

課題1: 蛋白質や核酸は細胞内でどのように働いているのか? : 細胞環境を考慮したシミュレーションが可能にする新しい生命科学と応用

2013年9月9日

HPCI戦略プログラム 分野1 課題1

独立行政法人理化学研究所

杉田 有治



自己紹介

■ 自己紹介と研究チーム紹介

■ グループリーダー: 杉田有治

- 独立行政法人理化学研究所杉田理論分子科学研究室主任研究員
- 同計算科学研究機構TLと同生命システム研究センターTLを兼務

■ 課題参加者(チームリーダー)

- 河野秀俊(原子力機構)、高橋恒一(理研)、石谷隆一郎(東大)、高田彰二(京大)、林重彦(京大)、池口満徳(横浜市大)

■ 背景

- 分子動力学(MD)計算: 実験(結晶構造を用いたX線解析)で得られた蛋白質の構造を用いて、運動方程式 $F=ma$ を解くことでダイナミクス(動き)の情報を得る事ができる
- 蛋白質の分子動力学(MD)の発展

最初のMD計算(1997)



BPTI(58アミノ酸)
9 ps (10^{-11} 秒)
真空中の計算

蛋白質のモデル計算

最近のMD計算 (2005)



イオンポンプ(994アミノ酸)
100 ns (10^{-7} 秒)
生体膜中の計算

1つの蛋白質のリアルな短時間計算

「京」を用いたMD計算

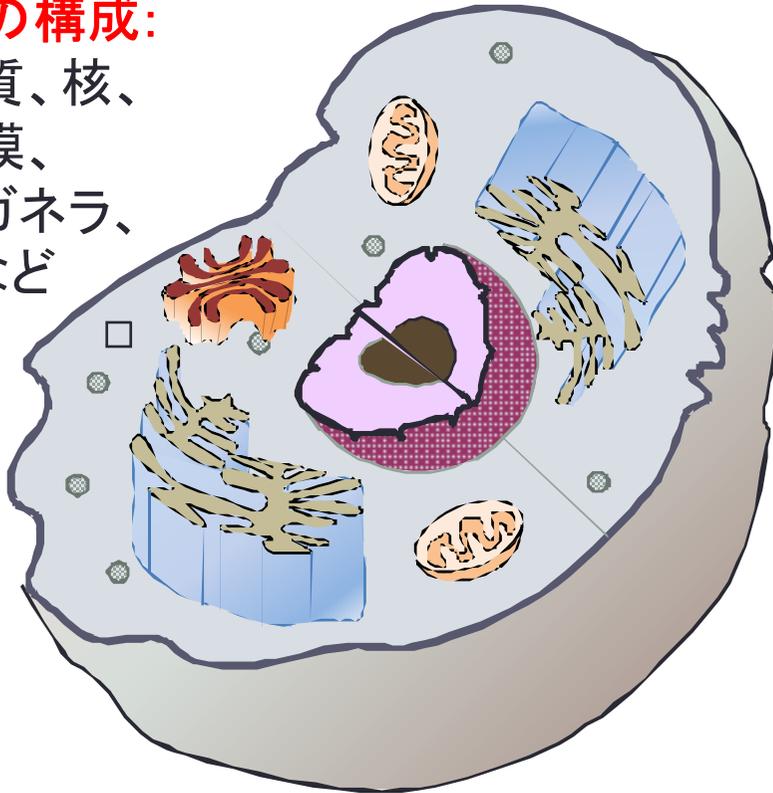


研究目的

■ 生命の基本単位：細胞

細胞の構成：

細胞質、核、
生体膜、
オルガネラ、
などなど



1) 例えば、細胞の組成において、水分子が7割の体積を占め、生体分子は残り3割を占める。その実態は？

例：大腸菌(レニンジャー生化学)

水	(70%)	糖質	(3%)
蛋白質	(15%)	脂質	(2%)
DNA	(1%)	無機質	(1%)
RNA	(6%)	小分子有機物	(2%)

2) 70%の水の中でタンパク質は混み合った環境で働いている。

(下はイメージ図)

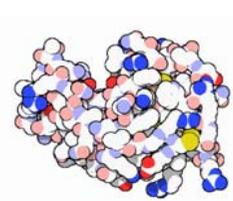


3) しかし、細胞内環境の実態は実験的にも、まだほとんどわかっていない。分子シミュレーションと構造生物学の連携によって、細胞環境を考慮した新しい生物科学、創薬応用などを切り開く。

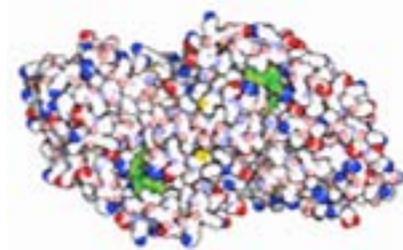
研究背景(1)

