

平成22年 5月31日現在

研究種目：特定領域研究
研究期間：2004～2009
課題番号：16087202
研究課題名（和文） 生体超分子立体構造・機能解析のためのシミュレーション法開発
研究課題名（英文） Development of simulation methods for biological supramolecular structure and function analyses

研究代表者
北尾 彰朗 (KITAOKI AKIO)
東京大学・分子細胞生物学研究所・准教授
研究者番号：30252422

研究成果の概要（和文）：

分子シミュレーションによって生体超分子の機能発現の素過程を観測するために、超並列計算機を最大限に活用して高解像度で生体超分子の機能発現の素過程をコンピュータ上で実現するための手法・ソフトウェアシステムを開発した。また、実験データを基に分子シミュレーションを用いて立体構造を構築し、エネルギー的に安定な立体構造へと精密化する方法を開発した。更に、より効率的に機能のメカニズムを研究するためのシミュレーション法を創出した。

研究成果の概要（英文）：

We have developed the methods and simulation systems in which functional process of biological supramolecules is observed *in silico* in high resolution by using molecular simulations. We have also developed the methods to construct the structure and refine it to be energetically more stable one. In addition, we have designed the simulation methods to investigate functional mechanism more efficiently.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	8,800,000	0	8,800,000
2005年度	17,600,000	0	17,600,000
2006年度	16,400,000	0	16,400,000
2007年度	16,400,000	0	16,400,000
2008年度	9,600,000	0	9,600,000
2009年度	12,300,000	0	12,300,000
総計	81,100,000	0	81,100,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：シミュレーション / ナノバイオ / 分子機械 / 生体超分子 / 生物物理

1. 研究開始当初の背景

生体分子の機能解明は様々な立体構造解析によって急速に進められている。X線回折・NMR・電子顕微鏡などの実験的手法は安定状態の立体構造を高解像度で決定することを可能にするが、機能発現の過程を直接観測することはまだ困難である。分子シミュレーションは実験的に決定された状態間を内挿し、機能発現の素過程を観測することができる「コンピュータの顕微鏡」である。しかし、生体超分子のような巨大系ではまだ十分なシミュレーションの実績は得られていない。このような状況のもと、本研究は以下の研究目的を持つものであった。

2. 研究の目的

(1) 生体超分子が機能を発揮する素過程を高解像度で観測するための大規模分子シミュレーション法の開発

超並列計算機を最大限に活用して効率的に分子シミュレーションを実行し、フェムト秒・オングストローム程度の時空的解像度で生体超分子の機能発現の素過程をコンピュータ上で実現するための、手法・ソフトウェアシステムを開発する。

(2) 分子シミュレーションを用いた生体超分子の立体構造構築・精密化法の開発

生体超分子を構成する各分子の立体構造がX線結晶解析で決定され生体超分子の全体構造が電子顕微鏡で得られている場合などに、これらの実験データを基に分子シミュレーションを用いて全体の立体構造を構築し、エネルギー的に安定な立体構造へと精密化する方法を開発する。

(3) 効率的なシミュレーションを可能にする生体超分子の粗視化モデルの開発

分子シミュレーションで観ることができないマイクロ秒からミリ秒での現象を観測するため、より効率的に機能のメカニズムを研究するための粗視化モデルを新たに構築し、シミュレーションを実行するシステムを創出する。

3. 研究の方法

(1) 生体超分子が機能を発揮する素過程を高解像度で観測するための大規模分子シミュレーション法の開発

これまで開発してきた超並列分子力学シミュレーションプログラムに、効率的な構造サンプリングを可能にする新たな手法を導入する。

(2) 分子シミュレーションを用いた生体超分子の立体構造構築・精密化法の開発

開発するプログラムは、主に実験データをベースに構造構築を行うモジュールと、更に

分子力場に基づいて構造精密化を行うモジュールからなり、これをこれまで開発してきた並列分子力学シミュレーションプログラムに追加する。18年度からはA01班の他の研究課題によって実験的に決定される生体超分子に対して開発した方法を適用して、構造構築・精密化を行い、更に機能発揮の素過程をシミュレーションする。

