

RISM理論により溶媒効果を取り入れた第一原理からのタンパク質の立体構造予測

●光武 亜代理

慶應義塾大学 理工学部 物理学科

〈研究の目的と進め方〉

タンパク質の周りの環境変化（溶媒の種類や温度）による構造変化は、データベース化しにくく、物理化学的な知見が必要である。本研究では、ランダムな構造から物理化学的な理論に基づいた全原子シミュレーションを行うことにより、周りの環境（溶媒や温度）から生じるタンパク質の構造変化の機構（フォールディング機構）を解明することを目的としている。

具体的には、以下のような研究を行う。生体高分子のシミュレーションをする際、系のエネルギー関数を正確に取り入れ、シミュレーションがエネルギー極小状態に留まるのを効率良く避けるために強力なサンプリング法を採用することが重要である。系のエネルギー関数に関して、特に、溶媒とタンパク質の相互作用を厳密に見積もることが重要であり、これには、統計力学に基づくRISM理論と水をあらわに取り入れた手法を用いる。また、強力なサンプリング法として、拡張アンサンブル法（従来の手法としてはマルチカノニカル法、レプリカ交換法、シミュレーティッド・テンパリング法などがある）を適用する。この手法は、1回のシミュレーションの結果から、エネルギー極小状態ばかりでなく、任意の温度における熱力学量を計算することができる。よって、変性状態や折り畳み中間状態などを含む配位空間の全体像を調べる折り畳み問題に適した手法である。これまで、この手法をタンパク質系に適用し、その有効性を示してきた。また、新しい手法の開発も行ってきた。

本研究では、拡張アンサンブル法の開発の継続と、上記のエネルギー関数と拡張アンサンブル法を組み合わせたアルゴリズムの開発を行う。そして、数十残基からなるタンパク質の拡張アンサンブルシミュレーションを行い、巻き戻りプロセスについての知見を得る。さらに、シミュレーションの解析手法の開発も行う。

〈研究開始時の研究計画〉

これまでの研究で、拡張アンサンブル法が生体高分子のシミュレーションにおいて、極めて有効であることを実証してきた。1年目ではこれらの手法について更に開発を継続する。また、統計力学に基づく分子性液体論であるRISM理論により溶媒の効果を厳密に取り入れた拡張アンサンブルモンテカルロシミュレーションのアルゴリズムの開発を行う。また、陽に水分子を取り入れた拡張アンサンブル分子動力学シミュレーションのプログラムの開発も行う。

これらのプログラムを開発し、13残基のC-peptideのシミュレーションを行う。特に、溶媒の種類やPhを変えることにより、周りの溶媒による構造変化を分子レベルで調べる。

また、シミュレーションの解析手法についての開発も行い、タンパク質系にこれらの手法を適用し、有効性を調べる。

〈研究期間の成果〉

・拡張アンサンブル法の開発

分子動力学法でレプリカ交換マルチカノニカル法、マルチカノニカルレプリカ交換法が開発されていたが、このモンテカルロ版を開発した[1、2]。そして、17残基からなるヘリカルペプチドのシミュレーションを行った。従来のマルチカノニカル法では系が大きいと、マルチカノニカル重みというパラメータの決定が難しくなり、このためサンプリング効率の良いシミュレーションを行うことが困難であった。しかし、レプリカ交換マルチカノニカル法を使うとこのパラメータを容易に決定することができ、エネルギー空間上をランダムウォークする効率の良いサンプリングを系が大きくなってでも実現できるようになった。また、マルチカノニカルアンサンブルの系のレプリカ交換を行うマルチカノニカルレプリカ交換法は、さらに系が大きくなってでも有効であることがわかった。

