

研究種目： 基盤研究（C）
研究期間： 2006～2008
課題番号： 18500226
研究課題名（和文） 生体超分子系の精密シミュレーションに向けての
高速多重極・反作用場計算の開発と評価
研究課題名（英文） Development of fast multipole reaction field methods
for accurate simulations of super biomolecules
研究代表者
網崎 孝志（AMISAKI TAKASHI）
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号：20231996

研究成果の概要： コンピュータ上での分子シミュレーションは、生命現象の分子レベルでの研究において、ひとつの科学実験の手段として認識されつつある。生理現象の根幹的役割を担う分子機械は、蛋白質や生体膜の集合体である。このため、現在主流の計算法では、周期的境界条件に起因するアーチファクトの悪影響が危惧される。本研究では、遠くの領域を平均化して三次元の繰り返しによる影響を排除した計算法を考案し、実際の生体分子に対して適用した。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2006年度 | 500,000 | 0 | 500,000 |
| 2007年度 | 2,300,000 | 690,000 | 2,990,000 |
| 2008年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 900,000 | 4,400,000 |

研究分野： 総合領域

科研費の分科・細目： 情報学・生体生命情報額

キーワード： コンピュータシミュレーション、分子動力学

1. 研究開始当初の背景

分子動力学(molecular dynamics; MD)計算をはじめとする分子シミュレーション手法は、原子・分子レベルでの生命現象の解明において、ひとつの「実験手法」として位置付けられつつある。近年、リボソームや膜タンパク質など大規模な生体超分子系の立体構造がX線結晶構造解析により次第に明らかにされつつあること、また、コンピュータ性能

の継続的な向上が見込めることから、これら生体超分子系に対しても、MD計算による取り組みが期待されている。

そのためには、分子系の巨大さに対応するための技術の開発が必要である。生体分子系のMD計算においては、静電相互作用を精密に取り扱うことが最重要であり、また、その計算をどこまで高速化できるかで扱える時間スケールが定まる。我々は、これまで、静電相互作用計算の高精度高速化を目指し、高

速多重極法/二体相互作用専用計算ボードの併用型計算システムの開発や、周期境界条件下での高速多重極法の開発に取り組んできた。加えて、最近では、生体超分子系のもうひとつの性質、すわなわち、その複雑さにも注目している。最近の MD 計算は、計算時間の都合上、三次元の周期境界条件下で行うのが一般的である。counter ion や DNA の周期配列、生体膜のラメラ状の積み重ねや、ヘリックス双極子の規則的配列の影響など、様々な分子の集合体である生体超分子系においては、その複雑さ故に、周期境界条件の影響はより深刻となるおそれがある。

三次元周期境界条件によるアーチファクトというのは、計算やモデルの正確さに関係する多くの要素のひとつではあるが、以上述べたように、研究開始当時、また、現時点においても、計算時間の短縮のみならず、シミュレーションの正確さに目を向けた方法論的研究が求められている。

2. 研究の目的

静電相互作用の求値を、高速に行うための手法としては、格子和に基づくものと多重極の分割統治に基づくものがある。前者の代表例には PME (particle mesh Ewald; 粒子メッシュ Ewald) が、後者には FMM (fast multipole method; 高速多重極法) があるが、最近では PME が好んで用いられる。これは、数十万粒子程度までの分子系であれば、PMEの方が高速であることと、自由境界に対する FMM よりも、PMEの方がシミュレーションが安定するためと思われる。なお、安定することは必ずしも正確さを意味しない。また、単純な自由境界では、表面効果による影響が問題となる。

Heinz と Hünenberger (2005) は、周期的境界条件による Ewald 法のアーチファクトを軽減するため、反作用場再現型格子和方法 (lattice-sum emulated reaction-field) を考案した。これは、格子和による周期境界条件の扱いと反作用場 (reaction field; RF) に対する扱いが、表式上、形式的な類似点があることを利用し、両者を連結したものである。パラメータの取りかたにより、格子和 (完全な三次元周期系) と反作用場の間のどこかの状態での求値が行える。本研究では、当初、FMM に対して、この手法と同じ考え方を導入することを目的としていた。

これまで、PME 格子和型の高速アルゴリズムと RF の組み合わせについては、いくつか検討がなされてきた。これに対し、FMM など多重極型アルゴリズムについての試みは、ごく僅かで、しかも、その手法には計算精度の

面で難点がある。その意味でも、本研究課題の FMM をもとにしたアーチファクトの少ない方法の実現は価値あるものと考ええる。また、本研究で用いる周期 FMM は、格子和型の Ewald 法や PME とは異なり、基本セルが電氣的に中性でなくても適用可能である。このように、本研究で開発する手法は、帯電状態の生体膜や、巨大かつ不均質な生体超分子系を精密に扱うことができ、その開発は、分子生理学的観点からも有意義であると考ええる。

なお、最終的には、後述のように、FMM と RF の連結よりも、周期 FMM においてイメージセルを平均し均一化するような、独自性や有効性がより高いと思われる手法を開発した。

