

平成24年6月11日
分子モデリングと分子シミュレーション

複合体構造モデリング

東京大学大学院農学生命科学研究科
アグリバイオインフォマティクス
教育研究プログラム
寺田 透

本日の講義内容

- シミュレーションの手順
- タンパク質・タンパク質ドッキング
- タンパク質・低分子化合物ドッキング
– 課題
- 分子シミュレーションの展望と課題

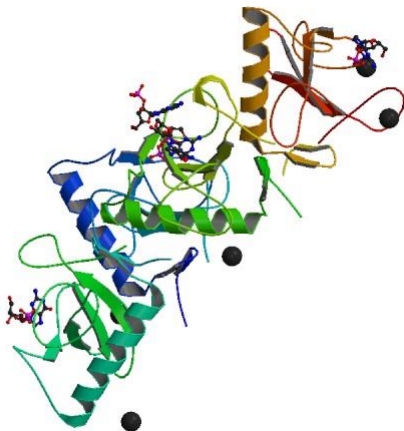
シミュレーションの手順

1. 初期構造の作成
 - 立体構造の取得
 - 欠失残基への対応
 - 水素原子付加
 - リガンドのモデリング
 - 力場パラメータの取得
 - 水分子の配置
2. 立体構造最適化
3. 初期速度の割り当て
4. 平衡化
5. プロダクションラン

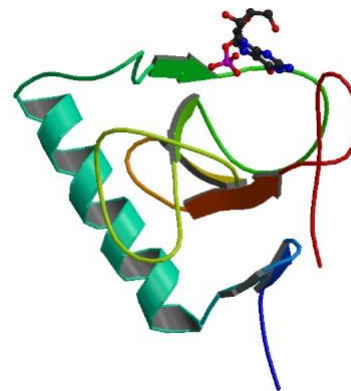
初期構造の作成(1)

- 立体構造の取得

- PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/>) からダウンロード
- 通常、生物学的に機能する単位である biological unit 構造に対してシミュレーションを行う
- 例: Ribonuclease T1 (PDB ID: 1I0X)



非対称単位の構造



Biological Unitの構造

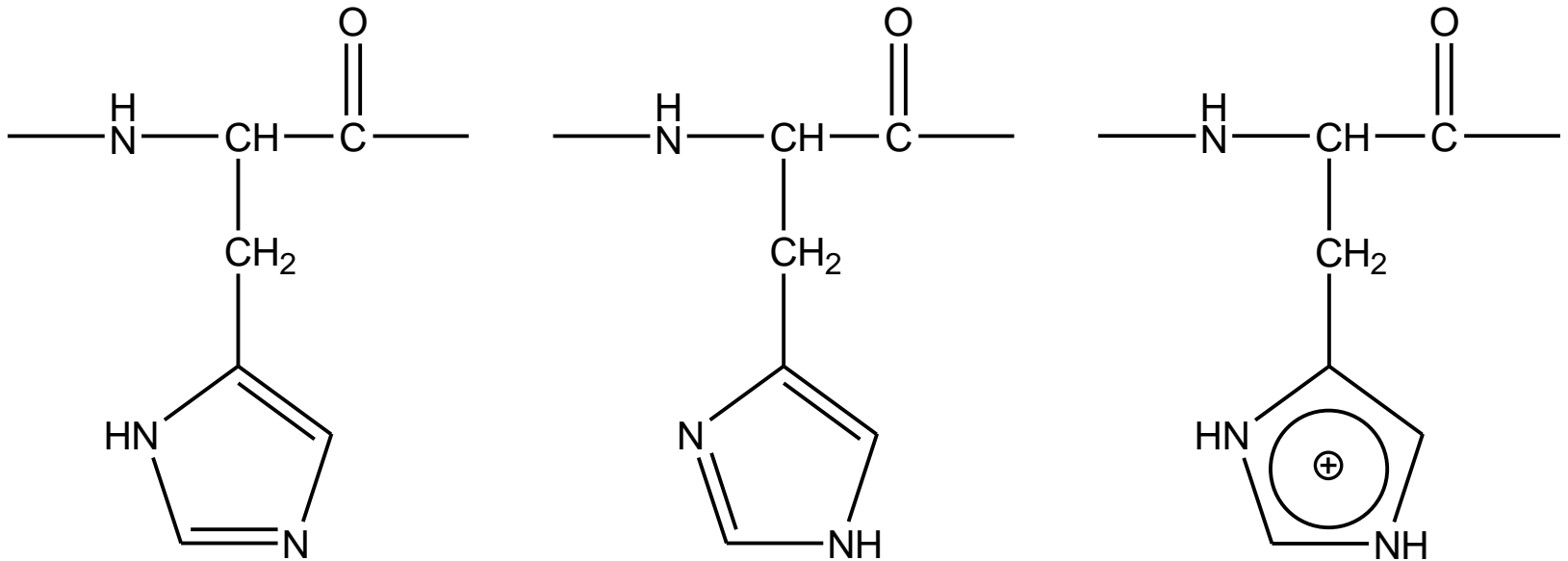
初期構造の作成(2)

- 欠失残基への対応
 - 欠失残基はモデリングなどで補う
 - N末端、C末端が欠失している場合は、欠失残基の前後の残基をacetyl基、N-methyl基でブロックしても良い
- 水素原子付加
 - 基本的に自動的に付加できる
 - SS結合の有無、Hisのプロトン化状態に注意

Discovery Studioでの操作(1)

1. 「File」→「Open URL」でIDに「1I0X」を指定して「Open」
2. 「Display Style」をLineに変更
3. Hierarchy WindowでB, C, D鎖を選択し削除
4. 「Macromolecules」ボタンをクリックし、Toolsタブに表示されるProtein Reportを展開する
5. 「Protein Report」をクリック
→Incomplete or Invalid Residues (Lys41、Asp49、Glu102; 紫色で表示される) に注意
6. ToolsタブのPrepare Proteinを展開し、Manual Preparationの「Clean Protein」をクリック→欠失原子が補われる

Hisのプロトン化状態



δ 位にプロトン化

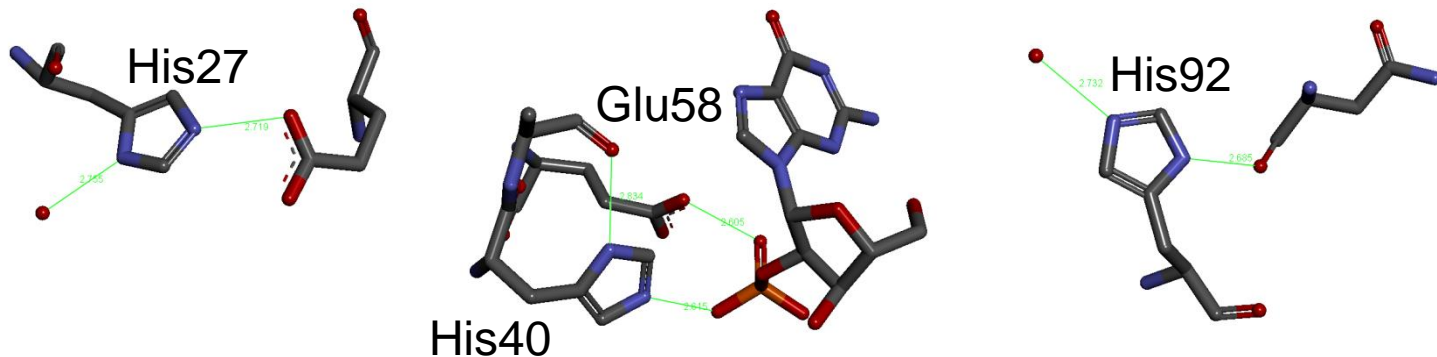
ϵ 位にプロトン化

δ, ϵ 位にプロトン化

- His側鎖の pK_a は中性付近であるため2つの窒素原子とも水素原子が結合した状態も十分にとりうる
- His周りの水素結合ネットワークからプロトン化状態がわかる

Discovery Studioでの操作(2)

7. His27、His40、Glu58、His92がどのような相互作用をしているか確認



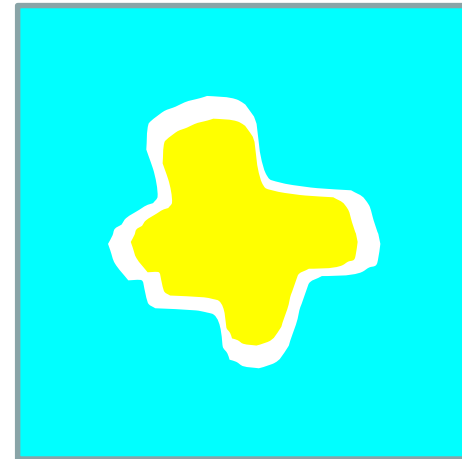
8. Forcefieldを「CHARMm」とした後、Prepare ProteinのProtonate Proteinにある、「Calculate Protein Ionization and Residue pKa」をクリックし「Run」→ 上記残基のプロトン化状態を確認

初期構造の作成(3)

- リガンドのカ場パラメータの取得
 - リガンドのカ場パラメータは分子動力学ソフトウェアに含まれていないので、自分で作成するか、Amber Parameter Database*等から取得する
- 水分子の配置
 - PMEを利用して高精度かつ高速にシミュレーションを行うため水分子を直方体状に配置
 - 電荷を中性にするためにカウンターイオンを配置

平衡化

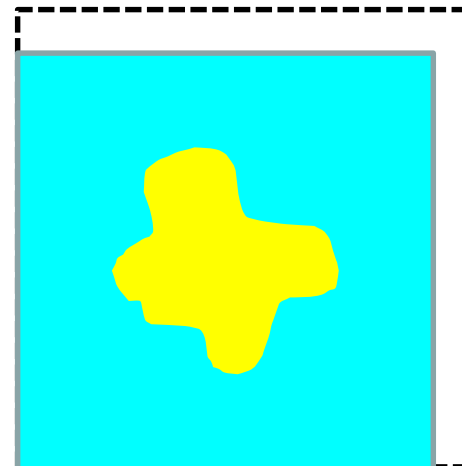
- 初期構造では、配置した水分子とタンパク質の間に隙間がある
- 定温定圧シミュレーションを行い、水分子の配置を最適化する
- その際、タンパク質の原子が初期位置からあまり動かないように束縛し、1 ns程度かけて徐々に束縛を緩める



