

## 生体分子のキネティックスの計算手法について

藤崎弘士 (Hiroshi Fujisaki)

日本医科大学 医学部 物理学教室 (Nippon Medical School, Department of Physics)

### 1. はじめに

#### 1.1 生体分子のシミュレーション

タンパク質や DNA などの生体分子は生命現象を支える最も基本的な構成要素であり、その原子レベルでの理解は生命現象を考える上でも重要である。現在では X 線回折実験などによって、巨大な生体分子の原子的な詳細を調べることも可能であり、また動的な現象も調べることもできる（時間分解 X 線回折法などを用いる）。相補的な実験手法である NMR（核磁気共鳴）や振動分光などを用いて原子レベルの情報を得ることも原理的には可能である。ただし、様々な実験上の制約（結晶化の困難、時間空間分解能の問題）から、実験的な情報だけを用いて、生体分子の動的な現象を理解することは難しい（例えば遷移状態の性質など）。

しかし、生体分子が機能する際には、遷移状態を乗り越える、構造変化が起こる、その連鎖としてのシグナル伝達が起こる、などの動的な現象が生じている。またその際には、原子レベルでの相互作用が重要となるので、粗視化されたシミュレーションで分かることも限られている。よって、原子レベルでのダイナミクスを詳細に調べるための手法が求められる。計算機上で古典力学に基づき原子レベルのシミュレーションを行う分子動力学法(molecular dynamics, MD)は、そのために最も適した手法である。力場の精度の問題やサンプリングの効率の問題などがまだ残っているが、現在では確立した手法であり、実験を解釈する上でよく用いられる[1]。

また最近では計算機の並列化や特化したチップの開発も急速に進んでおり、50 残基ほどのタンパク質であれば 1 ミリ秒ほどの時間スケールの計算も可能になってきている[2]。この長さの時間スケールは、生物学的に重要な生体分子の機能と対応しており、現在は機能を調べる上でも計算機を利用することがリーズナブルになってきていると言える。

#### 1.2 生体分子におけるレアイベント

ただし、構造変化のような現象は、（自由）エネルギーバリアを乗り越える現象であり、計算機でシミュレートするのはいまだに難しい。その原因は MD を行うための時間スケールと、構造変化の時間スケールが極端に異なるためであり、レアイベント (rare event) の問題として知られている[3]。将来的には MD を長時間行うことでレアイベントの問題も解決すると思われるが、現在のところはレアイベント

のサンプリングを促進するという戦略がとられる。まずは自由エネルギー曲面を大域的に探索するために、拡張アンサンブル法を用いて、サンプリング効率を上げることが考えられる[1]。ただし、構造変化の経路はある程度局在している場合も多く、その際に自由エネルギー面を大域的に調べるのは効率が悪い。その場合は、ストリング法のような最小自由エネルギー経路を求めるための手法を用いる[4]。ストリング法は非常に簡便かつ強力な方法であるが、いくつかの弱点がある。その一つはキネティックスに関する情報が直接は得られないということである。そこでマルコフ状態モデル (Markov State Model, MSM) やマイルストーン法のような方法が開発されている[5]が、以下では Zuckerman が最近提唱しているノンマルコフな軌道解析法[6]を具体的なペプチドに適用する。

### 2. ノンマルコフな軌道解析法

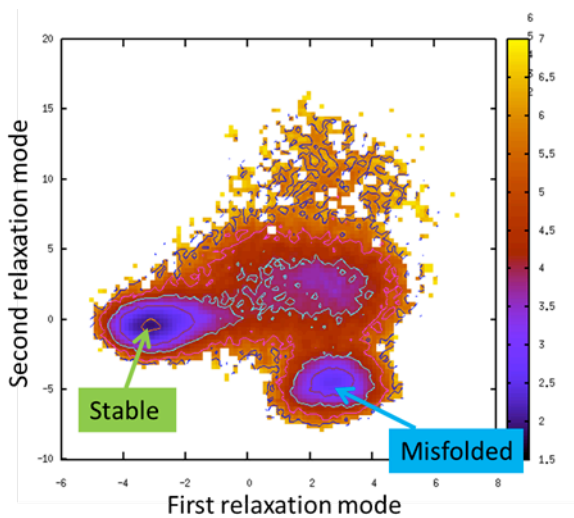
#### 2.1 理論的な枠組み

ノンマルコフな軌道解析法は基本的に MSM から派生した手法である。MSM では、ある状態から別の状態に移るときにすべての記憶がなくなると考えるが、ノンマルコフな解析の場合、どの状態から来たかという情報を常にラベルとして残すので、その意味での記憶が残っていることになる。MSM と同様に、状態間を遷移する頻度から遷移行列を計算し、それから第一通過時間などのキネティックスに関する情報が導かれる。詳細に関しては[6]を参照。

#### 2.2 具体例: シニョリンへの適用と問題点

以上の枠組みを 10 残基のペプチドであるシニョリンに適用した。この系にはエネルギー的に最安定なネイティブ状態と、そのネイティブ状態と比べると水素結合が組み替わっている準安定な状態があることが知られている。その自由エネルギー面などについてはよく調べられているが、キネティックスの振る舞いに関してはよく分かっていない。ただし、Anton を使った計算[2]で、室温(300 K)における、ほどけた状態から最安定状態への遷移は非常に遅い（～1 マイクロ秒）ことが知られている。そこでここではフォールディング温度に近い高温 (420 K) で振る舞いを調べることにした。

