

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：82648

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23740325

研究課題名(和文)新しい分子動力学シミュレーション手法の開発とタンパク質折りたたみ問題への応用

研究課題名(英文)Development of new molecular dynamics simulation methods and application to protein folding problem

研究代表者

奥村 久士 (OKUMURA, HISASHI)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・計算科学研究センター・准教授

研究者番号：80360337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質のシミュレーションが難しい理由は、自由エネルギー曲面に多くの極小状態があるからである。この問題を解決するために提案されてきた手法の1つがレプリカ交換法である。本研究では狙った構造に近づくように力をかける「ヘリックス・ストランドレプリカ交換法」を提案し、ペプチドに応用した。その結果、この方法では通常のレプリカ交換法よりも天然構造により近づき、折りたたみにより成功した。さらに「レプリカ置換法」を提案した。この手法では2つのレプリカ間だけで温度を交換するのではなく、3つ以上のレプリカ間で温度を置換する。この方法を用いることでレプリカ交換法よりも効率的なサンプリングを実現できることを示した。

研究成果の概要(英文)：Biomolecules such as proteins have complicated free energy surfaces with many local minima. Conventional molecular dynamics simulations tend to get trapped in these local-minimum states. One of the powerful techniques to avoid this difficulty is the replica-exchange method. We proposed a new type of the replica-exchange method, which is referred to as helix-strand replica-exchange molecular dynamics method. In this method umbrella potential which enhances alpha-helix or beta-strand conformation is exchanged. We applied this method to a design peptide and compared the results with those obtained by usual replica-exchange method. We also proposed a better alternative to the replica-exchange method, which we refer to as the replica-permutation method. In replica-permutation method, not only exchanges between two replicas but also permutations among more than two replicas are performed.

研究分野：理論生物物理学

キーワード：分子動力学 タンパク質 ペプチド

1. 研究開始当初の背景

タンパク質はアミノ酸が一次元状につながったひもである。アミノ酸の一次元配列情報をもとにタンパク質の立体構造を予測する問題をタンパク質の折りたたみ問題という。タンパク質は生体の機能を担っており、その機能を理解するには構造を明らかにする必要がある。またタンパク質の構造変化が原因で起きる病気もある。そのため世界中で多くの研究者がこの問題に取り組んでいる。しかし、シミュレーションによる全原子モデルでの折りたたみには短いペプチドでしか成功していなかった。

タンパク質の折りたたみ問題が難しい理由は、タンパク質の自由エネルギー曲面に多くの極小状態があるからである。従来のシミュレーション手法では極小状態に捕らわれてしまい、多くの構造をサンプルできない。この問題を解決するためこれまでに有力な手法がいくつか提案されてきた。その1つがレプリカ交換法である。レプリカ交換法では系のコピー（レプリカ）を複数用意し、レプリカ間で温度交換をおこなう。高温の状態もサンプルするため自由エネルギー極小状態に捕らわれることなく、構造空間を広くサンプルできる。

2. 研究の目的

レプリカ交換法はサンプリング効率が高く注目されているが、それでもタンパク質を折りたたむには成功していなかったのは特定の構造に近づくようにシミュレーションするわけではなく、ただ多くの構造をサンプルするだけだったからである。そこで本研究では狙った構造に近づくように力かける新しい手法「ヘリックス・ストランドレプリカ交換法」を提案し、ペプチドに応用する。さらにレプリカ交換法の効率を高める新しい手法を提案し、それをペプチドに応用する。

3. 研究の方法

図1に示すように、一般的にタンパク質はアミノ酸の2面角 ϕ と ψ が $\phi = -60^\circ$, $\psi = -60^\circ$ 程度だと α ヘリックス構造をとり、 $\phi = -120^\circ$, $\psi = 120^\circ$ 程度だと β ストランド構造をとる。そこでヘリックス・ストランドレプリカ交換法では α ヘリックス構造や β ストランド構造を取りやすい (ϕ, ψ) の値の周辺にバイアスポテンシャル（アンブレラポテンシャル）をかける。バイアスポテンシャルはレプリカごとに異なるように設定し、その強さを表すパラメータを交換する。こうして α ヘリックス構造や β ストランド構造に近づくようにシミュレーションできる。

α ヘリックス構造と β ストランド構造の両方が共存することがこれまで実験的に知られている18残基のデザインペプチド(INYWLAKAGYIVHWTA)にこの手法を応用した。比較のために温度を交換する通常のレプリカ交換法も実行した。