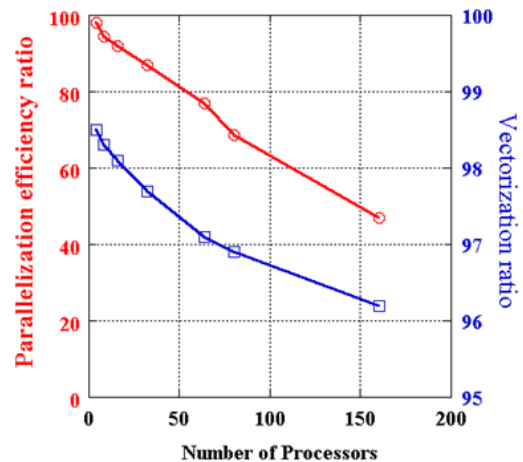
(3) 効率的なシミュレーションを可能にする生体超分子の粗視化モデルの開発

この開発のために、前年度までに行った機能発現過程のシミュレーション結果をダイナミック・ドメインに注目して解析し、超分子の中の構造的なユニットを決定する。そしてこれらの構造ユニットをシミュレーションの単位として粗視化モデルを構築し、従来の分子シミュレーションでは実行できない、長時間シミュレーションを可能にする。

4. 研究成果

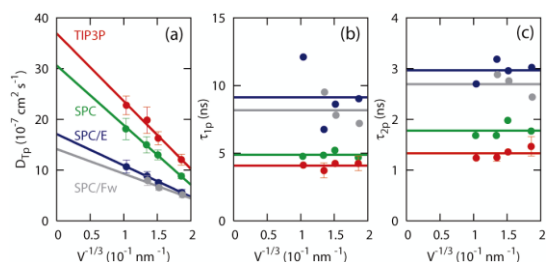
(1) 生体超分子が機能を発揮する素過程を高解像度で観測するための大規模分子シミュレーション法の開発

大規模分子シミュレーション法を効率的におこなうために、まず超並列計算を可能にするために空間分割をもちいて各CPUへの負荷分散と通信の軽減をおこなった。更にロードバランスをとることでPCクラスターでも効率的に並列計算が可能となった。これは1000BaseTなどの安価なネットワークでも並列計算が十分実用に耐えるレベルで行えることを示したものである。また、地球シミュレータのようなベクトル計算機でも十分なベクトル化効率を得られた(下図)。またメモリー使用量軽減やプログラムの簡素化により、より実用性の高いものとするための改良も行った。この部分は日本原子力研究所のグループと協力して行った。

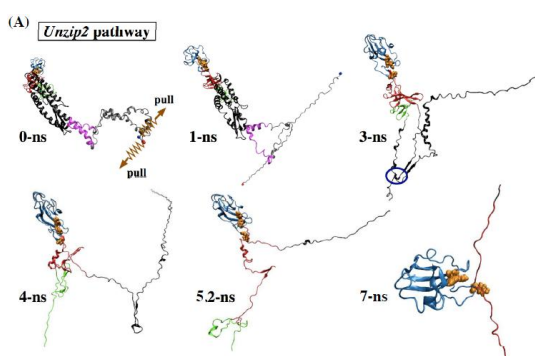


更に現状のシミュレーション法の精度的問題点を様々な角度から検証した。蛋白質の長時間シミュレーション結果の解析からは、

分子全体の回転拡散はシミュレーション系の大きさに依存しないが、並進拡散は大きさに依存することを明らかにした（下図）。現在、この問題の補正法の開発を進めている。

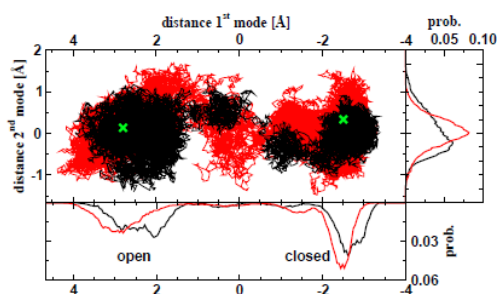


計算精度を保ったままサンプリング効率を向上させるための手法開発の一つとして、複数の安定状態の存在が知られている生体高分子・超分子に関して、安定状態間を遷移する素過程を観測するシミュレーション法の開発をおこなった。既に既存プログラムを改良する形でおこなったべん毛系におけるシミュレーションでは、多数の安定状態間をトルクによって遷移させることに成功した。また、超分子を構成する蛋白質で構造変化をある程度予測し、これを用いて超分子の全体構造のモデリングを行うことでべん毛フック全体構造を効率的にモデリングをおこなった。細菌べん毛繊維を構成する蛋白質 flagellin は、繊維内部のチャンネルをアンフォールドした状態で輸送され、べん毛繊維の末端に会合して構造化すると考えられる。しかし、flagellin がどのようにアンフォールドし、輸送され、末端に結合し構造化するのであるか。この疑問に答えるため、力学的アンフォールディングシミュレーションによってその過程のモデルを提案した（下図）。