タンパク質の周りに隙間がある



束縛付き定温定圧シミュレーション



体積が減少

複合体モデリング

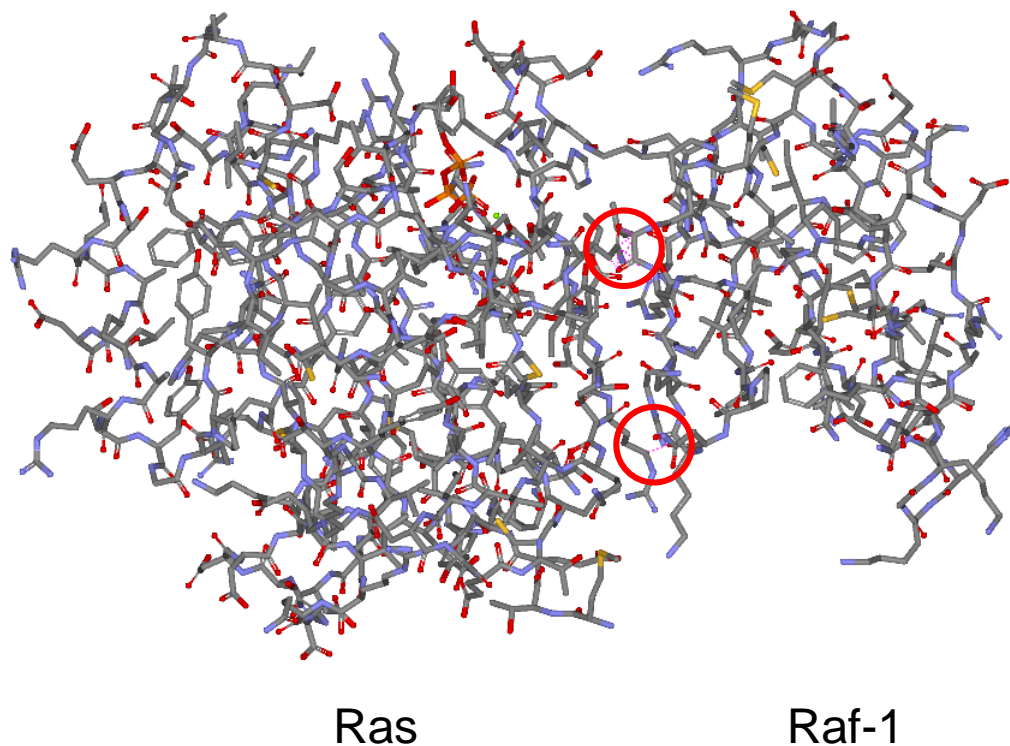
- タンパク質とタンパク質を含む他の分子との複合体の立体構造を予測する
- 類似した複合体の立体構造が利用できる
 - ホモロジーモデリング
 - 立体構造の重ね合わせ
- 類似した複合体の立体構造が利用できない
 - ドッキングシミュレーション

重ね合わせによるモデリング(1)

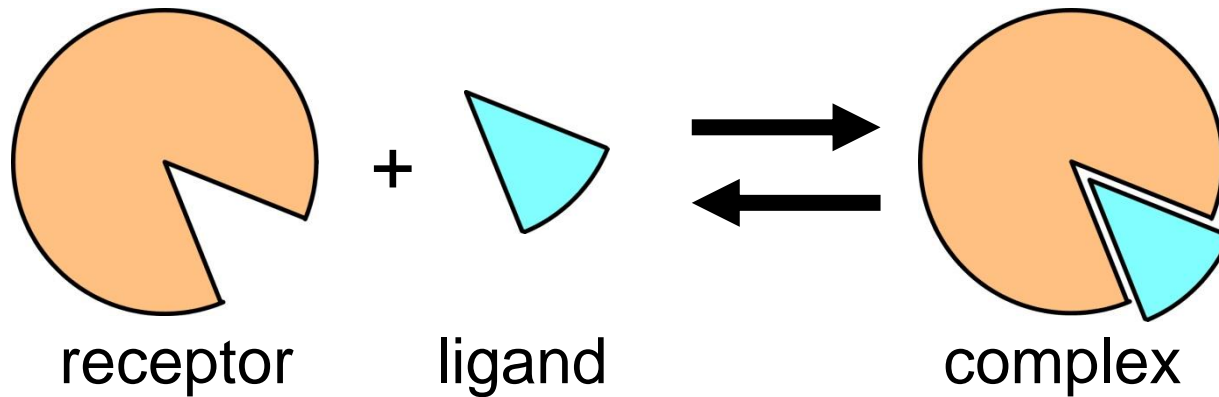
1. Discovery Studio 3.0 Clientを起動
2. 「File」→「Open URL」でIDに「1GUA」(Rap1AとRaf-1のRas結合ドメインの複合体構造)を指定して「Open」
3. 「File」→「Insert From」→「URL」でIDに「5P21」(Ras単体の立体構造)を指定して「Open」
4. 「Macromolecules」ボタンを押し、「Align Sequences and Structures」を展開、Align by Structure Similarityにある「Align Structures」をクリックし「Run12」

重ね合わせによるモデリング(2)

1. 新しいMolecule Windowに結果が表示されるので、Line表示にする
2. Rap1Aの構造を非表示にする
3. 「Structure」→「Monitor」→「Intermolecular Bumps」で、分子間の衝突を表示する

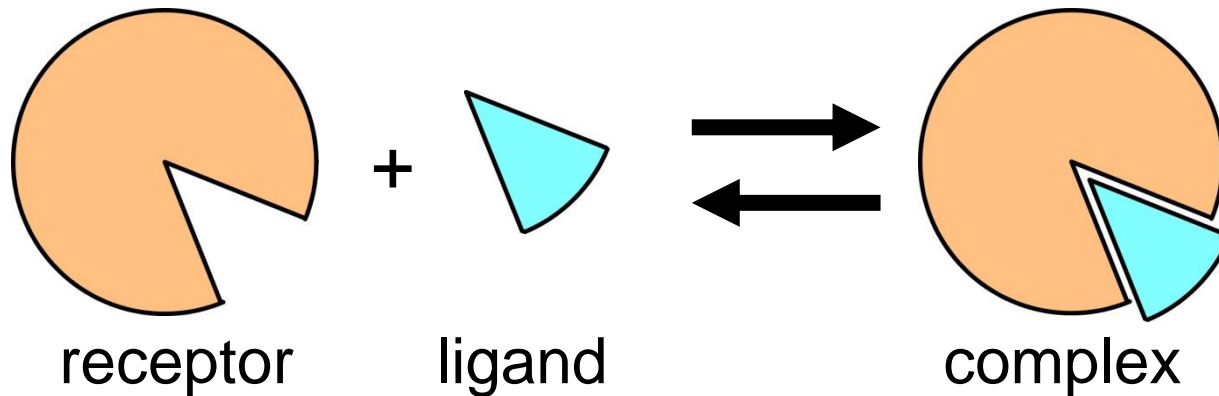


ドッキングシミュレーション



- タンパク質 (receptor) の表面にあるligand結合サイトにligandを結合させてみる
- Ligandが、タンパク質か低分子化合物かで異なる方法が用いられる

結合自由エネルギー



$$G_{\text{complex}}^{\circ} - (G_{\text{receptor}}^{\circ} + G_{\text{ligand}}^{\circ}) + RT \ln \frac{[\text{complex}]}{[\text{receptor}][\text{ligand}]}$$

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} - RT \ln K_{\text{D}} = 0$$

$$K_{\text{D}} = \exp(\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} / RT)$$

結合自由エネルギーは解離定数と関係づけられる

結合自由エネルギーの成分

- 自由エネルギーはポテンシャルエネルギー項、体積項、エントロピー項からなる
 - タンパク質ーリガンド間相互作用 ΔE_{int} は負→安定化
 - タンパク質およびリガンドの脱水和 ΔE_{desolv} は正→不安定化
 - 構造固定によるエントロピー損失 ΔS_{conf} は負→不安定化
 - 水和水の解放によるエントロピー利得 ΔS_{wat} は正→安定化

$$G = E + PV - TS$$

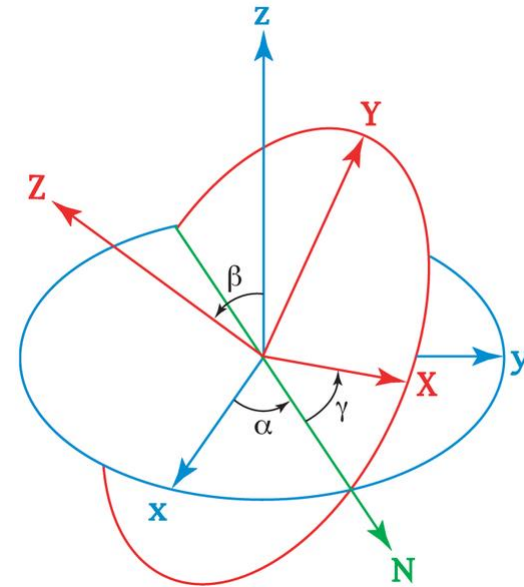
$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} \approx \Delta E - T\Delta S = \Delta E_{\text{int}} + \Delta E_{\text{desolv}} - T(\Delta S_{\text{conf}} + \Delta S_{\text{wat}})$$

結合自由エネルギーの計算

- エネルギー計算
 - ポテンシャルエネルギー値をそのまま使う
 - 溶媒効果や構造エントロピーの効果を見逃している
- MM-PB/SA法
 - ポテンシャルエネルギー値に、Poisson-Boltzmann方程式と溶媒接触表面積から得た溶媒和自由エネルギーと振動解析から求める構造エントロピーを加える
- 自由エネルギー摂動法、熱力学的積分法
 - 基準となる化合物に置換基を導入したときと自由エネルギー変化を計算する
 - 精度は高いが、構造が異なる化合物を比較できない
- スコア関数の利用

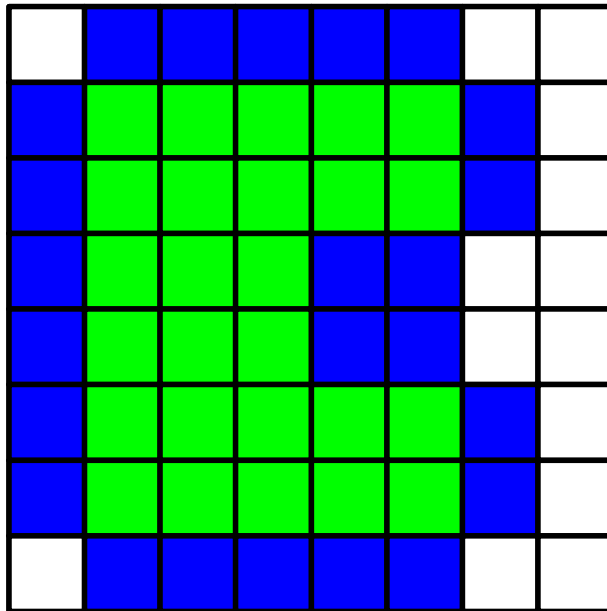
タンパク質・タンパク質ドッキング

- Receptor、ligandともに剛体とみなし、複合体形成による立体構造変化は考慮しない
- Receptorは原点に固定し、ligandの並進3自由度、回転3自由度の計6自由度のみを考慮
 - 回転はEuler angleで記述
- 形の相補性が特に重要

