

MSES 法によるタンパク質相互作用形成シミュレーション
Multiscale enhanced sampling simulation of protein interaction

森次 圭
Kei Moritsugu

次世代計算科学研究開発プログラム
RPCS, RIKEN
moritsuguk@riken.jp

次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムの分子スケール研究の一環として、全原子モデルと粗視化モデルを連成した新規アルゴリズムである MSES 法を開発した。本利用課題ではその開発研究として、天然変性タンパク質である sortase の order-disorder 転移と barnase-barster 複合体に適用した。sortase では、変性ループがフリーの状態では定義とおり柔軟であること、また、カルシウムイオン結合状態では変性ループが固定され、ペプチドとの結合が(エントロピー的に)より有利になることを明らかにした。また、barnase-barster 複合体近傍の構造空間サンプリングにより、barnase と barster の距離が近づくにつれ両者の構造が induced fit して構造揺らぎが小さくなることを確認した。

A multiscale simulation method, “multiscale essential sampling (MSES)”, was applied to an intrinsically disordered protein, sortase, and a protein complex of barnase and barster. Comprehensive conformational samplings of the disordered loop of sortase under physiological condition including explicit solvent were performed, indicating the actual flexibility of the disordered loop in the free state and the function of the bound calcium ion which enhances enzyme activity for the bound signal peptide. The conformations of the barnase-barster complex calculated clarified an “induced-fit-like” formation of the protein interaction.

Keywords: MSES simulation, conformational sampling, intrinsically disordered protein, protein interaction

背景と目的

本研究チームでは、次世代生命体統合シミュレーション研究開発プログラムの分子スケール研究の一環として、生体分子（タンパク質等）のシミュレーション法とそのソフトウェアの開発研究、特に、全原子シミュレーション法と疎視化モデルとの新規の連成の方法論の開発を行っている。この研究の目的は以下の 2 点である：

- 1) 次世代スーパーコンピュータの全計算機資源を用いて高効率で計算することができる
- 2) それによってこれまでの分子シミュレーションの方法ではできなかったレベルの計算をすることができる

生命活動をタンパク質や核酸などの生体分子のレベルからシミュレーションによって解こうという分野における問題は、その巨大な系の大きさと生命現

象の時間スケールの大きさである。その大きさのために、全原子シミュレーション法には巨大な計算機資源を用いても多くの場合、生命現象の解明が可能な系の大きさと計算時間の長さを実現するシミュレーションは不可能である。そこで不可避免的に疎視化モデルの利用が求められるが、そこには精度の制約が生まれる。従って、その両者の利点を併せ持つ連成計算（全原子シミュレーション法の精度と疎視化モデルの効率）が必要となる。また、数十万コアという並列計算を実現するためには、不可避免的に弱連成のアルゴリズムであることが要請される。これらを可能とする新規アルゴリズムとして、MultiScale Enhanced Sampling (MSES 法)の研究開発を行った。MSES 法では、全原子モデルの運動空間を連成した粗視化モデルでドライブすることにより全原子モデル巨大系の高速なサンプリングを実現する。

(様式第 20) 成果報告書

この方法は、系が巨大タンパク質系であればそれだけで多くのコアによる計算を必要とし、さらにマルチコピーを必要とするところから、それらの掛け算の巨大な計算機資源を用いる必要がある。また、コピー間は弱連成であるところから次世代スーパーコンピュータの全計算機資源を用いて高効率で計算し得る可能性を持つ。これらの方法によってこれまでに全原子モデルシミュレーションでは不可能であった、長時間現象を再現することが可能となった。また、疎視化モデルでは不可能であった、全原子モデルの精度を与えることができる。

方法

マルチコピーシミュレーションでは、異なるパラメータを与えた数十の系のコピー（レプリカ）を発生させ、それらの間の相互作用を考慮しながら並行してシミュレーションを行う（図 1）。今年度の研究では、MSES 法を天然変性タンパク質である sortase と barnase-barster 複合体に適用した。

MSES 法

$$V_{\text{MSES}} = V_{\text{MM}}(r_{\text{MM}}) + V_{\text{CG}}(r_{\text{CG}}) + V_{\text{MMCG}}(r_{\text{MM}}, r_{\text{CG}})$$

fmm の高速なサンプリング
: r_{CG} が高速で運動
: fmm を r_{CG} に拘束

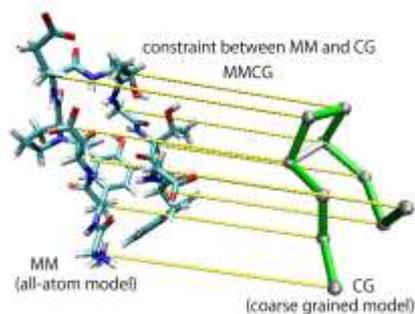


図 1: MSES 法

sortase については、初期構造モデルとしてシグナルペプチドとカルシウムイオンが結合した結合状態と非結合状態の 2 つの NMR 構造を用いた。ペプチドあるなし、カルシウムイオンあるなしの計 4 状態について構造サンプリングを MSES 法により行った。計算には、全原子モデルと残基レベル粗視化モデル間の結合定数の異なる 12 個のレプリカを用いた。各 50 ns のシミュレーションにより十分に構造サンプリングが実現されることを確認した。得られた構造アンサンブルを用いて、sortase の変性ループからシ