また、リガンドの「逐次結合モデル」を用いたシミュレーションでは、ドメイン運動に関係するアルコール脱水素の詳細な結合メカニズムを明らかにすることができた。グルタミン結合蛋白質（GBP）は細胞へのグルタミンの取り込みを担う ABC 輸送システムの一部であるが、GTP はグルタミンを結合した際にヒンジベンディング運動をして、2つのドメインがグルタミンを挟み込むような構造

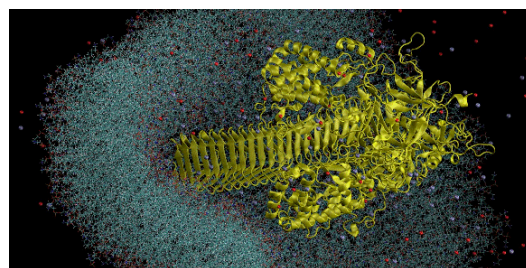
変化を起こすことが知られている。我々はこのダイナミックな過程を分子動力学計算でモニターし、どのようなメカニズムで構造変化が起きるかを明らかにした（下図）。その結果、グルタミン結合に伴って誘起されるヒンジ部位の局所的構造変化がヒンジベンディング運動のトリガーとなることが明らかになった。



(2) 分子シミュレーションを用いた生体超分子の立体構造構築・精密化法の開発

分子シミュレーションを用いた実験データ解析に関しては、NMR データを用いた動的構造精密化法の開発を進めた。更に現在、分子動力学との比較から従来の緩和モデルの問題点を見出した。

また、この特定領域で決定された立体構造から機能へのメカニズムを明らかにするために行なってきた、有坂グループらが構造決定した T4 ファージ蛋白質複合体 gp5 に関する研究では、バクテリアに感染する際の初期過程に起こる膜貫通過程シミュレーションを行い、詳細なメカニズムを明らかにした（下図）。



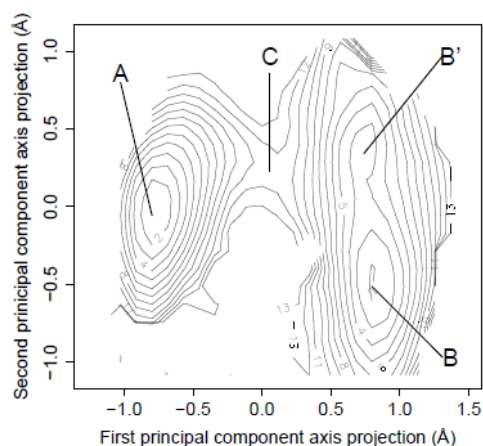
チトクローム C とその酸化酵素複合体のモデリングに関しては、石森グループの実験結果と一致するリーズナブルな結果を得た。

(3) 効率的なシミュレーションを可能にする生体超分子の粗視化モデルの開発

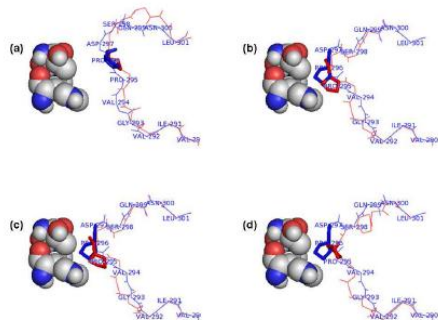
効率的なシミュレーションを可能にする生体超分子の粗視化モデルの開発も行った。分子シミュレーションで観ることができないマイクロ秒からミリ秒での現象を観測するため、より効率的に機能のメカニズムを研究するための粗視化モデルを新たに構築し、

シミュレーションを実行するシステムを創出する。そのために、粗視化モデルによるシミュレーション結果から詳細モデルを用いた多数の分散シミュレーションに移行していくサンプリング法を開発した。まず粗視化モデルとしてアトムパッキングが変わりうるが相互作用がレナードジョーンズ的に単純化されたモデルを用い、第2段階として詳細なモデルを使って第1段階の結果を精密化するマルチスケールシミュレーションを開発した。最初のテストケースとして数残基程度のペプチドをターゲットとし、粗視化モデルの適用性について吟味すると共に分散シミュレーションに必要なシミュレーション数（つまり収束性）について検証し、その後、本格的に蛋白質系での展開をおこなった（投稿準備中）。

