

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25410025

研究課題名(和文)体積変化の計算化学が解明する高圧生体分子反応

研究課題名(英文) Breakthrough on the high pressure biomolecule reaction with computational chemistry of the volume change

研究代表者

優 乙石 (Yu, Isseki)

国立研究開発法人理化学研究所・杉田理論分子科学研究室・研究員

研究者番号：90402544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、溶液中のタンパク質体積を、全原子モデルを用いた分子動力学計算によって理論的に調査することで、高水圧が蛋白質の構造・ダイナミクスに与える影響を解明する。また、水圧が到達する細胞質はタンパク質や核酸などの生体分子が高濃度で共存している分子混雑環境である。本研究はこのような細胞環境の物理化学的特徴と、その圧力応答を調査することも目的とした。本研究を通して、細胞環境における蛋白質水和体積や、排除体積効果について分子レベルの解明が進んだ。また、研究に必要な分子の幾何学的性質を解析するプログラムを開発し、大規模計算機上で高速に実行できるように並列化した。これらのプログラム群は近日中に公開する。

研究成果の概要(英文)：This project investigates the influence of the high hydrostatic pressure on the structure and dynamics of proteins by calculating the protein volume in solution with all-atom molecular dynamics simulations. On the other hand, the cytoplasm, which is exposed to high pressure, is highly crowded with various kinds of proteins and nucleic acids. This project investigates also physicochemical characteristics of such a cellular environment and its response to high pressure. Throughout this project, the hydration volume of proteins and excluded volume effect of macromolecules in cell are understood at the molecular level. In addition, the computer programs to analyze the geometric properties of molecule are developed and parallelized in order to perform the project-related calculations on the super computer systems. These programs will be released near future.

研究分野：生物物理

キーワード：高圧 細胞環境 分子混雑 分子動力学

## 1. 研究開始当初の背景

深海などに生息する好圧菌の持つ酵素は、高水圧下でその活性が大幅に増加することが知られている。これは、酵素に基質が結合することによる体積変化(活性化体積)が「負」の値を持つからである。しかし、なぜ活性化体積が負であるかについて実験的な説明は困難である。微視的な系では、分子の幾何学的な体積だけではなく、周囲の水分子を引き寄せるために生じる体積寄与が強く影響するからである。このように、生体分子反応に及ぼす圧力の影響を精査するには、溶液全体に及ぼす体積寄与の精密な計算が不可欠になる。

## 2. 研究の目的

本研究は、溶液中のタンパク質の体積的寄与を、全原子モデルを用いた分子動力学計算によって理論的に調査することで、高水圧が蛋白質に与える影響を解明する。一方で、水圧が到達する細胞質はタンパク質や核酸などの生体分子が高濃度で共存している分子混雑環境である。本研究はこのような細胞内環境の物理化学的特徴と、その圧力応答を調査することも目的とした。

## 3. 研究の方法

蛋白質の溶液全体に及ぼす体積寄与(いわゆる部分モル体積)の計算は、分子動力学シミュレーションと、液体の統計物理学を用いて計算する。蛋白質を様々な溶液環境(水中や複数の蛋白質や核酸などで混雑した細胞環境)に浸したモデルを原子解像度で構築し、古典MDシミュレーションから得られる原子配置情報を元に、Kirkwood-Buff(KB)積分法(溶質周囲の溶媒分子の密度揺らぎを積分する)や幾何学的近似法を用いて計算する。

## 4. 研究成果

本研究を通して、細胞環境における蛋白質水和体積や、排除体積効果について分子レベルの解明が進んだ。また、研究に必要な分子の幾何学的性質を解析するプログラムを開発し、大規模計算機上で高速に実行できるように並列化した。これらのプログラム群は近日中に公開する。以下に詳細を述べる。

### 4-1 バクテリア細胞質の全原子分子動力学シミュレーション

水圧が到達する最終的な場である細胞質は、体積の約30%を生体高分子が占有しており、非常に混み合った環境(分子混雑という)を形成している。このような細胞環境の物理化学的特性を原子レベルで解明するために、バクテリア(マイコプラズマ・ジェニタリウム)細胞質を原子解像度でモデリングし、排除体積効果(生体高分子がお互いを押しよける効果)が蛋白質の立体構造や拡散速度に与える影響を分子レベルで解明した[1,3]。