3. 研究の方法

(1) 等方性周期和法の検討

Wu と Brooks (2005) により開発された IPS (isotropic periodic sum; IPS) は、遠方領域からの影響を、等方的に配置した「近傍」領域の均一な影響として計算する。つまり、自分の周りの状況は、自分と同じものが全方向に並んだものと大差ないと考える方法であるが、空間を近傍と遠方に分割する点では、PME や FMM と同様であり、第三の方法といえる。容易に想像できるように、系が不均一であれば、この手法の仮定は破たんすると思われるが、実際、その後、脂質二重膜の計算ではうまくいかないことが報告されている。しかし、等方的である van der Waals 相互作用だけでなく、静電相互作用においても、ある程度の効果があることは注目に値する。

本研究では、彼らの手法にヒントを得て、周期境界 FMM における基本セルの多重極を何らかの方法で均一化することを考えた。すなわち、PME など周期境界格子和型の手法では、たとえ、RF と組み合わせても、無限遠方までの規則的な繰り返し、いわば、マクロな非均一性として現われてしまう。これが周期境界条件のアーチファクトを生じる。研究で当初考えていたような周期境界 FMM と RF の組み合わせにおいても、程度に差が生じることは期待できても、マクロな非均一性が残存することは、おそらく避けられない。それは、周期境界 FMM が、最終的には格子和型の計算を行うからである。これに対し、基本セルのイメージの多重極を、マクロな非均一性が表れないように何らかの手段で均一化すれば、格子和型の欠点を完全に除去することができる。遠方領域との相互作用を、比較的近くからの非均一的な相互作用と、その先の均一的な相互作用に分割することに相当する。

均一化の方法には種々の可能性があるが、今回、本研究では、基本セルを分割して得た葉セルの多重極を平均化し、その平均化した葉セルで構成される基本セルをもって遠方領域からの影響を考慮することとした。

(2) Ewald 法に基づく静電相互作用求値プログラムの開発

静電相互作用求値法の開発にあたっては、数値精度検証のための手段が必要である。本研究では、そのひとつとして、標準的 Ewald 法によるプログラムを開発した。特に、無限遠方での表面効果の扱い、ならびに、圧力制御に用いるためのビリアル求値のコードを実装した。ポテンシャルエネルギーの数値精度は、NaCl 結晶の理論値との比較で、あるいは、500 個程度の粒子をランダムに配置した系で、いずれも有効桁は 16 桁以上であった。

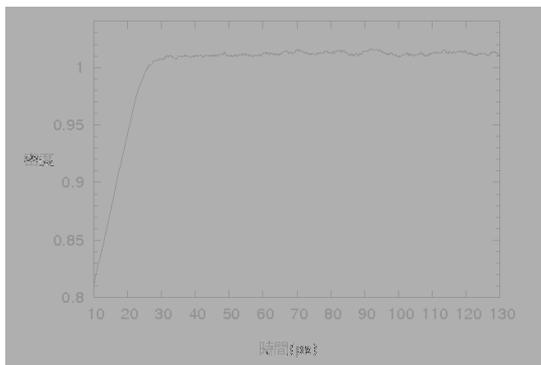
(3) 周期境界 FMM の AMBER への実装

周期境界 FMM には二種類の方法が知られている。我々は、そのいずれについても、改良法を開発し、実装した。ただし、それはエネルギーと力の求値を行う部分であった。この度、圧力制御のためのビリアルの求値も行えるように拡張し、生体高分子用の MD 計算のプログラム AMBER から利用できるようにした。

4. 研究成果

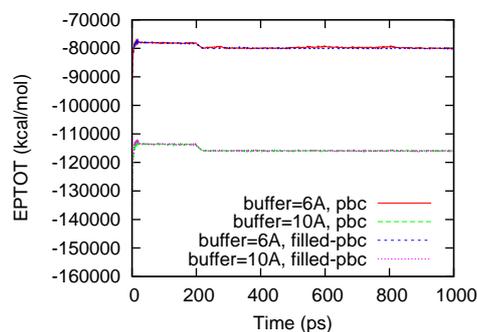
(1) 周期 FMM を実装した AMBER の検証

下の図は、検証用のテストとして、DHFR (ジヒドロ葉酸還元酵素) の系のシミュレーションを行った際の密度の時間推移を示したものである。DHFR の周りには最低 10A の厚さで水を配置した。系は 32839 原子を含む、一辺が約 71A の立方体の箱となった。静電相互作用の求値には、今回開発した周期境界 FMM を利用している。PME の場合と比較して、ほぼ同一の密度が再現できた。

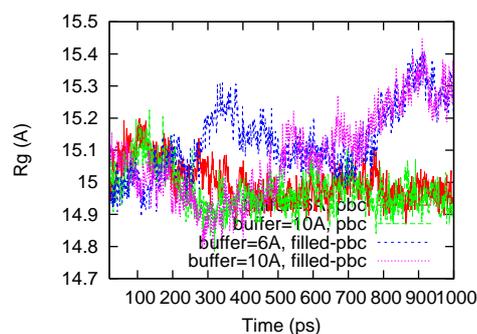


(2) hMTH1 と HSA への適用

DNA 修復系の酵素である酸化ヌクレオチド分解酵素 hMTH1 (ヒト MutT ホモログ 1) について、本研究の手法を適用した。hMTH1 の周りにはバッファとして最低 6A または 10A の厚さで水を配置した。一辺はそれぞれ約 66A または 74A となった。静電相互作用の求値を、今回開発した通常の周期境界 FMM を利用した場合と、同じく今回開発した遠方均一化 FMM を利用した場合とで比較した。なお、遠方均一化 FMM とは、葉セルの多重極の算術平均を全ての葉セルの位置に配置して作成した基本セルを、遠方領域との相互作用の場合のみ用いる FMM である。



