

杉田理論分子科学研究室  
Theoretical Molecular Science Laboratory

主任研究員 杉田 有治 (博士 (理学) )  
SUGITA, Yuji (Ph.D)



キーセンテンス :

1. 細胞内環境での生体分子ダイナミクスを理解する
2. 実験データの利用と自由エネルギー計算によって分子動力学計算を高度化する
3. 第一原理量子化学計算と分子動力学計算を連成し高精度なダイナミクス手法を開発する

キーワード :

細胞内環境、細胞質、生体膜、核、タンパク質、核酸、脂質分子、糖鎖、分子動力学計算、拡張アンサンブル計算、自由エネルギー解析、第一原理量子化学、分子振動解析法

研究概要

当研究室では、理論化学的手法を用いて、生体分子を含む様々な分子系の構造とダイナミクスを解明し、創薬、医療、環境、エネルギー問題に応用可能な新たな分子機能の開拓を目指している。そのため、従来の枠組みを超えて、理論化学と理論生物物理を統合した新しい計算手法や分子モデルの開発を行っている。実験研究者と活発な議論を交わしながら、タンパク質や核酸、糖鎖や生体膜などの大規模構造変化、溶液中または生体分子中でのプロトン・電子移動、分子系の電子状態と振動状態、化学反応、溶媒や分子混雑などの環境が分子機能に与える影響など、幅広い研究課題に取り組んでいる。また、理論化学・計算化学の限界に挑戦し、スーパーコンピュータで初めて実現できる大規模シミュレーションを行っている。

1. 細胞内環境を考慮した分子シミュレーション (優、Wang、杉田)

蛋白質などの生体高分子の立体構造は、希薄溶液中 (溶液NMR)、結晶中 (X線結晶構造解析)、あるいは、凍結溶液中 (電子顕微鏡) などの条件で実験的に決定される。いずれも不純物をできるだけ排除した理想的な条件である。しかし、蛋白質などが働く実際の細胞内環境は、多くの生体高分子や低分子代謝物などで混み合った複雑な状態である。そのような分子混雑環境で蛋白質などの生体分子が、立体構造を安定に維持し固有の機能を発現する分子機構を、実験だけから理解することは著しく困難である。我々は、多くの蛋白質で混み合った細胞質のモデルを作成し、この環境での分子構造の安定性とダイナミクスについて全原子分子動力学計算を行った。特に今年度は、蛋白質の回転拡散運動に注目し、分子混雑環境において回転が遅くなる分子機構の解明を目指したシミュレーションを行った。その結果、従来利用されている蛋白質のエネルギー関数では、蛋白質間相互作用が過剰に評価されていることがわかった。補正されたエネルギー関数を用いたシミュレーションから、混雑環境においては、過渡的な複合体が形成と乖離を繰り返しており、その結果として蛋白質の回転運動が遅くなっていることが明らかになった。

2. 実験データの利用と自由エネルギー計算による分子動力学計算の高度化 (森、Kulik、松岳、新津、杉田)

分子動力学シミュレーションは、蛋白質や核酸などの構造ダイナミクスの詳細を調べるために盛んに用いられている。しかし、全原子分子モデルを用いた場合に分子動力学シミュレーションで解析できる時間スケールはマイクロ秒程度に限定されており、ミリ秒以上の遅い生命現象を解明することができない。そのため、我々は拡張アンサンブル法などの自由エネルギー計算手法を利用することによって、効率の良い計算を行い、遅い生命現象の理解と予測を目指した解析を実施した。今年度は、我々の開発したgREST (generalized Replica Exchange with Solute Tempering) 法を用いた蛋白質間相互作用解析、蛋白質基質結合状態の予測、REMD (Replica-Exchange Molecular Dynamics) 法を用いたRNAのダイナミクスと機能の分子機構解析などを行った。

さらに、既知の立体構造を電子顕微鏡による画像イメージに適合されることによって、生体高分子の立体構造変化の詳細を詳しく解析するための計算手法の開発を実施した。並列計算機を用いて高速に計算するアルゴリズムの開発によって、計算の高速化を実現し、リボゾームなど巨大な生体超分子複合体への応用を可能にした。

### 3. 第一原理量子化学計算と分子動力学計算を連成した高精度ダイナミクス計算 (八木、山田、Surblys、Bo、湯浅、杉田)

生体高分子や高分子ポリマーなどの複雑で巨大な分子系の構造とダイナミクスの詳細を解明するためには、古典的分子動力学計算と第一原理量子化学に基づく計算手法を連成することが有効である。我々は、分子動力学計算と第一原理非調和振動解析による振動スペクトルの予測と、分子力学/量子力学 (QM/MM) 混合計算法の開発に取り組んだ。

前者を用いて、スフィンゴミエリン二重膜のラマンスペクトルの予測に成功していたが、今年度、ナイロン6の赤外スペクトルの含水量の違いによる変化の予測を行い、実験とよく一致する結果を得た。さらにこの手法を他の高分子膜にも応用した。QM/MM法を理研で開発している分子動力学ソフトウェア GENESIS に組み込み、蛋白質活性部位における非調和ポテンシャルを用いた高精度な分子振動解析を実現した。さらに、酵素反応の解析を可能にする反応計算手法の導入も行った。

-----  
**Key Sentences:**

1. Understanding of macromolecular dynamics in cellular environments
2. Enhanced molecular dynamics methods by data-driven calculations and free-energy calculations
3. Accurate description of molecular motions by classical molecular dynamics and ab initio quantum chemistry

**Key Words:**

Cellular environments, cytoplasm, membrane, nuclei, proteins, nucleic acids, lipid molecules, glycan, molecular dynamics method, generalized-ensemble algorithms, free-energy calculations, ab initio quantum chemistry, molecular vibrational analysis

