

生体分子シミュレーションによる
機能解析と
計算生体分子医科学への展開

筑波大学 計算科学研究センター
原田 隆平

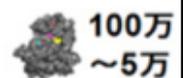
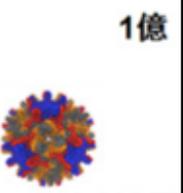
平成30年2月26日
計算メディカルサイエンス キックオフシンポジウム
@筑波大学計算科学研究センター
(A.M. 11:10-11:40)

分子動力学(MD)シミュレーションの 時空間スケール問題の解決に向けて

長時間スケールで誘起される
生体分子の
複雑な機能を解明したい

分子混雑

原子数



希薄溶液

(A) 細胞環境を考慮した
分子混雑シミュレーション

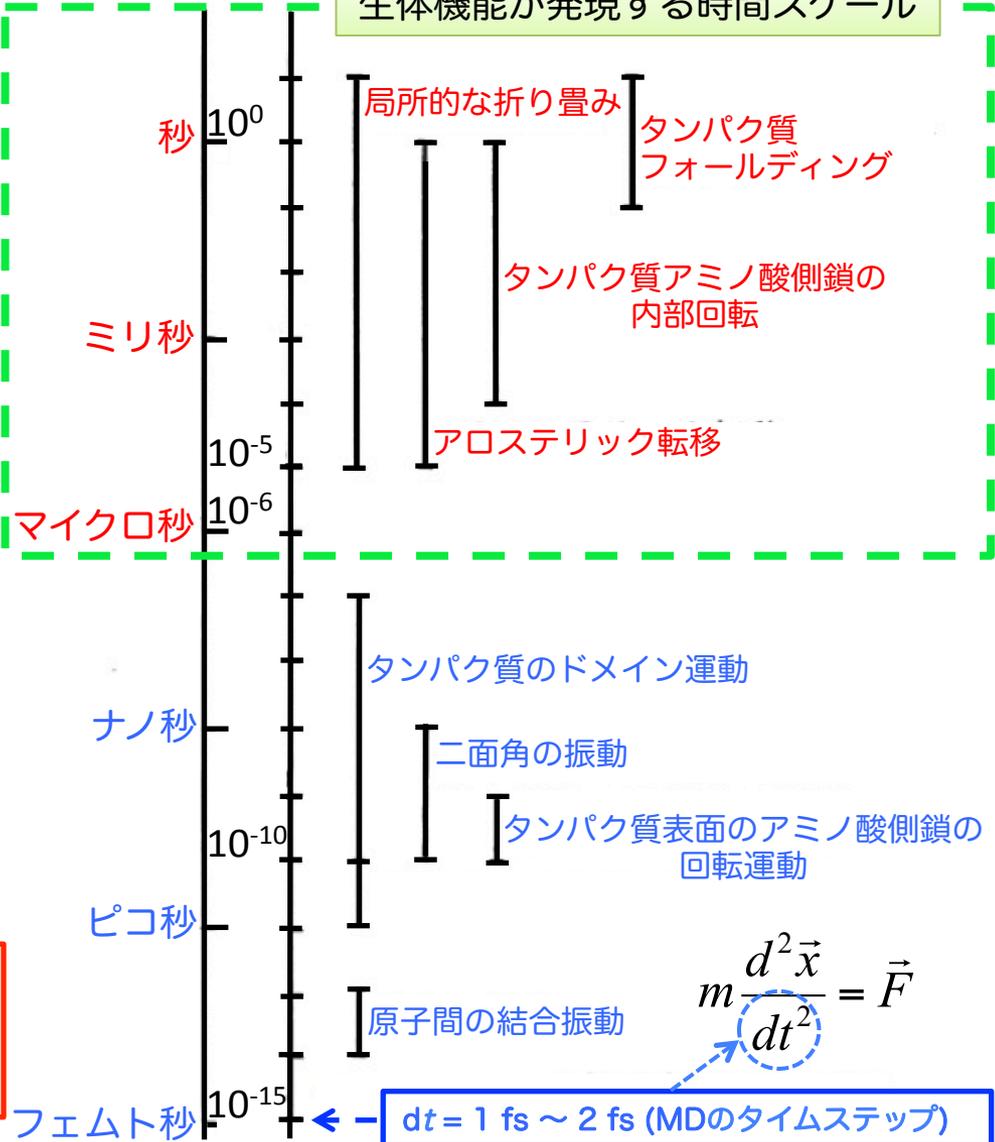
MDシミュレーション
を支える
計算手法の基盤構築
により
分野発展に貢献

(B) 計算手法の開発により
レアイベントを抽出

100ナノ秒 マイクロ秒 秒

通常MDシミュレーションに代わる
方法論(シミュレーション手法)の
開発が必要

生体機能が発現する時間スケール



(A) 細胞環境シミュレーションを
目指した分子混雑シミュレーション

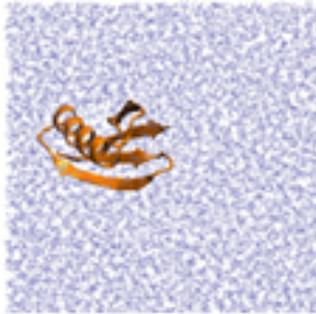
分子混雑環境における
タンパク質・水分子の物性解析

細胞環境とのギャップ

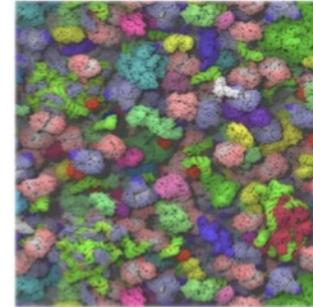
従来の生体分子シミュレーションと生化学実験における大きな仮定

- ①理想的条件：十分希薄であり、生体分子どうし相互作用しない
- ②一様性：一つの場所における環境は、他の場所と同じ

従来の生体分子単体の
分子シミュレーション



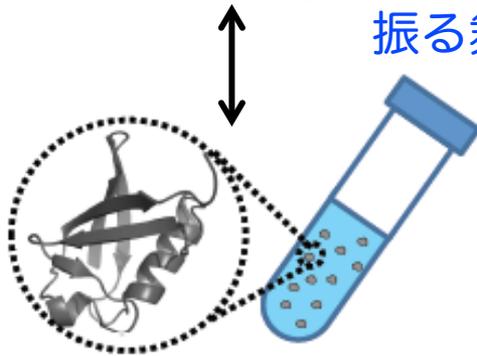
分子混雑を考慮した
細胞環境シミュレーション



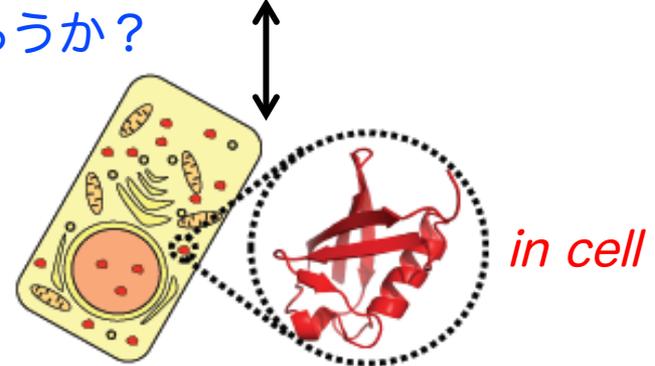
≠
?

物理化学的な
振る舞いは一緒だろうか？

in vitro



≠
?



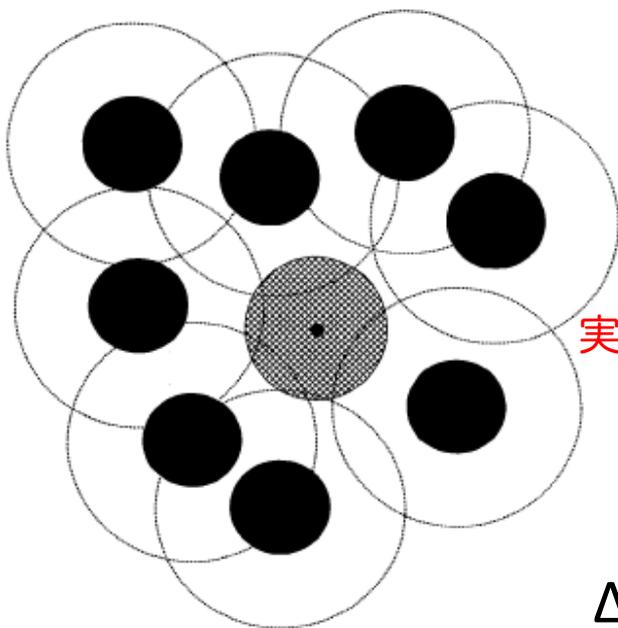
in cell

細胞環境における生体分子の振る舞いを調べるには、分子混雑を考慮すべき

剛体球モデルの限界

★剛体球モデル(Minton, 1993)

タンパク質間・タンパク質-溶媒間相互作用を詳細に考慮することができない単純な理論モデル



実験を説明できない
(モデルの限界)

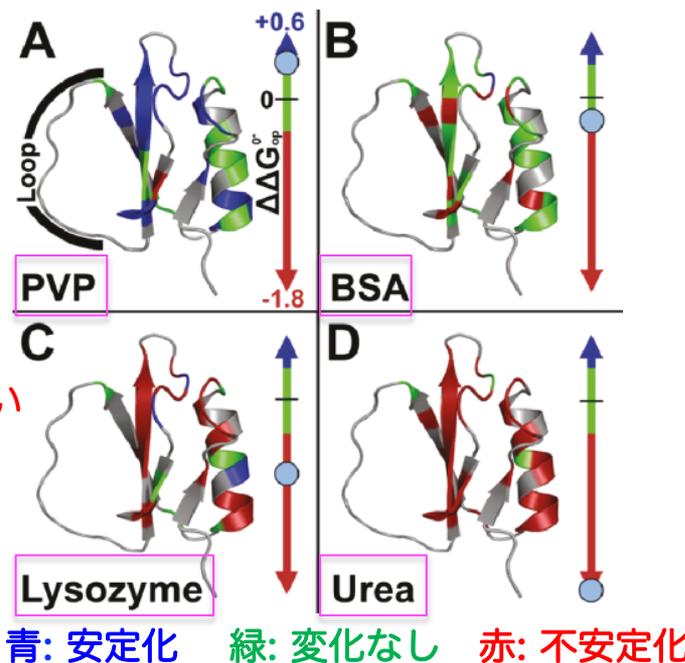
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

