

Title	水素結合の方向性を厳密に取り扱った高信頼度な蛋白質分子力場の開発
Sub Title	Development of force field considering hydrogen-bond directionality
Author	笠口, 友隆(Oroguchi, Tomotaka)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	蛋白質-水分子間相互作用は、蛋白質構造の自由エネルギー地形を決定づける重要因子であるため、その正しい取り扱いは分子動力学(MD)シミュレーションにおいて必須である。しかしながら、現在の分子力場では蛋白質-水分子間相互作用を正しく取り扱えておらず、蛋白質構造の自由エネルギー地形に関する実験データをMDが再現することは未だ困難である。したがって、蛋白質-水分子間相互作用には最適化が必要であり、その参照データとして実験データから蛋白質構造の自由エネルギー地形を可視化する必要がある。本研究では、情報理論の枠組みを用いて実験データとMDデータを統合することで自由エネルギー地形を可視化する手法を開発した。 The interactions between proteins and water molecules are crucial factors that determine the free energy landscape of protein conformations, making their accurate treatment essential in molecular dynamics simulations. However, current molecular force fields do not correctly treat protein-water interactions, and it remains challenging for MD simulations to reproduce experimental data concerning the free energy landscape of protein conformations. Therefore, optimization of protein-water interactions is necessary, and in order to acquire reference data for the optimization, it is necessary to visualize the free energy landscape from experimental data. In this study, we developed a method to visualize the free energy landscape through integrating experimental and MD data within the framework of information theory. We applied the method to experimental solution X-ray scattering data and demonstrated its capability to visualize the free energy landscape.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2021～2023 課題番号：21K03489 研究分野：生物物理
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_21K03489seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K03489

研究課題名（和文）水素結合の方向性を厳密に取り扱った高信頼度な蛋白質分子力場の開発

研究課題名（英文）Development of force field considering hydrogen-bond directionality

研究代表者

苮口 友隆（Oroguchi, Tomotaka）

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・講師

研究者番号：90589821

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：蛋白質-水分子間相互作用は、蛋白質構造の自由エネルギー地形を決定づける重要因子であるため、その正しい取り扱いは分子動力学(MD)シミュレーションにおいて必須である。しかしながら、現在の分子力場では蛋白質-水分子間相互作用を正しく取り扱えておらず、蛋白質構造の自由エネルギー地形に関する実験データをMDが再現することは未だ困難である。したがって、蛋白質-水分子間相互作用には最適化が必要であり、その参照データとして実験データから蛋白質構造の自由エネルギー地形を可視化する必要がある。本研究では、情報理論の枠組みを用いて実験データとMDデータを統合することで自由エネルギー地形を可視化する手法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来研究においても、蛋白質自由エネルギー地形を可視化するために、実験データとMDデータの統合的解析方法が開発されてきたが、それらは経験的なものであり、数学的根拠があり、かつ真の構造分布を高精度で再現することに成功した手法はERICS法が最初である。近年、疾患に繋がるような細胞内環境の変化や遺伝子変異は、原因蛋白質の自由エネルギー地形を変調していることが報告されるようになってきた。したがって、ERICS法によって、多様な蛋白質の自由エネルギー地形が可視化できるようになれば、蛋白質の機能発揮機構を明らかにする生物物理研究のみならず、疾患の分子機序を調べる医学的研究等にも貢献できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The interactions between proteins and water molecules are crucial factors that determine the free energy landscape of protein conformations, making their accurate treatment essential in molecular dynamics simulations. However, current molecular force fields do not correctly treat protein-water interactions, and it remains challenging for MD simulations to reproduce experimental data concerning the free energy landscape of protein conformations. Therefore, optimization of protein-water interactions is necessary, and in order to acquire reference data for the optimization, it is necessary to visualize the free energy landscape from experimental data. In this study, we developed a method to visualize the free energy landscape through integrating experimental and MD data within the framework of information theory. We applied the method to experimental solution X-ray scattering data and demonstrated its capability to visualize the free energy landscape.