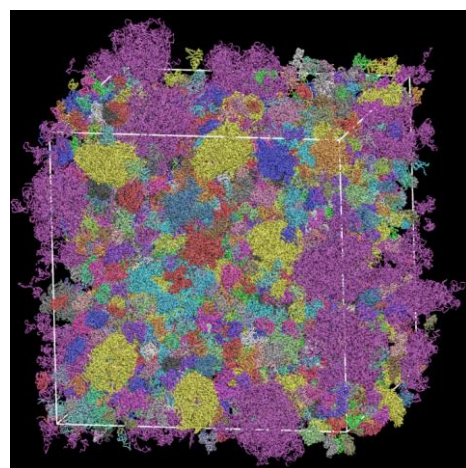


図1 バクテリア細胞質の全原子モデル。細胞全体の体積の10%程度をカバーしており、各生体高分子を異なる色で表示している。一辺は約100ナノメートルで、水分子も含めると約1億個の原子で構成される。

#### 4-2 分子混雑環境下の蛋白質水和特性

細胞内はリボソームのような巨大な分子複合体から小型の蛋白質まで様々なサイズの分子が共存している。このような生体分子の幾何学的なサイズが媒質である水分子の動態や水和層体積（蛋白質など生体高分子を取り囲む水分子が形成する層の体積）に与える影響を調査した。サイズの異なる三種類の蛋白質（BSA（大型）、ProteinG（中型）、Villin（小型））を用いて体積分率 30%の分子混雑環境を作成し、分子動力学シミュレーションを実行した。解析の結果、全空間に占める蛋白質の総体積は同じでも、蛋白質サイズが小さいほうが水和層の総体積が大きく、水分子の並進拡散係数をより大きく低下させることが明らかになった。

#### 4-3 分子体積計算プログラムの開発

細胞環境モデルなど系が大きな場合、MD シミュレーションから得られる原子座標データは数十テラバイトの巨大なものになる。その場合、100 万～1 億個の原子を含むため、注目する空間にどのような原子が存在するかを抽出するだけでも膨大な原子ペアに対して距離計算が必要である。既存の解析プログラムは 1 フレーム毎の解析を各 CPU に割り当てるなどして並列化するケースが多いが、細胞質モデルなどの MD トラジェクトリの解析ではそもそも 1 フレームに対する解析だけでも計算負荷が高い。また分子体積計算などは精度の要請から系を 1Å 程度の小さなセルに分割して近似計算をするため巨大なメモリが必要となる。このような理由から、本課題ではスーパーコンピュータ上での解析計算を想定して MPI と OpenMP を用いたハイブリッド並列化を施した。このプログラムはモデルを均等なサイズの空間（ドメイン）に分割し、各ドメインの計算を MPI や OpenMP を用いて並列実

行する。本プログラムは、研究代表者が所属するグループで開発された分子動力学シミュレータ GENESIS の解析モジュールとして近日公開予定である。

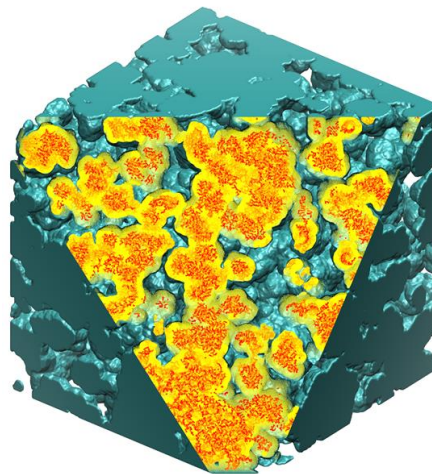


図 2 開発したプログラムで計算・可視化した細胞質中の蛋白質近傍体積（黄色）（一番近い蛋白質原子からの等距離面に内包された空間の体積）の断面図。このような近傍体積は、蛋白質水和層の水分子数密度を計算したり、部分モル体積を計算したりする場合に必要となる。断面図中の蛋白質原子は赤で表示している。

