

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K05517

研究課題名(和文) 蛋白質-リガンド複合体の会合・解離の速度定数を平衡論から導く

研究課題名(英文) kinetic constants of molecular binding calculated from equilibrium

研究代表者

肥後 順一 (Higo, Junichi)

兵庫県立大学・シミュレーション学研究所・特任教授

研究者番号：80265719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：蛋白質系の構造変化に関する平衡定数が効率的に得られる generalized ensemble (GE) 法から速度定数を求めることを試みた。求める式を定式化した。しかし、GE 法は常に系にバイアスをかけ続ける必要があり、厳密に平衡定数を求められるのは、ごく小さな構造変化までだということが判明した。そこで、系にバイアスをかけることがない GE 法 (mD-VcMD 法) を開発することに方針変換した。その結果はいくつかの論文として発表した。さらに科研費の期間終了後も、mD-VcMD 法に AI 手法を応用する手法を開発した(現在論文投稿中)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

当研究課題によって、新たな効率的構造探索法である GA-based multi-dimensional virtual-system coupled molecular dynamics (GA-based mD-VcMD) simulation 法を開発した。この手法は、すでに分子動力学 (MD) プログラム (gromacs や omegegine/myPrestyo) に実装して動くようになっている。この手法を用いて、薬物候補化合物と受容体蛋白質との複合体構造予測の研究を行い、実験で得られた複合体構造との一致を確認した。今後、創薬をはじめとした研究に利用されることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：We tried to calculate kinetic constants for molecular binding/unbinding from an generalized ensemble (GE) simulation, which is an equilibrium simulation. A mathematical formulation for the kinetic-constant calculation was obtained. In the GE simulation, bias forces are always applied to atoms constructing the system. We noticed that my formulation is useful to obtain kinetic constants for molecular motions occurring in a very short time period because of the bias forces.

To increase the time scale of the molecular motions, we generated a new GE method, which is free from the bias force. We named this method 'mD-VcMD' simulation (a paper was published). To increase the sampling efficiency further, we integrated mD-VcMD and a AI technique, genetic algorithm, and named the integrated method 'GA-based mD-VcMD' simulation. Three papers are now submitted to journals.

研究分野：生物物理学

キーワード：分子動力学シミュレーション 自由エネルギー計算 状態遷移 反応座標 多次元 AI GA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究を開始した当初は、生体高分子系(蛋白質やリガンド(薬物)からなる系)にたいして分子動力学を大規模に実行し、大きな構造変化を起こし、その構造変化の速度定数(kinetic constants)を求めることが注目され出した時期であった。ただし、その計算には、潤沢な計算費用と高額な計算機が必要であった。したがって、個々の研究者が低予算で実行できるという状況になかった(現在も同様)。

一方、この時期は generalized ensemble (GE) 法と呼ばれる計算手法が徐々に成熟していた時期でもあった。この分野は日本人研究者が世界をリードしている状況にあり、本研究課題の代表研究者も、新規の GE 法を開発し、またそれを複雑な蛋白質の系へと応用することで研究を行っていた。GE 法は、系の平衡分布を効率的に求める手法であり、構造変化の時間情報(すなわち速度定数)は求められないと思われてきた。

2. 研究の目的

この研究課題では、GE 法から速度定数を割り出すことを目標にした。代表研究者は研究の第一歩として、それが原理的に可能であるということを数学的に定式化した。一般には、GE 法では系の構成原子に常にバイアスがかかる。このバイアスを巧妙に制御することで、系に大きな構造変化を頻繁に起こし、平衡分布をなるべく短時間に求めるのが GE 法であるが、このバイアスが邪魔して速度定数が求まらない。そこで、本研究課題では、GE 法でシミュレーションを実行した後に、このバイアスの効果を消し去ることを定式化した。

定式化した次の課題は、実際に GE 法のシミュレーションを生体高分子系に対して実行することであった。

3. 研究の方法

上記の方針のもと、いくつかの生体高分子系に対して、GE 法の一つである adaptive umbrella sampling シミュレーションを実行した。GE 法は数種類あるが、研究開始当時に速度定数を求める上で最も適しているのは、adaptive umbrella sampling であった。我々は、従来の adaptive umbrella sampling にさらに工夫を加えた(これに関しては2本の論文を発表した)。