■ 蛋白質は細胞内の分子機械として働く

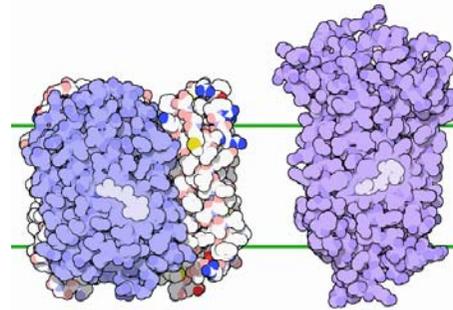
リゾチーム
細菌の膜を壊す



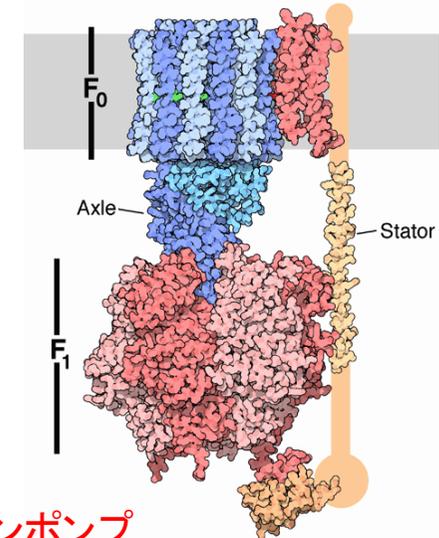
アルコール脱水素酵素
アルコールを解毒する



ロドプシン
眼で光を見る

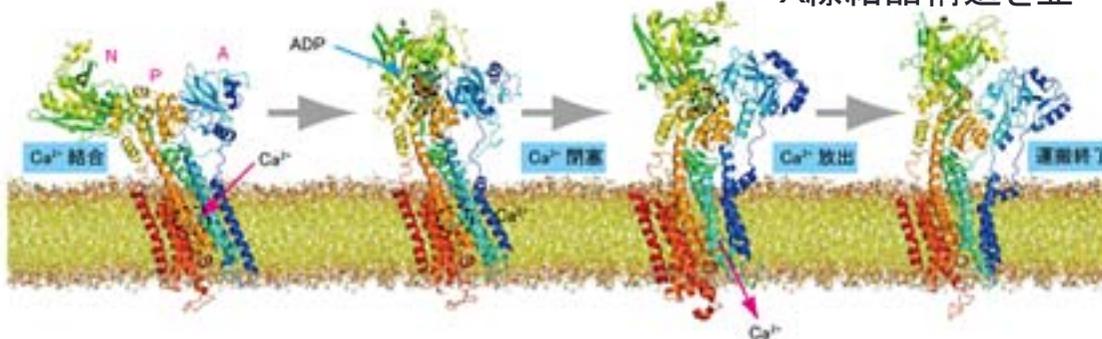


ATP合成酵素
エネルギー源(ATP)を合成する



■ 蛋白質はダイナミックに構造を変化させて機能する

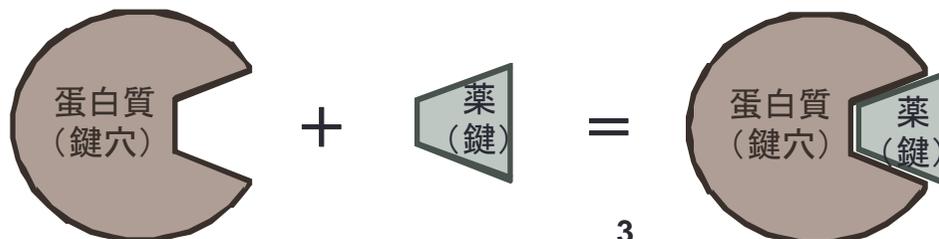
X線結晶構造を並べた図



カルシウムイオンポンプ

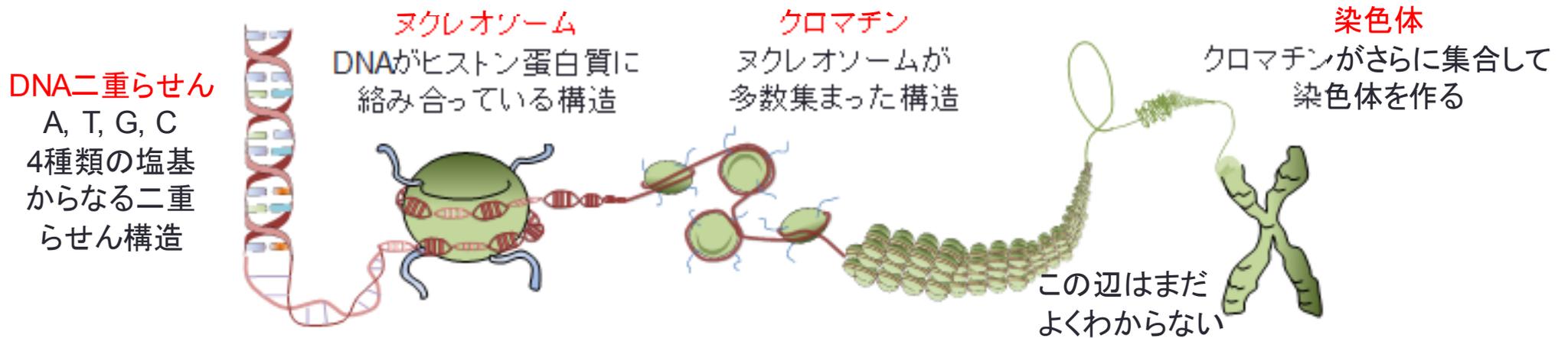
筋肉の弛緩に必要
蛋白質の構造を変化させることで1
万倍のイオンの濃度差に逆らってカ
ルシウムイオンを輸送する