シミュレーションに際して全原子モデルを用いた。全原子モデルを用いることで α ヘリックス- β ストランド間の構造転移における各残基の役割を原子レベルで調べることができる。また水をあらわに扱うことで陰的溶媒モデルよりも信頼性の高い計算結果を得ることができる。さらに自らが以前提案した剛体分子の定温シンプレクティック分子動力学法を用いた。従来の計算手法では時間刻み幅を0.5-1 fs程度にしか設定できなかったが、この手法では4 fsに設定できる。この手法をヘリックス・ストランドレプリカ交換法と組み合わせて用いることにより水分子の分子動力学シミュレーションを高速化した。

さらに代表者がこれまで独自に開発してきた高速分子動力学シミュレーションプログラム Generalized-Ensemble Molecular Biophysics (GEMB)を用いた。このプログラムの特長は(1)ヘリックス・ストランドレプリカ交換法などの拡張アンサンブル分子動力学を用いて効率よく構造サンプリングを行う、(2)シンプレクティック解法を用いて安定にかつ高速にシミュレーションを行うことである。これら2つの特長を兼ね備えたプログラムは他にない。このプログラムを用いることにより効率的に研究を進めた。

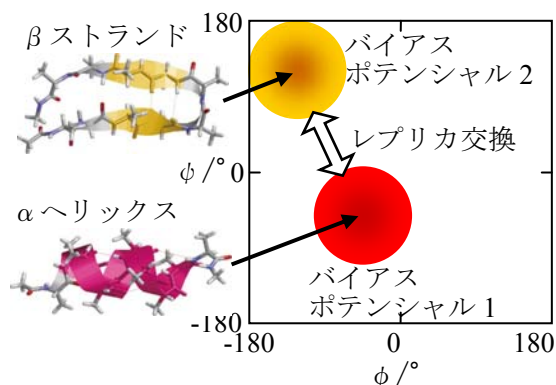


図1 アミノ酸の2面角 (ϕ, ψ) の分布とタンパク質の構造。ヘリックス・ストランドレプリカ交換法では α ヘリックス構造と β ストランド構造を取りやすくなるようにバイアスポテンシャルをかけ、バイアスポテンシャルの強さを表すパラメータの交換を行う。

次に、レプリカ交換法の効率を高める新しい手法としてレプリカ置換法を提案した。この手法では2つのレプリカ間だけで温度を交換するのではなく、図2のように2つ以上のレプリカ間で温度を置換する。さらに効率よくレプリカの置換を行うために温度を置換するか否かの判定に通常メトロポリス判定法ではなく最近提案された諏訪・藤堂法を用いる。諏訪・藤堂法は状態遷移のリジェクト率を最小化することができる。この手法を2重井戸型ポテンシャル中の粒子、メチオニンエンケファリン、Cペプチドに応用した。

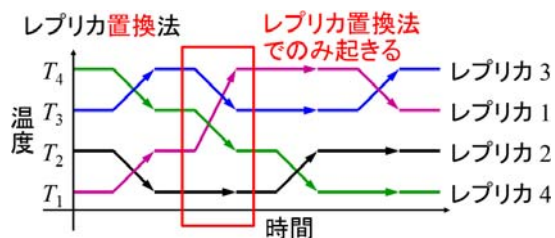


図2 レプリカ置換法では3つ以上のレプリカの間で温度を置換する。

4. 研究成果

α ヘリックスと β ヘアピン、それぞれ天然構造からのずれ $RMSD_{\alpha}$, $RMSD_{\beta}$ を計算すると、ヘリックス・ストランドレプリカ交換法の方が通常のレプリカ交換法よりも $RMSD$ 値が小さく、天然構造により近づけていることが分かった。すなわちこのデザインペプチドの折りたたみシミュレーションに成功した。

次に $RMSD_{\alpha}$ と $RMSD_{\beta}$ について自由エネルギー曲面 (平均力ポテンシャル) を計算したところ、いくつかの極小状態見つかった。これらの自由エネルギー極小状態における典型的な構造を抜き出して表示し (図3)、 α ヘリックス構造の状態 A から β ヘアピン構造の状態 B までの構造変化およびアンフォールド状態 (状態 F) までの構造変化を明らかにした。