このシミュレーションの結果として、系の多数の瞬間構造(snapshots)をハードディスクに保存した。また、その瞬間瞬間に作用していたバイアスの値もハードディスクに保存した。上述した定式では、これら保存したデータを入力として用いて速度定数の計算できる。

4. 研究成果

上記の adaptive umbrella sampling シミュレーションの結果から速度定数を算出した。しかし、その結果分かったのは、非常に短い時間スケールで起きる構造変化に対する速度定数しか精度良く求まらないということであった。言い換えると、長時間で起きる大規模な構造変化に対する速度定数を計算しようとする、誤差が無視できないほど大きくなることがわかった。上述したように、GE 法は常に系の構成原子にバイアスがかかる。長い時間スケールに起こる分子運動の速度定数を求めようとする、そのバイアスの影響が消せないのである。小さな構造変化が組み合わさった大きな構造変化は起きるが、同様に短い時間スケールでの速度定数を組み合わせ(重ね合わせて)長い時間スケールの速度定数を求めることは、原理的には可能である。そこで、いったんはその方向で研究を進めようと考えた。しかし、速度定数を重ね合わせる過程で小さな誤差が積み上がり、結果的に大きな誤差になる可能性があった。何らかの大きな軌道修正が必要であった。

そこで、バイアスを使わない GE 法を開発することにした。それができたなら、速度定数を求めることにも寄与するが、新たな GE 法によりこれまで困難であった複雑な分子系の問題にも適用できると見込まれたからである。バイアス・フリーの GE 法は一見自己矛盾を起こしているように思えるが、バイアスの代わりに構造変化の遷移確率を巧妙に制御することで、バイアスなしの GE 法が可能になった。この手法は mD-VcMD 法と名付けた(論文発表済み)。次に、mD-VcMD を大きくて複雑な系に適用した: 膜と、それに埋もれた膜蛋白質 GPCR を設定する。GPCR と膜の境界には数分子のコレステロール分子が挟まれている(実験からそのことがわかっていたので)。GPCR はリガンド結合クレフトを持っており、このクレフトが開閉することでリガンドが結合する。リガンドはエンドセリン1分子とした。他のリガンドも実験で報告されているが、最も知られているエンドセリン1分子を選んだ。そしてそれ全体を大量の溶媒分子が取り囲む系を作成した。この系は非常に複雑で大きい系であるが、mD-VcMD 法を適用し、エンドセリン1の結合・解離の自由エネルギー地形を算出した(論文発表済み)。また、リガンドが GPCR に接近する過程で、GPCR の N-末端に位置する長い変性領域が溶媒中に伸び出し、エンドセリン1分子を捕まえるというメカニズムが計算からわかった。これは、単に N-端がエンドセリン1分子と接触している構造がシミュレーション中に見つかったと言っているのではない。接触している方が接触していないよりも自由エネルギー的に安定であることを、自由エネルギー地形を算出することで示した。なお、この機構は理論上提案されたものであり、fly-casting メカニズムと呼ばれている。しかし、この機構はいまだ実験で明確には見つかっておらず、議論的である。我々の研究は実験でないが、fly-casting メカニズムが「計算機実験では存在する」ということは示せた。

この研究の後、構造探索能をさらに効率化するために、AI 手法の一つである genetic algorithm 法を mD-VcMD 法に統合した（現在 3 本の論文を投稿中）。