排除体積効果により、コンパクトな構造
(~天然構造) が常に安定



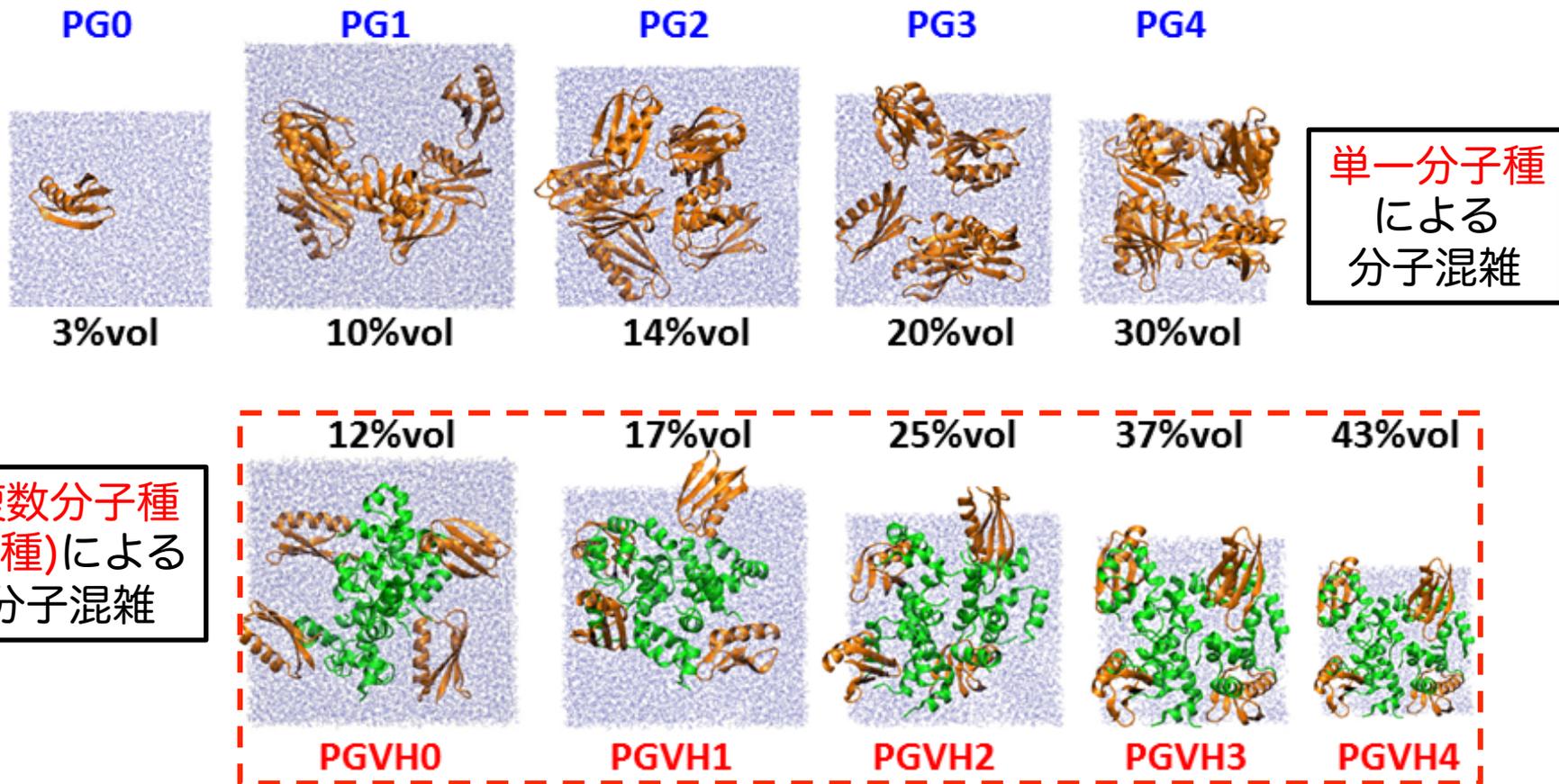
組み合わせは、タンパク質を安定化させる
場合もあれば不安定化させる場合もある

★NMR amide-exchange experiments of CI2
(Pielak, 2011)



→分子混雑によるタンパク質間・タンパク質-溶媒間相互作用を詳細に考慮すべき
∴ 分子力場による全原子MDシミュレーションを用いて、詳細に相互作用を評価

細胞環境を模した 分子混雑シミュレーション

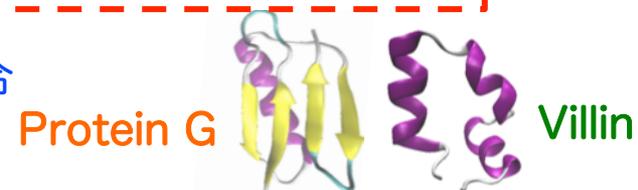


混み合いの強さ (%vol) : 溶液全体の体積に占める溶質分子の割合

PG0: Protein G × 1

PG1, PG2, PG3, PG4: Protein G × 8 (合計8分子)

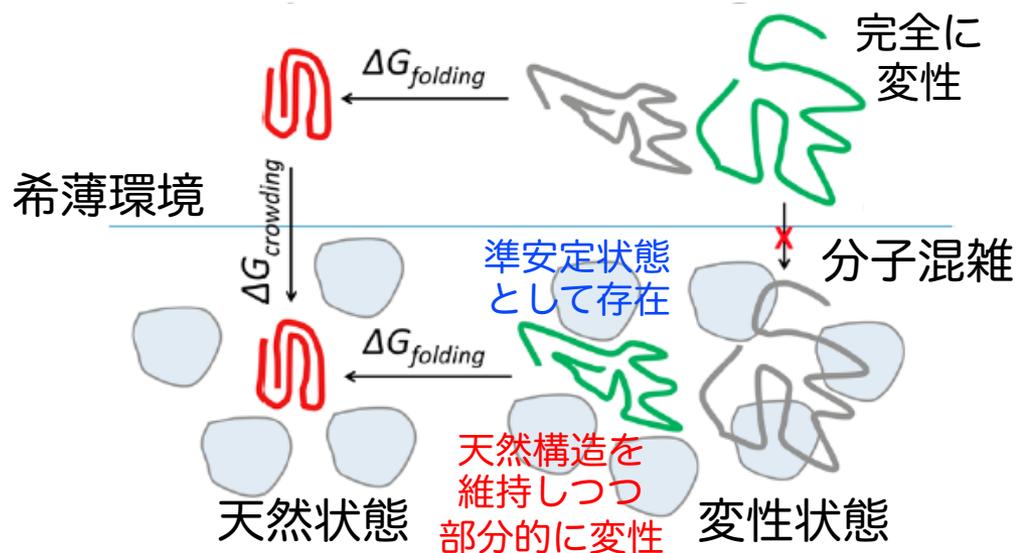
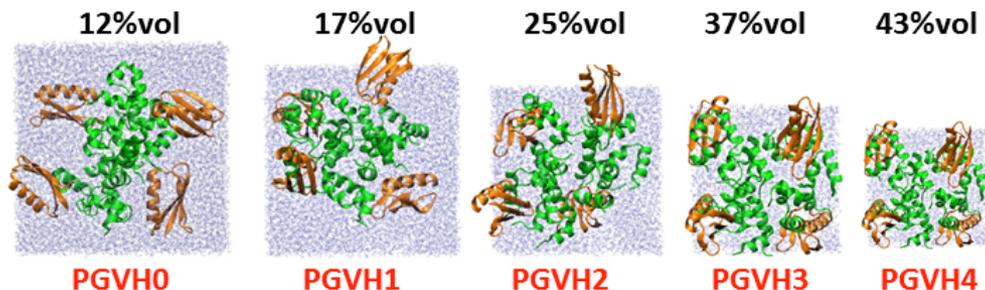
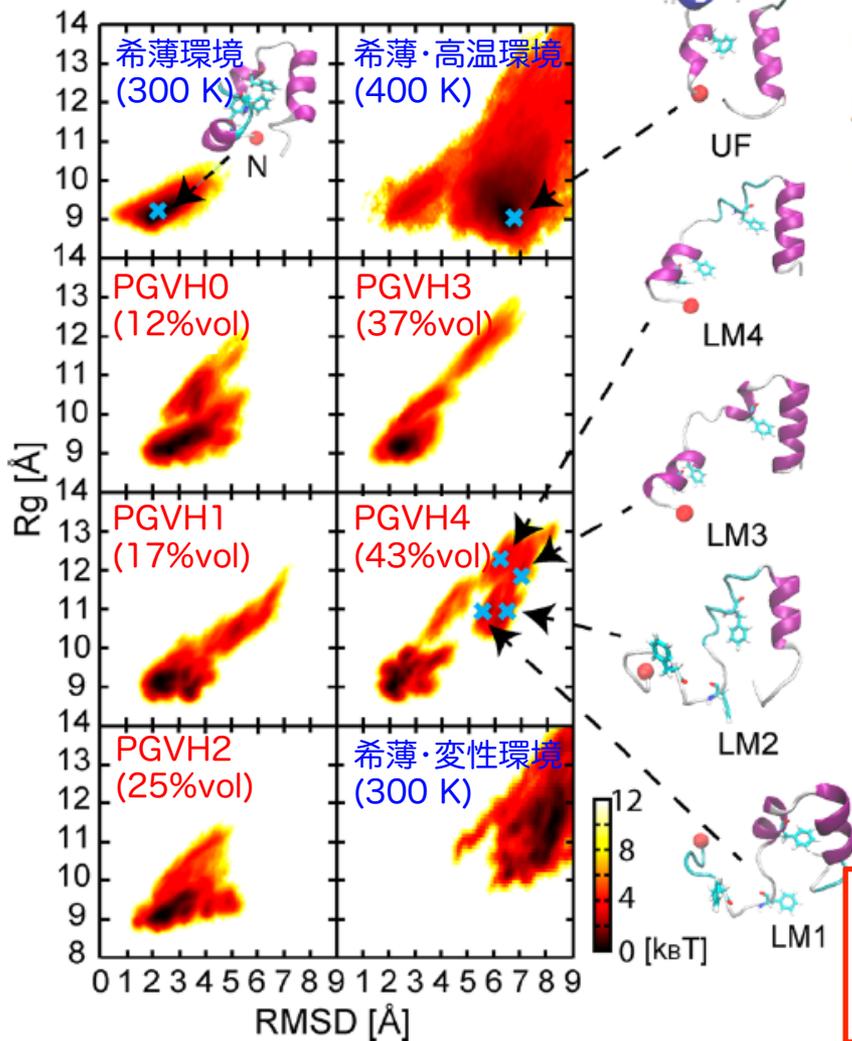
PGVH1, PGVH2, PGVH3, PGVH4: Protein G × 4 + Villin × 8 (合計12分子)