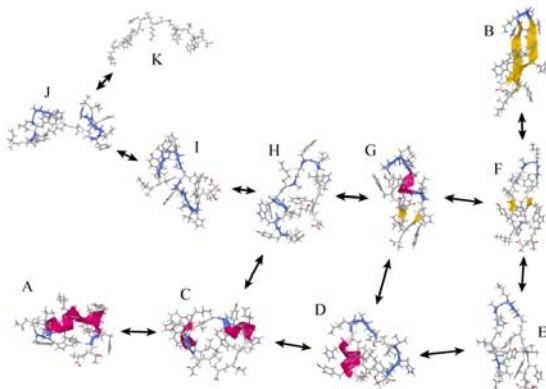


図3 デザインペプチドのフォールディング経路。

レプリカ置換法については、この方法を用いることでレプリカ交換法よりも効率的なサンプリングを実現できることを示した。トンネリング回数 (最低温または最高温にあるレプリカが最高温または最低温を経て再度最低温または最高温を占有した時に1トンネリングと数える) で比較すると、レプリカ置換法はレプリカ交換法の約 1.7 倍効率的に温度空間をサンプリングできることを示した。この結果はレプリカ置換法ではレプリカ交換法よりもレプリカ間の温度差を大きく取れることを示しており、計算コストを削減できる。

さらにレプリカ置換法を用いて C ペプチドの折りたたみシミュレーションを行った。このペプチドは Glu2 の酸素原子と Arg10 の水素原子が塩橋を作ることによって α ヘリックス構造を安定化させることが知られている。自由エネルギー地形を計算し、伸びた状態から、まず Glu2 と Arg10 が近づいて塩橋を形成し、その後 α ヘリックス構造を形成し折りたたんだ状態に至ることを明らかにした。

この他に高圧下におけるタンパク質の構造変化やアミロイド線維形成の初期過程と破壊過程についても拡張アンサンブルシミュレーション法を応用した。

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 8 件)

- ① H. Okumura and S. G. Itoh: “Amyloid fibril disruption by ultrasonic cavitation: Nonequilibrium molecular dynamics simulations”, *J. Am. Chem. Soc.* **136** (2014) 10549-10552, 査読有。
- ② S. G. Itoh and H. Okumura: “Dimerization process of amyloid- β (29-42) studied by the Hamiltonian replica-permutation molecular dynamics simulations”, *J. Phys. Chem. B* **118** (2014) 11428-11436, 査読有。
- ③ S. G. Itoh and H. Okumura: “Replica-permutation method with the Suwa-Todo algorithm beyond the replica-exchange method”, *J. Chem. Theory Comput.* **9** (2013) 570-581, 査読有。
- ④ H. Okumura and S. G. Itoh: “Transformation of a design peptide between the α -helix and β -hairpin structures by a helix-strand replica-exchange molecular dynamics simulation”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15** (2013) 13852-13861, 査読有。
- ⑤ S. G. Itoh and H. Okumura: “Hamiltonian replica-permutation method and its applications to an alanine dipeptide and amyloid- β (29-42) peptides”, *J. Comput. Chem.* **34** (2013) 2493-2497, 査読有。
- ⑥ S. G. Itoh, T. Morishita, and H. Okumura: “Decomposition-order effects of time-integrator on ensemble averages for the Nosé-Hoover thermostat”, *J. Chem. Phys.* **139** (2013) 064103 (10 pages), 査読有。
- ⑦ Y. Mori and H. Okumura: “Pressure-induced helical structure of a peptide studied by simulated tempering molecular dynamics simulations”, *J. Phys. Chem. Lett.* **4** (2013) 2079-2083, 査読有。
- ⑧ H. Okumura: “Temperature and pressure denaturation of chignolin: Folding and unfolding simulation by multibaric-multithermal molecular dynamics method”, *Proteins* **80** (2012) 2397-2416, 査

読有.

[学会発表] (計 67 件)

