

## 3D-RISM 理論を用いた膜蛋白質系の安定性評価システムの構築

### Stability evaluation system for membrane protein using 3D-RISM theory

光武 亜代理

明治大学理工学部物理学科

#### 1. 研究目的

申請者は、物理化学の理論に基づく手法論を用いたタンパク質系の分子シミュレーションに取り組んできた。具体的には、拡張アンサンブル法と 3D-RISM 理論を開発し、緩和モード解析を導入することでシミュレーションのデータ解析に貢献してきた。本研究課題では、3D-RISM 理論を用いて溶媒効果を取り入れた膜タンパクの安定性解析を行うためのシステムを構築することが目的である。このため、膜中に埋もれた G タンパク質共役受容体 (GPCRs) であるオレキシン 2 受容体を用いる。膜タンパク質は膜と接触している部分と水溶媒と接触している部分があるため、単純に膜とタンパク質、もしくはタンパク質だけの溶媒和自由エネルギーを計算してもタンパク質の構造を入力した自由エネルギーを求めることはできない。そこで、原子分割法を用いて膜タンパク質の溶媒和自由エネルギー及び膜との相互作用を見積もる手法を構築する。

#### 2. 研究成果の内容

筑波大学の原田准教授が提案した moving Root Mean Square Deviation(mRMSD)を用いて、分子動力学法(MD)シミュレーションのトラジェクトリーから天然構造や準安定構造を検出する方法を開発した。MD シミュレーションでタンパク質の振る舞いを調べる時に、一般的にはリファレンスを固定して RMSD を計算する。この時得られる情報の精度はリファレンスに依存する。mRMSD では注目する時間  $t$  から  $\Delta t$  前の構造をリファレンスとして RMSD を計算する。これにより時間に依存した構造変化を検出することができる。天然構造や準安定構造はエネルギーが低く、一定時間構造を保持するために mRMSD の値の変動が小さくなる。D. E. Shaw Research の分子動力学法専用機 Anton のトラジェクトリーを使って、Trp-cage や Protein G の mRMSD の時間変化を計算した。これにより Trp-cage や Protein G の天然構造や準安定構造を正しく検出できる事を示した。加えて、これらのタンパク質では  $\Delta t$  として  $>20$  ns が適切である事を示した。また Trp-cage では天然構造付近に N 末端が水素結合を形成する構造があり、その構造と天然構造との間で振動する事を明らかにした。

膜タンパク質は、水溶媒だけでなく脂質膜と直接相互作用している。そのため、膜タンパク質の構造を入力とした溶媒和自由エネルギー及び膜との相互作用エネルギーの計算手順を構築した。そのため溶質分子の個々の原子の溶媒和自由エネルギーを見積も

ることができる原子分割法を適用した。具体的には(1) 膜と一緒に膜タンパク質を 3D-RISM プログラムで計算し、原子分割法を使って膜中のタンパク質の溶媒和自由エネルギーの寄与を見積もる。この計算には 80 回程度の 3D-RISM 計算が必要となる。(2) 膜ありと膜なしの状態ではメタン水溶液中の膜タンパク質の 3D-RISM 計算を行い、膜と膜タンパク質の相互作用エネルギーを見積もる。これらの計算を行い、膜タンパク質の自体の構造エネルギーに溶媒和自由エネルギーの寄与と膜との相互作用エネルギーを全自由エネルギーと定義して、膜タンパク質の安定性を議論した (投稿準備中)。

### 3. 学際共同利用プログラムが果たした役割と意義

膜タンパク質の計算は、脂質膜を含むために必要な計算セルが大きくなる。同様に SARS-CoV-2 の結合の計算もタンパク質が大きくタンパク質間の距離を変えて計算するために大きな計算セルが必要である。そのため V100 一つでは 3D-RISM 計算に必要なメモリが確保できないので、複数の GPU を使用して計算する必要がある。HAPACS/TCA 利用時に作成した MPI と CUDA を組み合わせた Multi-GPU 用のプログラムをチューニングして GPUDirect に対応させたことにより、より高速に膜タンパク質や SARS-CoV-2 の計算が行えるようになり、応用範囲が広がった。

### 4. 今後の展望

GPCR は、新薬開発の主要な標的分子群のひとつであり、薬効分子との結合により構造が変化する。また、アミノ酸の変異で安定構造が変化することが知られている。今回開発した手法を用いて、薬効分子による構造変化とその安定性を調べていく。

### 5. 成果発表

#### (1) 学術論文

- Yoshida, Y. Maruyama, A. Mitsutake, A. Kuroda, R. Fujiki, K. Kanemaru, D. Okamoto, A. Kobryn, S. Gusarov, H. Nakano, “Computational Analysis of the SARS-CoV-2 RBD-ACE2 Binding Process Based on MD and the 3D-RISM Theory”, *J. Chem. Inf. Model.* 62, 2889-2898, (2022).
- Y. Maruyama, R. Igarashi, Y. Ushiku, A. Mitsutake, “Analysis of Protein Folding Simulation with Moving Root Mean Square Deviation”, *J. Chem. Inf. Model.* 63, 1529-1541, (2023).

#### (2) 学会発表

「国内発表」

- Ayori Mitsutake, “Dynamical Analysis for Protein Folding Simulations using Relaxation Mode Analysis”, “Molecular Movies and beyond” International

Symposium 2022, 2022 年 5 月, 神奈川

- Shun Yokoi and Ayori Mitsutake, “Molecular Dynamics Simulations for Determination of the Characteristic Structural Differences between Inactive and Active States of Wild-type and Mutants of the Orexin 2 Receptor”, “Molecular Movies and beyond” International Symposium 2022, 2022 年 5 月, 神奈川
- 長尾悠大, 光武重代理, “On docking in complex structure prediction using AlphaFold2”, 日本蛋白質科学会、2022年 6月, つくば
- Yutaka Maruyama, Ayori Mitsutake, Norio Yoshida, “MD と 3D-RISM 理論による SARS-CoV-2 スパイクタンパク質と ACE2 タンパク質間相互作用の研究”, 日本生物物理学会年会, 2022 年 9 月, 函館, ポスター発表
- 光武重代理, ”Dynamical analysis for protein simulations using relaxation mode analysis” 第 14 回筑波大学計算科学研究センター創立 30 周年記念シンポジウム, 2022 年 10 月, つくば
- 横井 駿, 光武重代理 “オレキシン 2 受容体の活性化における動的性質と中間状態の計算論的洞察”, 第 36 回分子シミュレーション討論会, 2022 年 12 月, 東京「国外発表」
- Shun Yokoi and Ayori Mitsutake, “Dynamics of the Complex for Orexin 2 Receptor and G protein using Molecular Dynamics Simulations”, The 36th Anniversary Symposium of the Protein Society, 2022 年 7 月, San Francisco

(3) その他

使用計算機	使用計算機に ○	配分リソース※	
		当初配分	追加配分
Cygnus	○	4500	0
Wisteria/BDEC-01			
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			