**Outline**

Theoretical and computational chemistry is essential research tools to elucidate structure-dynamics-function relationship in biology and material sciences. Our ultimate goal in research is to find new molecular functions relevant to pharmaceutical, medical, and environmental applications. The group, being in an interdisciplinary area of chemical and biophysical theory, involves development of new multi-scale molecular models and efficient computational algorithms. By combining molecular dynamics (MD) simulation and *ab initio* quantum chemistry, we aim to answer many unresolved questions in the area, for instance, large-scale conformational changes of biomolecules upon the ligand binding/dissociation, dynamics of biological membranes and other high-density polymers, enzyme reaction dynamics, and so on. We highly appreciate collaboration with experimentalists, in which active discussion with them helps our research stand out from others. Furthermore, we challenge the breakthrough of current limits of simulation in terms of both size and time embracing supercomputer K.

#### **1. Molecular dynamics simulations of macromolecules in cellular environments (Yu, Wang, Sugita)**

Macromolecular structures are usually determined in dilute solution, crystals, or low-temperature frozen solution for solution NMR, X-ray crystallography, or electron cryo-microscopy. The real cellular environments, such as the cytoplasm, cellular membrane, and cellular nuclei, are largely different from those experimental conditions and are crowded with many macromolecules, lipid molecules, metabolites, ions, and so on. How proteins and other macromolecules behave in such macromolecular crowding environments is one of the essential questions in molecular and cellular biology. To assist the understanding of the relationship between structure, dynamics, and functions of macromolecules in cellular environments, we carry out molecular dynamics simulations of atomistic models of the cytoplasm or protein crowding solution.

In this year, we focused on rotational diffusion of proteins in crowded solution to understand the molecular mechanisms for the slow-down of the rotational diffusion in the condition. Molecular dynamics simulations showed that the standard force-field parameters overestimate protein-protein interaction. We, therefore, modified the force field to have a better balance between protein-protein and protein-solvent interactions. Using the modified force field, we observed that tentative oligomer formation is a major reason of the slower rotational diffusion of proteins in the crowded environments.

#### **2. Enhanced molecular dynamics simulations by data-driven calculations and free-energy calculations (Mori, Kulik, Matsuoka, Niitsu, Sugita)**

Atomistic molecular dynamics simulation is useful for understanding the structure-dynamics-function relationships of proteins, nucleic acids, or other macromolecules. The major drawback of the simulation is a short simulation time scale due to the limited computational resources. By the conventional molecular dynamics methods, molecular motions slower than ten or hundreds of microseconds are not able to be investigated routinely. To overcome the

issue, we develop and utilize free-energy calculation methods based on enhanced conformational sampling algorithms. The generalized-ensemble algorithms, namely, replica-exchange molecular dynamics (REMD) or its variants (such as replica exchange with solute tempering (REST), replica-exchange umbrella sampling (REUS)) are well-known enhanced sampling methods for evaluating free-energy changes. We recently developed a new REST method (generalized REST (gREST)) and applied it to protein-protein association in membranes, protein-ligand interactions in solution. RNA conformational dynamics was also studied by REMD simulations.

Experimental data can be combined with molecular simulations to examine large-scale conformational changes of macromolecules. We developed a flexible fitting method to determine a new structure based on the electron cryo-microscope images and a known structure of the same target molecule. In our method, extensive parallelization was implemented to speed up the flexible fitting simulation and allowed us to perform the flexible fitting of large biomolecular complexes, such as ribosome or other protein-nucleic acid complexes.

### **3. Accurate description of molecular motions by classical molecular dynamics and *e* quantum chemistry (Yagi, Yamada, Surblys, Bo, Yuasa, Sugita)**

Molecular vibrational analysis is a popular experimental method to study atomic structure and dynamics of various molecular systems. We developed a new method to construct anharmonic potential using quantum chemistry calculations, and anharmonic vibrational analysis based on such potential. Furthermore, we developed a method to incorporate the structural fluctuation by taking a weight average over structures found in MD trajectory. We applied the new methods to calculate the vibrational spectrum of polymer membranes upon water uptake. The infrared spectra of Nylon6 and other polymers were predicted by using the anharmonic vibrational analysis method. We obtained good agreements with experiments.

To describe short-time molecular motions accurately, combinations between classical molecular dynamics and *ab initio* quantum chemistry calculation are quite useful. A combined quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) is one of the most popular approaches, where only the active site of a protein is treated quantum mechanically and the rest of the system is computed using classical molecular mechanics. We recently implemented this algorithm in our molecular dynamics program, GENESIS, and combined our QM/MM program with the anharmonic vibrational analysis and reaction-path calculations, namely, string method and the nudged-elastic band method.

***Principal Investigator***

杉田 有治      Yuji Sugita

***Research Staff***

八木 清      Kiyoshi Yagi

森 貴治      Takaharu Mori

Jaewoon Jung

優 乙石      Isseki Yu

山田 健太      Kenta Yamada

松岳 大輔      Daisuke Matsuoka

Po-hung Wang

Marta Kulik

Donatas Surblys

Bo Thomsen

新津 藍      Ai Niitsu

***Students***

湯浅 拓也      Takuya Yuasa

George Pantelopolus

***Assistant and Part-timer***

石垣 真知子      Machiko Ishigaki

***Visiting Members***

石谷 隆一郎      Ryuichiro Ishitani

天能 精一郎      Seiichiro Ten-no

宗行 英朗      Eiro Muneyuki

光武 亜代理      Ayori Mitsutake

岡本 祐幸      Yuko Okamoto

大滝 大樹      Hiroki Ootaki

水上 渉      Wataru Mizukami