- ① H. Okumura: 20 March 2015, 11th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering, Athens, Greece “Nonequilibrium and generalized-ensemble molecular dynamics simulations for amyloid fibril”
- ② 奥村久士: 2015 年 1 月 29 日 分子科学研究所 (愛知県岡崎市) スーパーコンピュータワークショップ 2015 「アミロイド線維の形成初期過程と破壊の分子動力学シミュレーション」
- ③ 奥村久士: 2014 年 11 月 13 日 仙台市民会館 (宮城県仙台市) 第 28 回分子シミュレーション討論会 学術賞受賞講演「生体分子系, 液体系における分子動力学シミュレーション手法の開発と応用」
- ④ 奥村久士: 2014 年 10 月 30 日 三重大学極限ナノエレクトロニクスセンター (三重県津市) 第二回 CUTE シンポジウム「アミロイド線維の破壊と形成初期過程の分子動力学シミュレーション」
- ⑤ H. Okumura: 22 August 2014, 2nd International Conference on Computational Science and Engineering, Ho Chi Minh City, Vietnam “Molecular dynamics simulations for amyloid fibril disruption and dimerization of amyloid- β peptides”
- ⑥ H. Okumura: 4 April 2014, 10th International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering, Athens, Greece “Generalized-ensemble algorithms to determine free-energy landscape of proteins”
- ⑦ 奥村久士: 2014 年 3 月 29 日 東海大学 (神奈川県平塚市) 日本物理学会 第 69 回年次大会 シンポジウム: 理論物質科学の最前線: レア・イベントを中心として「タンパク質におけるレア・イベントを効率よく引き起こす分子動力学シミュレーション: 拡張アンサンブル法」
- ⑧ 奥村久士: 2014 年 3 月 7 日 電気通信大学 (東京都調布市) 計測自動制御学会 第 1 回制御部門マルチシンポジウム「拡張アンサンブル法によるタンパク質の分子動力学シミュレーション」
- ⑨ H. Okumura: 9 January 2014, Pure and Applied Chemistry International Conference 2014, Khon Kaen, Thailand “Replica-permutation molecular dynamics simulation of biomolecules”
- ⑩ H. Okumura: 6 January 2014, Joint IMS-KU workshop on molecular sciences towards green sustainability, Bangkok, Thailand “Replica-permutation method for protein simulation and amyloid disruption by cavitation in non-equilibrium molecular dynamics simulation”
- ⑪ H. Okumura: 11 November 2013, 2013 NCTS November Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, Taipei, Taiwan “Molecular dynamics simulations for amyloid disruption by supersonic wave”
- ⑫ H. Okumura: 20 November 2012, Indo-Japan Workshop on Recent Advances in Spectroscopy and Microscopy: Fundamentals and Applications to Materials and Biology, Hyderabad, India “Generalized-ensemble Molecular Dynamics Simulations for Temperature and Pressure Denaturation of a Protein”
- ⑬ H. Okumura: 16 November 2012, 2012 NCTS November Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, Taipei, Taiwan “Helix-strand replica-exchange molecular dynamics method and its application”
- ⑭ H. Okumura: 10 September 2012, 5th Japan-Russia International Workshop “Molecular Simulation Studies in Material and Biological Sciences” 2012, Moscow, Russia “All-Atom Generalized-Ensemble Molecular Dynamics Simulations of Proteins”
- ⑮ 奥村久士: 2012 年 6 月 1 日 分子科学研究所 (愛知県岡崎市) アジア連携分子研研究会「溶液・ソフトマターの新局面: 実験及び理論研究手法の開拓と新規物性探索への展開」 「マルチバーリック・マルチサーマル分子動力学シミュレーションによるタンパク質の温度・圧力変性」
- ⑯ H. Okumura: 23 May 2012, The 17th Biophysics Conference of Biophysical Society of Republic of China, Taipei, Taiwan “Multibaric-multithermal molecular dynamics simulations for temperature and pressure denaturation of a protein”
- ⑰ H. Okumura: 13 April 2012, 2012 NCTS Spring Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, Taipei, Taiwan “New Type of the Hamiltonian Replica-Exchange Molecular Dynamics Method”
- ⑱ H. Okumura: 21 February 2012, Winter School of Asian Core Program, Beijing, China “Molecular dynamics simulations with generalized-ensemble algorithms”
- ⑲ H. Okumura: 23 July 2011, 2011 Taiwan International Workshop on Biological Physics and Complex Systems, Taipei, Taiwan “Temperature and pressure denaturation of a protein by all-atom generalized-ensemble molecular dynamics simulations”
- ⑳ H. Okumura: 11 June 2011, 2011 NCTS June Workshop on Critical Phenomena and Complex Systems, Taipei, Taiwan “Multibaric-multithermal molecular dynamics simulations of alanine dipeptide and chignolin”

〔図書〕（計 1 件）

- ① H. Okumura: “All-Atom Multibaric-Multithermal Molecular Dynamics Simulations of Proteins”, in Models in Bioscience and Materials Research: Molecular Dynamics and Related Techniques, Ed. K. Kholmurodov (Nova Science, New York, USA, 2012), chap. 6, pp. 56-68.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ

<http://okweb.ims.ac.jp/>

奥村久士, 分子シミュレーション研究会学術
賞受賞「生体分子系 液体系における分子動
力学シミュレーション手法の開発と応用」
2014 年 11 月 13 日

6. 研究組織

(1)研究代表者

奥村 久士 (OKUMURA, HISASHI)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構
(岡崎共通施設)・計算科学研究センタ
ー・准教授

研究者番号：80360337