分子混雑に用いたタンパク質

分子混雑によるタンパク質天然構造の不安定化

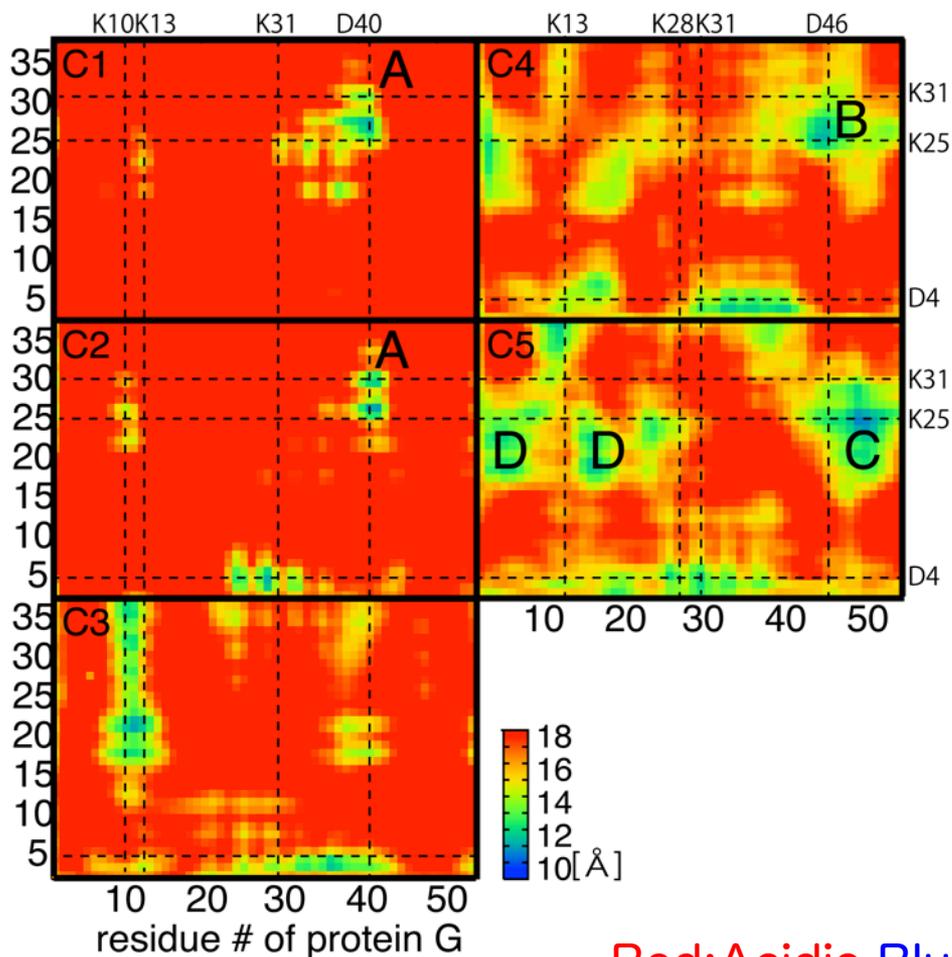
Villinの自由エネルギー地形



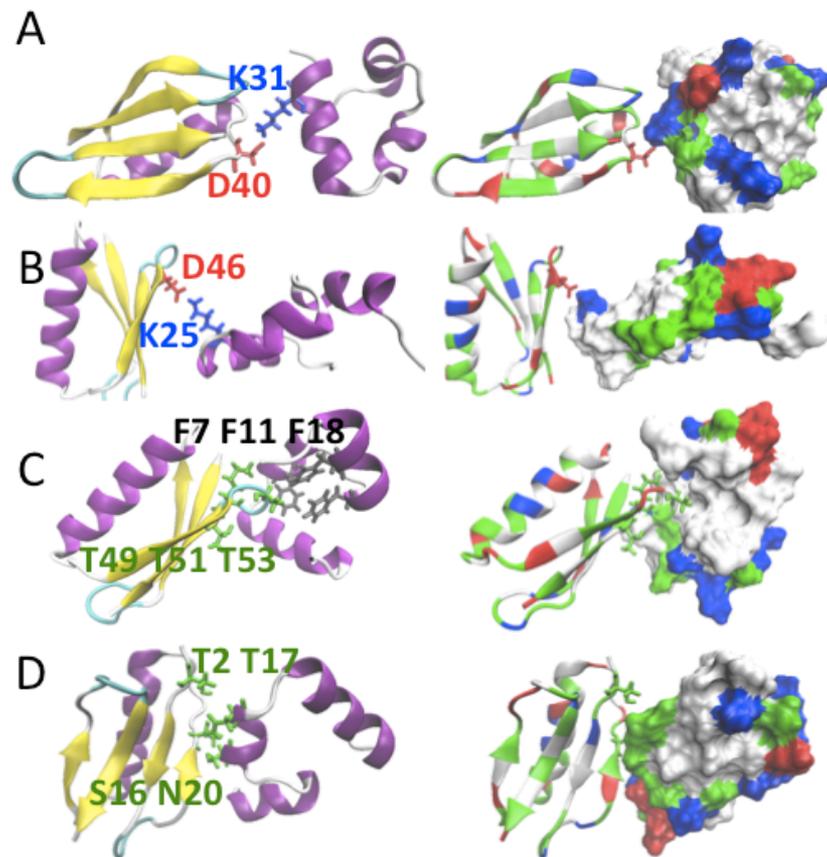
分子混雑環境では、部分的に変性した構造も準安定状態として存在する可能性を提案し、天然構造が常に安定であるという既成概念を覆した