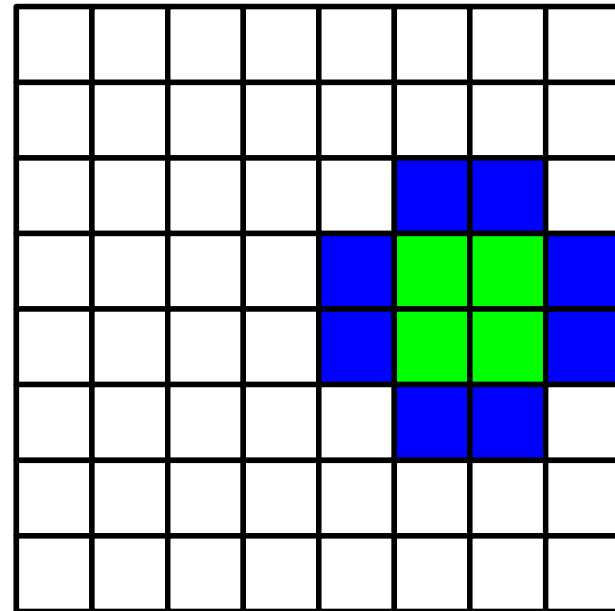


形の相補性計算(1)

Receptor



Ligand

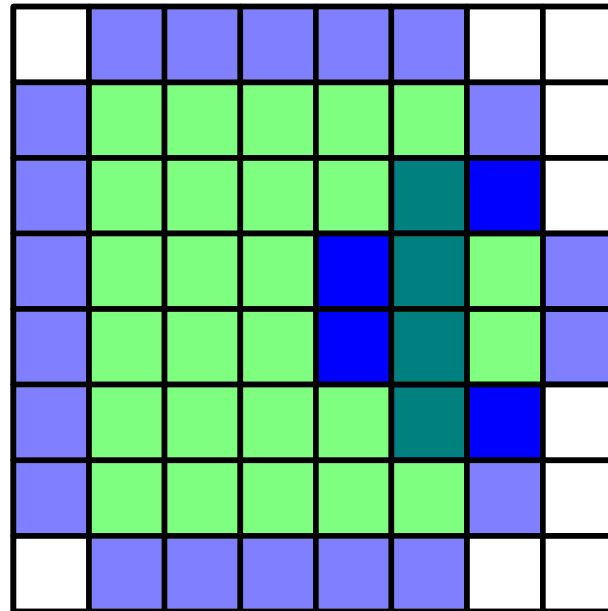


= 1 (solvent accessible surface layer)



= $9i$ (solvent excluding surface layer)

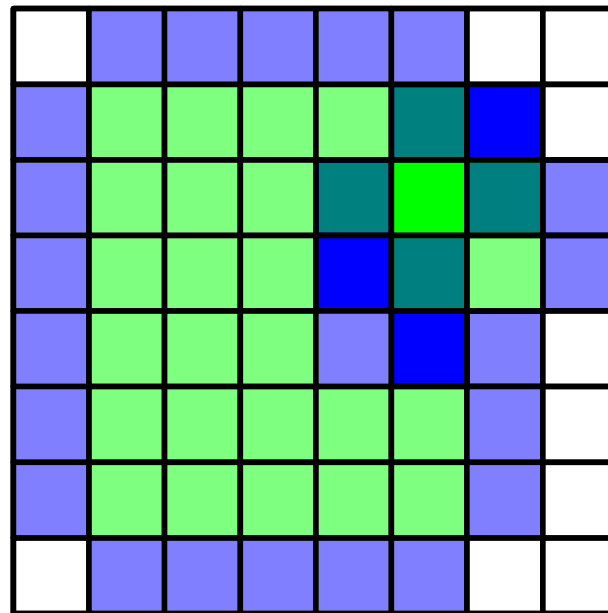
形の相補性計算(2)



重ね合わせてグリッドごとにスコアの積を計算する

スコア積の和の実部 = ドッキングスコア = 4

形の相補性計算(3)



重ね合わせてグリッドごとにスコアの積を計算する

$$\text{スコア積の和の実部} = \text{ドッキングスコア} = 3 - 81 = -78$$

計算の高速化

- 計算の一般化

$$S(a,b,c) = \sum_{x,y,z} f(x,y,z)g(x+a,y+b,z+c)$$

スコア S を最大にするligandの並進位置
(a, b, c)を求める

- この計算はfast Fourier transform (FFT)を用いて高速化できる

$$\tilde{S}(h,k,l) = \tilde{f}(h,k,l)\tilde{g}(h,k,l)$$

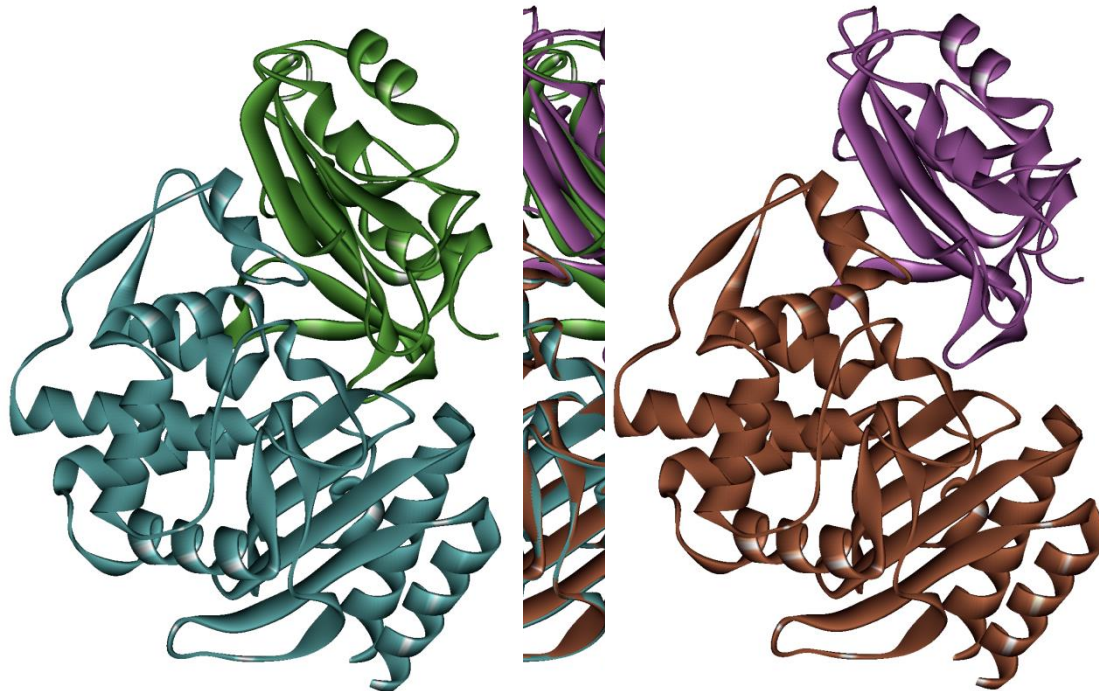
- これをligandのいろいろな向きについて計算する
- 静電相互作用など、他の相互作用も同様に高速に計算できる

ソフトウェアの例

- **FTDock**
<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/docking/ftdock.html>
- **ZDock**
<http://zlab.bu.edu/zdock/index.shtml>
- **HEX**
<http://www.loria.fr/~ritchied/hex/>
- **DOT**
<http://www.sdsc.edu/CCMS/DOT/>
- **GRAMM-X**
<http://vakser.bioinformatics.ku.edu/resources/gramm/grammx>

ZDockを用いた計算例

- TEM-1 β -lactamaseとinhibitorの複合体
 - β -lactamase: 1ZG4 (receptor)
 - Inhibitor: 3GMU (ligand)



スコア1位のドッキング構造

正解構造(1JTG)

タンパク質・低分子化合物ドッキング

- タンパク質 (receptor) の表面にあるリガンド結合部位をあらかじめ探し、そこにリガンドを結合させる
- リガンドは、回転・並進に加えて、回転可能な結合の二面角をすべて回転させて自由エネルギー (またはスコア) が最小となる構造 (poseと呼ばれる) を探索
- Receptorの原子は通常動かさず、剛体として扱うことが多い

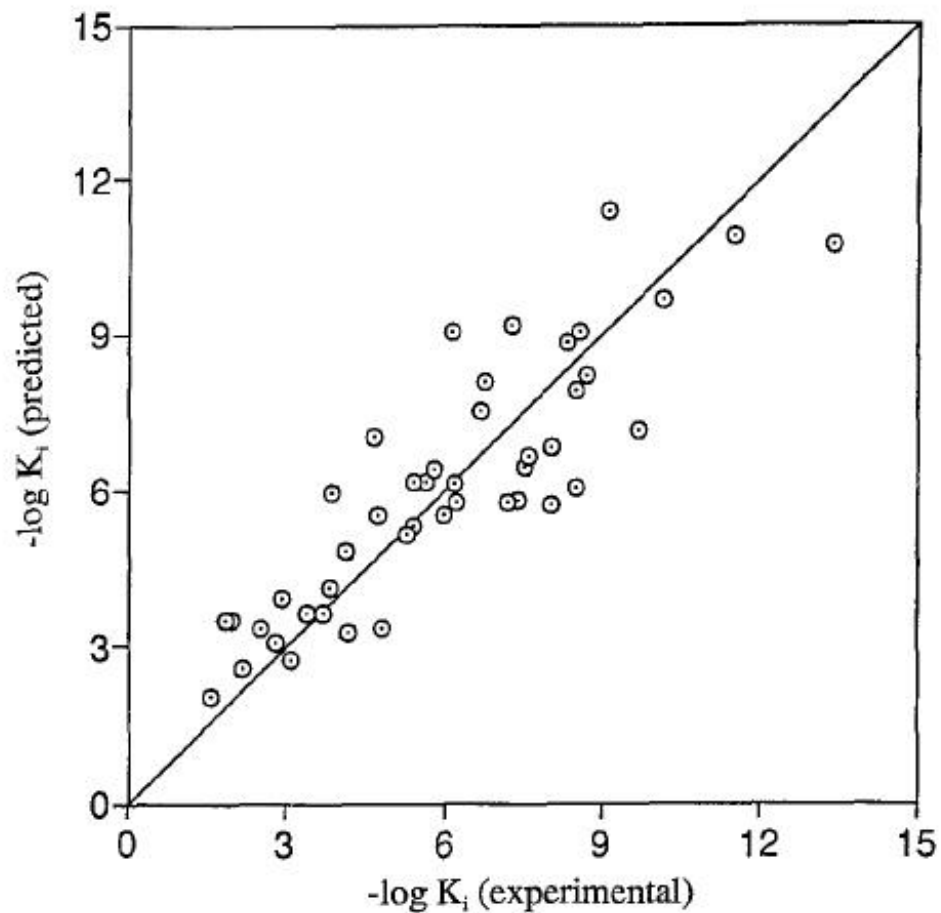
経験的スコア関数(1)