研究分野：生物物理

キーワード：蛋白質構造の自由エネルギー地形 分子動力学シミュレーション 蛋白質-水分子間相互作用 構造アンサンブル最適化法 情報量空間 溶液X線散乱 溶媒和自由エネルギー

1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は、蛋白質の構造物性に重要な水素結合を厳密に取り扱った分子力場を開発することで、蛋白質の分子動力学(MD)シミュレーションにおいては未だ問題がある蛋白質と水分子間の相互作用を正しく取り扱える分子力場を開発することである。蛋白質分子と水分子の間の相互作用は、蛋白質機能にとって重要な構造自由エネルギー地形を決定づける重要因子であるため、その正しい取り扱いには蛋白質の機能物性の研究にとって必須である。このことは同時に、分子力場の検証には自由エネルギー地形に関する実験データを用いる必要があることを示している。

蛋白質分子 - 水分子間相互作用に関する自由エネルギー地形データとして最適なものの一つは、複数の機能単位(ドメイン)から構成される構造を持つマルチドメイン蛋白質が行う動きである。マルチドメイン蛋白質は、ドメイン間が相対的な運動(ドメイン運動)を行っていることが多く、そのような運動は水分子を介したドメイン間相互作用によって制御されるため、蛋白質 - 水分子間相互作用の検証データとして最適である。また、ドメイン運動の自由エネルギー地形に関する実験データは、溶液中における分子の形状情報を与えてくれる X 線溶液散乱(SAXS)によって比較的容易に得られることも有利な点である。しかしながら、SAXSを含む実験データが与える自由エネルギー地形情報は部分的かつ低分解能なものであり、実験データから、分子力場検証用の自由エネルギー地形データを可視化する新たな解析法が必要である。また、蛋白質の機能発揮においても自由エネルギー地形は重要な役割をはたしており、蛋白質構造機能研究という面からにおいても、新たな自由エネルギー地形解析法が必要とされている状況であった。

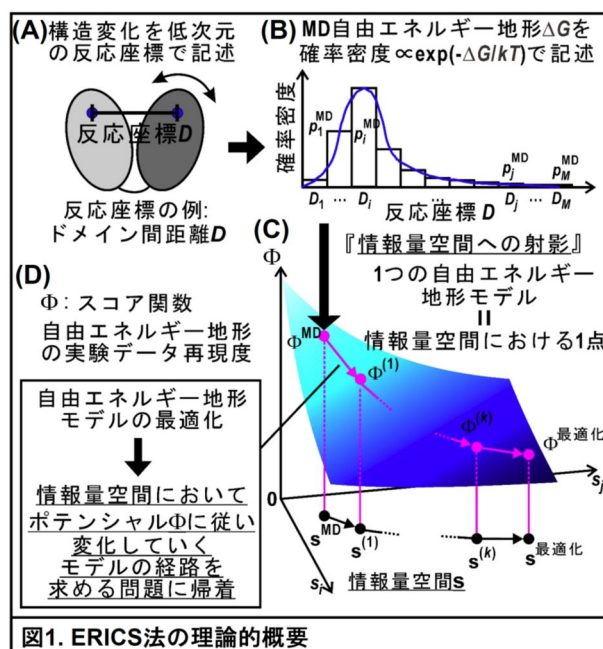
2. 研究の目的

そこで、本研究においては、SAXS に限らない実験データから蛋白質の自由エネルギー地形を可視化する解析法を開発することを最初の目的とした。また、自由エネルギー地形情報が得られたならば、その情報を分子力場の改良に適用するためには、自由エネルギー地形において蛋白質分子 - 水分子間相互作用がどのように寄与しているかを定量的に解析することによって、相互作用パラメータの最適化に用いる目的関数を得ることも必要である。そのために、構造変化に伴う蛋白質分子 - 水分子間相互作用の空間分布を解析する手法の開発も行った。

3. 研究の方法

(1) 実験データから蛋白質構造の自由エネルギー地形を可視化する手法の開発

SAXS や NMR といった実験データが与えてくれる構造情報は、部分的もしくは低解像度のものであり、そこから蛋白質構造の自由エネルギー地形を可視化するためには、原子分解能で蛋白質の動きを追跡できる MD シミュレーションを用いて解析することが有効である。しかしながら、研究背景で述べたように、MD シミュレーションで用いる分子力場には未だ改良の余地があり、MD シミュレーションが自由エネルギー地形に関する実験データを再現することは現状では困難である。そこで、本研究においては、実験データと MD シミュレーションを情報理論の枠組みで統合して解析(図 1)することで、蛋白質構造の自由エネルギー地形(構造アンサンブル)を可視化する手法を開発した。開発した手法は、実際の実験 SAXS データに適用することにより、自由エネルギー地形の可視化における有用性を確認した。



(2) 自由エネルギー地形における蛋白質 - 水分子間相互作用の寄与を評価する手法の開発

蛋白質-水分子間相互作用は、解析的なポテンシャル関数でモデルできる直接的相互作用だけでなく、統計力学的に考える必要がある間接的相互作用(水分子-水分子間相互作用を通した相互作用、水分子の併進回転エントロピー等)からも構成されている。したがって、蛋白質-水分子間相互作用を解析するためには 3D-RISM 等の統計力学的手法が必要になるが、一方で MD シミュレーションから蛋白質-水分子間相互作用の空間分布を計算できる手法として、グリッド空間非一様溶媒和法(GIST 法)も開発されている。本研究では、自由エネルギー地形の解析に GIST 法を