分子混雑に伴うタンパク質間相互作用

★Protein GとVillin間のコンタクトマップ



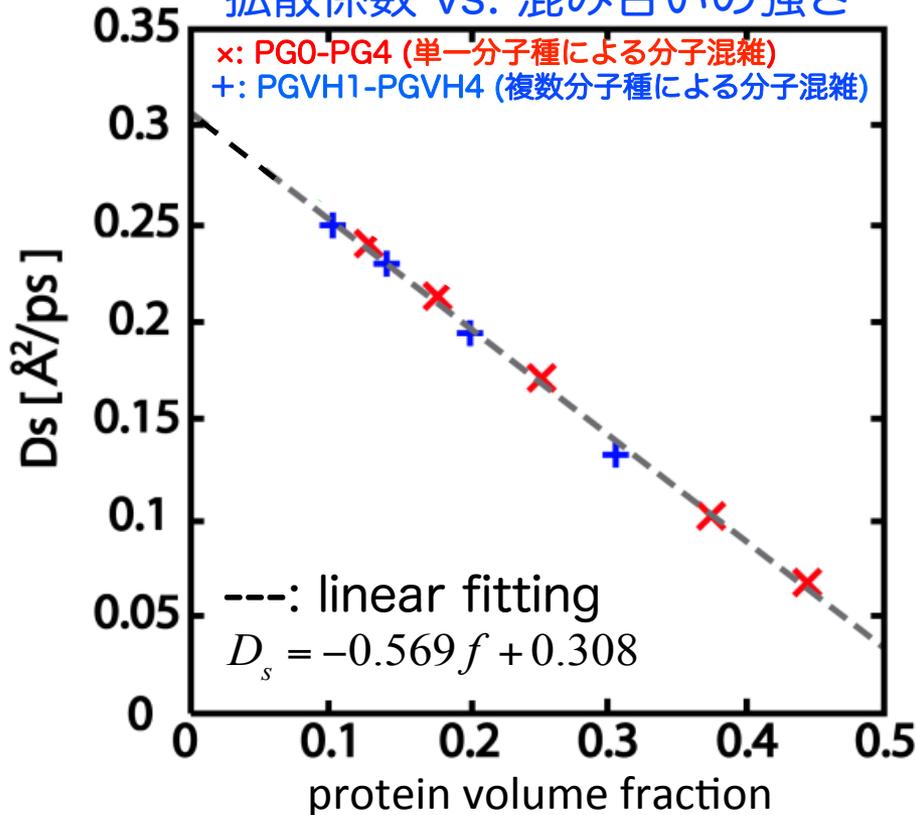
★Protein GとVillin間の特徴的なタンパク質間相互作用



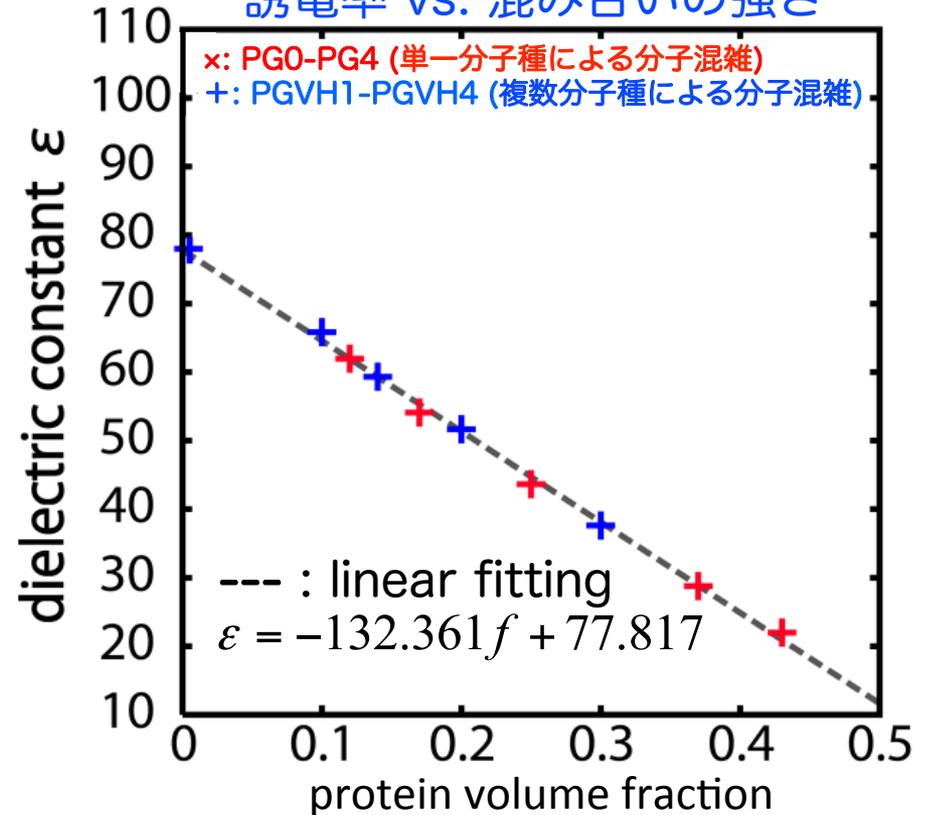
Red:Acidic Blue:Basic Green:Hydrophobic Black:Polar

分子混雑環境下における溶媒(水分子)の 拡散係数・誘電率の普遍性

拡散係数 vs. 混み合いの強さ



誘電率 vs. 混み合いの強さ



分子混雑環境下では、拡散係数・誘電率は混み合いの強さに対して線形に減少
 → 混み合いの強さが、溶媒の動力学的性質・熱力学的性質を制御

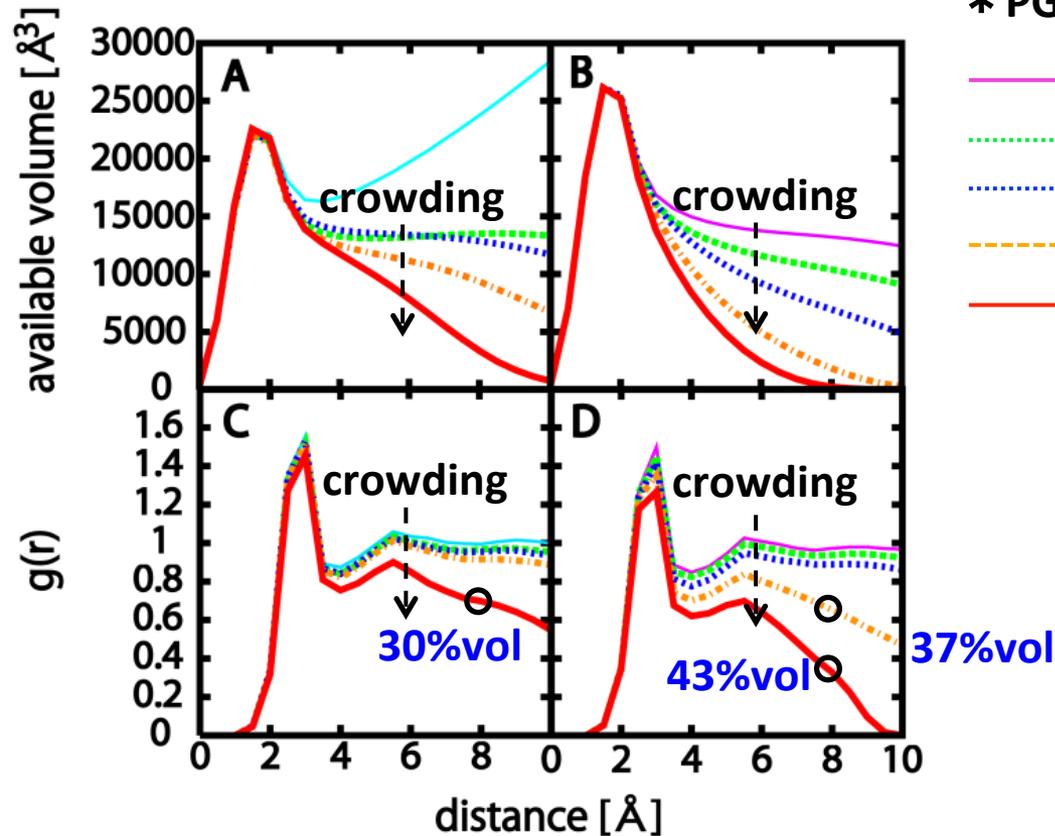
分子混雑に伴う動径分布関数の変化 (タンパク質表面)

* PG0-4(A, C)

- :3%vol
- ⋯:10%vol
- ⋯:14%vol
- - -:20%vol
- :30%vol

* PGVH1-4(B, D)

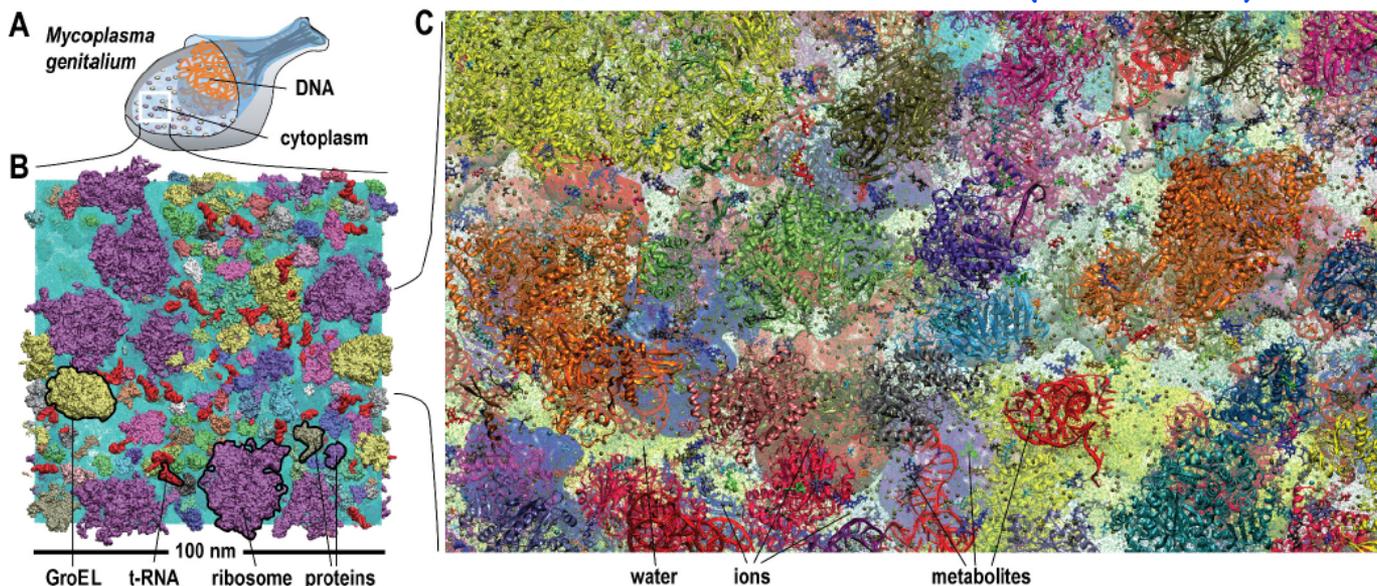
- :12%vol
- ⋯:17%vol
- ⋯:25%vol
- - -:37%vol
- :43%vol



体積比30%volで著しく動径分布関数が変化
→ タンパク質表面の水和構造の変化

分子混雑から細胞環境へ

マイコプラズマの細胞環境シミュレーション(全原子MD)



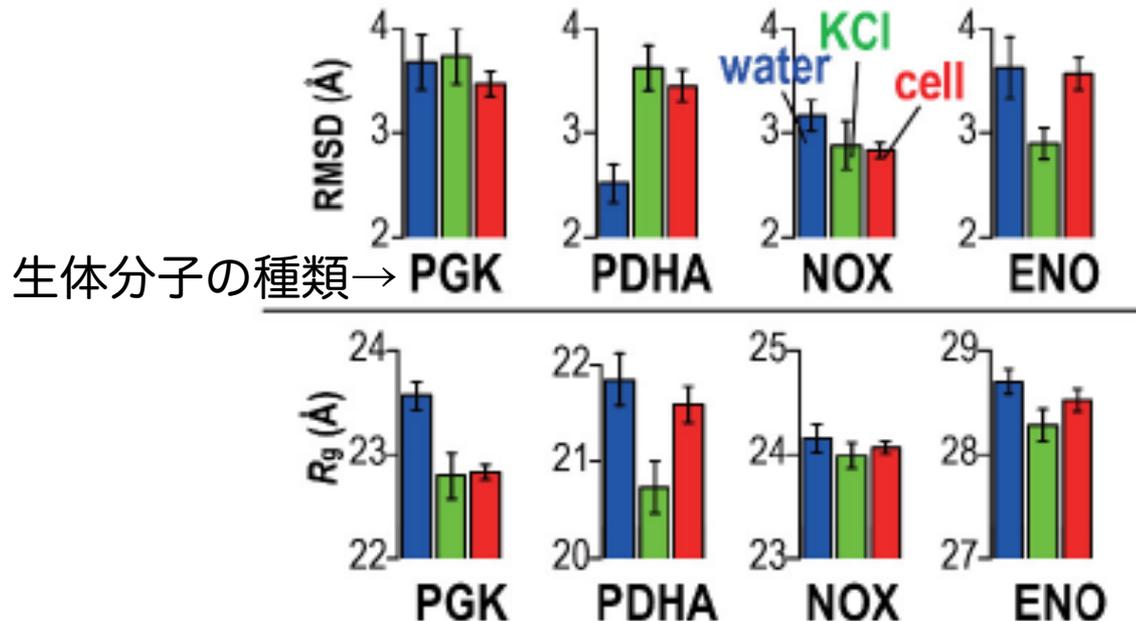
System	<i>MG_h</i>	<i>MG_{m1}</i>	<i>MG_{m2}</i>	<i>MG_{cg}</i>
Cubic box length (nm)	99.8	48.2	48.2	106.2
Program	GENESIS	GENESIS	NAMD	GENESIS
Simulation time	20 ns	140 ns	60 ns	10 × 20 μs
		number of molecules		
Ribosomes	31	3	3	24
GroELs	20	3	3	24
Proteins	1238	182	133	1927
RNAs	284	28	44	298
Metabolites	41,006	5,005	5,072	
Ions	214,000	23,049	27,415	
Waters	26,263,505	2,944,143	2,893,830	
Total # of atoms	103,708,785	11,737,298	11,706,962	