新しい拡張アンサンブル法1つであるレプリカ交換シミュレーティッド・テンパリング法を拡張した手法であるシミュレーティッド・テンパリングレプリカ交換法の開発を行い、上記と同様の系である17残基からなるヘリカルペプチドのシミュレーションを行なった[4]。この手法はシミュレーティッド・テンパリングアンサンブルの系を交換することにより、温度空間上のランダムウォークを促進する方法である。系が大きくなるとこの手法は有効であると考えられる。本論文では、この手法は、この手法の有効性を調べた。

さらに、溶液論の分野で開発された統計力学に基づくRISM理論と拡張アンサンブル法を結合するために、エネルギーが温度に依存した場合のレプリカ交換法の開発を行った[5]。従来のレプリカ交換法で、RISM理論を用いて溶媒効果を取り入れると、レプリカ間の温度交換を行うことが難しく、効率の良いシミュレーションができなかったが、この修正された手法を用いると温度交換がおり、効率の良いサンプリングが実現できることがわかった。ここでは、5残基からなるMet-enkephalinの系でこの手法の有効性を調べた。これにより、RISM理論を用いて拡張アンサンブルシミュレーションを行えるようになった。

3D-RISM理論と拡張アンサンブル法を結合するために、既存のFreeのソフトウェアを改良し、レプリカ交換MD法とレプリカ交換MC法を組み込んだ。

・拡張アンサンブルシミュレーション

系として5万原子からなる水を取り入れた56残基からなるタンパク質の分子動力学レプリカ交換シミュレーションを開始した。

全部で224レプリカあり現在1レプリカあたり4nsのシミュレーションが終了した。現在もシミュレーションを進めている。

共同研究により3D-RISMを上記のFreeソフトに組み込み、13残基からなるC-peptideのシミュレーションを開始した。

・解析手法の開発

NMRの実験データを得る手法を共同研究者のG. L. Penna博士が開発しており、拡張アンサンブル法から得られたトラジェクトリーをこの手法を用いて解析して、NMRの実験との比較を行った。

高分子の分野の解析手法である緩和モード解析をタンパク質系に適用するために、真空中のMet-enkephalinの系でこの手法の有効性を調べた。ここでは、緩和モード解析は主成分解析の拡張版であるので、主成分解析もいくつもの準安定状態があることが知られている。主成分解析の主成分モードはかならずしも、これらの安定状態を遷移する方向に対応していなかった。緩和モード解析では、第1緩和モードは最安定状態と1つの準安定状態の遷移を表していた。また、第2緩和モードは準安定状態の遷移を表していた。これにより、緩和モード解析はいろいろな準安定状態の遷移を記述するのに有効であることがわかった。

〈研究の達成度〉

研究の目的の1つとして拡張アンサンブル法の開発が挙げられるが、これに対しては、いくつかの新しい拡張アンサンブル法を開発を行い、この目的を達成した。これらの開発した手法を詳細に比較することにより、効率良くシミュレーションを行う上での知見を得ることができた。

また、Freeのソフトを修正して、拡張アンサンブル法を組み込むことができた。このソフトへの組み込みにより力場パラメータを変えるなど幅広いシミュレーションを行えるようになった。エネルギーが温度に依存する場合のレプリカ交換法の定式化により、溶媒の効果を溶媒和自由エネルギーを用いて組み込む場合に有用である手法を開発した。このように、当初の研究計画以上に拡張アンサンブル法に関するアルゴリズムの開発を行った。

拡張アンサンブルシミュレーションに関しては、56残基からなる分子動力学レプリカ交換シミュレーションは、地球シミュレータの巨大なコンピュータシステム中の約900cpuを用いて行っている。このコンピュータシステムでプログラムを実行するためにプログラムの最適化を行った。地球シミュレータは安定であるため、ほとんど計算が落ちることなくシミュレーションが進んでいるが、系が巨大(約900cpuのコンピュータを使っている)なために、現在もシミュレーションを継続中である。

3D-RISMを用いたシミュレーションに関しては、Freeソフトの改良からはじまり、共同研究(分子研の平田研(特に丸山博士)と立命館大の今井博士)により、プログラムの開発は終わったが、溶媒効果を計算するのに時間がかかるため、現在もシミュレーションを継続中である。