用いたが、従来の GIST 法では動かない分子構造を前提としたものであったため、蛋白質部分構造を静止座標とすることで、動く分子構造にも適用できる非拘束 GIST 法(rf-GIST)を開発した。

4. 研究成果

(1) 実験データから蛋白質構造の自由エネルギー地形を可視化する手法の開発

研究代表者はこれまで、蛋白質の機能発揮機構の解明を目的として、MD シミュレーションと SAXS 実験を組み合わせた MD-SAXS 法を開発し、蛋白質の動きを可視化することに成功してきた。しかしながら、平衡揺らぎから外れて大きな動きをする蛋白質の場合は、MD が実験 SAXS データを再現できない例が出てきた。このことは、現在の MD 力場の精度では、蛋白質の構造分布、すなわち自由エネルギー地形を再現することが困難であることを示している。

そこで、本研究項目においては、実験データを参照しながら MD で得られた自由エネルギー地形を最適化する ERICS (Ensemble Refinement in Information Content Space)法を開発した。本手法では、自由エネルギー地形を確率密度分布へ変換し(図 1A,B)、さらに情報量空間の 1 点として射影することで(図 1C)、自由エネルギー地形を最適化する方程式が得られる(図 1D)。ERICS 法の利点は、最大エントロピー法やベイズ統計法といった従来の情報科学手法において課題である、最適結果の制御パラメータ依存性がないことである。ERICS 法をグルコサミン酵素の実験 SAXS データに適用したところ、結晶構造解析や MD シミュレーション、それぞれ単体の解析法では得ることができなかった自由エネルギー地形の可視化に成功した(図 2)。可視化された自由エネルギー地形からは、基質が活性部位に結合するために必要な構造状態が発見されるなど、その地形の機能的な重要性が明らかになった(論文投稿中)。

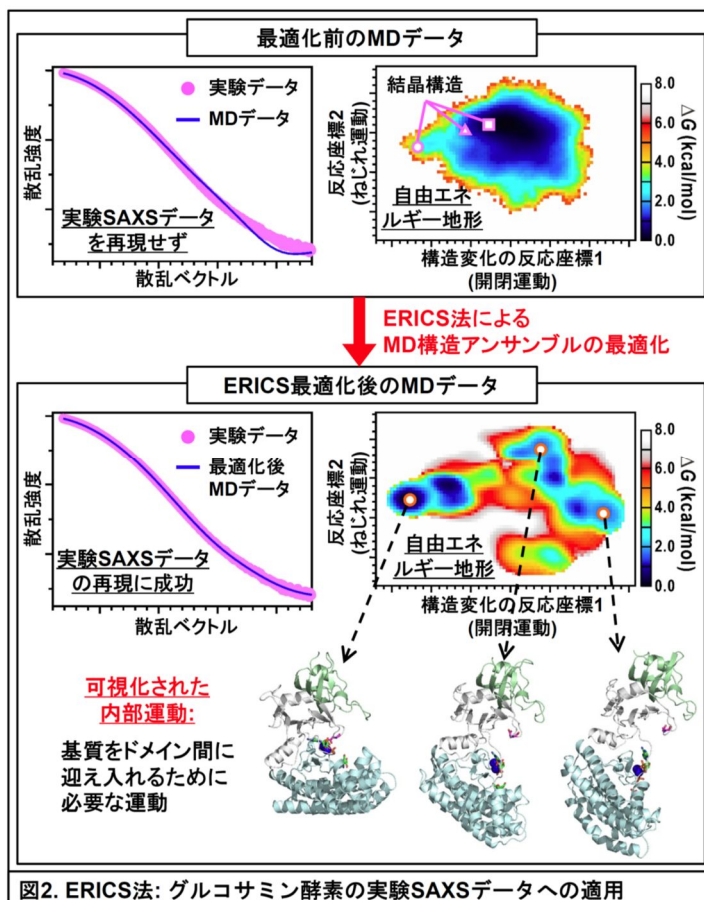


図2. ERICS法: グルコサミン酵素の実験SAXSデータへの適用

ERICS 法をグルコサミン酵素の実験 SAXS データに適用したところ、結晶構造解析や MD シミュレーション、それぞれ単体の解析法では得ることができなかった自由エネルギー地形の可視化に成功した(図 2)。可視化された自由エネルギー地形からは、基質が活性部位に結合するために必要な構造状態が発見されるなど、その地形の機能的な重要性が明らかになった(論文投稿中)。