上の図は系の総ポテンシャルエネルギーの時間推移をみたものである。バッファが 6A の場合も 10A の場合もいずれも、通常の周期境界 FMM と遠方を均一化した FMM のポテンシャルエネルギーの値はほぼ同程度で、シミュレーションは安定していることがわかる。



この図は、回転半径の時間推移をプロットしたものである。通常の周期境界 FMM では、500ns あたりから回転半径 (Rg) がほぼ一定の値をとっている。バッファの厚さの違いはみられない。これに対し、遠方均一化 FMM では、回転半径にある程度のふらつきが認められた。また、遠方均一化 FMM を用いたほうが、回転半径がやや大きくなる傾向があった。周期境界条件による影響として、周囲のイメージセルによる抑え込みにより分子がコンパクトになるという報告もあるが、今回、量手

法のシミュレーションにおいて、圧力に差異はみられなかった。回転半径の振る舞いにおけるこの違いが、どのような意味を持つのかについては、今後、検討を加える必要があるが、いずれにしても、回転半径の値がさほど大きくない範囲に収まっているため、いずれのシミュレーションも安定に実行できていると考えられた。

より大きな系の例として、ヒト血清アルブミン(HSA)の系にも適用した。水のバッファの厚さは10Åで、一辺約108Å、総原子数116234の系に適用した。通常の周期境界FMMと遠方均一化FMMでは、温度、圧力、ポテンシャルエネルギーの時間的においては、両手法の間に差はみられなかったが、回転半径には違いがみられた。具体的には、FMMのパラメータ(階層数と多重極展開の次数)を変えると、すなわち、計算精度を変えると、回転半径に違いがみられた。ただし、精度が低いほど回転半径が大きいというような一定の関係はみられなかった。現時点の結果では、シミュレーション時間が十分でないこともあり、今後、より詳細な検討が必要と考えている。なお、いずれの手法においても、シミュレーションは安定に実行できた。

(3) その他

反作用場法との理論的関係の深い一般化Born(GB)法を用いて、hMTH1のシミュレーションを行い、ダイナミクスの解析を行った。その結果、PMEと比べ、ゆらぎの程度が時間帯により大きく変動した。また、PMEを用いたMTH1-8-oxo-dGMP複合体のシミュレーションでは、MTH1とリガンドの間の水分子を介した水素結合の架橋が形成され、リガンド認識に重要である可能性が示唆された。このような知見からも、水分子を陽に扱い、周期境界条件のアーチファクトを生じない手法が必要と思われる。本研究の手法は、これらの条件を満たしており、有望と考える。今後、更なる検討を継続する必要があると思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- (1) S. Fujiwara and T. Amisaki, Identification of high affinity fatty acid binding sites on human serum albumin by MM-PBSA method, *Biophys. J.*, 査読有, 94, 2008, 95-103.

- (2) T. Amisaki and S. Fujiwara, Implementation and Evaluation of Multiple GridRPC Services for Molecular Dynamics Simulations of Proteins, *IPSJ Transactions on Advanced Computing Systems*, 査読有, 47, 2006, 182-192.
- (3) S. Fujiwara and T. Amisaki, Molecular dynamics study of conformational changes in human serum albumin by binding of fatty acids, *Proteins*, 査読有, 64, 2006, 730-739.

[学会発表] (計4件)

- (1) 藤原伸一、石飛文規、片倉和哉、網崎孝志、山縣ゆり子、分子動力学シミュレーションによるhMTH1-8-oxo-dGMP間相互作用の解析、日本薬学会第128年会、2008年3月27日、パシフィコ横浜 会議センター
- (2) 藤原伸一、網崎孝志、MM-PBSA法によるヒト血清アルブミンの脂肪酸強結合部位の同定、日本生物物理学会第45回年会、2007年12月22日、パシフィコ横浜 会議センター
- (3) 藤原伸一、網崎孝志、MM-PBSA法によるヒト血清アルブミンの脂肪酸強結合部位の同定、日本薬学会第127年会、2007年3月29日、富山
- (4) 石飛文規、片倉和哉、藤原伸一、網崎孝志、山縣ゆり子、酸化ヌクレオチド分解酵素ヒトMTH1の分子動力学シミュレーションによるダイナミクス解析、第20回分子シミュレーション討論、2006年11月28日、仙台国際センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

網崎 孝志 (AMISAKI TAKASHI)
鳥取大学・医学部・教授
研究者番号：20231996

(2) 研究分担者

藤原 伸一 (FUJIWARA SHIN-ICHI)
鳥取大学・医学部・助教
研究者番号：00362880