■ 多くの薬は蛋白質の動きを止めたりして、機能を阻害する



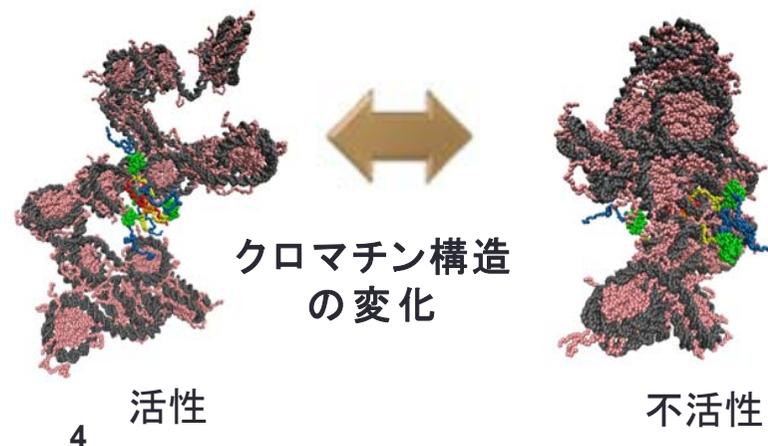
研究背景(2)

- DNAは核の中で遺伝情報を保持している。
- 近年、DNAが核の中で収納されている仕組みがわかってきた。



- 遺伝情報が働くのはクロマチン構造が変化するためである。
 - したがって、さまざまな疾患や癌の原因を知るためにはクロマチンを知る必要がある。

悪性腫瘍では、癌抑制遺伝子の高メチル化が起こり、遺伝子発現が抑えられる。一方、ゲノムワイドに低メチル化が見られ、染色体が不安定化する。

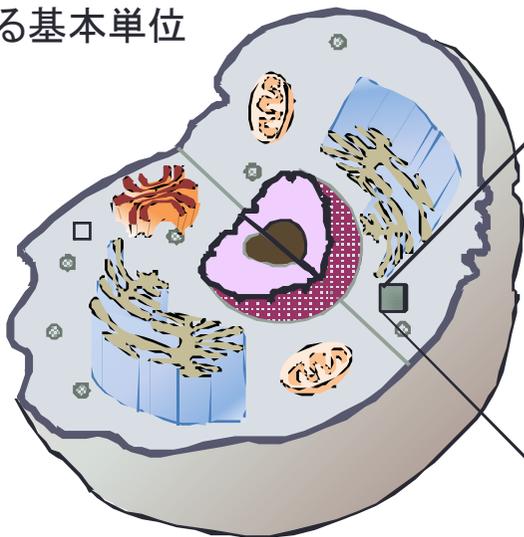


研究目的

- 蛋白質や核酸が働く現場である細胞内環境でのシミュレーションを行い、細胞機能を分子レベルで解明したい

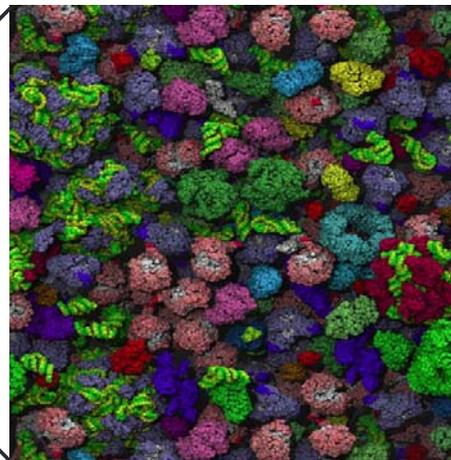
細胞:

生命を構成する基本単位
細胞質、核、
生体膜、
オルガネラ



細胞質環境:

多くの蛋白質、核酸などで混雑



細胞の組成:

水が7割、その他を生体分子

例: 大腸菌 (レニンジャー生化学)

水	(70%)
蛋白質	(15%)
DNA	(1%)
RNA	(6%)
糖質	(3%)
脂質	(2%)
無機質	(1%)
小分子有機物	(2%)

■ 知りたいこと

- いろんな生体分子が含まれる細胞内分子混雑環境において蛋白質構造は本当に安定か？他の分子に邪魔されず機能を発現できるか？
- ヌクレオソームにおけるDNAと蛋白質の相互作用、遺伝子メチル化による影響、核内のクロマチン構造。遺伝疾患や癌などの分子機構の解明。

MuGuffee and Elcock, PLoS Comp. Biol.
2010, 6, e1000694

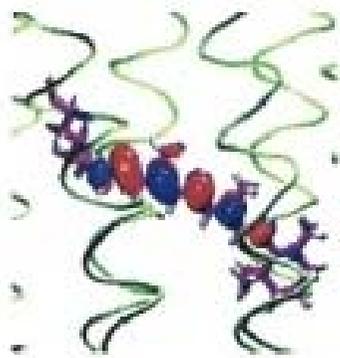
「京」の利用(1)

