列。上三角が ZD 法で得られた結果。下三角が PME 法で得られた結果。

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 ($\mu 2lib$) の開発とプログラム公開に向けた整備を行い、応用研究として MSES 法を 2 つのタンパク質複合体に適用した。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。

従来の平衡 MD を実行することでさえ非常に計算時間がかかるような巨大系である脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体の構造変化を溶媒を含めた全原子解像度で行った本研究は非常にチャレンジングな試みであると言える。また、常磁性緩和促進法 (PRE) の実験データに基づいた EIN-HP α 複合体の形成シミュレーションは、実験データにより構造空間を粗視化レベルで限定することで全原子構造サンプリングを効率的に行うマルチスケール手法である点で、これまでにない非常に独創的な研究であると言える。

5. 今後の計画・展望

MSES 法の応用研究として、タンパク質への低分子化合物 (リガンド) 結合過程の構造サンプリングを行う。リガンド結合は代謝系や細胞内・外の情報伝達系に数多く見られ、生命活動を特徴付ける重要な化学過程の一つである。リガンドは、一般に基質ポケットと

呼ばれる、タンパク質表面にある特定の窪みに結合する。反応を起こさないが、基質ポケットに結合するリガンドを用いれば、酵素の機能や情報の伝達を阻害することができる。ノイラミニダーゼの基質ポケットに結合して酵素の働きを阻害する抗インフルエンザ薬タミフルのように、多くの薬剤がこの原理に基づいて開発されており、計算機シミュレーションによりリガンドがタンパク質に結合するダイナミックな過程を全原子解像度で直接観測することは薬剤の分子設計といった応用研究につながると考えられる。

平成 25 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. “Multiscale Enhanced Path Sampling Based on the Onsager-Machlup Action: Application to a Model Polymer”
Hiroshi Fujisaki, Motoyuki Shiga, Kei Moritsugu and Akinori Kidera
Journal of Chemical Physics (2013) 139: 054117.
2. “Application of Zero-dipole summation method to molecular dynamics simulations of a membrane protein system”
Narutoshi Kamiya, Ikuo Fukuda, and Haruki Nakamura
Chemical Physics Letters (2013) 568–569: 26–32.
3. “Molecular Dynamics Simulations of Double-Stranded DNA in an Explicit Solvent Model with the Zero-Dipole Summation Method ”
Takamasa Arakawa, Narutoshi Kamiya, Haruki Nakamura, and Ikuo Fukuda
PLoS ONE (2013) 8: e76606.

【国際会議などの予稿集、proceeding】

該当なし

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. 「新規全原子構造探索法（MSES）とその天然変性蛋白質への適用」
森次 圭、寺田 透、木寺 詔紀
第 13 回蛋白質科学会年会、鳥取、2013 年 6 月

【その他】

該当なし