

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 : ○森次 圭、福田 育夫、藤崎 弘士、

所属 : 情報基盤センター・技術開発ユニット

## 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

本研究チームは平成 24 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研究開発 (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、通常の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 MSES 法を拡張した新規手法の開発とその  $\mu 2lib$  への実装を行った。 $\mu 2lib$  のような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。 $\mu 2lib$  は、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) MSES 法の拡張

MSES 法を巨大タンパク質のような広範な構造探索を必要とする系に適用するにあたり、全原子モデル (MM) の運動を効率的にドライブしうよう、粗視化モデル (CG) を動かすことが可能かという問題が生じる。つまり、安定な局所構造にある MM に CG が引っ張られ両方とも動かなくなる状況が容易に想像できる。このとき CG は、力場自体がそもそも広範な領域を歩き来するように設定されているにもかかわらず、その力に比べて支配的な MM からの反作用により運動が拘束される。この問題を解決するため、複数の CG を用いた MSES 法の拡張 (multiple-CG-driven MSES; mcMSES) を試みた。図 1 のように MM とカップルする CG モデルの数を増やすことで、連成系により多様な動的摂動を加えることができる。また、MM がある局所構造にトラップされたときの連成系の運動を考慮すると、CG 間に引力ではなく斥力を与えることで CG が構造空間中に分散し、より効率的に MM を引っ張ることができると考えられる。この mcMSES 法を溶媒中シニョリンのフォールディング過程に適用することにより、従来の手法に比べてより効率的に MM 構造のサンプリングが実現されることを確かめた[2]。

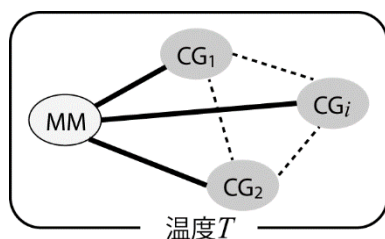


図 1 : mcMSES 連成系

## (2) グルタミン結合タンパク質の全原子構造サンプリング

タンパク質への低分子化合物 (リガンド) の結合は、代謝系や細胞内・外のシグナル伝達系に数多くみられる、生命活動の特徴づける重要な化学過程の 1 つである。タンパク質とリガンドの複合体の立体構造は数多く決定されているが、そのリガンドがタンパク質に結合する過程に関する知見は、実験の困難さから、ほとんど得られていない。また、分子シミュレーションの分野でも、関連する研究は、タンパク質表面上のリガ

ンド結合部位 (基質ポケット) のモデルにリガンドのモデルをはめ込むドッキングシミュレーションが主流であり、リガンドがタンパク質に結合する過程に関する知見は十分に得られていない。

本研究では、リガンド結合過程の物理化学的理解を目指し、リガンド結合タンパク質のモデルとして実験・理論で用いられているグルタミン結合タンパク質に対して MSES 法を適用し全原子構造探索を行った。リガンド結合はタンパク質・リガンド間相互作用とタンパク質の立体構造変化を伴う過程であるため、両方を同時に実現するような粗視化モデルの設計がまず必須になる。そのため粗視化力場のうち、タンパク質・リガンド間相互作用に対してはリガンド分子からの距離に依存する Lennard-Jones 型ポテンシャルを、タンパク質内相互作用に対してはリガンド結合・非結合の 2 構造をつないだ double-well 弾性ネットワークモデルを適用した。全原子モデルとの連成に必要な MM-CG カップリング項やハミルトニアン交換 MSES に必要なレプリカ数などのパラメータを決定するためのテスト計算を実行したのち、12 個のレプリカを用いて 100 ns のハミルトニアン交換 MSES を行った。得られた全原子トラジェクトリを観察した結果、従来の brute-force MD に比べて広範なサンプリングが実現されることが示された (図 2)。今後はリガンド結合過程のサンプリングシミュレーションとトラジェクトリ解析を継続して行い、リガンド相互作用とタンパク質立体構造を反応座標とした自由エネルギー地形の計算や、リガンドとタンパク質の遭遇複合体に注目したリガンド結合過程の解析を行う予定である。