- 「京」の能力を生かした「細胞環境を考慮した分子シミュレーション」を行うためにはどうしたら良いか？
 - 1) 巨大な分子システムを、その相互作用をそれぞれのCPUに分割した並列計算を行う
 - 普通の計算機: 数十万原子がほぼ限界
 - 「京」: 1千万原子から1億原子以上の超巨大系の計算が可能
 - GENESIS: 杉田チーム(理研)が開発中のプログラム
 - 2) 中規模の分子システムを複数同時にシミュレーション(レプリカ)をして、より長い時間に対応する計算を行う
 - 普通の計算機: 小規模系の数十レプリカの計算
 - 「京」: ヌクレオソームの百レプリカの計算
 - SCUBA: 河野チーム(原子力機構)が開発中のプログラム
 - 3) 複数の解像度を持つモデルを接続した計算
 - マルチスケール分子モデルの利用
 - 林チーム(京大)、池口チーム(横浜市大)、石谷チーム(東大)、高田チーム(京大)、高橋チーム(理研)

「京」の利用(2)

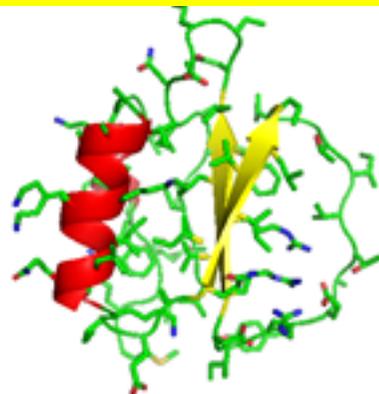
- 「マルチスケール分子モデルの利用による系の大規模化、高精度化」

林・池口



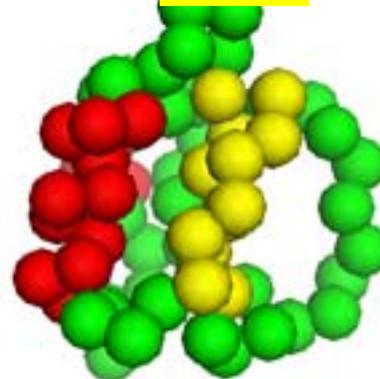
QM/MM model

杉田・河野・石谷・太田



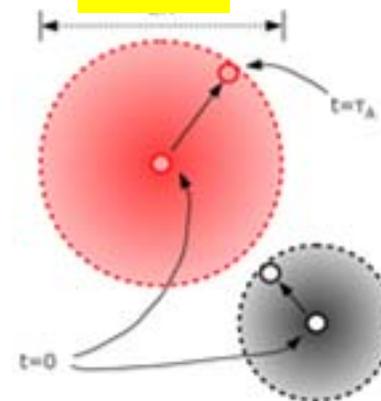
All-atom model

高田



Coarse-grained model

高橋



Single-particle model

- 精度の良い計算は、計算時間がかかるので小さいシステムに応用
- 粗いモデル計算が早いので大きなシステム、長時間計算に利用
- 粗いモデルは、精度の高いモデル計算や実験データを使って、必要な精度を保つ。

- 量子力学／分子力学(QM/MM)モデル: 電子状態を高精度で計算
- 全原子(All-atom)モデル: 原子一つ一つの構造や運動を計算
- 粗視化(Coarse-grained)モデル: 数個の原子を一つの粒子として計算
- 一分子粒度(Single-particle)モデル: 蛋白質を一つ粒子として扱う

- これらのモデルを組み合わせた解析を、チーム間の連携によって行っている。

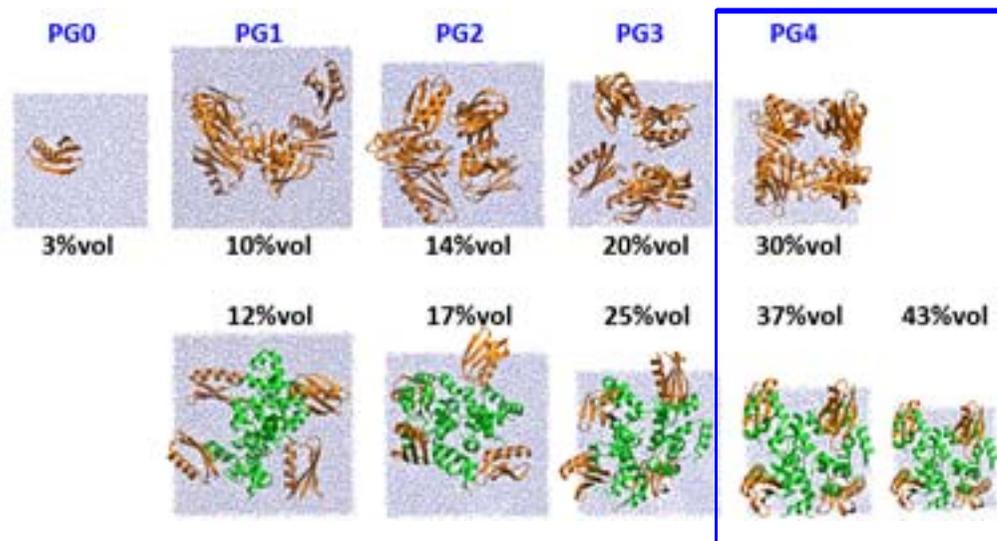
研究成果

■ 細胞内分子混雑環境のシミュレーション

例: 大腸菌 (レニンジャー生化学)