グナルペプチドとカルシウムイオン結合領域との 2 つの距離の関数として自由エネルギー地形を計算し、4 状態での変性ループ構造空間の比較を行った。

barnase-barster 複合体については、初期構造モデルとして天然状態と相互作用面にある 2 残基を置換した変性状態の結晶構造を用いた。全原子モデルと残基レベル粗視化モデル間のカップリングとしては、相互作用面にある 2 タンパク質の残基ペアを用いた。10 個のレプリカを用いて各 50 ns のシミュレーションを実行した。主成分解析により得られた構造を分類し、主成分モードに対して自由エネルギー面を計算した。

結果および考察

・天然変性タンパク質の order-disorder 転移過程

天然変性タンパク質は本質的に構造が決まっていない柔軟に動きうる部分（変性領域）を持っており、その柔軟さがターゲットの認識や結合といった分子機能に関わると考えられている。本研究では、生理学的環境下における sortase の変性ループ構造アンサンブルを原子レベルの解像度で計算した。シグナルペプチドあるなし、カルシウムイオンあるなしの 4 つの状態での構造アンサンブルをシミュレーションにより求め、4 状態について自由エネルギー地形を計算した。その結果、変性ループがフリーの状態ではきわめて柔軟に動きうること、また、カルシウムイオンの結合状態では変性ループの柔軟性が失われることにより、ペプチドとの結合が（エントロピー的に）より有利になることを明らかにした（図 2）。

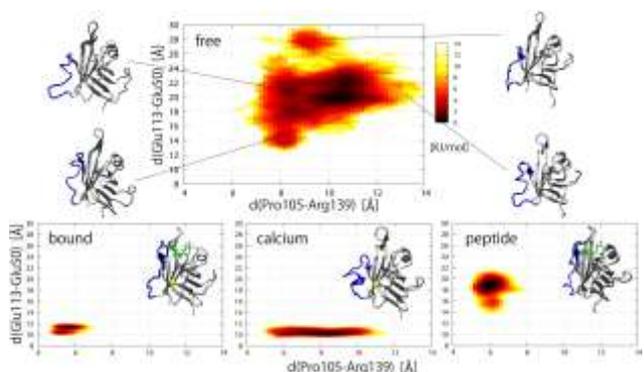


図 2: 天然変性タンパク質 sortase の disorder ループ自由エネルギー地形。

(様式第 20) 成果報告書

・barnase-barster 複合体形成シミュレーション

barnase-barster 複合体はタンパク質複合体のモデルケースとして数多くの実験・計算が行われている。複合体形成過程としては、遠くに離れた状態から静電相互作用により複合体構造近傍の中間状態を形成する過程と、側鎖原子のパッキングや相互作用面に結合した水の脱水和を経て中間状態から複合体構造を形成する過程に分けられる。本研究では後者に注目し、複合体構造近傍において構造サンプリングを計算した。

MSES 法により、複合体構造近傍において十分な構造サンプリングが実現された(図 3)。barnase と barster の距離が近づくと両者の構造揺らぎが小さくなる、つまり、複合体構造に induce されることを確認した。しかしながら、側鎖のパッキングがなかなか再形成されないため、サンプリングが複合体構造に到達する頻度が過小評価されていた。その問題を解決するため、サンプリング法を工夫する必要がある。

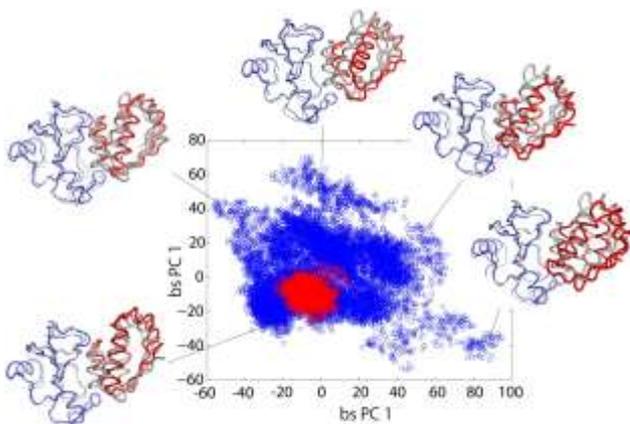


図 3: barnase-barster 複合体の自由エネルギー地形。赤色が複合体構造。

今後の課題

MSES 法による barnase-barster 複合体への適用について、側鎖のパッキングをシミュレートするため、粗視化モデルの運動を遅くする、タンパク質の側鎖構造を固定する、といった改良を行う。また、巨大複合体への適用として、脂肪酸ベータ酸化マルチエンザイム複合体の構造変化パス周辺の構造アンサンブル計算に MSES 法を試みる。