- Ludi

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} = \Delta G_0 + \Delta G_{\text{hb}} \sum_{\text{h-bonds}} f(\Delta R, \Delta \alpha) + \Delta G_{\text{ionic}} \sum_{\text{ionicint.}} f(\Delta R, \Delta \alpha) \\ + \Delta G_{\text{lipo}} A_{\text{lipo}} + \Delta G_{\text{rot}} N_{\text{rot}}$$

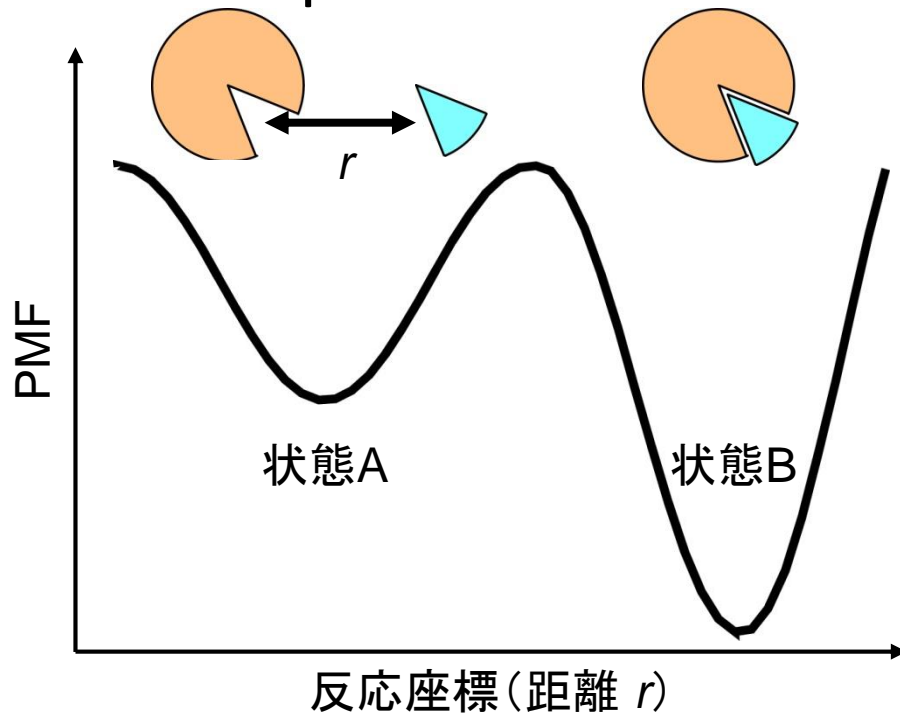
- 結合自由エネルギー変化を、水素結合、イオン結合、疎水相互作用、リガンドの構造固定によるエントロピー損失の項の和で表す
- 45種類のタンパク質-低分子化合物複合体について、実験で得られる結合自由エネルギー変化と、立体構造から得られる、水素結合長、イオン結合長、疎水相互作用表面積、リガンドの回転可能結合数から上式で計算される値が合うように係数 ΔG_x を決める

経験的スコア関数(2)



統計ポテンシャル

- Potential of mean force (Pmf)
 - 自由エネルギーを反応座標に沿ってプロットしたものはpotential of mean force (PMF)と呼ばれる



$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ} + RT \ln \frac{[\text{B}]}{[\text{A}]} = 0$$

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{bind}}^{\circ} &= -RT \ln \frac{[\text{B}]}{[\text{A}]} \\ &= -RT \ln p_{\text{B}} / p_{\text{A}} \end{aligned}$$

統計ポテンシャル

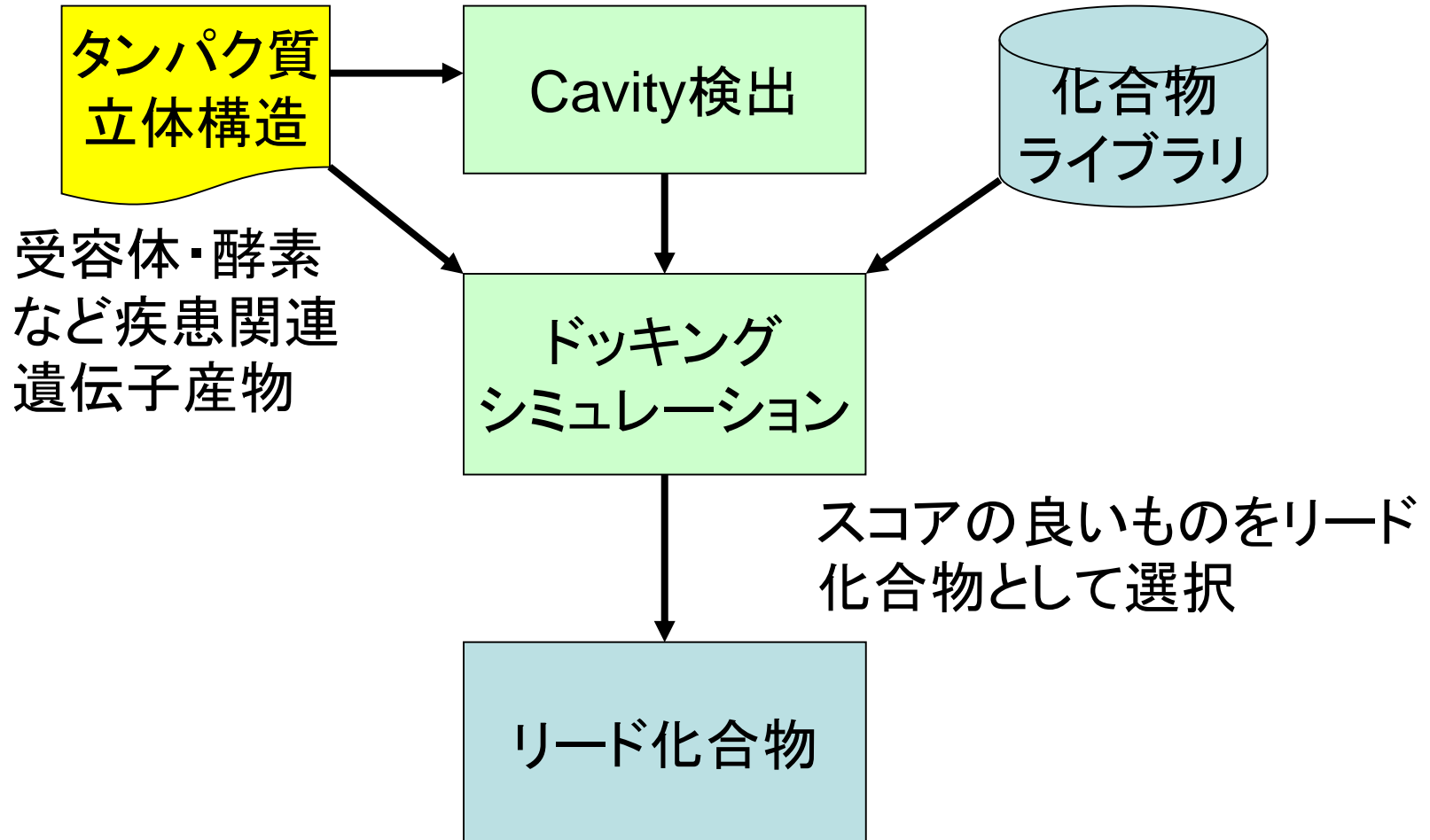
- Potential of mean force (Pmf)
 - 自由エネルギーを反応座標に沿ってプロットしたものはpotential of mean force (PMF)と呼ばれる
 - PMFは確率密度分布と対応付けられる
 - リガンドとタンパク質の原子間距離に対する確率密度分布を77個の複合体立体構造から計算し、原子種ペアごとにまとめて関数 $p_{ij}(r)$ を決める

$$\Delta G_{\text{bind}}^{\circ}(r) = -RT \ln p(r) / p_{\text{bulk}}(r) \approx -RT \sum_{k,l} \ln p_{ij}(r_{kl}) / p_{\text{bulk}}^{ij}(r)$$

ドッキングの創薬への応用

- 創薬の分野では薬剤候補化合物の探索に、化合物のライブラリから、標的タンパク質に強く結合する化合物を、大規模かつ効率的に探し出す high-throughput screening (HTS) がよく用いられる
- 化合物のライブラリの構築、結合のアッセイ系の確立には膨大なコストがかかる
- 化合物の標的タンパク質への結合をコンピュータの中で再現する(=ドッキングシミュレーション)ことで、親和性の評価が可能→virtual screening

Virtual screening



化合物ライブラリ

- Available Chemicals Directory (ACD)
 - 商用化合物データベース
 - <http://accelrys.com/products/databases/sourcing/available-chemicals-directory.html>
 - 約3,870,000の化合物を収録
- ZINC
 - USCFが運営する化合物データベース
 - <http://zinc.docking.org/>
 - 約13,000,000の化合物を収録
- PubChem
 - NCBIが運営する化合物データベース
 - <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
 - 約32,000,000の化合物を収録

Cavity検出

- 酵素の基質ポケットや受容体のリガンド結合部位は、タンパク質分子表面のくぼみ (cavity) にあることが多い
- SURFNET
 - <http://www.biochem.ucl.ac.uk/~roman/surfnet/surfnet.html>
 - タンパク質分子表面の”gap region”を検出
- PASS
 - <http://www.ccl.net/cca/software/UNIX/pass/overview.shtml>
 - タンパク質分子表面のcavityを検出しランク付け
- Q-SiteFinder
 - <http://www.bioinformatics.leeds.ac.uk/qsitefinder/>
 - CH₃プローブのエネルギー値に基づいてランク付け