キネティックスを調べる場合、まずオーダーパラメーターで区切られた状態が必要となるので、ここでは緩和モード解析[7]で得られたモードを用いた。



ブルである。また、ラグタイムを大きく取ると MFPT は大きくなる。しかし、状態を大きくとるとその依存性は少ない。この結果から、Folded (Stable) → Misfolded の MFPT は 15~25 ns, その逆のプロセスの MFPT は 10~15 ns と見積もることができる。この結果はダイレクトな MD 計算をして得られる MFPT の値に近い。

### 3. 展望

シニョリンのキネティックスの計算をナイーブなマイルストーン法を使って行なうと、状態を分割するやり方に MFPT が非常に依存してしまうという問題が現れる。それと比べると、ノンマルコフな解析法のほうが理論的にはより一般的であり、その他の生体分子系に対してもよい結果を与えることが知られている[8]。ただし、実際にはラグタイムの弱い依存性が現れるので、それをどのように解決するかという問題は将来の課題である。ラグタイムの問題を克服するためには、コアセットを使ったマイルストーン法を使うということも考えられる[9]。このような手法を発展させることで、生命現象に重要なプロセスのレートが原子レベルで精度よく計算できることが期待される。

2 節での生体分子のキネティックスに関する結果は光武亜代理氏（慶応大）と Luca Maragliano 氏（イタリア工科大）との共同研究の結果である。また、この研究は科研費基盤研究(C)16K00059 の支援を受けている。

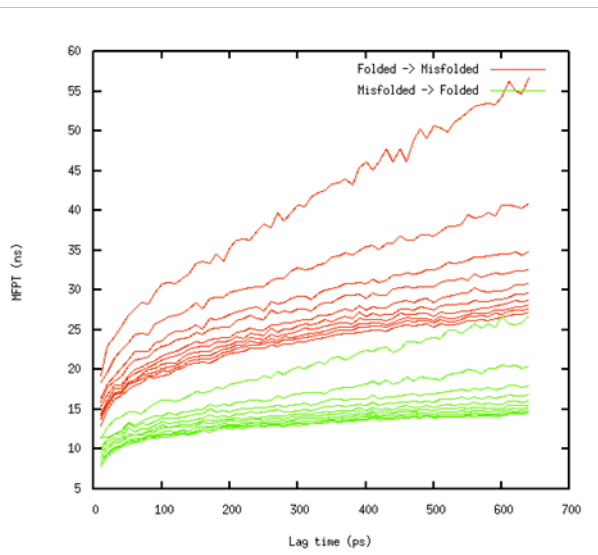


図 1 上：2つの緩和モード上での自由エネルギー曲面。下：安定状態と準安定状態の間で定義される平均第一通過時間(MFPT)のパラメータ依存性。

その自由エネルギー面からネイティブ状態と準安定状態を2次元の円内の状態として定義した(図1上)。そして、それらの状態以外を中間状態とする3状態モデルから、ノンマルコフな軌道解析を行った。ただし、その際に、遷移を観測する時間のインターバル(いわゆるラグタイム)と状態を定義するための半径を変えて、平均第一通過時間(mean first passage time, MFPT)を計算した。その結果が図1下である。赤線は Folded (Stable) → Misfolded の遷移の MFPT, 緑線はその逆の遷移の MFPT を表す。横軸はラグタイムであり、複数の曲線は異なる状態を定義するための半径による違いを表す。上の曲線がより小さな半径に対応する。

この図から、まず状態を定義する半径を大きくすると MFPT は小さくなるのが分かる。これは状態間の距離が近づくことに対応しているのでリーズナ

### 参考文献

- [1] D.M. Zuckerman, *Statistical Physics of Biomolecules: An Introduction*, CRC Press (2010); 邦訳は、藤崎弘士・藤崎百合訳、生体分子の統計力学入門、共立出版(2014).
- [2] K. Lindorff-Larsen, S. Piana, R.O. Dror, and D.E. Shaw, *Science*, **334**, 517–520 (2011).
- [3] W. E, *Principles of Multiscale Modeling*, Cambridge Univ. Press (2011).
- [4] Y. Matsunaga, H. Fujisaki, T. Terada, T. Furuta, K. Moritsugu, and A. Kidera, *PLoS Comput. Biol.* **8**, e1002555 (2012).
- [5] 藤崎弘士, 分子シミュレーション研究会誌アンサンブル, **17**, 175-180 (2015).
- [6] 藤崎弘士, 分子シミュレーション研究会誌アンサンブル, **18**, 39-44 (2016).
- [7] A. Mitsutake and H. Takano, *J. Chem. Phys.* **143**, 124111 (2015).
- [8] E. Suarez, D.M. Zuckerman, private communication.
- [9] C. Schutte, F. Noe, J. Lu, M. Sarich, and E. Vanden-Eijnden, *J. Chem. Phys.* **134**, 204105 (2011).