

杉田理論生物化学研究室 Theoretical Biochemistry Laboratory

准主任研究員 杉 田 有 治
SUGITA, Yuji

当研究室では、蛋白質、核酸、脂質分子などの生体高分子の構造を通してその機能をより詳しく理解することを目指す。具体的には、熱力学、統計力学、量子化学などを基礎に、計算機を用いた分子動力学計算や第一原理量子化学計算などを用いた生体高分子の機能解析を行う。現在進行中の研究テーマは、タンパク質折れ畳みと安定性、膜タンパク質による物質輸送機構などである。また、理論化学的手法の限界に挑戦し、次世代スーパーコンピュータを有効に活用するために、新しい計算手法やモデルの開拓とそれらを含むプログラム開発も積極的に行う。

1. 計算化学の新しい手法の開発

(1) 蛋白質の構造サンプリング法の開発 (宮下*1、依田*2、佐藤*3、杉田)

蛋白質を含む生体高分子の自由エネルギー面には、無数の構造状態が存在する。しかし、従来の計算手法(分子動力学法、あるいは、Monte Carlo法)では、エネルギー極小状態の一つにトラップされてしまい、蛋白質の広い構造空間を十分に探索することができないという問題点があった。拡張アンサンブル法は、この問題を克服するために近年注目を集めている手法の一つである。この方法では、エネルギー空間を酔歩することにより、エネルギー極小状態に留まることを防ぐ。さらに、再重法と組み合わせることにより、任意の温度の熱力学量を1回の計算のみから求めることができる。我々は、これまで、レプリカ交換分子動力学法(REMD)を始めとする複数の拡張アンサンブル法を開発してきた。今後も、さらに大きな分子の効率的な構造探索を実現するために手法の開発を行う。

(2) 酵素反応を理解するためのQM/MM計算手法の開発 (李*3、天能*2、杉田)

生体内でおこる化学反応の多くは、酵素の中で実現しており、その反応機構を知ることは分子生物学・生化学における中心的な課題の一つである。しかし、化学反応を計算するためには、もはや、古典力学に基づくシミュレーション技術では不可能であり、量子論的な効果を含んだ計算が必要である。しかし、第一原理量子化学に基づく計算は系に含まれる原子数の(少なくとも)4乗に比例して演算量が増加するため、蛋白質や溶媒をすべて含んだ系の第一原理計算は大変困難である。そこで、我々は、酵素の活性部位近傍のみを量子化学的に取り扱い、周囲は通常の分子力場を用いて計算するQM/MM計算法を用いることにした。この手法の問題点は、量子力学的に取り扱う部分と分子力場を用いる部分との接続をどのように取り扱うかということであったが、Generalized hybrid orbital法を改善することによりこの問題を克服した。より精度の高い計算を高速に実現するためのアルゴリズムの改良を行うとともに、実際の酵素反応への適用を開始した。

2. 水溶性蛋白質および膜蛋白質の分子動力学計算

(1) 膜蛋白質の分子動力学計算 (石谷*2、杉田)

生体膜によって隔てられた細胞内外のイオンを含む物質の濃度は厳密に制御されており、その輸送はチャネルやポンプ、トランスポーターなどの膜輸送蛋白質によって行われている。近年結晶構造解析により、重要な膜蛋白質の立体構造が次々に明らかになっており、脂質二重膜や溶媒も、露わに取り込んだ膜蛋白質の分子動力学計算が可能となった。我々は、筋小胞体膜中に存在し、ATP加水分解のエネルギーを用いて、細胞質中のカルシウムイオンを小胞体内腔へと輸送するカルシウムポンプの結晶構造を用いた分子動力学計算を実行し、イオン結合部位におけるプロトンの役割を解明した。今後も、様々な膜輸送蛋白質の分子動力学計算を実施することにより、実験だけからでは得られない生化学的知見を得ることを目指す。

(2) F_0F_1 -ATPase、 ϵ サブドメインにおけるATP結合の影響 (辻*4、宗行*2、杉田)

F_0F_1 -ATPaseは、生体内でエネルギー通貨として用いられるATPを電気化学ポテンシャルの差を利用して、ADPとPiから合成する膜蛋白質である。この膜蛋白質は、3つのサブユニットからなるが、本研究ではサブユニットのATP結合の有無による構造変化を、分子動力学計算を用いて解析した。実験的には、X線結晶構造解析法とNMR(核磁気共鳴法)により、結晶中および溶液中の立体構造が求まっており、ATP結合の前後で大きな構造変化をすることがすでに知られている。結晶構造解析で得られた立体構造を初期構造として用いた分子動力学計算を実行することにより、溶液中ではサブユニット内の2つのドメイン間に大きな運動が生じていることが明らかになった。一方、ATPなしの状態では観測されるドメインが伸びきった構造には、現在の分子動力学計算では到達することができず、より効率的な構造探索手法の適用が必要であることがわかった。