ドッキングソフトウェア

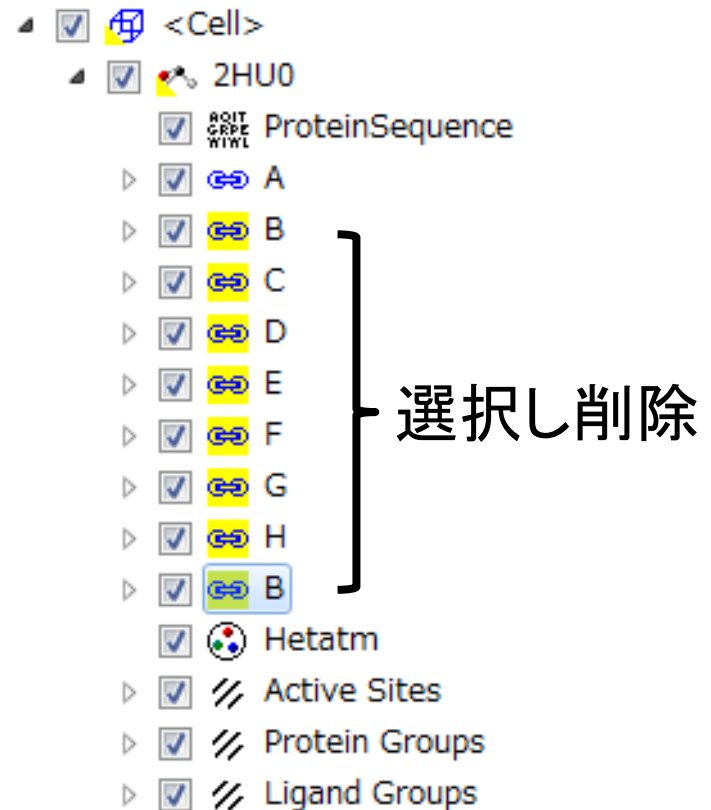
- DOCK
 - <http://dock.compbio.ucsf.edu/>
 - Cavityを特徴付ける球に化合物原子をフィット
- AutoDock
 - <http://autodock.scripps.edu/>
 - Genetic Algorithm (GA)による経験的結合自由エネルギースコアの最適化
- GOLD
 - http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
 - GAによるスコア関数の最適化
- いずれも化合物の並進・回転と二面角の自由度のみを考慮し、タンパク質は剛体として扱う

ドッキングシミュレーション実習

- Discovery Studio 3.0 Clientを用いてN1 neuraminidaseに阻害剤をドッキングする
 1. N1 neuraminidaseの結晶構造の取得
 2. Cavity検出
 3. 阻害剤構造データの取得
 4. ドッキングシミュレーション
 5. 結果の解析

1. 結晶構造の取得

1. N1 neuraminidase (PDB ID: 2HU0)の構造を開く
 - この結晶構造にはB鎖に oseltamivir (商品名: Tamiflu) が結合している
2. A鎖を残して他はすべて削除する
3. 全原子のline表示に変更する

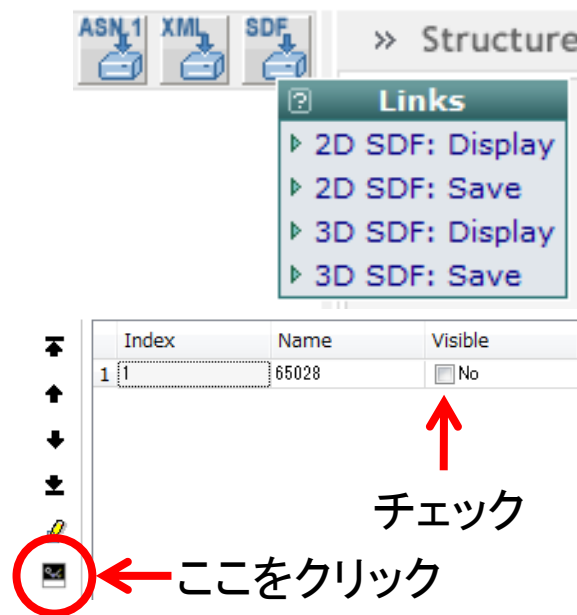


2. Cavity検出

1. 「Simulations」ボタンを左クリックし、「Change Forcefield」を展開、Forcefieldに「charmm27」を指定し「Apply Forcefield」
2. 「Receptor-Ligand Interactions」ボタンを左クリックし、「Define and Edit Binding Site」を展開、「Define Receptor: 2HU0」を左クリック
3. Define Siteにある「From Receptor Cavities」を左クリック→Cavityが表示される

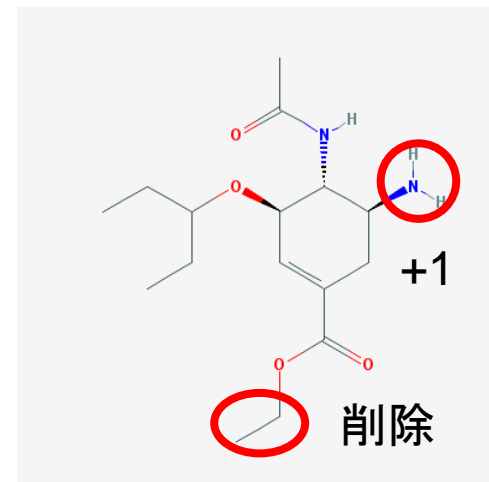
3. 阻害剤構造データの取得(1)

1. PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)にアクセスし、テキストボックスに「oseltamivir」と入力し「GO」
2. 1件目 (CID: 65028)をクリック
3. 「3D SDF: Save」で構造データをSDFフォーマットで保存
4. Discovery Studio 3.0 Clientで開く
5. Data TableでMoleculeタブを開き、Nameを「oseltamivir」に変更



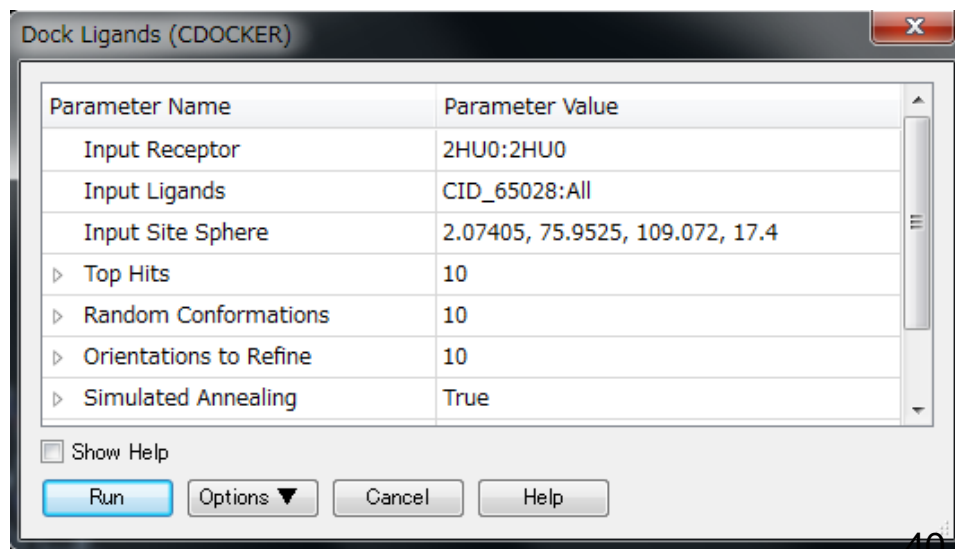
3. 阻害剤構造データの取得(2)

6. Oseltamivirのエステルは血液中で esteraseによってカルボン酸に分解されるので、エチル基を削除する
7. カルボキシル基の原子(COO)を選択し、メニューの「Chemistry」→「Bond」→「Partial Double」を選択
8. NH₂基の窒素原子を選択し、メニューの「Chemistry」→「Charge」→「+1」で、電荷を+1に変更する(水素が追加される)
9. 「Simulation」ボタンを左クリックし、「Change Forcefield」を展開、Forcefieldに「CHARMm」を指定し「Apply Forcefield」
10. 「Run Simulations」を展開、「Minimization」を左クリックし、「Run」



4. ドッキングシミュレーション

1. 2HU0が表示されているMolecule Windowをアクティブにする
2. 「Receptor-Ligand Interactions」ボタンを左クリック、「Dock Ligands」を展開し、Docking Optimizationにある「Dock Ligands (CDOCKER)」を左クリック
3. Input Receptor、Input Ligandsを右のように設定し「Run」
(9分くらいかかる)



参考 : CDOCKER

- 開発者
 - C. L. Brooks III, M. Viethら
 - Wu *et al.* *J. Comput. Chem.* **24**, 1549 (2003).
- エネルギー関数
 - CHARMM
- 最適化法
 - Simulated annealing (SA)とエネルギー最小化
 - SAではグリッドベースの相互作用エネルギー計算
 - エネルギー最小化では全原子ポテンシャルエネルギー関数に基づくエネルギー計算




5. 結果の解析

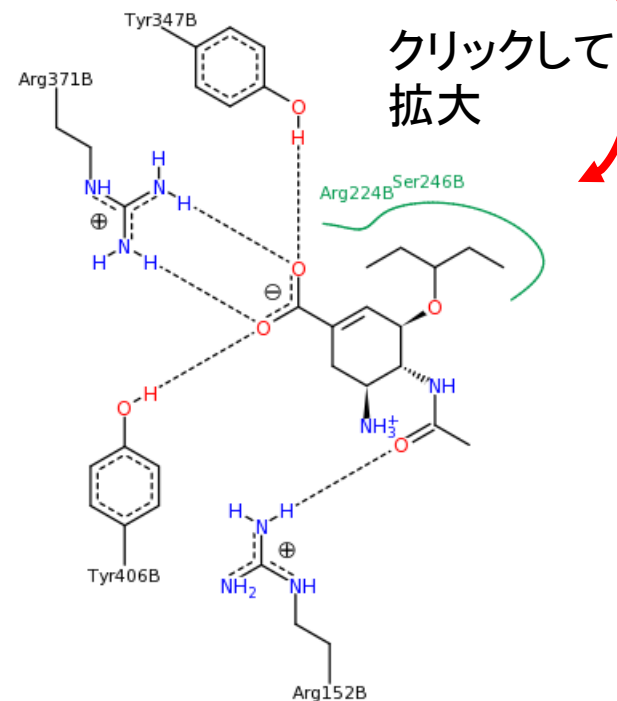
1. 新しく表示されるMolecule WindowのData Tableで、2HU0の行のVisibility Lockedの列のチェックをはずす
2. Hierarchy Windowを表示し、結合サイト(Site 1~11)のチェックをはずし非表示にする
3. メニューの「Chemistry」→「Hydrogens」→「Hide」を選択すると、水素原子が非表示となり見やすくなる
4. Data Tableの2行目以降は、ドッキング結果(pose)が-CDOCKER_ENERGYの大きい順に並んでおり、Visibleの行をチェックすると表示できる

	Index	Name	Visible	Tagged	Visibility Locked
1	1	2HU0	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No
2	2	oseltamivir	<input checked="" type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No
3	3	oseltamivir	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No
4	4	oseltamivir	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> No

結晶構造との比較(1)