#### 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] Po-hung Wang, Isseki Yu, Michael Feig, Yuji Sugita

Influence of Protein Crowder Size on Hydration Structure and Dynamics in Macromolecular Crowding

*Chemical Physics Letters* **671**, 63-70, (2017)

査読有

[2] 優乙石、杉田有治

バクテリア細胞質中の代謝物-蛋白質相互作用：全原子細胞質モデルと大規模分子動力学

計算による理論的研究

分子シミュレーション研究会誌「アンサンブル」 vol.19,No.2,(2017)

査読無

[3] Isseki Yu, Takaharu Mori, Tadashi Ando, Ryuhei Harada, Jaewoon Jung, Michael Feig, Yuji Sugita

Biomolecular interactions modulate macromolecular structure and dynamics in atomistic model of a bacterial cytoplasm

*eLife* 2016;5:e19274 (2016)

DOI: 10.7554/eLife.19274

査読有

〔主な学会発表（招待講演）〕（計7件）

[1] 優乙石

物性研究所スパコン共同利用・CCMS 合同研究会「計算物質科学の今と未来」

演題：全原子細胞質モデルと大規模分子動力学計算による細胞内生体分子ダイナミクスの理論的解明

2017年4月4日（東京大学・千葉県柏市）

[2] 優乙石、森貴治、安藤格士、原田隆平、Jaewoon Jung, 杉田有治、Michael Feig

第39回日本分子生物学会年会 シンポジウム講演

演題：蛋白質の相互作用とダイナミクスに与える細胞混雑環境の理論的研究

2016年12月1日（パシフィコ横浜・神奈川県横浜市）

[3] 優乙石、森貴治、安藤格士、原田隆平、Jaewoon Jung, 杉田有治、Michael Feig

情報計算化学生物学会講演会「「京」からポスト「京」へー革新的創薬基盤の構築に向けた取り組み」

演題：バクテリア細胞質中の生体分子ダイナミクスと相互作用：大規模分子動力学計算による微視的理解

2016年1月13日（東京大学・東京都文京区）

[4] 優乙石、森貴治、安藤格士、原田隆平、Jaewoon Jung, 杉田有治、Michael Feig  
International Conference on Computational Methods (ICCM)

演題：Atomistic Molecular Dynamics Simulation of a Complete Model of Bacterial Cytoplasm

2016年7月18日（オークランド（ニュージーランド））

[5] 優乙石、森貴治、安藤格士、原田隆平、Jaewoon Jung, 杉田有治、Michael Feig

第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会

シンポジウム講演

演題：バクテリア細胞質中の混み合い環境下における蛋白質と代謝物の全原子分子動力学シミュレーション

2015年12月1日（神戸ポートピアホテル・兵庫県神戸市）

[6] 優乙石、森貴治、安藤格士、原田隆平、Jaewoon Jung, 杉田有治、Michael Feig

第53回日本生物物理学会年会 シンポジウム講演

演題：バクテリア細胞質中の蛋白質および代謝物のダイナミクス・安定性・相互作用：全原子分子動力学法による理論的

2015年9月15日（金沢大学・石川県金沢市）

[7] 優乙石

第4回 計算統計物理学討論会

演題：Kirkwood-Buff 積分法による蛋白質移

相自由エネルギーの三次元可視化:細胞内  
分子混雑効果の微視的理解に向けて  
2013年10月4日(山口大学・山口県宇部  
市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

優 乙石 (Yu Isseki)  
国立研究開発法人理化学研究所・杉田理論分  
子科学研究室および理論科学連携研究推進グ  
ループ(iTHES)・研究員

研究者番号: 90402544

(2)研究分担者 0人  
( )

研究者番号:

(3)連携研究者 0人  
( )

研究者番号:

### (4)研究協力者

杉田 有治 (Sugita Yuji)  
国立研究開発法人理化学研究所・杉田理論分  
子科学研究室・主任研究員

ワン ポーホン (Wang Po-hung)  
国立研究開発法人理化学研究所・杉田理論分  
子科学研究室・特別研究員