*1次世代スパコン研究員、*2客員研究員、*3協力研究員、*4研修生

We study functions of biomolecules by theoretical calculations based on thermodynamics, statistical mechanics, and quantum chemistry. In particular, we are interested in the conformational dynamics of proteins and its relationship with the functions of proteins. Current research topics are protein folding and stability in solution, ion-transport by membrane proteins, enzymatic reactions, and so on. We also develop new computational models and methods to overcome current limitations of computational chemistry on biomolecules.

1. Development of new computational methods

(1) Conformational sampling methods for proteins (Miyashita, Yoda, Sato, and Sugita)

In the free-energy landscapes of proteins or other systems with rugged-energy surfaces, there are a huge number of conformational substates. However, the conventional simulation techniques, such as molecular dynamics or Monte Carlo methods often get trapped at one of the local-energy minima, and therefore cannot sample wide conformational spaces of proteins. Generalized-ensemble algorithms can overcome the difficulty by performing a random walk in the potential energy space, and also can evaluate the canonical ensemble averages at any temperature by a single simulation run. We have developed new generalized-ensemble algorithms including replica-exchange molecular dynamics method (REMD) and are trying to improve sampling efficiency of these methods.

(2) QM/MM methods for enzymatic reactions (Re, Ten-no, and Sugita)

To understand chemical reactions occurred in proteins or enzymes is one of the central issues in molecular biology or biochemistry. To study the reactions theoretically, we have to calculate the conformational energies of the systems by quantum chemical methods. However, the size-dependency of *ab-initio* quantum chemistry is significant (proportional to, at least, N^4), indicating that it is impossible to apply the method to a full protein system with solvent molecules. Therefore, we use QM/MM hybrid methods for the study of enzymatic reactions. One of the major technical problems in the QM/MM methods was how to treat the boundary atoms between quantum and molecular mechanical regions. We have overcome the problem by improving the generalized hybrid orbital (GHO) method. We are currently improving the algorithms for QM and MM energy calculations for fast computations and applying the methods to several enzymatic reactions.

2. Molecular dynamics simulations of proteins in solution or membrane

(1) Molecular dynamics simulations on membrane proteins (Ishitani, and Sugita)

The concentration of ions or other substrates inside or outside of cells is strictly regulated. Membrane transporting proteins, such as channels, pumps, or transporters, have essential roles to transport these substrates across biological membranes. By using X-ray structures of membrane proteins, we have performed large-scale molecular dynamics simulations of membrane proteins, including sarcoplasmic reticulum (SR) calcium pump. This protein transports two calcium ions from the cytoplasm to SR lumen per ATP-hydrolyzed. By theoretical calculations, we have elucidated the roles of protons at the ion-binding sites of the calcium pump. We are also simulating other membrane transporting proteins with biological membranes to study their structural and functional relationships.

(2) ϵ subunit in F_0F_1 -ATPase (Tsuji, Muneyuki, and Sugita)

F_0F_1 -ATPase is a membrane protein that can generate ATP from ADP and Pi by using electro-chemical potentials. This membrane protein consists of three α and β , γ , δ , and ϵ subunits. We study the effect of ATP on the structure of ϵ subunit. X-ray crystallography and NMR spectroscopy showed that large conformational changes occur upon the ATP-binding or release. Molecular dynamics simulations on the subunit in solution suggested that large conformational fluctuations exist regardless of the ATP-binding. However, the large conformational changes from the folded form in the presence of ATP to the extended form in the absence of ATP could not be observed in the current simulations. Much longer calculations or better efficient conformational sampling may be required for simulating the large conformational changes.

Staff

Head

Dr. Yuji SUGITA

Members

Dr. Suyong RE^{*1}

Dr. Daisuke SATO^{*1}

Ms. Mai USUI^{*2}

^{*1} Contract Researcher, ^{*2} Secretary

in collaboration with

Dr. Toshinori SUZUKI (Chemical Dynamics Lab.)

Dr. Naoyuki MIYASHITA (Molecular-scale Research and Development team, Research Program for Computational Science)

Visiting Members

Dr. Seiichiro TEN-NO (Nagoya Univ.)

Dr. Takao YODA (Nagahama-Bio Univ.)

Dr. Eiro MUNHEYUKI (Chuo Univ.)
Dr. Ryuichiro ISHITANI (Tokyo Inst. of Tech.)

Trainees

Mr. Yosuke Tsuji (Chuo Univ.)