水	(70%)	糖質	(3%)
蛋白質	(15%)	脂質	(2%)
DNA	(1%)	無機質	(1%)
RNA	(6%)	小分子有機物	(2%)

系統的に蛋白質濃度を变化させた分子混雑計算

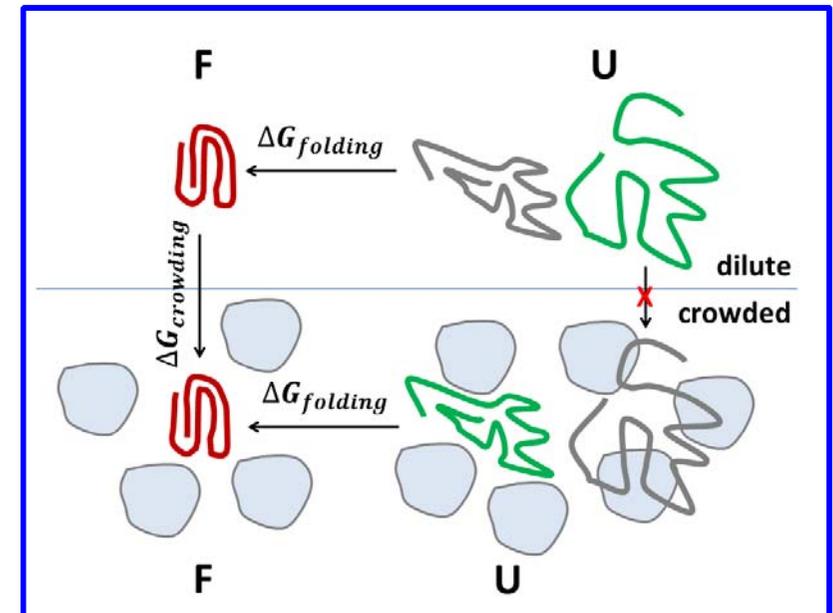


細胞内の蛋白質濃度

シミュレーションでわかった事

- 1) 分子混雑環境では、水の性質が異なる (ネバネバ)。
- 2) 蛋白質間の相互作用はむしろ強くなる。
- 3) 蛋白質構造は安定にも不安定にもなる。
- 4) NMR実験と良く一致する。

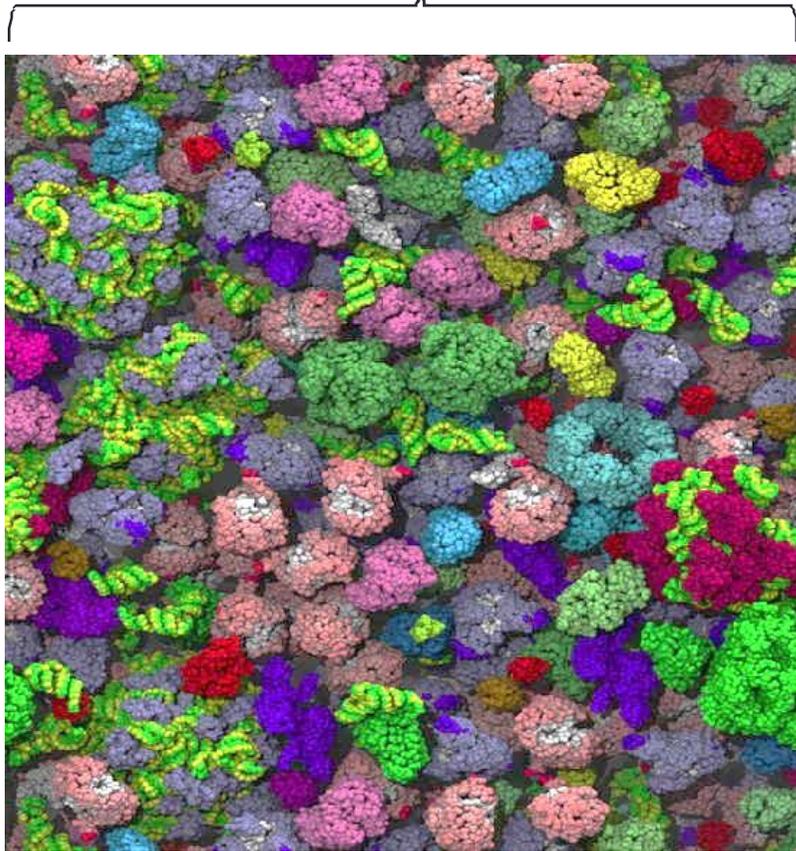
Harada et al. JACS (2012), JACS (2013)