(1億原子系)

(1,000万原子系)

細胞内環境(マイコプラズマ)における 生体分子の構造安定性の変化

★ 生体分子のMD初期構造からの平均自乗距離(上)と慣性半径(下)



赤: 細胞質環境のシミュレーション
 青: 希薄溶液環境のシミュレーション
 緑: KCl環境のシミュレーション

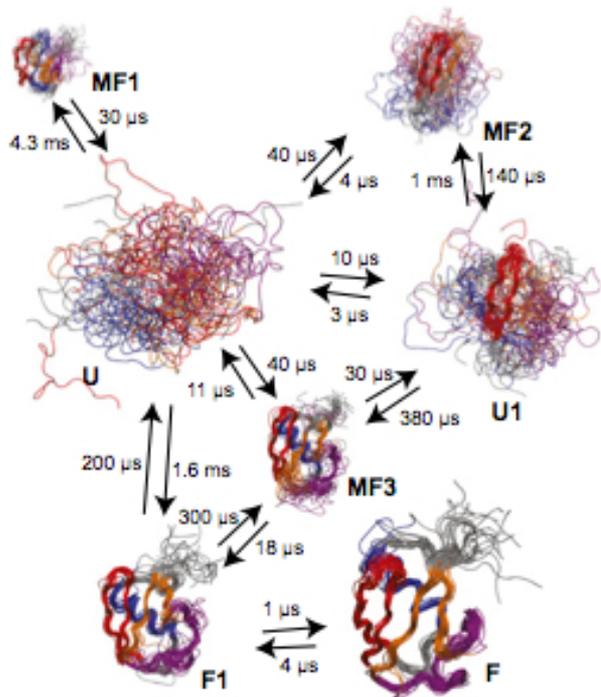
希薄溶液環境と比較して、排除体積効果によって天然状態が安定化されるとは必ずしも言い切れない。(エントロピーとエンタルピーのバランスが重要)

(B) 生体機能に重要なタンパク質の 構造変化予測

レアイベントを再現・予測するシミュレーション手法の開発

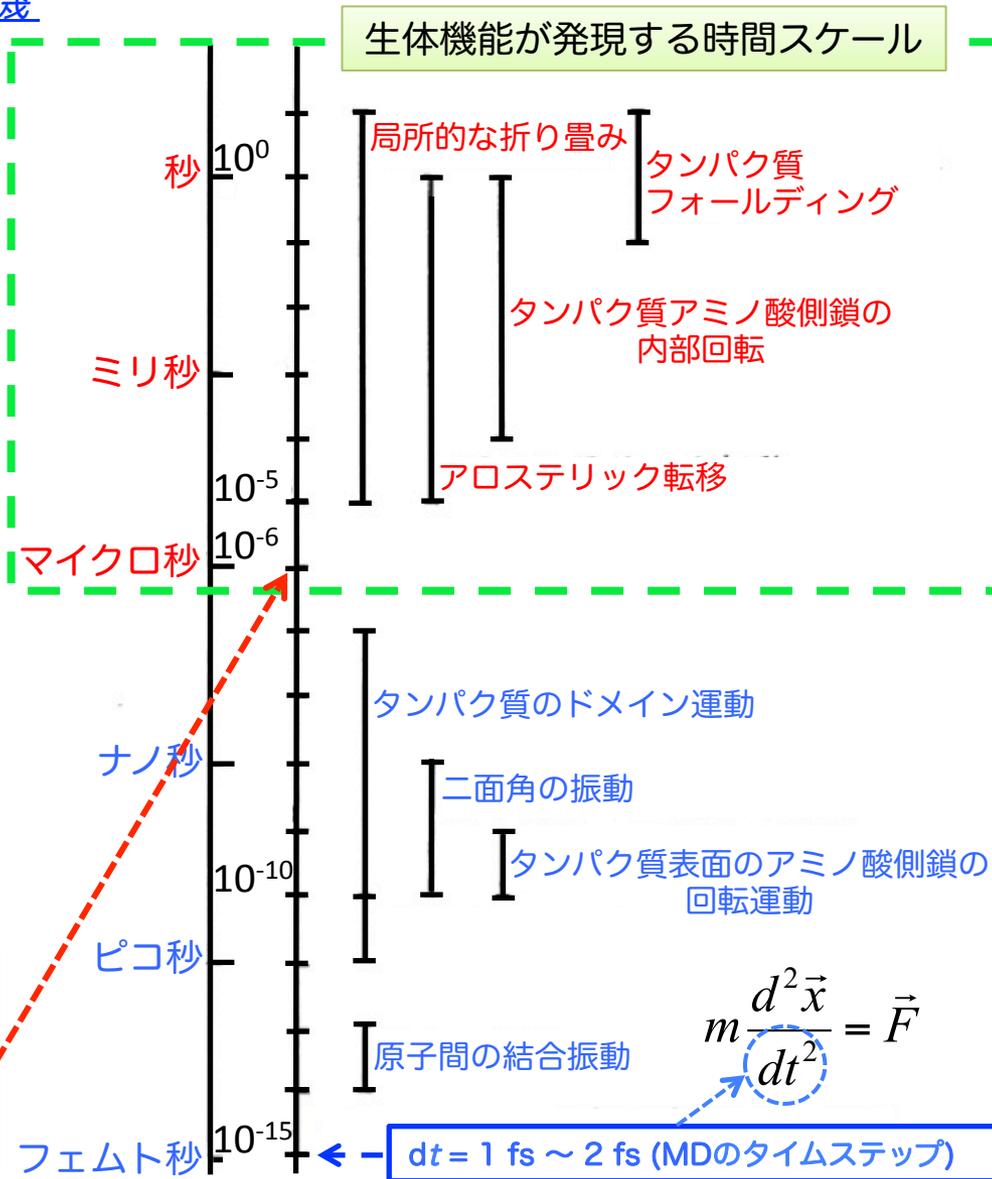
生体機能に重要な「レアイベント」

・ 米国 D. E. Shaw リサーチ開発の汎用計算機
ANTONを用いた超長時間MD



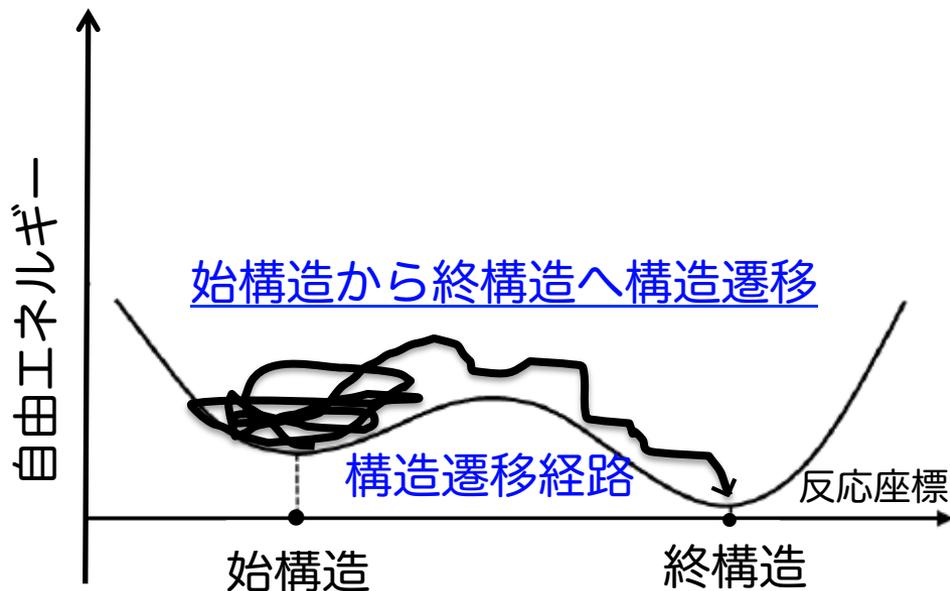
全原子モデルに基づくタンパク質(コビキチン)の
フォールディングシミュレーション
(PNAS, 110, 5915, (2013). Fig. 1)

