

立教大学学術推進特別重点資金 (立教 S F R)
 プロジェクト研究 (共同プロジェクト研究)
 2019年度研究【経過・成果】報告書

研究代表者	所属部局・職		氏名			
	理学部・教授		望月 祐志 印			
研究課題	脂質およびタンパク質に関するマルチスケールシミュレーション手法の開発整備と応用展開					
研究組織 (研究代表者・研究分担者) 2020年3月現在	所属研究機関・部局・職		氏名			
	(研究代表者) 立教大学・理学部・教授		望月 祐志			
		(研究分担者) 星薬科大学・薬学部・准教授		福澤 薫		
研究期間	2019年度 ~ 2020年度					
研究経費※ (上段: 支出金額)	2019年度		2020年度		年度	総計
	3,750,000	円	0,000,000	円	0,000,000	3,750,000
(下段: 採択金額)	3,750,000		2,250,000		0,000,000	6,000,000

※1円単位で記入

研究の概要 (200~300字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

ナノスケールのフラグメント分子軌道(FMO)計算に基づき、メゾスケールの計算手法である散逸粒子動力学(DPD)に必要な有効相互作用(γ)パラメータを算定するシミュレーション手法である FMO-DPD は代表者の研究室で創案されました。この FMO-DPD 法は電解質膜や単一脂質膜に対して成功裏に適用されましたが、複数成分の脂質から成るベシクルや膜、タンパク質、さらに脂質膜とタンパク質の共存系への応用は未だ始まったばかりです。本課題では、こうした未開拓領域に対して手法の整備・改良と共に実証的な応用計算を行うことを意図しています。2019年度は、140残基のタンパク質の畳み込み成功、複合脂質ベシクルの計算結果と実験との符合、膜貫通タンパク質の協同効果の確認などの成果をあげることが出来ました。

キーワード (研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

[フラグメント分子軌道法] [散逸粒子動力学] [生体分子]

研究【経過・成果】の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

本課題の提案書では2019年度の計画として下記の項目を挙げていました。

(I) FMO-DPD 法の改良

- ・ 機械学習を援用する FMO 計算前の配座スクリーニング、相互作用エネルギー予測の仮実装
- ・ DPD プログラム CAMUS の空間分割並列化(OpenMP/MPI 混成条件)の改良
- ・ メゾ→ナノのリバースマッププロトコルの脂質、タンパク質系での確立/仮実装

(II) 脂質/タンパク質の複合系への応用

- ・ 数十残基の小型タンパク質の畳み込みの DPD シミュレーション
- ・ 混合脂質ベシクルの DPD シミュレーション、SAXS 実験データとの比較
- ・ 荷電性の小型タンパク質の脂質膜の貫入/貫通シミュレーション

(III) 有効パラメータの整備とデータの公開

- ・ タンパク質向け FMO ベースの χ パラメータセットの調製のパート 1(標準 pH 条件下)
- ・ 査読付き論文 3 報、関連パラメータセットの開示

以下、これらに準じて記載していきます。

(I) FMO-DPD 法の改良

FMO-DPD 法において χ パラメータを求めるためには、2 成分系 (1,2 とする) の場合でも "1-1"、"2-2"、"2-1" の 3 つの組み合わせで、各々 2000 個程度の配座に対して FMO 計算を行う必要があります。得られたエネルギーをモンテカルロ法によって統計平均します (Okuwaki et al., J. Phys. Chem. B, 122 (2018) 338 & 奥脇ら, J. Comp. Chem. Jpn., 12 (2018) 102)。脂質の混合系やタンパク質の場合、成分が多くなるため FMO 計算の数が膨大になります。そのため、配座構造から FMO エネルギーを精度よく見積もることが出来れば、統計平均に寄与しない計算をスキップ可能です。そこで、構造情報などをベースとして記述子群を求め、ニューラルネットワーク回帰によってエネルギーを予測する試みを行ってきましたが、十分な信頼性が得られていませんでした。そこで 2019 年度は、記述子群の非線形化を図ると共に、サポートベクトル回帰やランダムフォレスト回帰を導入し、タンパク質のアミノ酸残基間の FMO 相互作用エネルギー (IFIE) の予測を行ってみました。タンパク質としたのは、アミノ酸残基が様々な側鎖を持ち、荷電状態も含めて多様な相互作用パターンを持ち、テストに好適と考えたため、Chignolin (10 残基)、Trp-Cage (20 残基)、Ubiquitin (76 残基) で各々分子動力学 (MD) シミュレーションで生成された 100 個の構造の IFIE のセットを学習・予測の対象としました。結果として、ランダムフォレストが最も性能がよく、数 kcal/mol 以下の精度で構造だけから IFIE を予測することが可能となりました。当該内容を応用物理学会 2020 春期学術講演会の口頭発表として申し込んだところ、学会から高い評価を受けて "注目講演" に選定されました。現在、ランダムフォレストによる事前処理を χ パラメータ算定のワークフローシステム (FCEWS: Fragment molecular orbital based Chi-parameter Evaluation Workflow System) に組み込む作業を行っているところです。