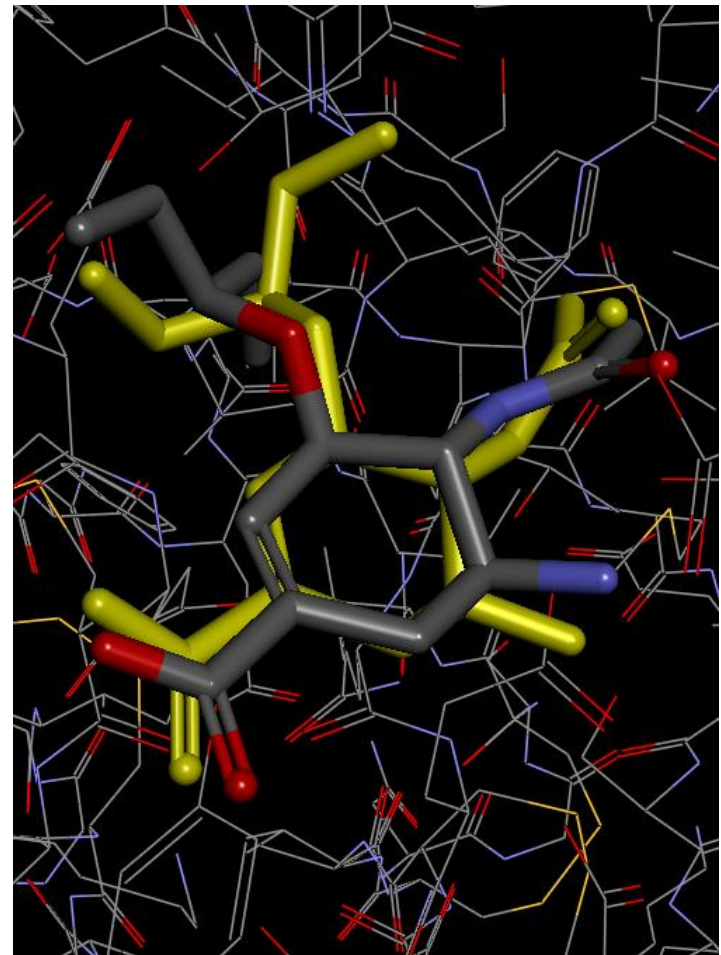
- RCSBの2HU0の Summaryページで相互作用様式を図示できる
- 得られたポーズのうち、結晶構造に近い相互作用様式をもつポーズはどれか

Ligand Chemical Component				Hide
Identifier	Formula	Name	Interactions	Ligand Explorer
G39 Search Download		C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₄ (3R,4R,5S)-4-(acetylamino)-5-amino-3-(pentan- ...		



結晶構造との比較(2)

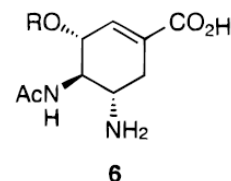
- 2HU0のB鎖に oseltamivirが結合しているため、タンパク質同士を重ね合わせると直接比較できる
- 5位の構造は非常に良く合っていると見える
- 1位の構造とのエネルギー差が小さいことに注意



課題

- 右のテーブルは、oseltamivirのデザインの過程で試した誘導体の活性を示している (oseltamivir acidは**6h**)
- この中の1つについてドッキングを行い、ドッキング構造やエネルギーの違いをスライドにまとめよ

Table 1. Influenza Neuraminidase Inhibition and Plaque Reduction by Carbocyclic Analogues



R	compd	enzyme ^a IC ₅₀ (nM)	plaque ^b EC ₅₀ (nM)
H	8	6300	ND ^c
CH ₃	6a	3700	ND
CH ₃ CH ₂	6b	2000	ND
CH ₃ CH ₂ CH ₂	6c	180	ND
CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂	6d	300	ND
(CH ₃) ₂ CHCH ₂	6e	200	ND
CH ₃ CH ₂ (CH ₃)CH*	6f	10	80
	(<i>R</i>)-isomer		
	6g	9	135
	(<i>S</i>)-isomer		
(CH ₃ CH ₂) ₂ CH	6h	1	16
(CH ₃ CH ₂ CH ₂) ₂ CH	6i	16	ND
	2	150	2500
	3	1	15

^a NA. ^b H1N1, A/ws. ^c ND = not determined.

分子シミュレーションの現状

- できること
 - 小さなタンパク質のフォールディングシミュレーション
 - 精度の高いモデルの最適化
 - 熱揺らぎや速い運動(マイクロ秒程度まで)の再現
- 難しいこと
 - 大きなタンパク質のフォールディングシミュレーション
 - 精度の低いモデルの最適化
 - 遅い運動の再現
 - 細胞スケールのシミュレーション

運動の時間スケール

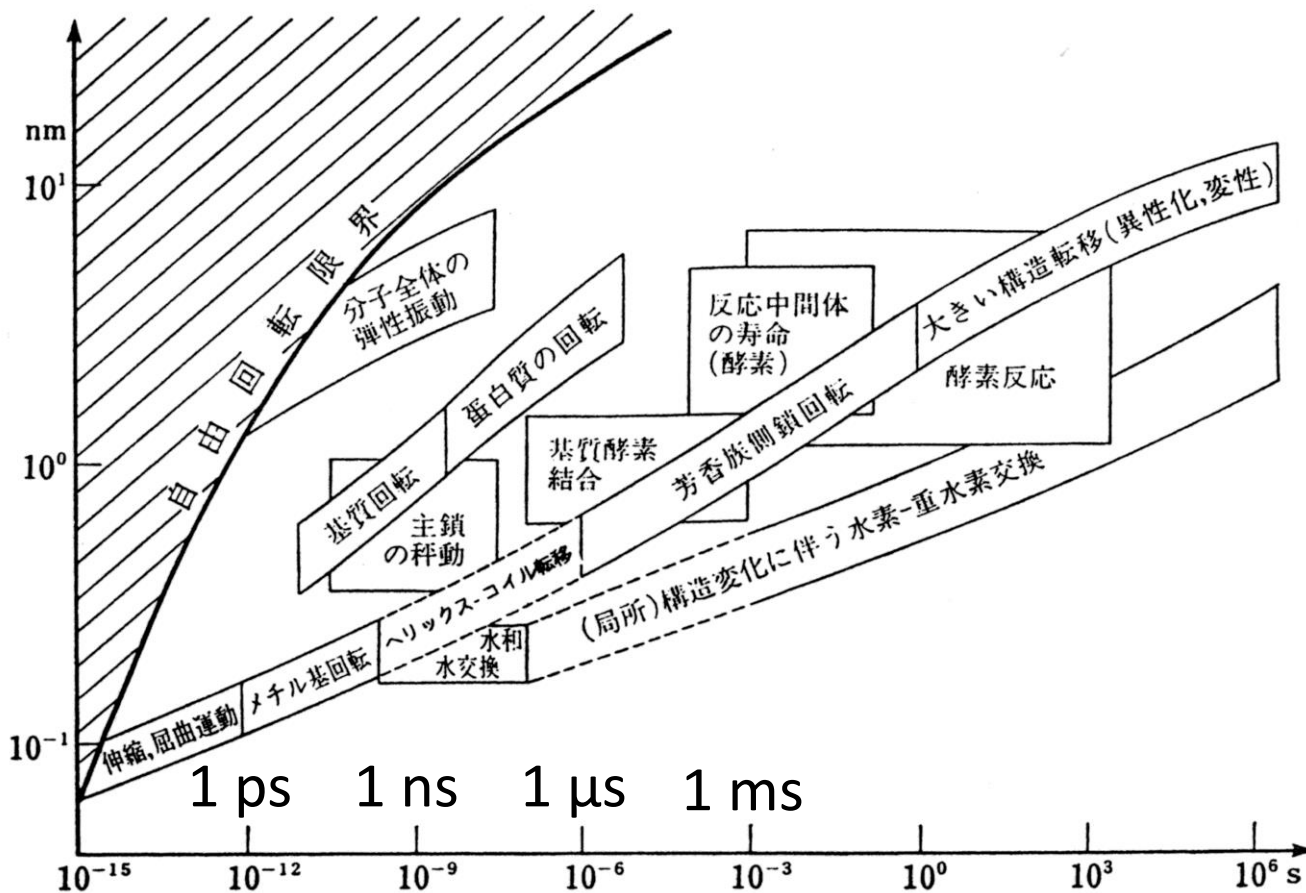
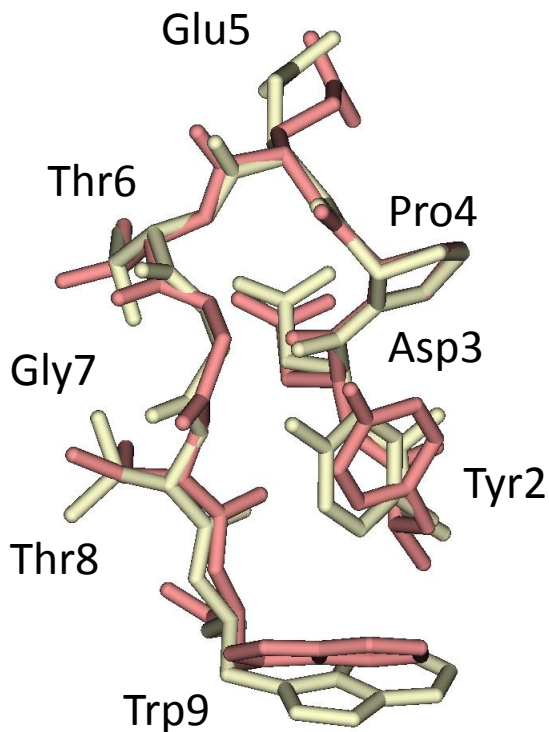