分子混雑環境という細胞環境の一つの特性については、分子シミュレーションから新しい知見が得られた。実際の細胞環境について何が出来るか？

研究成果

100nm = 1/10000mm



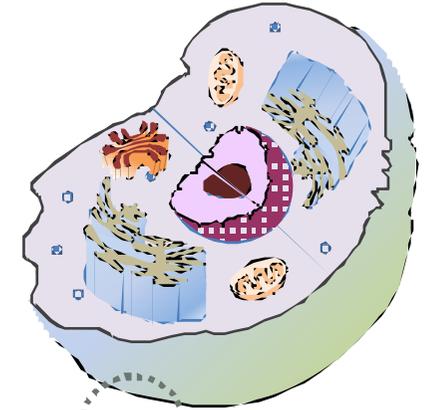
細胞質

MuGuffee and Elcock, PLoS Comp. Biol.
2010, 6, e1000694

世界初の細胞質のまるごと
計算を「京」で実行中!!!

10μm
=1/100 mm

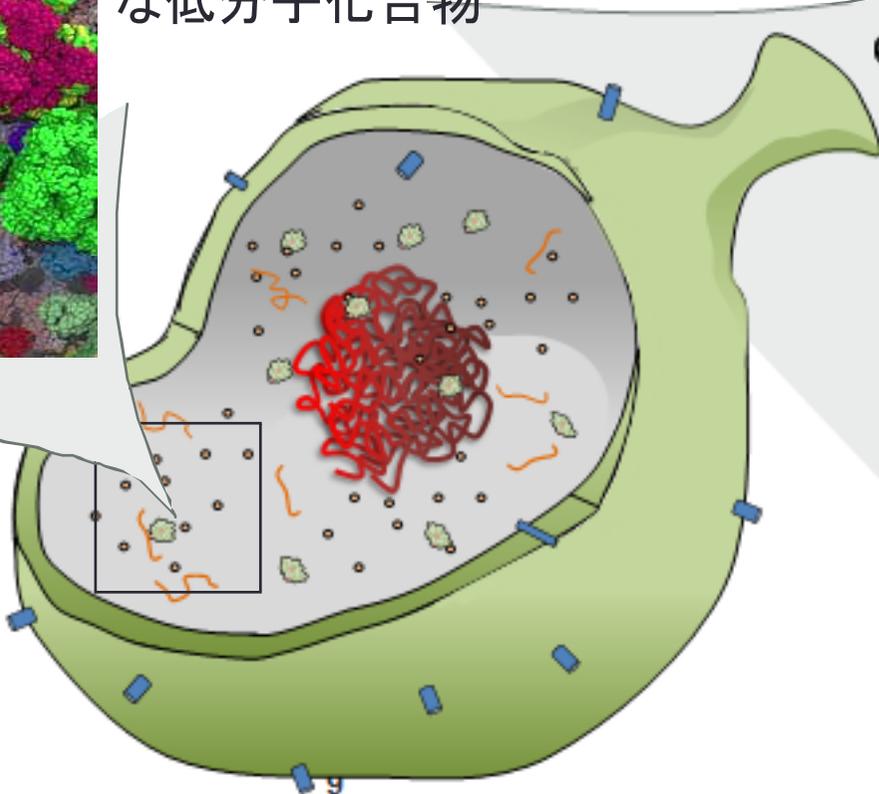
一般的な動物細胞



100x100x100nm中に
1億個の原子(水含む)
数千個の蛋白質と膨大
な低分子化合物

マイコプラズマ
(細菌)

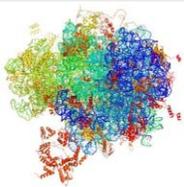
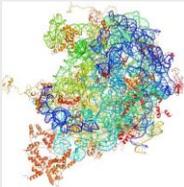
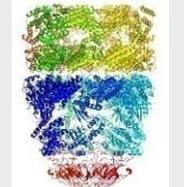
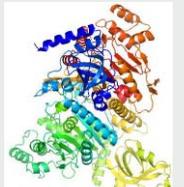
300nm
=3/10000mm



研究成果

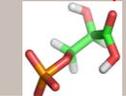
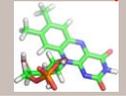
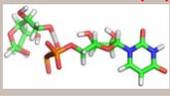
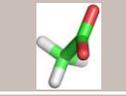
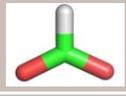
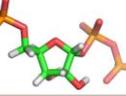
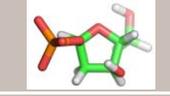
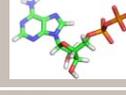
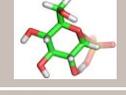
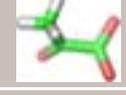
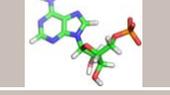
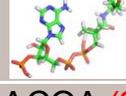
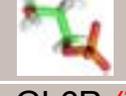
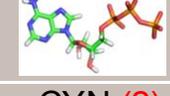
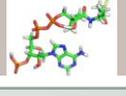
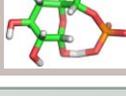
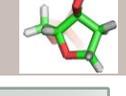
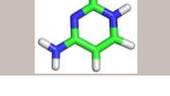
- **細胞質まるごと計算**で理解したいこと
 - 混雑した環境で、蛋白質がどのように動いて、どうして相互作用するのか？
 - 蛋白質とターゲットとなる薬がどのように出会うことができるのか？