(2) 自由エネルギー地形における蛋白質 - 水分子間相互作用の寄与を評価する手法の開発

本研究項目においては、蛋白質の構造変化(=自由エネルギー地形上での位相点の移動)における蛋白質-水分子間相互作用の定量的寄与を明らかにするために、構造変化に伴う溶媒自由エネルギー変化の空間分布を求めることができる rf-GIST 法を開発した。開発した手法の有用性を評価するために、本手法を単純な 1 ドメイン蛋白質の平衡構造揺らぎの解析に適用した(論文投稿中)。その結果、平衡揺らぎを実現する緩やかな自由エネルギー地形は、構造エネルギーと水和自由エネルギーが互いに補償しあうことで形成されていることが明らかになった(図 3)。

平衡揺らぎを実現する緩やかな自由エネルギー地形は、構造エネルギーと水和自由エネルギーが互いに補償しあうことで形成されていることが明らかになった(図 3)。

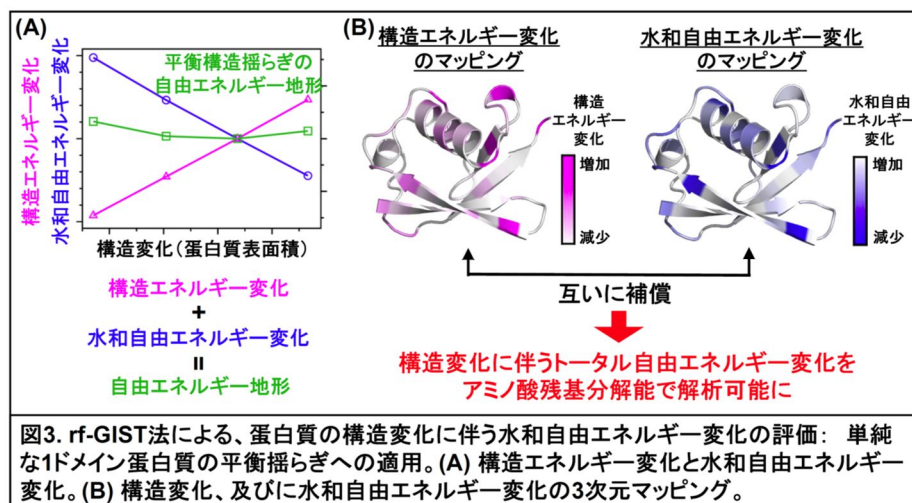


図3. rf-GIST法による、蛋白質の構造変化に伴う水和自由エネルギー変化の評価: 単純な1ドメイン蛋白質の平衡揺らぎへの適用。(A) 構造エネルギー変化と水和自由エネルギー変化。(B) 構造変化、及び水和自由エネルギー変化の3次元マッピング。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Amane Kobayashi, Yuki Takayama, Takeshi Hirakawa, Koji Okajima, Mao Oide, Tomotaka Oroguchi, Yayoi Inui, Masaki Yamamoto, Sachihiro Matsunaga, Masayoshi Nakasako	4. 巻 11
2. 論文標題 Common architectures in cyanobacteria Prochlorococcus cells visualized by X-ray diffraction imaging using X-ray free electron laser	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 3877
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83401-y	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 Rintaro Inoue, Tomotaka Oroguchi, Takashi Oda, Bela Farago, Anne Martel, Lionel Porcar, Mamoru Sato, Masaaki Sugiyama	4. 巻 5
2. 論文標題 Internal dynamics of multidomain protein as revealed by an optimized neutron spin echo measurement and all-atom molecular dynamics simulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Review Research	6. 最初と最後の頁 43154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevResearch.5.043154	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 苅口友隆
2. 発表標題 Optimization of MD-derived conformational ensemble in information content space and its application to experimental X-ray solution scattering data
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomotaka Oroguchi
2. 発表標題 Optimization of MD-derived conformational ensemble in information content space and its application to experimental X-ray solution scattering data
3. 学会等名 TSRC workshop, protein dynamics（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 苅口友隆
2. 発表標題 Refinement of MD-derived conformational ensemble by referring to experimental SANXS data in framework of Bayesian statistics
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 苅口友隆
2. 発表標題 MDシミュレーションと溶液散乱実験による蛋白質構造揺らぎの可視化: ベイズ学習の適用に向けて
3. 学会等名 CBI学会2021年大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 苅口友隆
2. 発表標題 蛋白質の機能的動きに沿った溶媒和自由エネルギー変化の評価法開発
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

〔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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------