通常のMDシミュレーションでは
生体機能が発現する
長時間領域まで到達することは
現状において困難

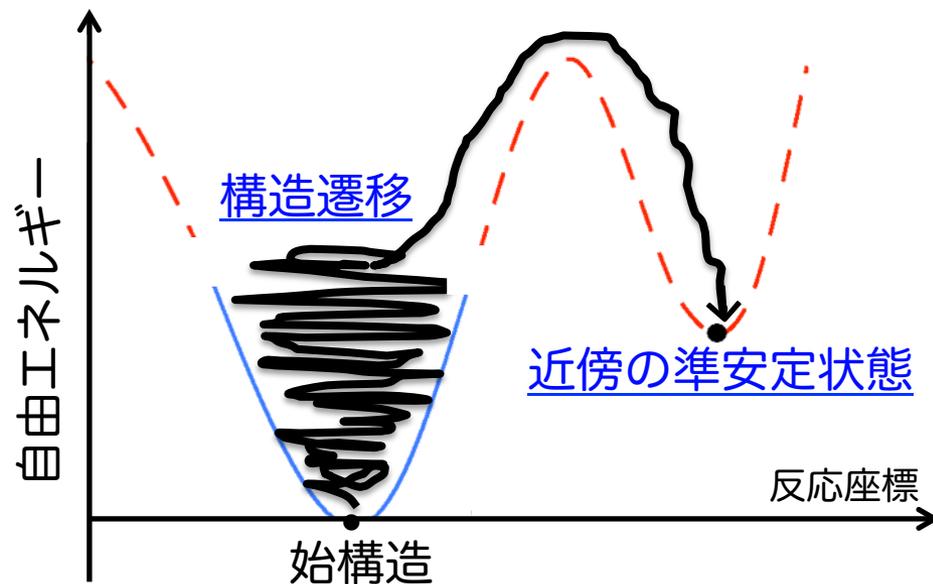


生体機能に重要な「レアイベント」を再現・予測するシミュレーション手法の開発

1. Parallel Cascade Selection MD
(PaCS-MD)
(*J.Chem.Phys.* 139, 035103 (2013))

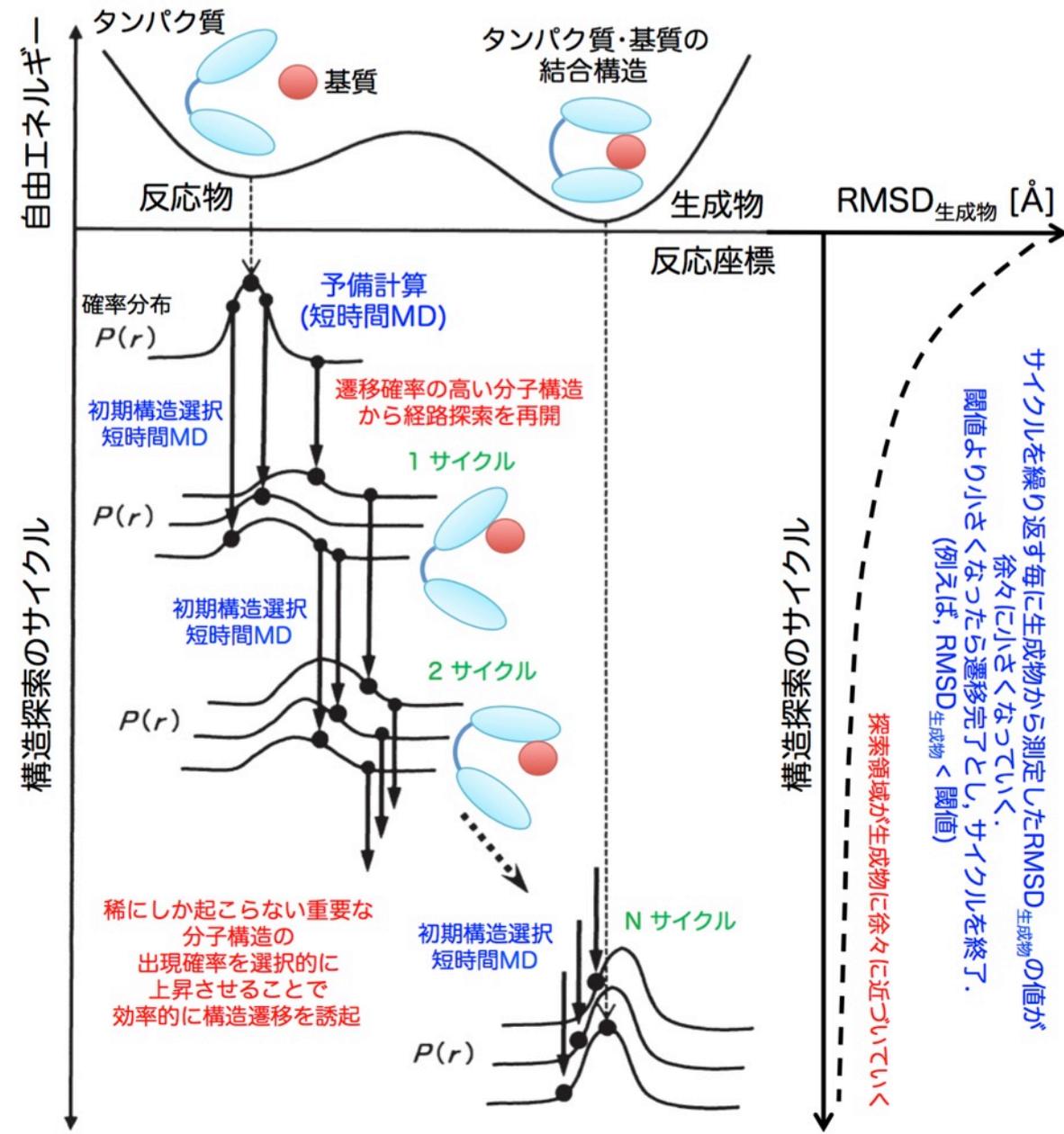


2. Outlier FLOODing
(OFLOOD) Method
(*J. Comput. Chem.* 36 97 (2015))

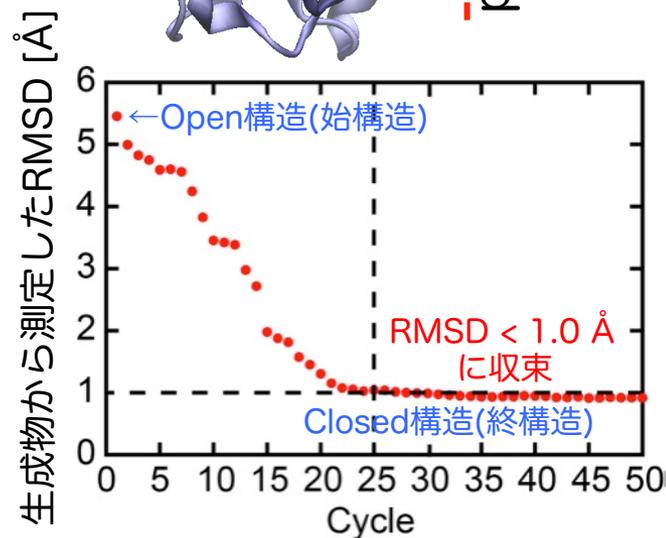
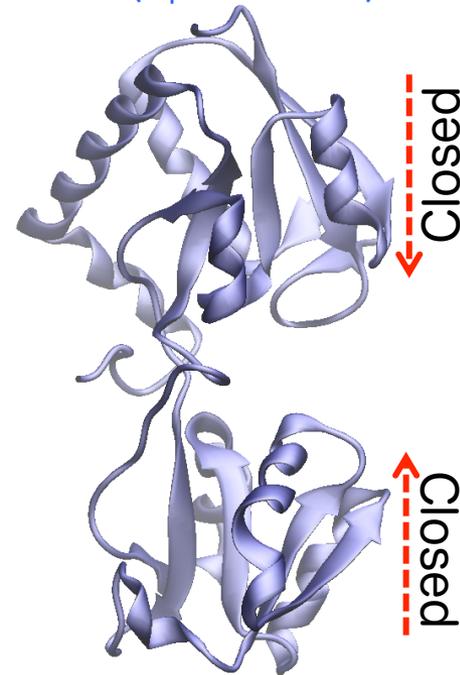


長時間MDシミュレーションに代えて、複数・短時間MDシミュレーションを
超並列的に実行することで、効率的に「レアイベント」を再現・予測！

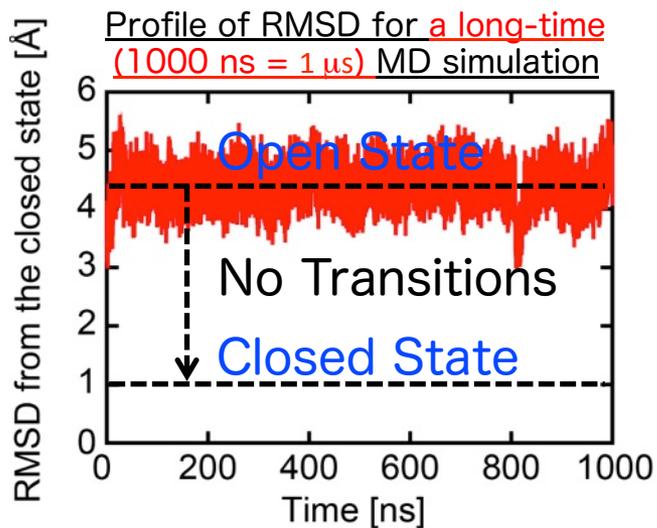
1. Parallel Cascade Selection MD (PaCS-MD)



LAO結合タンパク質のドメイン運動 (Open→Closed)