計算に含まれる蛋白質の一部

RP (2) 	R50P 	GROL (3) 	PYK (2) 
GAPA (5) 	LYSS 	RR5 	ACKA(13) 
FOLD 	PGI (5) 	METK 	MANB(3) 

これらが細胞内分子混雑環境でどのように出会う相互作用するのか？

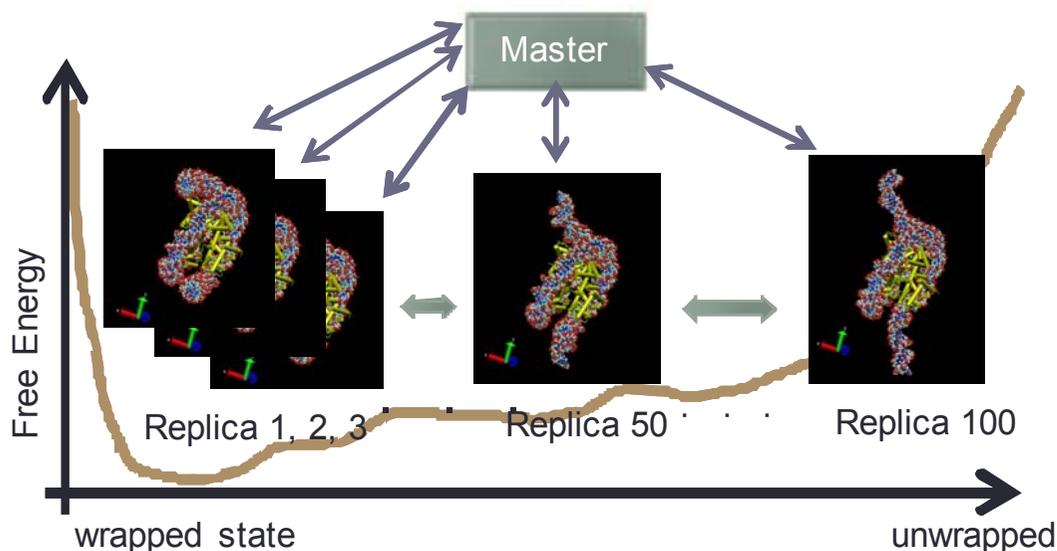
計算に含まれる低分子化合物の一部

GL3P (76) 	FMN (4) 	PYRP (7) 	UDGF (7) 
ACET (63) 	FOR A (14) 	PRPP (7) 	DRB1 
ADPG 	GL1P (140) 	PYRV (8) 	AMP (13) 
COA (165) 	GOLP (16) 	RB1P (6) 	ATP (673) 
ACOA (38) 	GL6P (7) 	DRB5 (2) 	CYN (2) 

(蛋白質1)対(薬1)の創薬研究から細胞環境を考慮した多対多の新しい創薬応用研究へ

研究成果

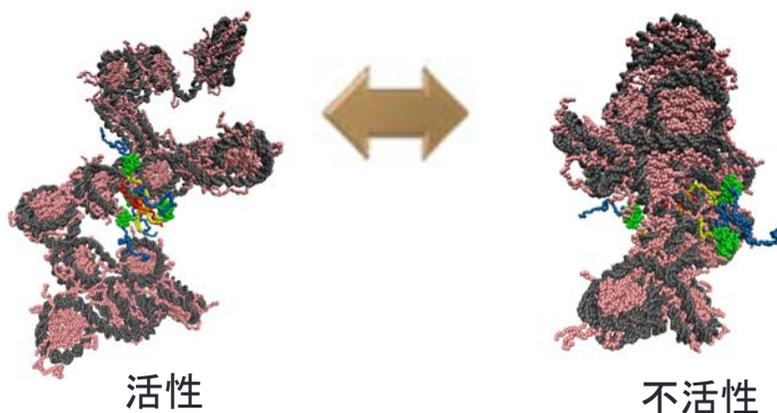
- ヌクレオソームの構造変化(クロマチン構造変化の素過程)
 - レプリカ計算によって、大規模な構造変化のシミュレーションを実現



「京」での計算のイメージ

- 1) 100本の計算(100レプリカ)
- 2) 2ナノ秒/レプリカが1日
48node(「京」は88128nodes)
- 3) 延べ2マイクロ秒の計算が終了
48nodeを約10日利用