上記2つのシミュレーションは系が巨大なために現在も継続中である。

解析手法に関しては、高分子の理論を用いたNMRデータの解析手法や、主成分解析の発展である緩和モード解析をタンパク質の系に適用することができて、初期の計画以上の成果を得た。

〈国内外での成果の位置づけ〉

拡張アンサンブル法は、シミュレーション分野で注目されている。その拡張アンサンブル法の新しい手法を開発したことは重要である。これは、分子シミュレーション研究会の会誌の連載[6-8]からも分かることであり、こ

れら手法の開発は注目されている。

地球シミュレータを用いたシミュレーションに関しては世界規模のシミュレーションシステムである。最新の拡張アンサンブル手法を用いてこれを行っており、大変時間のかかるシミュレーションでもあるが、チャレンジングな研究であり、国際的にも、非常に注目されている。

RISM理論を用いたシミュレーションは、現在gridコンピュータを使っており、非常に高速化されている。この研究に関しても他ではできない計算システムであり、得られる結果は非常に興味深い。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

拡張アンサンブル法の開発や、大規模なシミュレーションを実現するためのプログラムの開発や、新しい解析手法の適用など、達成した研究計画は多い。しかし、RISM理論や陽に水を取り入れたシミュレーションを期間中に終了する予定であったが、どちらも大変時間のかかるシミュレーションであり、期間中にこれらのシミュレーションを終了し、計算結果を解析することができなかった。

〈今後の課題〉

現在、進行中である上記シミュレーションを完了し、タンパク質の巻き戻りプロセスについての知見を得る。

RISM理論を用いたシミュレーションに関しては、溶媒の種類をかえるプログラムを更に開発し、溶媒によるタンパク質の構造変化の違いの物理的理由などについての知見を与える。

解析手法については、緩和モード解析を小さな系で適用し、この解析手法の特徴を調べたが、水も含めたより大きな系に適用し、実験データとの比較が行えるかなどについて調べる。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1)論文/プロシーディングス

- 0404071946
Mitsutake, A., Sugita, Y., and Okamoto, Y.,: replica-exchange multicanonical and multicanonical replica exchange Monte Carlo simulations of small peptides. I. Formulation and benchmark test, J. Chem. Phys., 118, 6664-6675 (2003).
- 0404071952
Mitsutake, A., Sugita, Y., and Okamoto, Y.,: replica exchange multicanonical and multicanonical replica exchange Monte Carlo simulations of small peptides. II. Application to a more complex system, J. Chem. Phys., 118, 6676-6688 (2003)
- 0404072016
Penna, G.L., Mitsutake, A., Masuya, M., and Okamoto, Y.,: Molecular dynamics of C-peptide of ribonuclease A studied by replica exchange Monte Carlo method and diffusion theory. Chem. Phys. Lett., 380, 609-619 (2003)
- 0408231625
Mitsutake, A., and Okamoto, Y.,: replica-exchange extensions of simulated tempering method, J. Chem. Phys., 121, 2491-2504 (2004).
- 0602091929
Mitsutake, A., Kinoshita, M., Okamoto, Y., and Hirata, F.,: combination of the replica-exchange Monte Carlo method and the reference interaction site model theory for simulating a peptide molecule in aqueous solution, J.

4)その他の著名なもの(学会誌連載)

6. 0602092351

光武重代理: 拡張アンサンブルシミュレーション入門
[I], 分子シミュレーション研究会誌「アンサンブル」,
7 (2), 11-17.

7. 0602092354

光武重代理: 拡張アンサンブルシミュレーション入門
[II], 分子シミュレーション研究会誌「アンサンブル」,
7 (3), 2-10.

8. 0602092357

光武重代理: 拡張アンサンブルシミュレーション入門
[III], 分子シミュレーション研究会誌「アンサンブル」,
7 (4), 25-32.