

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20500268

研究課題名(和文) 大規模分子シミュレーションによるヘモグロビンの新たな四次構造変化の提唱と実証

研究課題名(英文) Large scale MD simulation studies on quaternary structural changes of hemoglobin

研究代表者

斎藤 稔 (SAITO MINORU)

弘前大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：60196011

研究成果の概要(和文)：

スーパーコンピュータと独自に開発したソフトウェア COSMOS90 を駆使して、大規模なシミュレーションを可能にし、ヘモグロビンの新たな四次構造変化を明らかにした。COSMOS90 は、開発者である筆者が自ら、スーパーコンピュータ上でベクトル化と並列化とを行って高速化した。それによって、ヘモグロビンのような巨大な蛋白質を全原子、全自由度、全相互作用を考慮して、リアルな条件下で長時間シミュレーションすることを可能にした。これまで、ヘモグロビンに対してこのような研究は行われていなかった。

研究成果の概要(英文)：

I accelerated my software COSMOS90 by vectorization and parallelization on supercomputers and made it possible to perform long MD simulations for hemoglobin under the realistic condition, in water with all degrees of freedom and long-range Coulomb interactions included. I found quaternary structural changes and dynamics of hemoglobin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：計算科学

科研費の分科・細目：情報学

キーワード：生体生命情報学

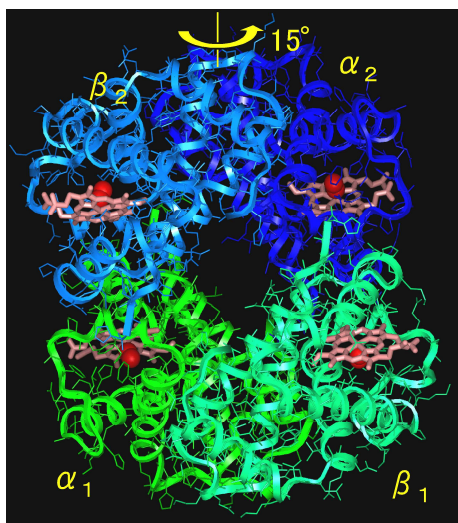
## 1. 研究開始当初の背景

ヘモグロビンは、二つのダイマーから構成されており、ダイマー間のねじれ角を変化させることによって効率よく酸素分子の吸着をしていると考えられてきた(下図)。この仮説は、酸素が吸着する前後の静止したX線結晶構造を比較して提唱されたのであり、途中の構造変化の過程はこれまで観測されてはいなかった。

一方、この問題をコンピュータシミュレーションで解き明かそうとする試みがなされてきた。しかし、ヘモグロビンが巨大な分子であるため、真空中のヘモグロビンについてのエネルギー極小化計算や立体構造を保つための拘束条件下でのシミュレーションがほとんどであった。

水中のヘモグロビンのリアルな分子シミュレーションは、数例報告されていた。しか

し、最長でも2ナノ秒程度の短時間のシミュレーションであった。ヘモグロビンを水中でリアルに長時間シミュレーションした研究はこれまで無かった。



## 2. 研究の目的

筆者の研究目的は、筆者が独自に開発したプログラム COSMOS90 を、日本が世界に誇るスーパーコンピュータ（地球シミュレータなど）で高速化し、水中のヘモグロビンの長時間のリアルなシミュレーションを実施し、ヘモグロビンの立体構造（特に高次構造、四次構造）の変化の仮説を検証することであった。

そのため、この研究では、シミュレーションを、ヘモグロビンの生理条件に近い水中で行う。更に、立体構造を保つための人工的な拘束条件は、一切課さない。このような厳しい制限のもとで、スーパーコンピュータと高速化したソフトウェアを使って可能な限りの長時間のシミュレーションを実行する。そうすることによって、実験手段による観察が困難なヘモグロビンの動きと構造変化を、コンピュータシミュレーションによって観察するのである。

特に、ヘモグロビンの高次構造（四次構造）の変化に注目する。ヘモグロビンを構成する二つのダイマー（ $\alpha 1\beta 1$  と  $\alpha 2\beta 2$ ）は、仮説のとおり水中で回転するののか、その際に、他の構造変化は起こりえないのか。これらの基本的に重要な疑問に答えを出すことが目的である。