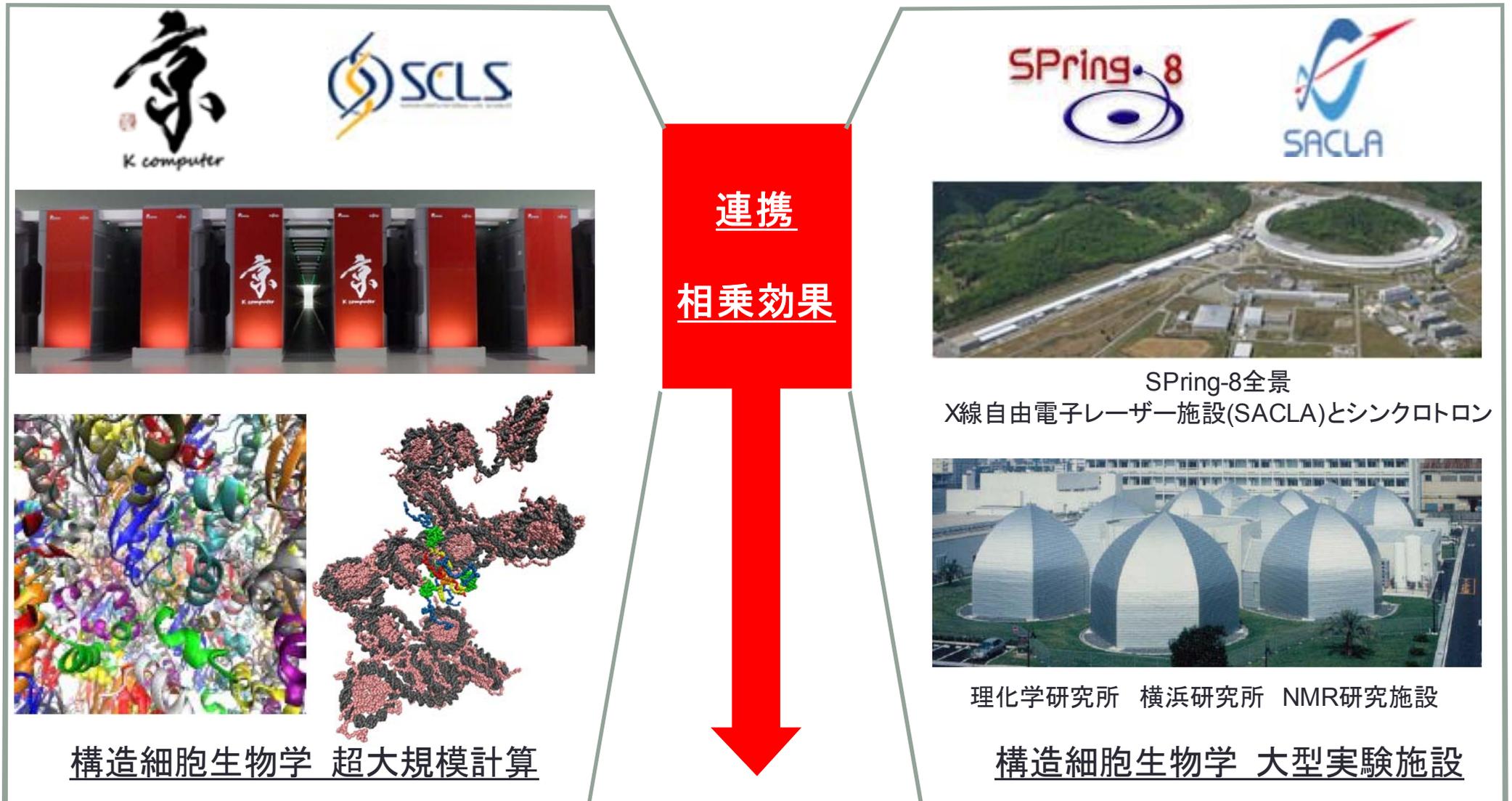
- クロマチン(ヌクレオソームの集合体)の構造変化を予測



マルチスケール分子モデル

- 1) 全原子モデルと粗視化モデルを併用
- 2) 全原子モデルだけでは不可能な
大きな構造変化を計算可能に!
- 3) さらに実験研究と連携

応用・展開



- 「京」を使った大規模シミュレーションと「SPring8」や「SACLA」などの実験を組み合わせ、細胞動態の解明し、次世代の創薬に繋がる基盤を構築する

スケジュール

■ 計画

- 最小の細胞に含まれるほとんどの蛋白質やRNA、代謝物を含む超巨大システムの全原子分子動力学計算(世界最大規模の計算)
 - 現状:「京」などのスパコンで計算中で年内終了。年度内に論文投稿予定。
 - 細胞環境で蛋白質と薬がどのように相互作用するか予測できる。将来的には副作用の少ない**体に優しい創薬**に応用可能。
- ゲノムDNAの収納状況から活性状態への移行時のエネルギー変化の計算
 - 現状:計算はほぼ完了。年内に論文投稿予定。
 - 遺伝子発現、細胞分化、**細胞リプログラミング**(ES細胞、iPS細胞)などの**仕組みの解明**へ、さらにはエピゲノム創薬へ。
- ゲノムDNA(ヌクレオソーム多量体)の溶液構造に関するシミュレーションと放射光実験との連携
 - 現状:次年度に計算開始予定。
 - 「京」と、「SACLA」や「SPring8」などを連携することで、**次世代の構造生物学(結晶構造に依らない)**を構築する。