このように、当初の目的からは研究の方向が変化したが、応用範囲の広い GE 法を開発したことは有意義であった。もちろんこの手法から、より長時間で起きる運動の速度定数を割り出すことが可能であるが、ここまで研究が進んだ段階で科研費の期限が来たので、いったん研究は終了した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計24件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 94. Shinji Iida, Takeshi Kawabata, Kota Kasahara, Haruki Nakamura, Junichi Higo	4. 巻 15
2. 論文標題 Multimodal Structural Distribution of the p53 C-terminal Domain Upon Binding to S100B via a Generalised Ensemble Method: From Disorder to Extra-Disorder.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Chem. Theory Comput.	6. 最初と最後の頁 2597-2607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） DOI: 10.1021/acs.jctc.8b01042.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 95. Tomonori Hayami, Junichi Higo, Haruki Nakamura, Kota Kasahara	4. 巻 40
2. 論文標題 Multidimensional virtual-system coupled canonical molecular dynamics to compute free-energy landscapes of peptide multimer assembly.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Comput. Chem.	6. 最初と最後の頁 2453-2463
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1002/jcc.26020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 96. Junichi Higo, Kota Kasahara, Mitsuhiro Wada, Bhaskar Dasgupta, Narutoshi Kamiya, Tomonori Hayami, Ikuo Fukuda, Yoshifumi Fukunishi, Haruki Nakamura	4. 巻 32
2. 論文標題 Free-energy landscape of molecular interactions between endothelin 1 and human endothelin type B receptor: Fly-casting mechanism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Protein Engineering, Design & Selection	6. 最初と最後の頁 297-308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1093/protein/gzz029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 97. Takuya Shimato, Kota Kasahara, Junichi Higo, Takuya Takahashi	4. 巻 1
2. 論文標題 Effects of number of parallel runs and frequency of bias-strength replacement in generalized ensemble molecular dynamics simulations.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PeerJ Phys. Chem.	6. 最初と最後の頁 e4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） DOI: 10.7717/peerj-pchem.4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 98.Gert-Jan Bekker, Ikuo Fukuda, Junichi Higo, Narutoshi Kamiya.	4. 巻 10
2. 論文標題 Mutual population-shift driven antibody-peptide binding elucidated by molecular dynamics simulations.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41598-020-58320-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 12.Kota Kasahara, Hiroki Terazawa, Takuya Takahashi, Junichi Higo	4. 巻 17
2. 論文標題 Studies on molecular dynamics of intrinsically disordered proteins and their fuzzy complexes: a mini-review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Computational and Structural Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 712-720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1016/j.csbj.2019.06.009	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 13.Junichi Higo, Takeshi Kawabata, Ayumi Kusaka, Kota Kasahara, Narutoshi Kamiya, Ikuo Fukuda, Kentaro Mori, Yutaka Hata, Yoshifumi Fukunishi, Haruki Nakamura	4. 巻 未配布
2. 論文標題 Molecular interaction mechanism of 14-3-3e protein with phosphorylated Myeloid leukemia factor 1 revealed by an enhanced conformational sampling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 未配布
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1101/2020.05.24.113209	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 14.Higo, J.; Kusaka, A.; Kasahara, K.; Kamiya, N.; Fukuda, I.; Mori, K.; Hata, Y.; Fukunishi, F.	4. 巻 未配布
2. 論文標題 GA-based mD-VcMD: A genetic-algorithm-based method for multi-dimensional virtual-system coupled molecular dynamics.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 arXiv	6. 最初と最後の頁 未配布
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kota Kasahara, Masaaki Shiina, Junichi Higo, Kazuhiro Ogata, Haruki Nakamura	4. 巻 46
2. 論文標題 Phosphorylation of an intrinsically disordered region of Ets1 shifts a multi-modal interaction ensemble to an out-inhibitory state	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 2243-2251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1093/nar/gkx1297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hayami Tomonori, Kasahara Kota, Nakamura Haruki, Higo Junichi	4. 巻 39
2. 論文標題 Molecular dynamics coupled with a virtual system for effective conformational sampling	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry	6. 最初と最後の頁 1291 ~ 1299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.25196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iida Shinji, Kawabata Takeshi, Kasahara Kota, Nakamura Haruki, Higo Junichi	4. 巻 15
2. 論文標題 Multimodal Structural Distribution of the p53 C-Terminal Domain upon Binding to S100B via a Generalized Ensemble Method: From Disorder to Extradisorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Theory and Computation	6. 最初と最後の頁 2597 ~ 2607