また、独立で非平衡なトラジェクトリから自由エネルギー地形を求める手法、MMMMを完成し、論文発表を行った（下図）。



また、蛋白質のループ部位のフレキシビリティは、両末端が構造変化しないという幾何学的拘束条件のもとで、どの程度規定されているのかという問題を明らかにした。具体的には、両末端の拘束条件のみに基づいて、ループがとりうる構造空間を探索する新しいアルゴリズムを考案し、いくつかの系でリガンド結合に伴うループ構造変化が両末端の拘束条件によって強く規定されていることを示した（下図）。



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 29 件）

1. Steven Hayward and Akio Kitao, The Effect of End Constraints on Protein Loop Conformations. *Biophys. J.*, 査読有, 98, pp.1976-1985 (2010)
2. Yumiko Saijo-Hamamoto, Katsumi Imada, Tohru Minamino, May Kihara, Masafumi Shimada, Akio Kitao and Keiichi Namba, “Structure of the cytoplasmic domain of FlhA and implication for flagellar type III protein export”, *Mol. Microbiol.*, 査読有, 76(1), 260-268 (2010)
3. Choon-Peng Chng and Akio Kitao, “Mechanical unfolding of bacterial flagellar filament protein by molecular dynamics simulation”, *J. Mol. Graph. Model.*, 28, 548-554 (2010)
4. Hannes H. Loeffler and Akio Kitao, “Collective Dynamics of Periplasmic Glutamine Binding Protein upon Domain Closure”, *Biophys. J.*, 査読有, 97, 2541-2549 (2009)
5. Shun Sakuraba and Akio Kitao, “Multiple Markov transition matrix method: Obtaining the stationary probability distribution from multiple simulations”, *J. Comp. Chem.*, 査読有, 30, 1850-1858 (2009)
6. Wataru Nishima, Guoying Qi, Steven Hayward and Akio Kitao, “DTA: Dihedral transition analysis for characterization of the effects of large main-chain dihedral changes in proteins”, *Bioinformatics*, 査読有, 25(5), 628-635 (2009)
7. Lee-Wei Yang, Eran Eyal, Ivet Bahar and Akio Kitao, “Principal Component Analysis of Native Ensembles of Biomolecular Structures (PCA_NEST): Insights into Functional Dynamics”, *Bioinformatics*, 査読有, 25(5), 606-614 (2009)
8. Hiroshi Nakagawa, Yasumasa Joti, Akio Kitao and Mikio Kataoka, “Hydration affects both harmonic and anharmonic nature of protein dynamics”, *Biophys. J.*, 査読有, 95, 2916-2923 (2008)
9. 北尾 彰朗, 今田勝巳, 難波啓一, “【総説】細菌べん毛繊維は分子間相互作用とフラストレーションを利用して超らせん構造の変化を制御する”, *生物物理*, 査読有, 40(1), 11-17 (2008)
10. Yasumasa Joti, Hiroshi Nakagawa, Mikio