DPD プログラム CAMUS (Doi et al., ChemBio-Inform. J, 18 (2018) 70) の OpenMP/MPI による混成並列化について小改良を行い、併せてベンチマークテストを実施しました。水粒子の複合系を対象に、OpenMP を 4 スレッドで並列化し、MPI プロセス数を増加させた場合、10 万粒子ではプロセス数の増加で加速効率が劣化しますが、100 万、さらに 1000 万では 8 プロセスでも 80% 超の効率が確保されました。空間スケールで考えると、1 辺 50nm のセルのルーチン的な DPD シミュレーションの見通しがついたと考えています。

リバースマップは、DPD で得られたメゾスケール構造をアフィン変換によってナノスケールに戻し、MD 計算を援用して FMO 計算による相互作用エネルギー解析に供するものです。2019 年度基本的なワークフローをシステム (DSRMS: DPD based Structure Reverse Map System) としてまとめました。実際に、DSRMS を使ってリーズナブルな構造を得るには、DPD 段階で幾つかの追加設定 (構造の拘束条件の印加など) が

研究【経過】成果】の概要 つづき

必要であることも（後述する）混合脂質などでの試行から分かってきました。DSRMS の第一弾のリリースに向けて、例題やマニュアルの整備を現在進めているところです。

(II) 脂質/タンパク質の複合系への応用

10 残基の Chignolin と Superchignolin の FMO-DPD による畳み込みは 2018 年度 (SFR 採択前) に成功しており、これを数十残基の系に拡張することを目標としていましたが、論文投稿 (オープンアクセスで Appl. Phys. Express に出版済み) の際のレビューとのやり取りから、140 残基の α -synuclein の畳み込みに挑戦することになりました。残基数の多さだけでなく、種類も激増したために χ パラメータの算出にも時間を要し、さらに間接相互作用の設定にも試行錯誤が要りましたが成功しました。結果的には FMO-DPD の汎用性の高さを確認すると共に、潜在能力を示す良いデモンストレーションとなりました。論文への注目度は高いようで、2 ヶ月半で 500 超のダウンロードがありました。2020 年度は、46 残基の Crambin を扱う予定で、リバースマップによる FMO 相互作用解析も試みます

混合脂質では、DOPC ((R)-2,3-Bis(oleoyloxy)propyl [2-(Trimethylammonio)ethyl] Phosphate) と Cholesterol の膜とベシクルの系を扱いました。直感的には両者は均質に交じるように思われますが、実際に FMO-DPD シミュレーションを行ってみると、Cholesterol が DOPC 分子群の中で集団を形成することが分かりました (つまり均質化しない)。星薬科大での X 線小角散乱 (SAXS) の実験で Cholesterol の増加によるベシクルの形状変化を測定したところ、Cholesterol 量の増加に伴って脂質の頭部間距離が広がることによる変形が視られ、DPD の結果とよい一致を示しました。また DPD シミュレーションから、Cholesterol 二重膜の形成が予測され、SAXS で観測された新規ピークと対応することが分かりました。さらに、膜形状に対してリバースマップ経由の FMO 相互作用解析を行い、均質に混じらない原因を原子レベルで解明することも出来ました。現在、これらの成果の論文化を進めています。

脂質膜と膜貫通性の荷電ペプチドのシミュレーションも行いました。荷電性ペプチドは Arginine の 8 量体 (R8) とし、脂質は POPC (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) としました。POPC 膜に対して 1 個の R8 を置く系では初期配置を様々試み、膜貫通性の DPD 軌跡を得ることが出来ました。次に、複数の R8 を置いて計算してみたところ、協同効果によって貫通するだけでなく、膜に孔が生じることが確認されました。詳細な理解のためには、リバースマップによる FMO 相互作用解析は必要ですが、R8 が複数となることで POPC 膜内の荷電バランスが壊れて孔形成に至るものと考えています。

(III) 有効パラメータの整備とデータの公開

上出の Appl. Phys. Express のオープンアクセス論文には、 χ パラメータを全て掲載しています。今後は、DOPC/Cholesterol の系、POPC/R8 の系の論文化を進めて同様の公開を行う予定です。また、2019 年度に精度向上と効率化 (ランダムフォレストは未だ非導入) を図った FCEWS は 2020 年 3 月にリリースとなります。