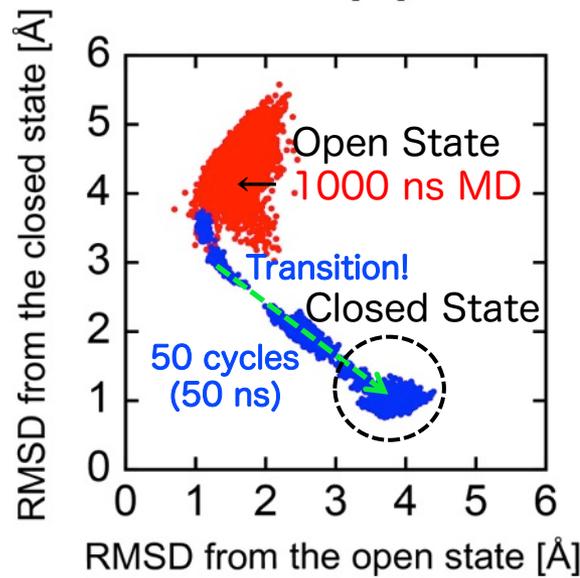
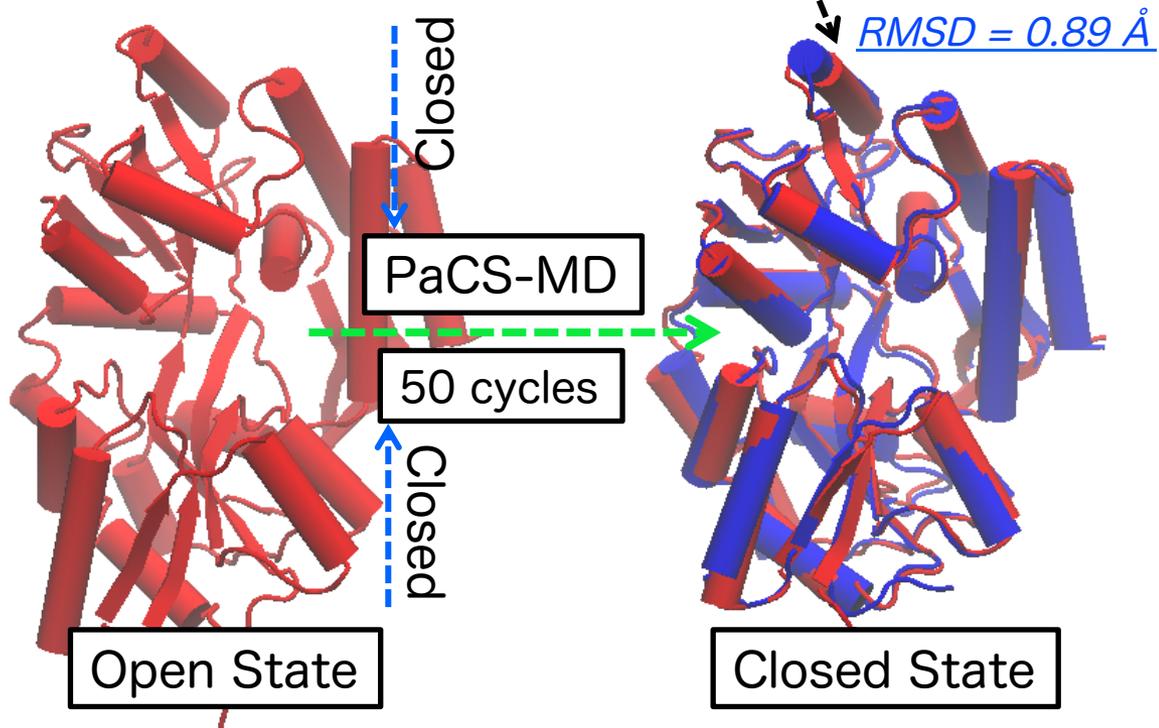


PaCS-MDと従来法(MD)の計算効率の比較



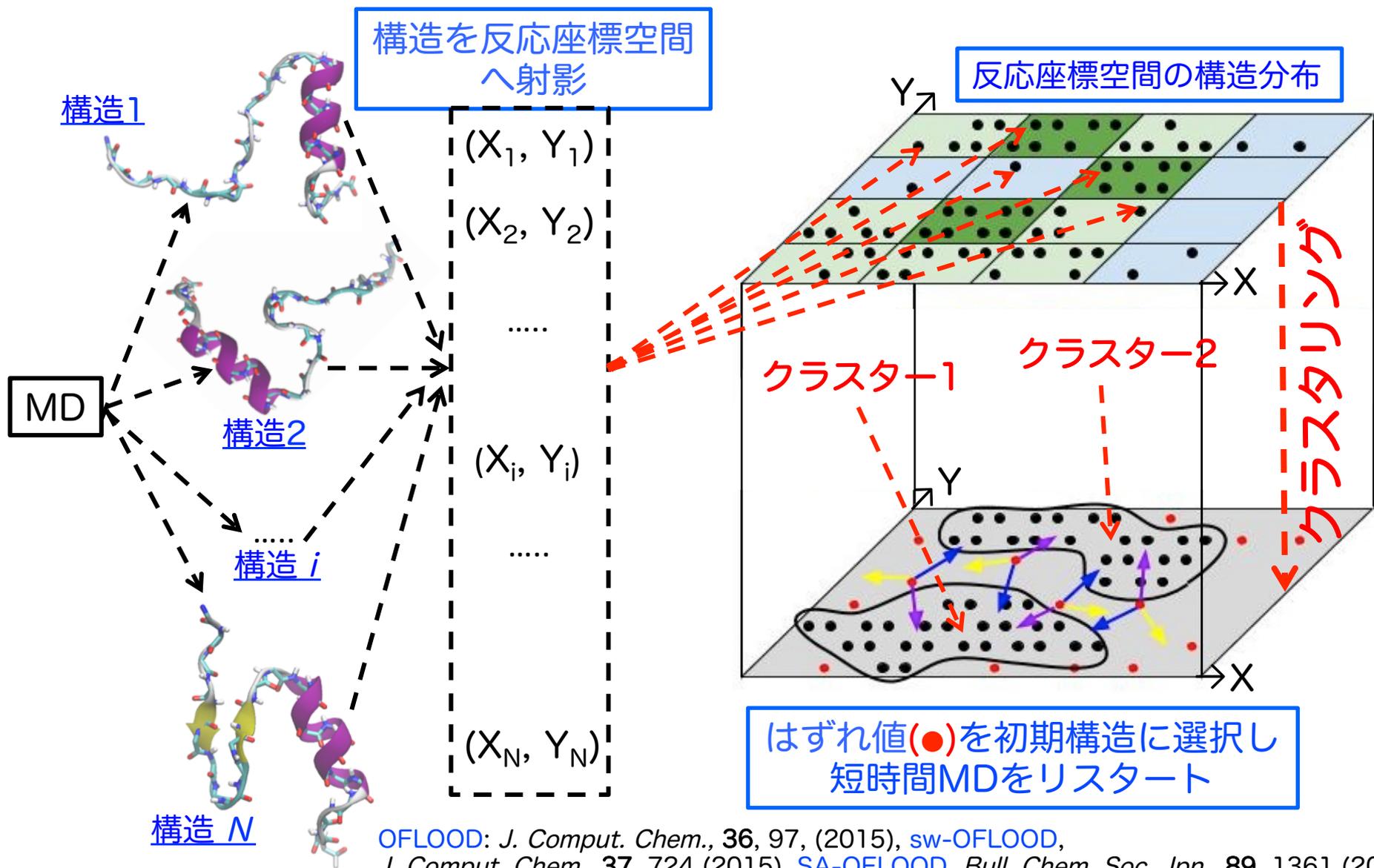
マルトース結合タンパク質
(370 残基)
全原子モデル

青: X-線結晶構造 (Closed)
赤: PaCS-MDの探索構造 (Closed)



PaCS-MD vs. MD : 50 cycles (50 ns) \ll 1000 ns
nsec(10^{-9} s) (PaCS-MD) vs. μ sec(10^{-6} s) (従来法: MD)
1/1000以上の計算コスト削減に成功

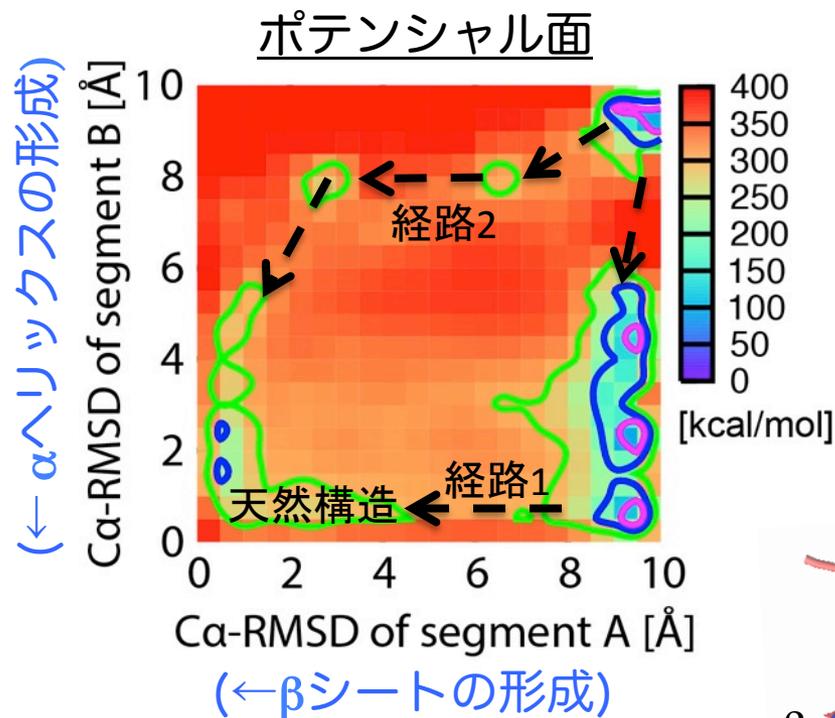
Outlier FLOODding (OFLOOD)



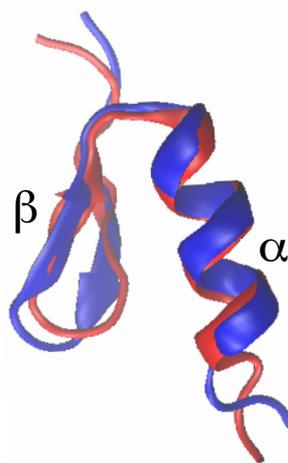
OFLOOD: *J. Comput. Chem.*, **36**, 97, (2015), [sw-OFLOOD](#),

J. Comput. Chem., **37**, 724 (2015), [SA-OFLOOD](#), *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **89**, 1361 (2016)