- Kataoka, and Akio Kitao, “Hydration effects on low-frequency protein dynamics observed in simulated neutron scattering spectra”, *Biophys. J.*, 査読有, 94, 4435-4443 (2008)
11. Choon-Peng Chng and Akio Kitao, “Thermal Unfolding Simulations of Bacterial Flagellin: Insight into its Refolding before Assembly”, *Biophys. J.*, 査読有, 94, 3858-3871 (2008)
12. Yasumasa Joti, Hiroshi Nakagawa, Mikio Kataoka, and Akio Kitao, “Hydration-Dependent Protein Dynamics Revealed by Molecular Dynamics Simulation of Crystalline Staphylococcal Nuclease”, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 112, 3522-3528 (2008)
13. Lars Meinhold, Jeremy C. Smith, Akio Kitao and Ahmed H. Zewail, “Picosecond fluctuating protein energy landscape mapped by pressure-temperature molecular dynamics simulation Lars Meinhold. S”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有, 104(44), 17261-17265 (2007)
14. Kazuhiro Takemura and Akio Kitao, “Effects of Water Model and Simulation Box Size on Protein Diffusional Motions”, *J. Phys. Chem. B*, 査読有, 111, 11870-11872 (2007)
15. Atsushi Tokuhisa, Yasumasa Joti, Hiroshi Nakagawa, Akio Kitao, Kaoru Shibata, Mikio Kataoka, “Non-Gaussian behavior of elastic incoherent neutron scattering profiles of proteins studied by molecular dynamics simulation”, *Phys. Rev. E*, 査読有, 75, 41912 (2007)
16. Tadaomi Furuta, Hideyuki Matsunami, Katsumi Imada, Keiichi Namba, and Akio Kitao, “Gap compression/extension mechanism of bacterial flagellar hook as the molecular universal joint”, *Fadel A. Samatey, J. Struct. Biol.*, 査読有, 157, 481-491 (2007)
17. 城地保昌, 北尾彰朗, “蛋白質の効率的機能を支えるメカニズム”, *蛋白質核酸酵素*, 査読有, 51(8), 972-978 (2006)
18. 城地保昌, 北尾彰朗, “分子シミュレーションと中性子散乱による蛋白質ダイナミクスの研究”, *分子シミュレーション研究会会誌「アンサンブル」*, 査読無, 8, 44-47 (2006)
19. Steven Hayward and Akio Kitao, “Molecular Dynamics Simulations of NAD⁺-induced Domain Closure in Horse Liver Alcohol Dehydrogenase”, *Biophysical Journal*, 査読有, 91, 1823-1831 (2006)
20. Hiroshi Nakagawa, Mikio Kataoka, Yasumasa Joti, Akio Kitao, Kaoru Shibata, Atsushi Tokuhisa, I. Tsukushi, Nobuhiro Go, “Hydration-coupled protein boson peak measured by incoherent neutron scattering”, *Physica B*, 査読有, 385-6, 871-873 (2006)
21. Hiroshi Nakagawa, Atsushi Tokuhisa, H. Kamikubo, Yasumasa Joti, Akio Kitao, Kaoru Shibata, Mikio Kataoka, “Dynamical heterogeneity of protein dynamics studied by elastic incoherent neutron scattering and molecular simulations”, *Material Science and Engineering A*, 査読有, 442, 356-360 (2006)
22. Akio Kitao, Koji Yonekura, Saori Maki-Yonekura, Fadel A. Samatey, Katsumi Imada, Keiichi Namba, and Nobuhiro Go, “Switch interactions control energy frustration and multiple flagellar filament structures”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 査読有, 103, 4894-4899 (2006)
23. Akio Kitao and Gerhard Wagner, “Amplitudes and directions of internal protein motions from a JAM analysis of 15N relaxation data”, *Magn. Reson. Chem.*, 査読有, 44, S130-S142 (2006)
24. 今田勝巳, Fadel A. Samatey, 松波秀行, 長島重広, 北尾彰朗, 米倉功治, 眞木さおり, 難波啓一, “べん毛による細菌の泳ぎ方と方向転換の分子機構”, *蛋白質核酸酵素*, 査読有, 50(10), 1328-1334 (2005)
25. 北尾彰朗, Fadel A. Samatey, 松波秀行, 今田勝巳, 難波啓一, “生体超分子のユニバーサルジョイント-*in silico* で探る細菌べん毛フックのメカニズム”, *蛋白質核酸酵素*, 査読有, 50(10), 1335-1340 (2005)
26. Yasumasa Joti, Akio Kitao and Nobuhiro Go, “Protein Boson Peak Originated from Hydration-Related Multiple Minima Energy Landscape”, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 127, 8705-8709 (2005)
27. Yasumasa Joti, Akio Kitao and Nobuhiro Go, “Slow Protein Dynamics to be detected in Inelastic Neutron Scattering Spectra Studied by Molecular Simulations”, *Proceedings of 3rd International Symposium on Slow Dynamics in Complex Systems*, edited by M. Tokuyama & I. Oppenheim., 査読有, 358-359 (2004)
28. Fadel A. Samatey, Hideyuki Matsunami, Katsumi Imada, Shigehiro Nagashima, Tanvir R. Shaikh, Dennis R. Thomas, James

Z. Chen, David J. De Rosier, Akio Kitao and Keiichi Namba, “Structure of the bacterial flagellar hook and implication for the molecular universal joint mechanism”, Nature, 査読有, 431, 1062-1068 (2004)

29. Yasumasa Joti, Akio Kitao and Nobuhiro Go, “Molecular simulation study to examine the possibility of detecting collective motion in protein by inelastic neutron scattering”, Physica B, 査読無, 350, e627-e630 (2004)

〔学会発表〕 (計 193 件)

〔図書〕 (計 1 件)

1. Akio Kitao, “Extension of the Normal Mode Concept: Principal Component Analysis, Jumping-Among-Minima Model and their Applications to Experimental Data Analysis”, in Normal Mode Analysis: Theory and Applications to Biological and Chemical Systems edited by Qiang Cui & Ivet Bahar, Chapter 12, 233-251 (2006)

〔その他〕

ホームページ

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/MolDes/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北尾 彰朗 (KITAO AKIO)

東京大学・分子細胞生物学研究所・准教授
研究者番号：30252422

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし