

課題名 (タイトル) :

全細胞モデリングに向けたマルチスケールシミュレーション法の開発

利用者氏名 : ○安藤格士*, 宮下尚之*, 岩橋 - 小林千草**, Jaewoon Jung**, 松永康佑**,

Michael Feig*, 柏原裕美*, 狩野康人*

所属 : *生命システム研究センター 分子機能シミュレーション研究チーム

**計算科学機構 粒子系生物物理研究チーム

課題 1 : 生体膜での膜タンパク質の相互作用の解析 (宮下、柏原)

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

骨格成長や発達に関わる膜タンパク質である FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) は膜貫通部位の二量体化が機能の発揮に特に重要であるとされているが、詳細な構造やインターフェースについて未だにわかっていない。そこで、構造予測により活性型および非活性型構造を予測することを目的とした。具体的には、今回は implicit solvent/membrane model を用いたサンプリングシミュレーションで、二量体インターフェースに注目した二次元アンブレラサンプリングシミュレーションを実施し、複数のインターフェースの予測を実施した。

2. 具体的な利用内容、計算方法

Implicit solvent/membrane model (imm1, GBSW の二種類の model) によるアンブレラサンプリングを実施した (FGFR)。図 1 に示す通り、ヘリックス間の Crossing Angle (α , 20 window) と、インターフェースを決めるそれぞれのヘリックスの rotational angle (ρ_1 , ρ_2 , 25 window) に関する二次元アンブレラサンプリング (total 500 window) を実施した。それぞれのアンブレラについて 1 ns の予備計算と、40 ns の本計算を実施している。

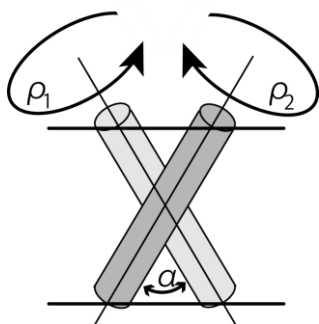


図 1

3. 結果

実施した二次元アンブレラサンプリング計算によって得た PMF を図 2 に示す。さらに、ここから得た、エネルギーが一番低く安定な構造 (図 2 の LM1 に対応) を図 3 に示す。これにより、水素結合などの強い結合ではなく、フェニルアラニンによる疎水性を利用した 2 量体化が起こっているのではないかと結論した。

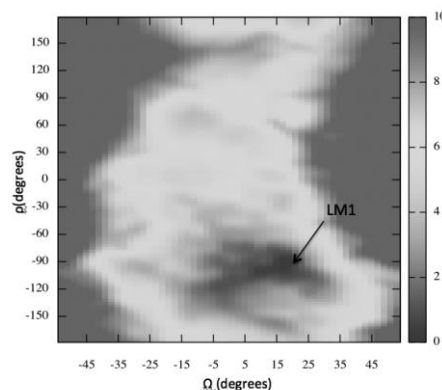


図 2

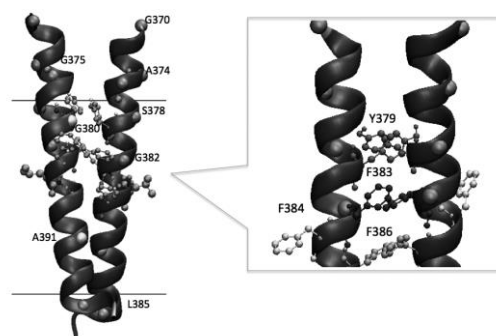


図 3

4. まとめ

実施した二次元アンブレラサンプリング計算により、2 量体化した際に最も取りやすいインターフェース面の候補を求めることができた。

5. 今後の計画・展望

今後、細胞質内に位置する、シグナル伝達に関わる部位 (キナーゼドメイン) も含めたより大きな系についてモデルを構築し、同様の計算を実施していく予定である。それらの結果と、共同研究者による実験結果との比較を行い、活性型、非活性型

におけるインターフェース面を決定していく

課題 2：粗視化モデルによるカルシウムイオンポンプの反応機構の解析 (岩橋 - 小林、Feig)

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

膜輸送タンパク質であるイオンポンプは、細胞内外のイオンの濃度を厳密に制御しており、様々な生命活動に非常に重要な役割を担っている。機能の発現には、ATP 加水分解やイオンの輸送に伴う大規模な構造変化が大きな役割を与えていることが実験研究から明らかにされている。本課題では、これらの大規模な構造変化によりどのように機能が制御・統合されているのかについて明らかにすることを目的とする。サブミリ秒にも渡る長時間な過程である大規模な構造変化を見るためには長時間のダイナミクス計算が必要となる。そのため、タンパク質の構造変化の特徴を取り入れながらも、長時間計算を可能にする粗視化モデルの開発を行った。これらの手法を代表的なイオンポンプであるカルシウムイオンポンプ(SERCA)に対して適用した。

2. 具体的な利用内容、計算方法

まず、共同研究者である名古屋大学の太田教授らが開発したドメイン運動の解析手法を SERCA の反応サイクル上の 7 つの結晶構造に適用した。更に、この解析から得られた rigid domain を構造変化の最小単位とする粗視化モデルを新たに開発した。また粗視化モデルを用いた分子動力学法(MD)計算は我々のグループが開発している GENESIS を用いた。

3. 結果

実験結果との比較から、この解析手法が各反応段階での構造変化の特徴を能くとらえることを確認した。更に、7 つの反応からなる反応サイクルを通して構造変化が起きない部分(rigid domain)と、柔軟性を持つ部分に分けられることを示した。この rigid domain はタンパク質で起きうる構造変化の最小単位というだけではなく、各反応の特徴をとらえたものであることを示した。この結果を受けて、更に、このドメイン運動解析法から得られるタンパク質の柔軟性をハミルトニアンのパラメータと

する粗視化モデルを新たに開発した。従来の比較的精密な粗視化モデルでは、ローカルな相互作用では各残基が取り込まれているが、その一方、水溶性ドメイン間と膜貫通領域の全体的な相互作用のバランスが不十分であった。今回開発したモデルでは、ローカルな相互作用の精密さより、ドメインやタンパク質全体での安定性、運動を記述することに重点が置かれている。その結果、安定したシミュレーションを解析することが可能となった。

4. まとめ

最近開発されたドメイン運動の解析手法を SERCA の各反応状態の結晶構造に適用することにより、このタンパク質における構造変化の最小単位である rigid domain とその他の柔軟な部位を明らかにした。更に部位に関して、実験データと照合を行うことで、生物物理的意味を明らかにした。この知見を用いて、タンパク質の長時間・大規模なダイナミクスを再現できるような粗視化モデルの開発を行い、シミュレーションを行った。今回開発されたモデルは従来の粗視化モデルに比べて、タンパク質の安定性、運動の性質などをよりの確に記述できることを明らかにした。

5. 今後の計画・展望

今後は開発したモデルを用いて、SERCA の各反応状態間の大規模な構造変化のシミュレーションを行う。また、膜分子による部位依存の安定性や、リガンドとの相互作用による安定性の変化など、様々な化学的・生物的要因を取り込んだ粗視化モデルの開発も引き続き行う。開発された新しい粗視化モデルを用いることで長時間シミュレーションを行い、イオンポンプなどの反応サイクルを通じた構造変化によって生体機能を発現する系の物理的モデル構築を目指す。

課題 3：逐次データ同化によるタンパク質動態の解析 (松永)

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

細胞機能全体を理解するためには、その構成物質であるタンパク質の動態を理解することが重要である。ここでは、1 分子 FRET (Förster Resonance

Energy Transfer)の実験データを元に、データ同化シミュレーションを行い、タンパク質動態を解明するための方法論と実証研究を行う。

2. 具体的な利用内容、計算方法

これまでに時間解像度の粗い 1 分子 FRET データを「追跡」できる粗視化モデルの実装や、粒子フィルタをベースとする逐次データ同化手法の開発・実装を行ってきた。これまでに実装をベースに、実証研究へ向けて以下の検証を行った。(1)粗視化モデルを使って模擬データを生成し、逐次データを推定できるかを検証した。(2) 推定結果のモデルパラメータ依存性を検証した。具体的には、モデルパラメータを意図的に変更したモデルでデータ同化シミュレーションを行って、状態を推定できるかを検証した。

3. 結果

Poly-proline の模擬 FRET データに対して、粒子フィルタベースの逐次データ同化シミュレーションを行って推定した end-to-end 距離の結果を図 4 に示す。少ない粒子数(今の場合 4 個)だと粒子退化のために推定性能が悪くなるのに対して、多くの粒子(8192 個)を用いると良く推定できることがわかった。モデルパラメータを意図的に変更したモデルを用いたデータ同化シミュレーションを行った結果、パラメータの不一致が小さい限りにおいては、データ同化計算によりシミュレーションのエラーが修正され、ロバストに状態推定できることがわかった。第 1・第 2 主成分へ投影した自由エネルギー地形の結果を図 5 に示す。

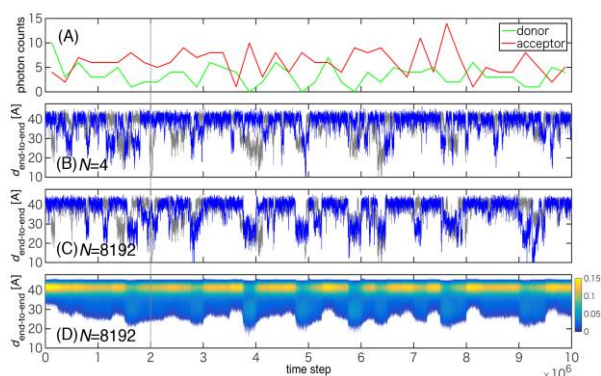


図 4 (A)模擬 FRET データ、(B)粒子 4 個を用いた場合の end-to-end 距離の推定結果、(C)粒子 8192 個を用いた場合

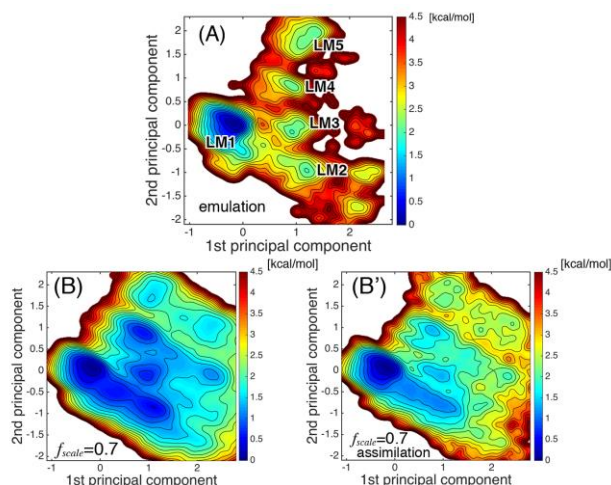


図 5 (A)真のモデルパラメータの自由エネルギー地形、(B)誤ったモデルパラメータの自由エネルギー地形、(B')それをデータ同化した結果

4. まとめ

データ同化手法の実証研究へ向けて検証を行い、(1)粒子数をおよそ 1000 個以上使えば、粗視化モデルの状態推定ができること、(2) モデルパラメータ恣意性によるエラーが小さい限りにおいては、データ同化により修正することができる、ことを示した。これらの結果をまとめて国際誌へ投稿した(査読中)。

5. 今後の計画・展望

今後は、実データを用いた実証研究へ向けて、実験条件の様々なファクターをサポートするための実装をする。また同時に実データへの応用も行っていく。

課題 4 : 並列化ブラウン動力学法の開発とその応用 (安藤、Jung、狩野)

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

The cellular interior is highly crowded with proteins and nucleic acids. A simple calculation tells that 20-40% in volume fraction is occupied by the macromolecules, where average distance between them is only their sizes, a few nm. Dynamics and stabilities of macromolecules under the crowded environment are expected to be quite different from those in diluted conditions which are often used in biochemical,

biophysical, and theoretical studies in biology. Therefore, we need to fill the gap between them to get deep understanding of molecular/cellular mechanisms of biological processes in cells. All-atom molecular dynamics (MD) simulation is a powerful technique to see macromolecular dynamics and stability at atomic resolution. Recent improvements of computational power and algorithms in MD have raised limitations of accessible simulation size and time scale. Actually, our group has performed a MD simulation of an intracellular system of a prokaryotic cell for a hundred nanoseconds. In order to extend time scale and special scales by several orders of magnitude in molecular simulations, we have tried to develop a high-performance Brownian dynamics (BD) simulator for coarse-grained (CG) macromolecules.

2. 具体的な利用内容、計算方法

BD simulation is one of the most important techniques to simulate CG macromolecules in a fluid, where the dynamical effects of solvent molecules on a solute are incorporated in a stochastic manner consisting of hydrodynamics instead of explicitly considering solvent molecules. For N Brownian particles, the propagation equation can be expressed as

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + \frac{\Delta t}{k_B T} \mathbf{D} \mathbf{F} + (\nabla \cdot \mathbf{D}) \Delta t + \sqrt{2\Delta t} \mathbf{B} \mathbf{z}$$

Here, \mathbf{r} is the position vector of the N particles, t is the time, Δt is the time step, k_B is Boltzmann's constant, T is the temperature, \mathbf{D} is the $3N \times 3N$ diffusion tensor representing hydrodynamic interactions (HI), \mathbf{F} is the $3N$ dimensional force vector, and \mathbf{z} is the $3N$ dimensional Gaussian random noise vector, which has zero mean and variance of 1. \mathbf{B} is a $3N \times 3N$ matrix that satisfies the following relationship:

$$\mathbf{D} = \mathbf{B} \mathbf{B}^T.$$

3. 結果

BD algorithm have been parallelized with

MPI/OpenMP and implemented in our molecular simulation package "GENESIS". Using the software, we performed a series of BD simulations of a bacterial cytoplasm modeled by CG particles for 100 microseconds, where macromolecules are represented by spheres shown in Fig. 6. BD simulations and analysis were performed on RICC.

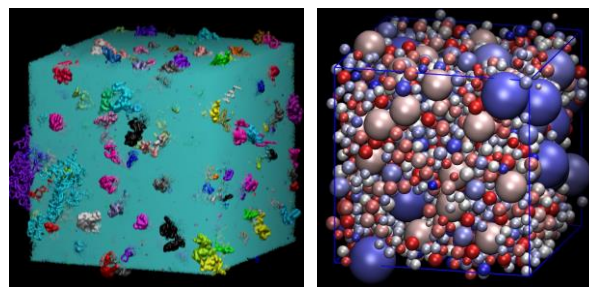


Fig. 6. All-atom model for MD (left) and coarse-grained model for BD (right) to simulate a bacterial cytoplasmic space.

Relative diffusion coefficients of macromolecules as a function of their Stokes radii is shown in Fig. 7. The results show that 1) normalized diffusion coefficients of macromolecules decrease as increase of their radii, 2) diffusion coefficients obtained from CG-BD with HI are reasonably close to those from all-atom MD simulation as well as experimental values of some of proteins, indicating diffusion of macromolecules inside of cells is insensitive to their shape, and 3) diffusion coefficients of macromolecules in BD without HI are much larger than those in MD and experiments, indicating importance of hydrodynamic interactions for macromolecular diffusion in intracellular environments.

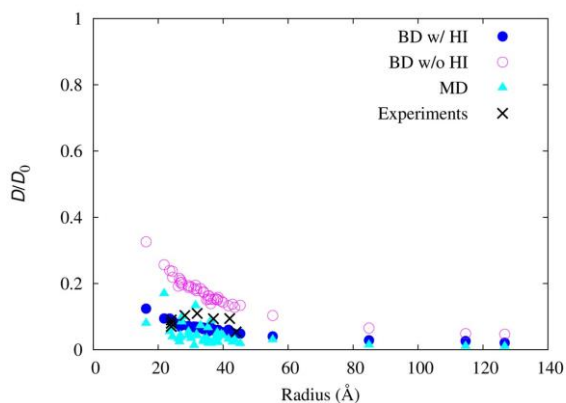


Fig. 7. Normalized diffusion coefficients, D/D_0 , for various particle sizes obtained from the BD simulations with and without HI and all-atom MD, where D is the diffusion coefficient obtained from simulations and D_0 is the diffusion coefficient at infinite dilution. In the figure, the reductions in diffusion coefficients of monomer GFP and a series of engineered GFP oligomers are also shown.

For a further speed-up of BD, a FFT-based hydrodynamic calculation algorithm is developed. Our new parallelization scheme of 3D FFT bases on two new volumetric decomposition schemes with hybrid parallelization (MPI + OpenMP). In this scheme, five all-to-all communications in one dimension are carried out (scheme is depicted in Fig. 8). The developed scheme is particularly useful when used in conjunction with domain decomposition in BD. Our method shows very good parallel performance. Before doing simulations on RICC, we first checked performance on K computer for 5123 and 10243 grids, which is the grid size that is usually used in BD simulations, and obtained the world best speed (5123 grids : 3.5 ms, 10243 grids : 9 ms for the sum of forward and backward FFTs).

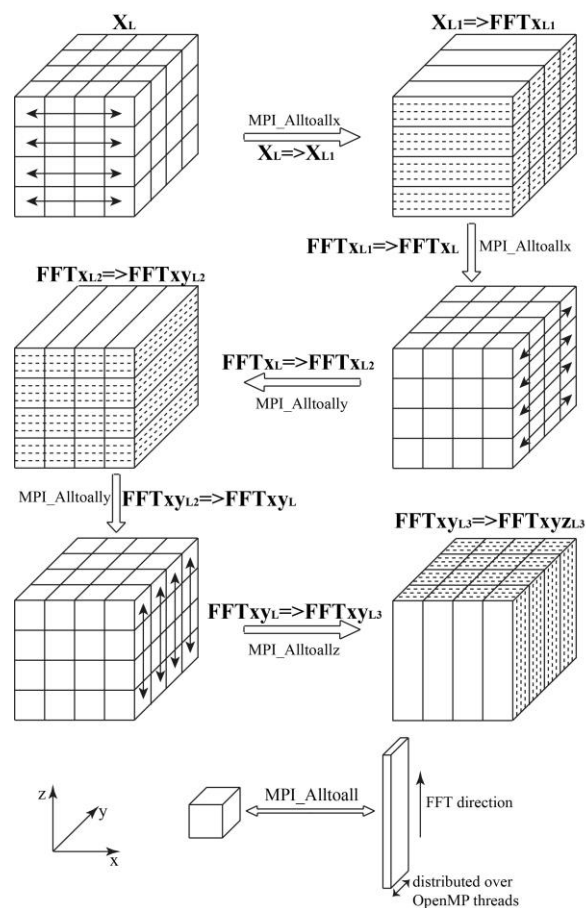


Fig. 8. Overall parallelization scheme of FFT

4. まとめ

We have developed the parallelized BD simulation program, which is implemented into GENESIS simulation package, and new 3D FFT scheme for a further speed-up of BD. Long-time BD simulations of the modeled bacterial cytoplasm showed that BD approach with CG models could provide important insights into the mechanism of how macromolecules behave inside of cells, which cannot be obtained if we used only all-atom MD method. We believe that this is an important first step towards multi-scale simulations of cells. We are now preparing manuscripts to report the results.

5. 今後の計画・展望

The FFT-based hydrodynamic calculation algorithm is now developed. We are planning to distribute the BD simulator for public.

平成 26 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】

- Naoyuki Miyashita, Suyong Re, Yuji Sugita, “REIN: Replica-exchange Interface for simulating protein dynamics and function”, *International Journal of Quantum Chemistry*, Vol. 115, Issue 5, 325-332 (2015)
- Chigusa Kobayashi, Ryotaro Koike, Motonori Ota, and Yuji Sugita, “Hierarchical Domain-Motion Analysis of Conformational Changes in Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase”, *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* (in press)

【国際会議、学会などでの口頭発表】

- Yasuhiro Matsunaga and Yuji Sugita "Sequential data assimilation of single-molecule FRET photon-counting data by using molecular dynamics simulations" Telluride Workshop on Coarse-Grained Modeling of Structure and Dynamics of Biomacromolecules, Telluride CO USA, Aug. 4-8, 2014.
- Yasuhiro Matsunaga “Molecular dynamics simulation studies using multi-copy based methods: string method and sequential data assimilation” The 5th AICS International Symposium, Kobe, Dec. 8-9, 2014.

【その他】

- 宮下尚之、小串典子、杉田有治 “ラフト中でのアミロイド前駆体タンパク質の膜貫通部位の二量化にコレステロールが与える影響” 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌、北海道）、2014 年 9 月 25 日（ポスター発表）
- 宮下尚之 “脂質分子とアミロイド前駆体タンパク質（APP）との相互作用とダイナミクス” 神戸大学先端融合科学シンポジウム 2015 年 1 月 20 日
- 柏原裕美、宮下尚之、Li Pai-Chi、杉田有治 “Comparison of the predicted structure of the FGFR3 transmembrane domain by enhanced sampling simulations with experimental results” 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌、北海道）2014 年 9 月 25 日（ポスター発表）
- Chigusa Kobayashi, Ryotaro Koike, Motonori Ota, and Yuji Sugita, “Conformational changes of SERCA in response to reactions described by hierarchical domain-motion analysis”, 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌、北海道）、2014 年 9 月 26 日（ポスター発表）
- Chigusa Kobayashi, Ryotaro Koike, Motonori Ota, and Yuji Sugita, “Conformational changes of SERCA in response to reactions described by hierarchical domain-motion analysis”, The 5th AICS international Symposium (Kobe)、2014 年 12 月 8-9 日（ポスター発表）
- Jaewoon Jung, “Development of molecular dynamics program for large scale complex biomolecules”, Workshop on New horizons in Nonlinear Complex Systems in honor of Prof. Hie-Tae Moon, May. 20, Daejeon, Korea
- Tadashi Ando, Isseki Yu, Michael Feig, and Yuji Sugita, “Macromolecular dynamics in intracellular environment: Brownian dynamics simulation study”, 第 52 回日本生物物理学会年会（札幌、北海道）、2014 年 9 月 25 日（ポスター発表）
- Tadashi Ando, Isseki Yu, Michael Feig, and Yuji Sugita, “Macromolecular dynamics in intracellular environment: Brownian dynamics simulation study”, The 5th AICS international Symposium (Kobe)、2014 年 12 月 8-9 日（ポスター発表）