論文化は Appl. Phys. Express が既述のように出版済みです。その他、千葉大と星薬科大とのコラボレーションで、分子内に S-S 結合を有する含硫黄系脂質の実験を FMO-DPD 計算によってサポートした共著論文が投稿中となっています。もう 1 報投稿中のものがあり、コロナウィルスの Protease と阻害剤の複合構造 (PDB-id: 6LU7) の FMO 計算による系統的解析の共同研究をまとめたもので、「感染の世界的な急速な広がり」という緊急性から、プレプリントサーバーの ChemRxiv に先ずアップロードして公開し、その後で査読付き雑誌に正式投稿しました。コロナウィルスは脂質膜に覆われており、石鹸洗浄によって不活性化されるとされます。本課題の流れから、今後、こうした洗浄による膜破壊の分子論的な理解に向けた理論的な検討もあり得ます。

※ この (様式 2) に記入の【経過・成果】の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書 (A 4 縦型横書き 1 枚・自由様式) を添付すること。

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

① 出版済み 1, 投稿中 2

- (1) K. Okuwaki, H. Doi, K. Fukuzawa, and Y. Mochizuki*, "Folding simulation of small proteins by dissipative particle dynamics (DPD) with non-empirical interaction parameters based on fragment molecular orbital calculations", Appl. Phys. Express, 13 (2020) 017002-1-4 (open access).

② なし

③ なし

④ 発表総数 10 (#付きは新型コロナウイルスの影響で学会開催中止、要旨配布にて成立)

- (1) "FMO-DPD の連携による脂質二重膜とコレステロール、ペプチドモデルのシミュレーション" (口頭発表) 奥脇弘次, 新庄永治, 西田瑠花, 土屋祐太郎, 土居英男, 望月祐志, 福澤薫, 米持悦生, 応用物理学会秋期年会 2019, 札幌, 2019/9/18.
- (2) "固体とタンパクの出会いを計算する" (招待講演) 加藤幸一郎, 畑田峻, 奥脇弘次, 福澤薫, 望月祐志, 応用物理学会秋期年会 2019, 札幌, 2019/9/20.
- (3) "FMO と DPD の連携によるマルチスケールシミュレーション(FMO-DPD)法の開発と応用" (依頼講演) 望月祐志*, 奥脇弘次, 土居英男, 伊藤雅仁, 小沢拓, 福澤薫, 第 68 回高分子討論会, 福井, 2019/9/25.
- (4) "レスベラトロールと受容体の FMO 相互作用解析-その 1" (ポスター) 秋澤和輝, 阿部鷹也, 奥脇弘次, 福澤薫, 望月祐志, 日本コンピュータ化学会 2019 年秋季年会, 広島, 2019/10/25.
- (5) "FMO-DPD 法による脂質二重膜形成におけるコレステロールの影響の検討" (ポスター: 投票により最優秀ポスターに選定), 西田瑠花, 奥脇弘次, 新庄永治, 望月祐志, 古石誉之, 福澤薫, 米持悦生. J-OCTA ユーザー会議, 東京, 2019/11/6.
- (6) "構造揺らぎを考慮したリガンド-タンパク質の FMO 相互作用解析" (ポスター) 藤田駿明, 畑田峻, 奥脇弘次, 福澤薫, 望月祐志, 田中成典, 古明地勇人, 第 47 回構造活性相関シンポジウム, 熊本, 2019/12/12.
- (7) "タイヤゴム素材に関する計算化学的研究の事例紹介#2" (口頭発表) 阿部鷹也, 奥脇弘次, 土居英男, 望月祐志, 福澤薫, 佐藤弘一, 高分子基礎物性研究会・高分子計算機科学研究会・高分子ナノテクノロジー研究会, 東京, 2019/12/19.
- (8) # "タンパク質のアミノ酸残基間の相互作用エネルギーに関する機械学習" (口頭発表: 注目講演に選定) 畑田峻, 八幡研一郎, 奥脇弘次, 田中成典, 古明地勇人, 福澤薫, 望月祐志, 応用物理学会 2020 春期学術講演会, 東京, 2020/3/12.
- (9) # "FMO-DPD の連携による脂質二重膜、タンパク質の構造解析システムの整備と応用" (口頭発表) 奥脇弘次, 新庄永治, 西田瑠花, 土屋祐太郎, 土居英男, 望月祐志, 福澤薫, 米持悦生, 応用物理学会 2020 春期学術講演会, 東京, 2020/3/12.
- (10) # "小角 X 線散乱と分子シミュレーションを融合した DOPC/Cholesterol 二重膜の物性解析" (口頭発表) 新庄永治, 西田瑠花, 奥脇弘次, 望月祐志, 古石誉之, 福澤薫, 米持悦生, 日本薬学会, 京都, 2020/3/23.