図 4.17 タンパク質分子の構造変化や化学反応事象の時間-空間相関プロット

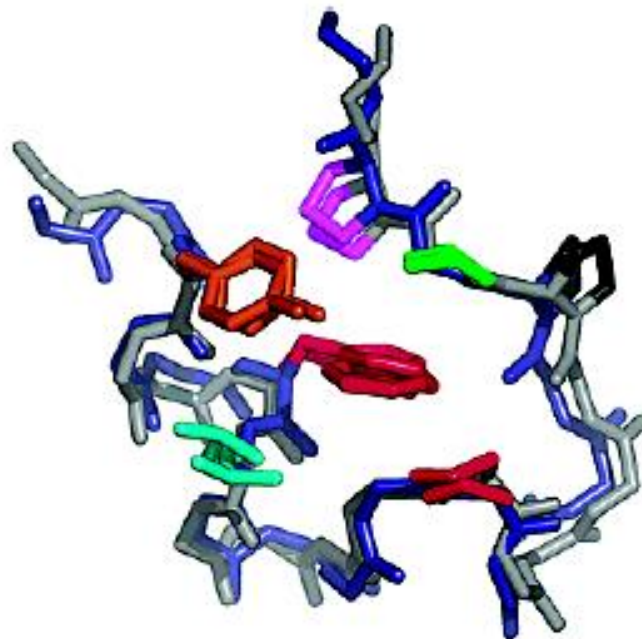
時間軸と空間軸のケタ数の違いに注目。

永山國昭 「生命と物質 生物物理学入門」より引用

フォールディングシミュレーション



黄色：NMR構造、ピンク：計算



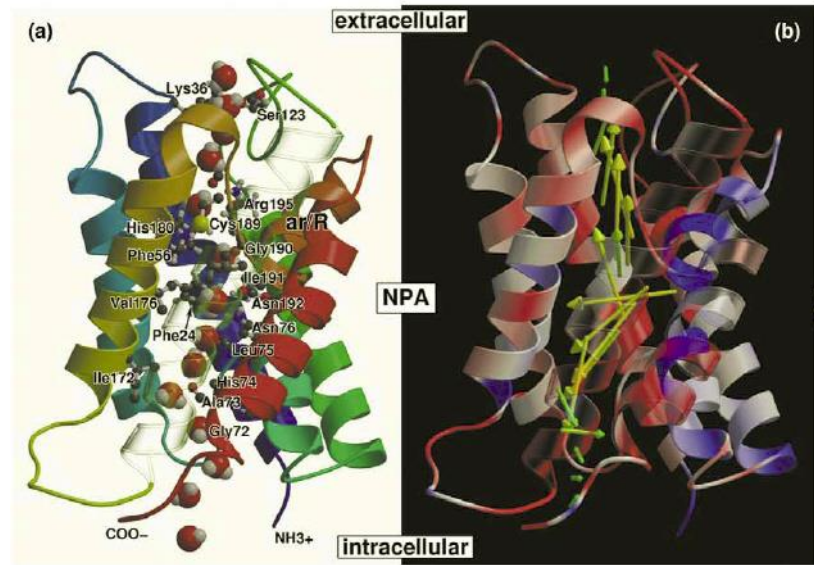
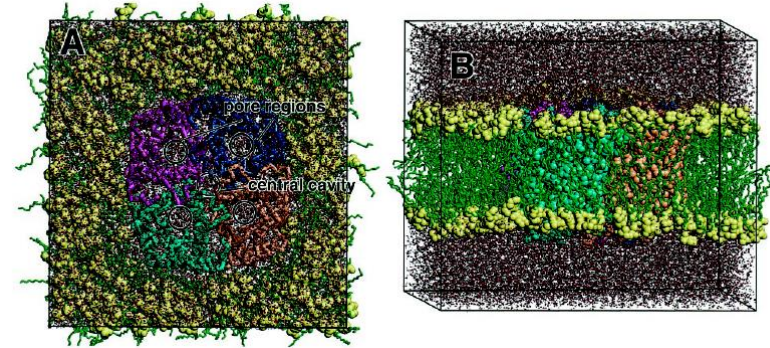
灰色：NMR構造、青色：計算

Satoh *et al.* *FEBS Lett.* **580**, 3422 (2006).

Simmerling *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 11258 (2002). 48

Aquaporinのシミュレーション

- タンパク質を脂質2重膜に埋め込み、膜の両側に水分子を配置する
- 水分子の透過速度
実験: $3 \times 10^9 \text{ sec}^{-1}$
シミュレーション:
16個 / 10 ns
→ $1.6 \times 10^9 \text{ sec}^{-1}$

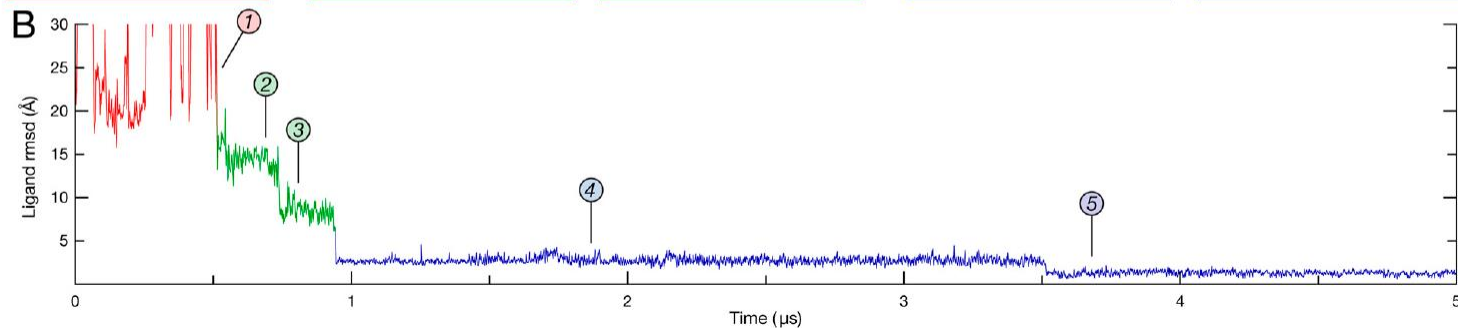
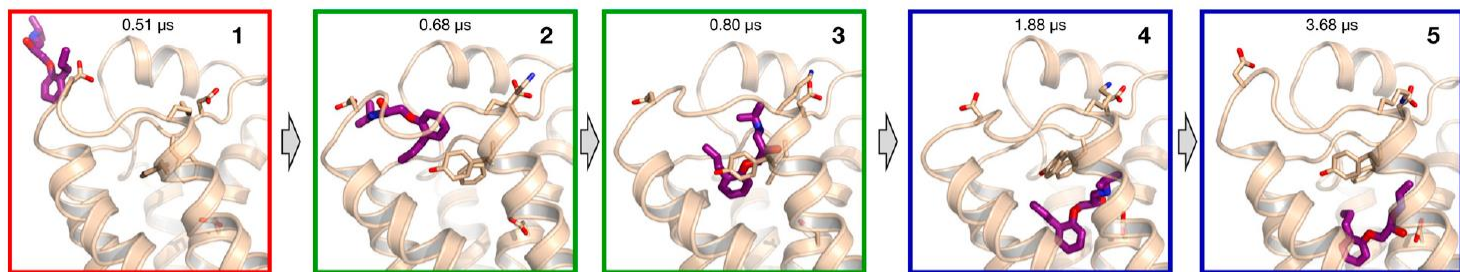


de Groot & Grubmuller *Science* **294**, 2353 (2001).

de Groot & Grubmüller *Curr. Opin. Struct. Biol.* **15**, 176 (2005).

リガンド結合シミュレーション

- β_2 -adrenergic receptorへの拮抗薬alprenolol等の結合シミュレーション
- 結合速度定数
 - 実験: $1.0 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
 - シミュレーション: $3.1 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$



Millisecond-Scale Molecular Dynamics Simulations on Anton

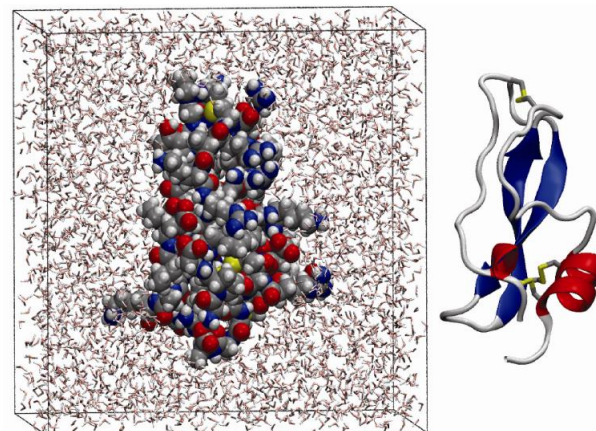
David E. Shaw ^{*}, Ron O. Dror, John K. Salmon, J.P. Grossman, Kenneth M. Mackenzie,
Joseph A. Bank, Cliff Young, Martin M. Deneroff, Brannon Batson, Kevin J. Bowers,
Edmond Chow, Michael P. Eastwood, Douglas J. Lerardi, John L. Klepeis,
Jeffrey S. Kuskin, Richard H. Larson, Kresten Lindorff-Larsen, Paul Maragakis,
Mark A. Moraes, Stefano Piana, Yibing Shan, and Brian Towles

D. E. Shaw Research, New York, NY 10036, USA

^{*} Correspondence: David.Shaw@DEShawResearch.com

Length (μ s)	Protein	Hardware	Software	Citation
1031	BPTI	Anton	[native]	Here
236	gpW	Anton	[native]	Here
10	WW domain	x86 cluster	NAMD	[10]
2	villin HP-35	x86	GROMACS	[6]
2	rhodopsin	Blue Gene/L	Blue Matter	[25]
2	rhodopsin	Blue Gene/L	Blue Matter	[12]
2	β_2 AR	x86 cluster	Desmond	[5]

Table 1: The longest (to our knowledge) published all-atom MD simulations of proteins in explicitly represented water.



Shawらの方法

- 自ら設計した分子動力学シミュレーション専用ハードウェアAntonを512基接続して使用
- 23,558原子系について1日当たり16.4 μs のシミュレーションができる
- 汎用のPCクラスタでは、1日当たり100 ns程度