## 3. 研究の方法

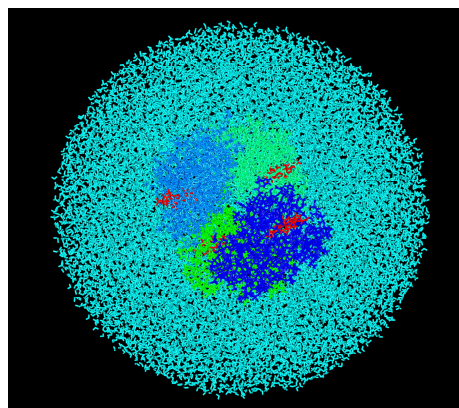
シミュレーションに用いるソフトウェア COSMOS90 は、筆者が独自に開発したものである。自作の PC クラスタ PCC7 (8 ノード; 64 プロセッサ; 160GB メモリ) とスーパーコンピュータ（地球シミュレータと

Primequest) で高速に安定に動作している。特に、地球シミュレータのベクトル型並列計算機としての性能を最大限に引き出すため、COSMOS90 のベクトル化による加速性能を犠牲にしないように並列化した。ベクトル化と並列化は、ソフトウェアの移植性を損ねないように行ったため、COSMOS90 は、通常のスカラー型並列計算機（例、Primequest) においても、十分に高速に動作する。

まず、ヘモグロビンを十分に大きな水球に浸して、シミュレーションの初期構造を用意する（下図）。ヘモグロビンの立体構造は、高分解能の X 線結晶構造を Protein data bank からダウンロードして入手する。

ヘモグロビンの全ての原子とそれら全ての自由度、更に、全ての原子間の相互作用を考慮して、数十ナノ秒のシミュレーションを行う。通常は、原子間の共有結合の振動を無視して、シミュレーションのステップを長く（2 フェムト秒）にするのであるが、この研究では、原子間結合の振動も正しく考慮するため、0.5 フェムト秒にしている。

原子間の力場パラメータは、AMBER で使われている ff96 を利用する。また、水分子のモデルは、SCP である。これらの力場パラメータとモデルの信頼性は、筆者が長年様々な蛋白質のシミュレーションに利用して確認している。



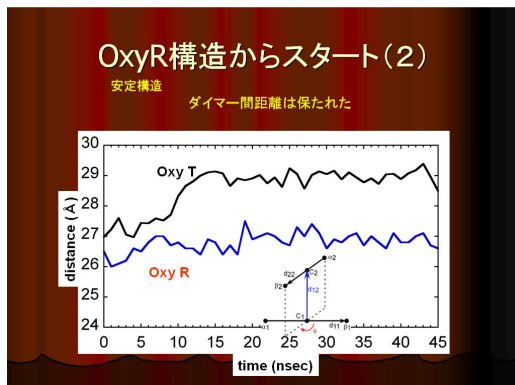
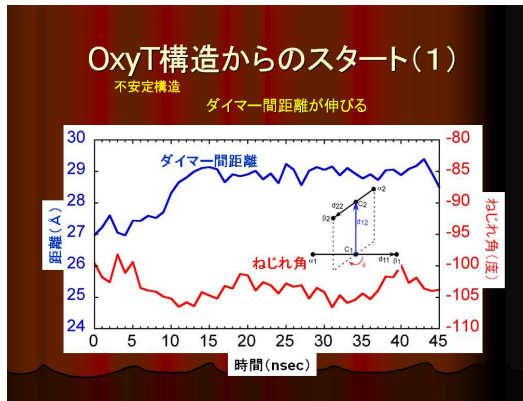
## 4. 研究成果

ヘモグロビンに酸素が結合して二つのダイマーが回転していない構造が、X 線結晶構造解析によって発見されている。酸素結合型不安定構造 (oxyT 構造) のヘモグロビンである。溶液中では、不安定な構造が、結晶の環境下で拘束されていると考えられている。

筆者は、このヘモグロビンを水中に置き、45 ナノ秒にわたってシミュレーションを行った。従来の研究よりも 22 倍長い時間のシミュレーションである。ヘモグロビンの細部の運動や構造の変化を精査することによって、シミュレーションは水中のヘモグロビンの運動を安定にシミュレーションしている