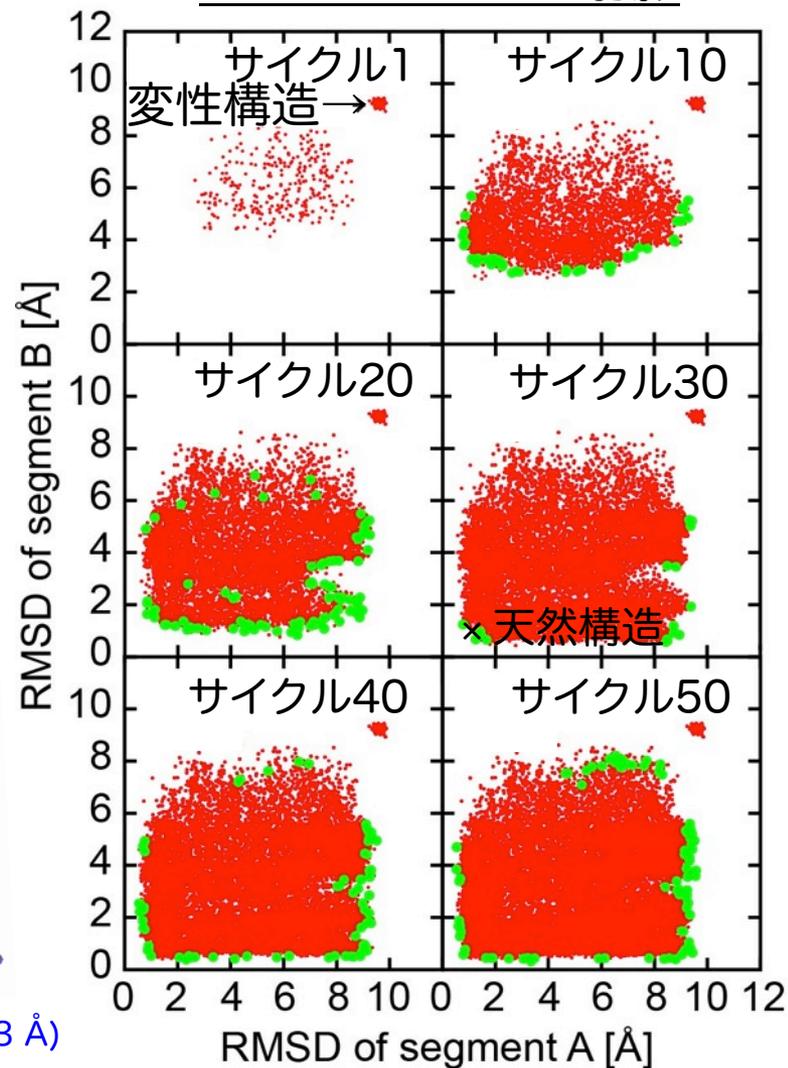
OFLOOD法の小タンパク質(PDBid: 1FME)のフォールディング経路への適用



経路1: β シート \rightarrow α ヘリックス
経路2: α ヘリックス \rightarrow β シート



トラジェクトリの射影



Red: PDB structure (1FME)

Blue: OFLOODによりサンプルした天然構造の近傍構造 (C_{α} RMSD = 1.3 Å)

OFLOOD法により抽出した 2次構造形成に伴う特徴的なフォールディング経路

βシートの形成完了

αヘリックスの形成完了

経路1

βシートの
形成開始

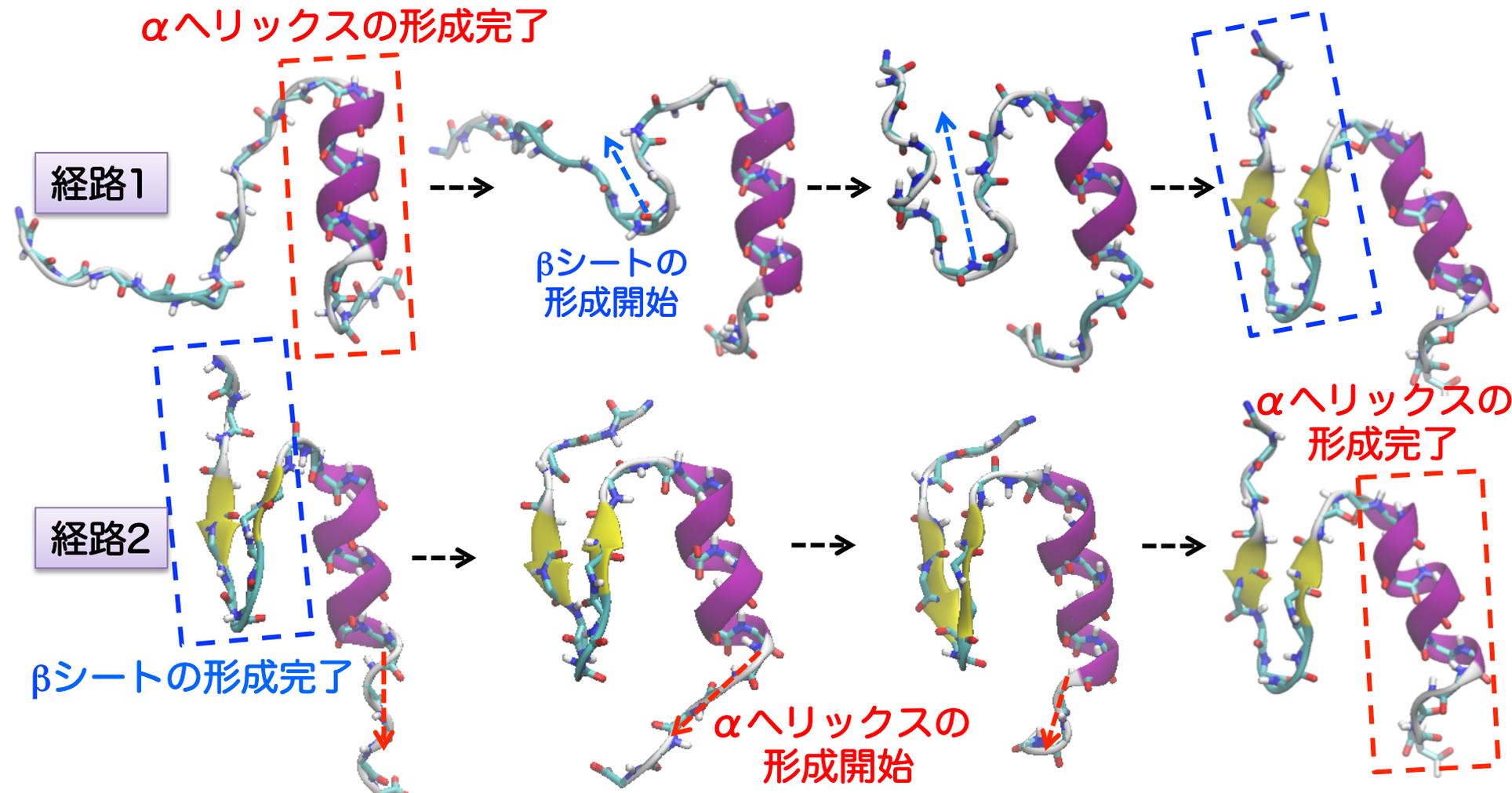
経路2

βシートの形成完了

αヘリックスの
形成開始

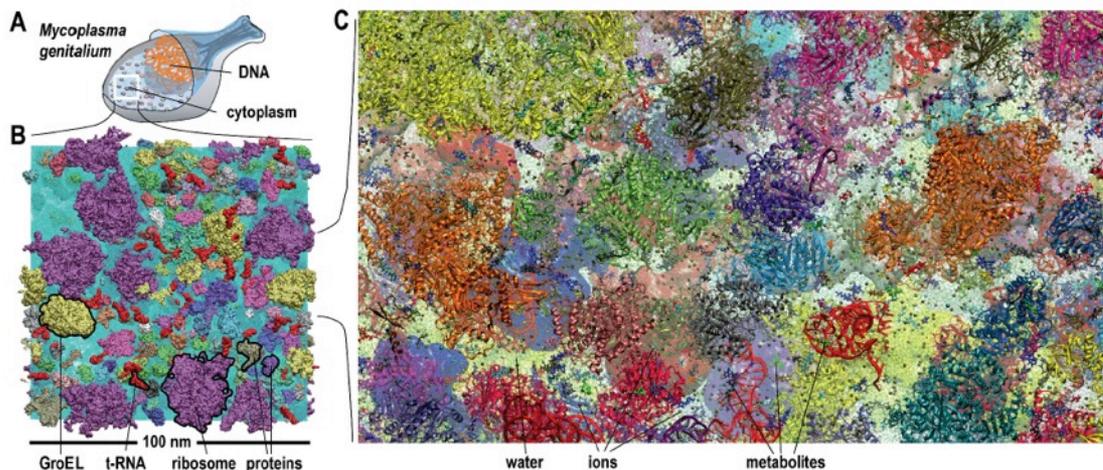
αヘリックスの
形成完了

2次構造の形成がタンパク質フォールディング開始の "Trigger" となることを提案



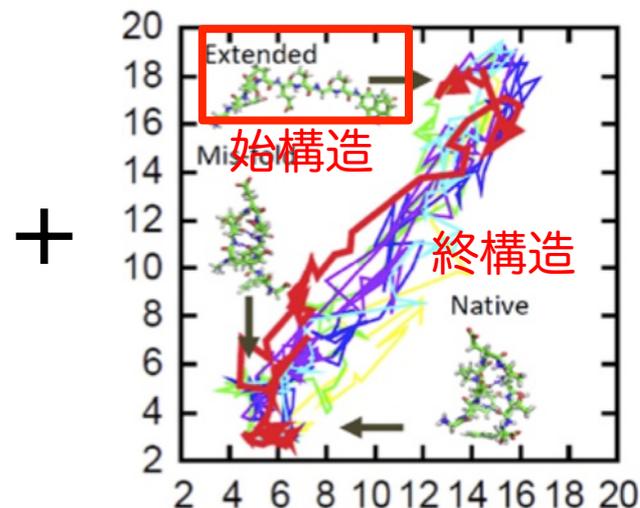
最後に (今後の研究展望)

(A) 分子混雑シミュレーションの実現

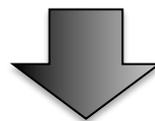


細胞内環境において生体分子は、希薄溶液中と全く異なる物理化学的振る舞いを示す。
例: 生体分子の構造安定性, ダイナミクス等

(B) シミュレーション手法の開発



レアイベントを再現/予測する
シミュレーション手法を
開発・適用することで、機能解析



現実環境に近い細胞環境内(分子混雑環境)で
シミュレーション手法を開発・適用することで、疾病メカニズム解明や創薬設計に貢献