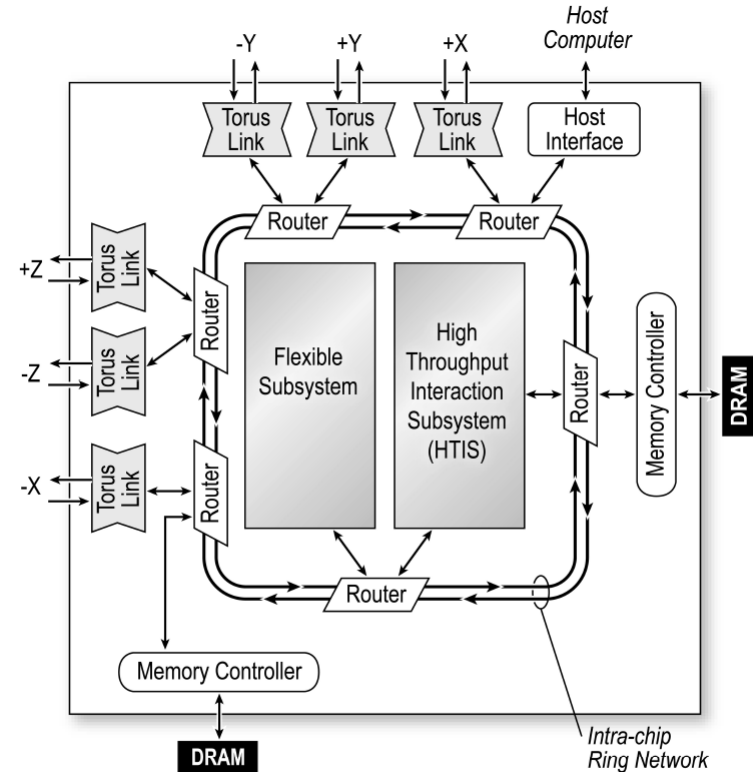
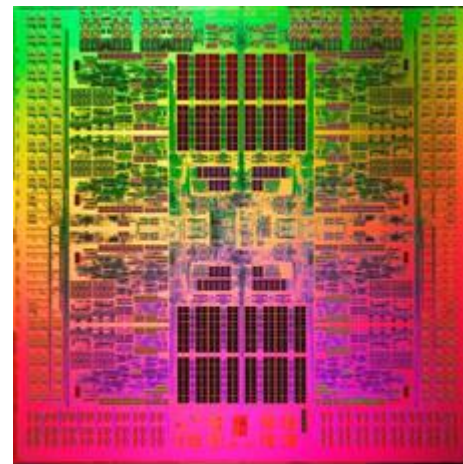
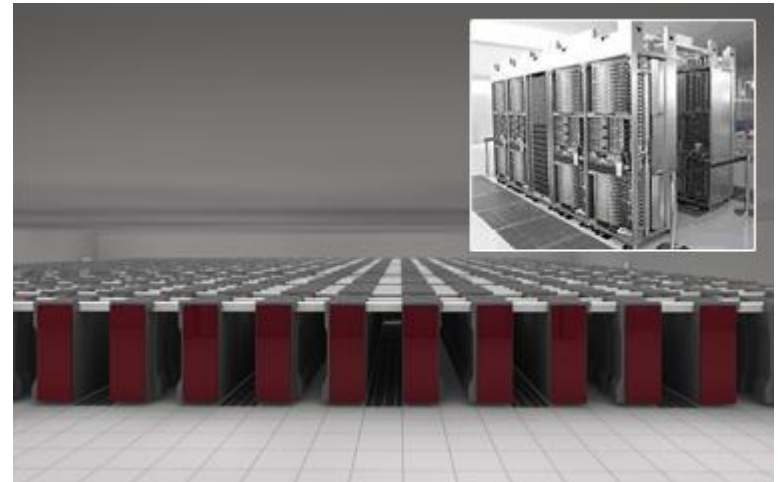


Figure 2: Anton ASIC block diagram.

スーパーコンピュータ「京」

- 10月一般共用開始
(利用課題募集中;
<http://www.aics.riken.jp>)
- 1秒間に1,280億回の計算(128 GFLOPS)を行う富士通製CPUを8万個以上備え、合計1京回／秒の計算能力を持つ



SPARC64™ VIIIfx

力場パラメータの精度

Ten-Microsecond Molecular Dynamics Simulation of a Fast-Folding WW Domain

Peter L. Freddolino,^{*†} Feng Liu,^{*} Martin Gruebele,^{*†‡§} and Klaus Schulten^{†‡}

^{*}Center for Biophysics and Computational Biology, [†]Beckman Institute, [‡]Department of Physics, and [§]Department of Chemistry, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois 61801

ABSTRACT All-atom molecular dynamics (MD) simulations of protein folding allow analysis of the folding process at an unprecedented level of detail. Insufficiently sampling the microsecond timescale of events requires both improvements in computational methods thus far timescales accessible, and testing of force fields in the context of an incipient downhill-folding WW domain mutant along with measurement of a molecular time and activated folding time of 1.5 microseconds and 13.3 microseconds, respectively. The protein simulated in explicit solvent exhibits several metastable states with incorrect topology and does not assume the native state during the present simulations.

間違っただポロジ-を持ついくつかの準安定状態をとったが、このシミュレーションの間に天然状態をとることはなかった

力場パラメータのさらなる改良が必要

粗視化モデル

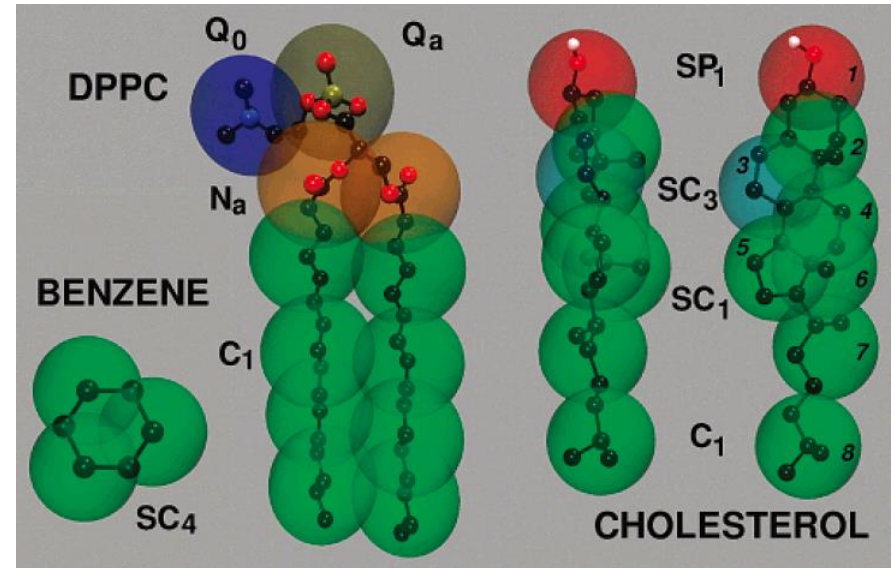
- 計算に時間がかかるのは共有結合の伸縮運動まで忠実に再現しようとしているため
- 実際にはそこまで詳細な情報は必要ない



- 分子を「粗視化」(coarse-graining)
 - 長い時間刻みの使用を可能にする
 - 相互作用計算にかかる時間を短縮

MARITINI力場

- Marrinkらが開発
- 4つの重原子を1つの粒子にマッピング
- 水和自由エネルギー、
気化自由エネルギー、
油相・水相間の分配係
数などを再現するよう
にパラメータを決定
- 時間刻みは30 fsだが、
実効時間はその4倍

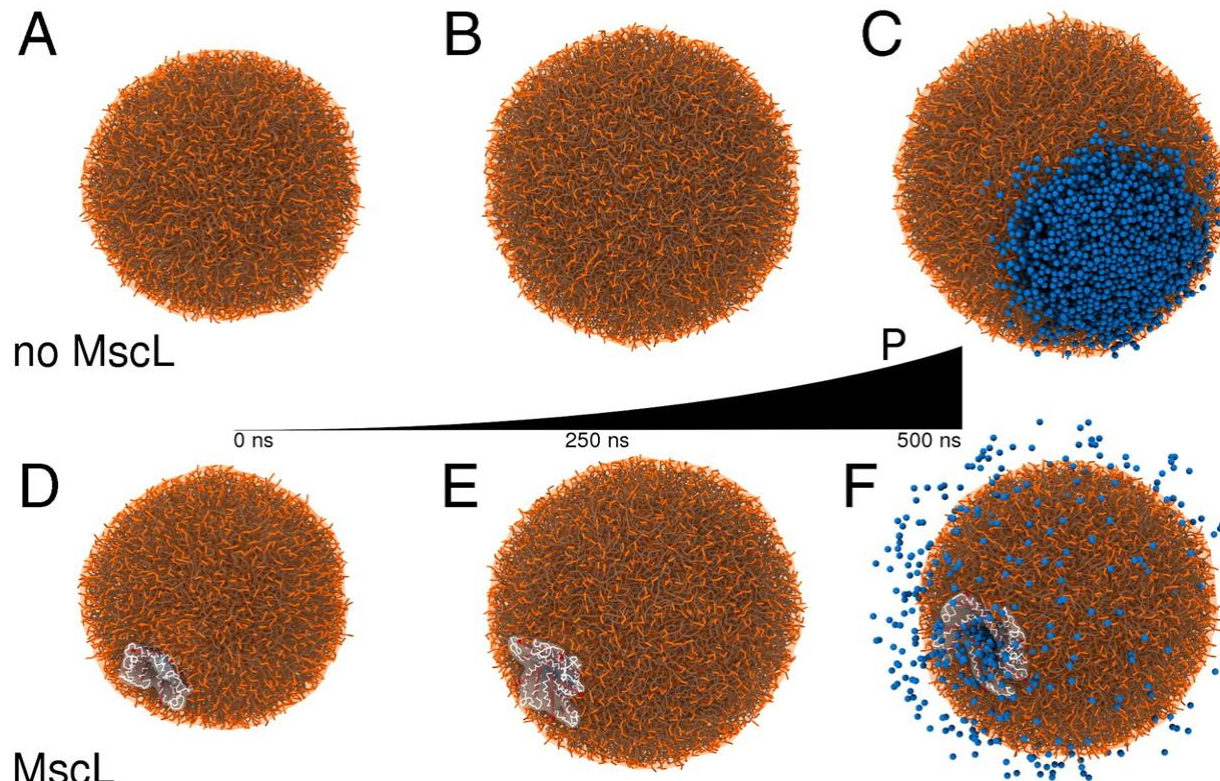


脂質2重膜形成シミュレーション

- 77 Åの立方体の中に、DSPC (distearoyl-phosphatidylcholine)を128個ランダムに配置
- エネルギー最小化の後、水粒子(水分子4つ分に相当)を768個配置
- 時間刻み30 fsで、900,000ステップ(27 ns、108 ns相当)の定温(323 K)定圧(1 bar)シミュレーションを実施
- 講義のページからmembrane.tpr、membrane.trrをダウンロードしてUCSF Chimeraを用いて表示してみよう
 - メニューの「Tools」→「MD/Ensemble Analysis」→「MD Movie」
 - Trajectory formatに「GROMACS」、Run input (.tpr)に「membrane.tpr」、Trajectory (.trr)に「membrane.trr」を指定し「OK」

Liposomeの粗視化シミュレーション

- Liposome内の圧力を高めると破裂する
- 膜にmechano-sensitive channel (MscL)を埋め込むと、ここから水が放出されたため、liposomeは破裂せずにすむ



分子シミュレーションの展望

- コンピュータの高速化により、長時間シミュレーションが可能になる
 - ポテンシャルエネルギー関数のさらなる高精度化が必要
- コンピュータの大規模化により、細胞スケールに迫る大規模シミュレーションが可能となる
 - 全原子モデルと粗視化モデルを組み合わせたマルチスケールシミュレーションが必要

課題の提出

- 結果と考察をまとめたPowerPointファイルを添付して、寺田宛tterada@iu.a.u-tokyo.ac.jpに送ること
- その際件名は「分子モデリング課題」とし、本文に氏名と学生証番号を明記すること