と判断できた。

更に、ヘモグロビンの全体的な動き（ダイマーどおしの動き）に注目した。その結果、二つのダイマー $\alpha 1\text{B}1$ と $\alpha 2\text{B}2$ は、お互いの距離が約 $2\text{\AA}$ 離れることがわかった（下図）。また、ダイマー間の互いのねじれ角が、ゆっくりと揺らいでいることが観測できた。その後、更にシミュレーションを継続したところ、このねじれ角は、揺らぎながら一定の方向に徐々に変化していることが明らかになった。



したがって、ヘモグロビンを構成する二つのダイマー ( $\alpha 1\text{B}1$ と $\alpha 2\text{B}2$ )は、仮説のとおり相対的なねじれ角を揺らしながら回転しうることが明らかになった。一方、回転の際にダイマー間の距離は一定に保たれると考えられていたが、距離もまた柔軟に変化しうることが始めて明らかになった。

一方、ヘモグロビンのヘム鉄に酸素分子が結合している酸素結合型ヘモグロビン (oxy R 構造)は、溶液中で安定である。X線結晶構造解析もなされており、T構造とは大きく異なるR構造をとっている。

この酸素結合型ヘモグロビンに対しても、同様の条件下で長時間のシミュレーションを行った。oxyT型不安定構造の結果と対照的に、ヘモグロビンの構造は、部分構造 (三次構造) および全体構造 (四次構造) とともに安定に揺らいでいることが明らかになった。特

に、二つのダイマー間の距離は、OxyT構造のシミュレーション結果と異なり、期待したとおりに同じ距離を保ちながら揺らいでいることがわかった。

筆者が行ったヘモグロビンのシミュレーションは、従来よりもリアルで長時間の最初のシミュレーションであった。ヘモグロビンのような巨大な分子でも、スーパーコンピュータと高速化したソフトウェアを用いることによって、リアルなシミュレーションを安定に長時間行うことが実証された。

これまで、遺伝子工学的そして物理化学的手法などを用いても、未だに決着がつかない問題をコンピュータシミュレーションで研究する (計算機実験という) 道筋を示すことができたといえる。

ごく最近、筆者の最初のシミュレーションが終了して発表してから、暫くして、筆者のシミュレーションの4倍の時間のシミュレーションが欧州で行われて発表された。欧州で開発されたコンピュータと高速化されたソフトウェアを使って行われたのである。ヘモグロビンのシミュレーションもまた、他のサイエンスと同様に、国際競争の様相を呈してきた。筆者のシミュレーションは、その発端となったといえる。

ヘモグロビンの長時間のリアルなシミュレーションが可能になったことによって、ヘモグロビンの立体構造変化のみならず、それに関連した様々な物性や機能もまた、今後コンピュータによって解析されるに違いない。

一方、ヘモグロビンは、最も古くから研究されているアロステリック蛋白質の一つである。そして、そのメカニズムが、最も詳細に研究されているアロステリック蛋白質である。今後、ヘモグロビン以外の多くのアロステリック蛋白質の研究もまた、コンピュータシミュレーションによって加速することが期待される。

## 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1件)

1. Minoru Saito, "Large Scale MD Simulations of Proteins on the Earth Simulator: Quaternary Structural Changes of Hemoglobin", Annual Report of the Earth Simulator Center, 査読無し, April 2008-September 2008, (2008), pp.261-265.

[学会発表] (計1件)

Minoru Saito, "MD simulations of hemoglobin in water with all degrees of freedom for different oxygen binding states and quaternary structures", The 48th

Annual Meeting of the Biophysical Society  
of Japan, Sept.20, 2010, Tohoku  
University (Sendai, Japan)

〔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

<http://www.si.hirosaki-u.ac.jp/~msaito/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

斎藤 稔 (SAITO MINORU)

弘前大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号 : 6 0 1 9 6 0 1 1

### (2) 研究協力者

長井 雅子 (NAGAI MASAKO)

法政大学・工学研究科・客員教授

研究者番号 : 6 0 0 1 9 5 7 8