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jctc.8b01042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 21. 笠原浩太, 椎名政昭, 肥後順一, 緒方一博, 中村春木	4. 巻 20
2. 論文標題 理論と実験の連携による蛋白質天然変性領域の機能解析	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 分子シミュレーション研究会会誌「アンサンブル」	6. 最初と最後の頁 253-259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomonori Hayami, Kota Kasahara, Haruki Nakamura, Junichi Higo	4. 巻 1
2. 論文標題 Molecular dynamics coupled with a virtual system for effective conformational sampling.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Comput Chem	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.25196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kota Kasahara, Masaaki Shiina, Junichi Higo, Kazuhiro Ogata, Haruki Nakamura.	4. 巻 46
2. 論文標題 Phosphorylation of an intrinsically disordered region of Ets1 shifts a multi-modal interaction ensemble to an out-inhibitory state.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 2243-2251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1093/nar/gkx1297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junichi Higo, Kota Kasahara, Haruki Nakamura.	4. 巻 147
2. 論文標題 Multi-dimensional virtual system introduced to enhance canonical sampling.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 134102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.4986129	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junichi Higo, Kota Kasahara, Bhaskar Dasgupta, Haruki Nakamura.	4. 巻 146
2. 論文標題 Enhancement of canonical sampling by virtual-state transitions.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 44104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.4974087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Junichi Higo, Kota Kasahara, Bhaskar Dasgupta, Haruki Nakamura.	4. 巻 146
2. 論文標題 Enhancement of canonical sampling by virtual-state transitions.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 44104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1063/1.4974087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shinji Iida, Tadaaki Mashimo, Takashi Kurosawa, Hironobu Hojo, Hiroya Muta, Yuji Goto, Yoshifumi Fukunishi, Haruki Nakamura, Junichi Higo.	4. 巻 37
2. 論文標題 Variation of Free-Energy Landscape of the p53 C-terminal Domain Induced by Acetylation: Enhanced Conformational Sampling.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Comp. Chem.	6. 最初と最後の頁 2687-2700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.24494	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bhaskar Dasgupta, Haruki Nakamura, Junichi Higo.	4. 巻 662
2. 論文標題 Flexible binding simulation by a novel and improved version of virtual-system coupled adaptive umbrella sampling.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Chem. Phys. Lett.	6. 最初と最後の頁 327-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.cpllett.2016.09.059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kota Kasahara, Benson Ma, Kota Goto, Bhaskar Dasgupta, Junichi Higo, Ikuo Fukuda, Tadaaki Mashimo, Yutaka Akiyama, Haruki Nakamura	4. 巻 13
2. 論文標題 myPresto/omegagene: a GPU-accelerated Molecular Dynamics Simulator Tailored for Enhanced Conformational Sampling Methods with a Non-Ewald Electrostatic Scheme.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 209-216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.2142/biophysico.13.0_209	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masahiko Okuda, Junichi Higo, Tadashi Komatsu, Tsuyoshi Konuma, Kenji Sugase, Yoshifumi Nishimura.	4. 巻 111
2. 論文標題 Dynamics of the Extended String-Like Interaction of TFIIIE with the p62 Subunit of TFIIH.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biophysical J.	6. 最初と最後の頁 950-962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2016.07.042.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koji Umezawa, Jun Ohnuki, Junichi Higo, Mitsunori Takano.	4. 巻 36
2. 論文標題 Intrinsic disorder accelerates dissociation rather than association.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proteins	6. 最初と最後の頁 1489-1501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.25057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sinji Iida, Haruki Nakamura, Junichi Higo.	4. 巻 473
2. 論文標題 Enhanced conformational sampling to visualize a free-energy landscape of protein complex formation.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biochemical J.	6. 最初と最後の頁 1651-1662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BCJ20160053	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jinzen Ikebe, Koji Umezawa, Junichi Higo	4. 巻 8
2. 論文標題 Enhanced sampling simulations to construct free energy landscape of protein-partner substrate interaction.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biophysical Rev.	6. 最初と最後の頁 45-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-015-0189-z	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----