## (3) Zero-multipole summation 法の開発とその実証研究

分子動力学 (MD) 計算において最も計算コストを要するのは長距離相互作用計算である。特にクーロン静電相互作用計算では、単純なカットオフ計算が許されず、適切に考慮された処理が必須である。我々は、凝集系で実際に起こっているだろう電荷の中性条件に着目し、これを任意次数の多重極子モーメントに対して一般化し、このような条件を満たす相互作用を二体相互作用で扱う方法として、Zero-multipole summation 法[4]を開発し、この手法をイオン液体系と水分子系に適用し、その精度を検証した。

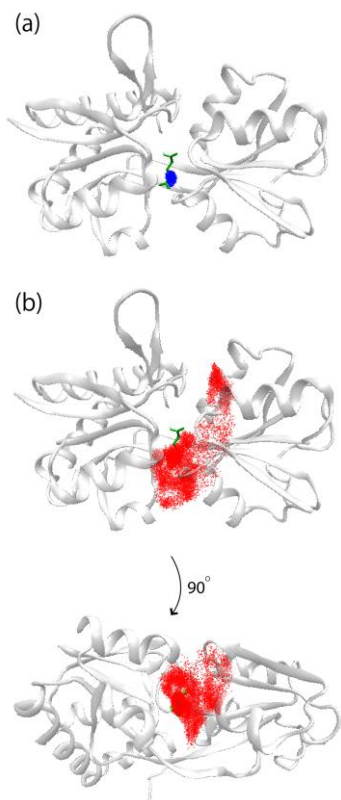


図 2：通常の MD(a)と MSES 法(b) でのリガンド結合構造探索範囲の比較

イオン系でテスト計算を行った結果、多重極子モーメント次数  $l$  を 3~4 程度まで上げてエネルギーの精度が向上することが分かった (図 3)。またカットオフ距離  $r_c$ 、遮蔽パラメタ  $\alpha$  への依存性についても詳細に検討し [2]、MD 計算の安定性も検証した (図 4)。水分子系については、イオン系とエネルギーの精度の様子が異なったが、動径分布関数の精度が次数を上げることで大きく向上することもわかった (図 5)。水分子系は生体系のシミュレーションでは欠かせない存在であり、扱う分子の数も溶質のそれにくらべて圧倒的に多いので、これらの静電相互作用計算が正確にそして高速に行われることが重要である。従って今後も水分子系でさらなる解析を進めていきたいと考えている。

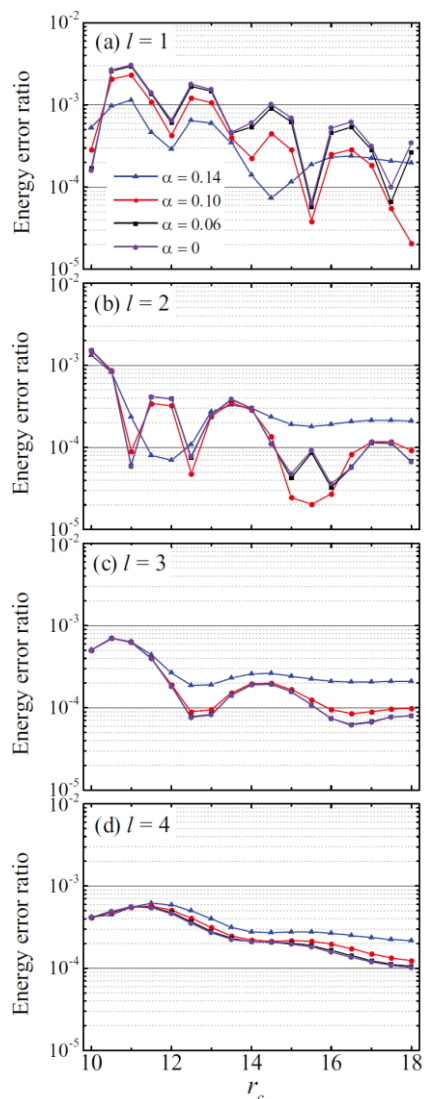


図 3: イオン液体系における静電相互作用エネルギー誤差率

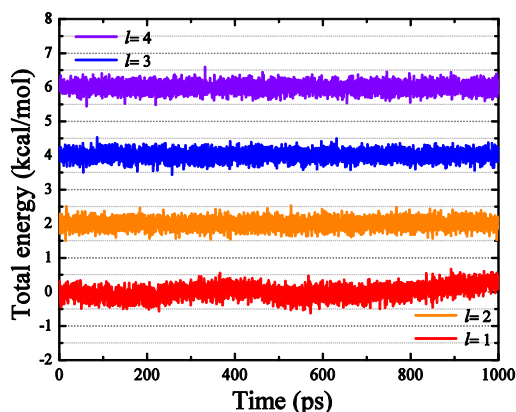


図 4: イオン液体系の NEV MD 計算における全エネルギーのトラジェクトリ。次数  $l$  毎に縦軸の値をずらして表示した。

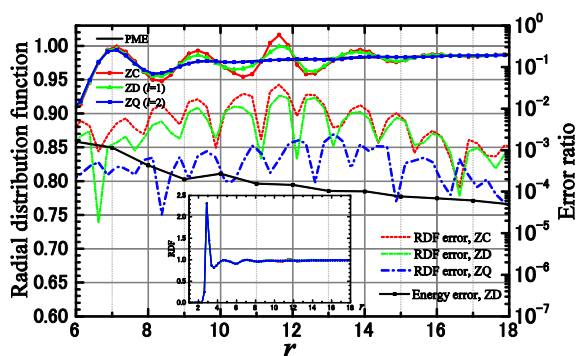


図 5: TIP3P 水分子系における O-O 原子間の動径分布関数。比較のためエネルギー誤差も示した。

#### 4. まとめと今後の計画・展望

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 ( $\mu 2lib$ ) の開発を進め、応用研究として MSES 法をリガンド結合過程の解析に適用した。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。来年度は、生物学的応用を目指したリガンド結合過程の研究として、イオンチャネル共役型グルタミン酸受容体 (iGluR) に MSES 法を適用する。グルタミン酸の基質への結合経路を網羅的に探索し、原子コンタクトの形成や脱水和といったリガンド結合過程の分子メカニズムの理解したうえで、構造探索で得られた遷移・中間状態でのリガンド結合様式を原子レベルで比較することで、アゴニストとの結合様式がマクロな解離定数にどう効くか、また、アンタゴニストの構造がリガンド結合経路のどこを阻害しているか、といった観点から新規薬剤の設計につなげていきたい。

また、Zero-multipole summation 法は溶媒中の生体分子シミュレーションにおいて大部分を占める静電相互作用計算を正確かつ高速に実行できる手法であり、今後は比較的大きなタンパク質系への適用を進めていきたい。

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】**

1. Kei Moritsugu, Akinori Kidera and Jeremy C. Smith, “Solvent Friction Effect Propagate over the Entire Protein Molecule through Low-Frequency Collective Modes”, *Journal of Physical Chemistry B* (2014)118: 8559-8565.
2. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera, “Multiscale Enhanced Sampling Driven by Multiple Coarse-grained Models”, *Chemical Physics Letters* (2014) 616–617: 20-24.
3. Kei Moritsugu, Tohru Terada and Akinori Kidera, “Energy Landscape of All-atom Protein-protein Interactions Revealed by Multiscale Enhanced Sampling”, *PLOS Computational Biology* (2014) 10: e1003901.
4. Ikuo Fukuda, N. Kamiya, H. Nakamura, “The zero-multipole summation method for estimating electrostatic interactions in molecular dynamics: analysis of the accuracy and application to liquid systems”, *Journal of Chemical Physics* 140:194307 (2014).

**【国際会議、学会などでの口頭発表】**

1. 藤崎弘士、生体分子における反応経路とキネテックスの計算手法、化学反応経路探索のニューフロンティア 2014 (広島大) 2014 年 9 月 20 日
2. Hiroshi Fujisaki, Path search and sampling methods for biomolecular systems, International symposium on extended molecular dynamics and enhanced sampling: Nose dynamics 30 years (NOSE30), Keio Univ. 11/11, 2014.
3. Hiroshi Fujisaki, Rare event sampling problems for biomolecules, Research Center for the Mathematics on Chromatin Live Dynamics, Hiroshima Univ. 11/28, 2014.
4. Hiroshi Fujisaki, Rare event sampling for conformational change and ligand binding for biomolecules, The 9<sup>th</sup> International Conference on Computational Physics, National University of Singapore, Jan. 7-11, 2015.