

ACCESS

LCARS-3004

ONLINE

# タンパク質の分子認識： RISM理論によるアプローチ

378-212

MODE SELECT

VIEW

第4回「計算科学による新たな知の発見・統合・創出」シンポジウム  
～PACS-CSシステムと計算科学～  
2008年4月24日、25日  
筑波大学計算科学研究センター つくば市

吉田紀生  
分子科学研究所

LCARS-3004

ONLINE

# Outline

378-212

MODE SELECT

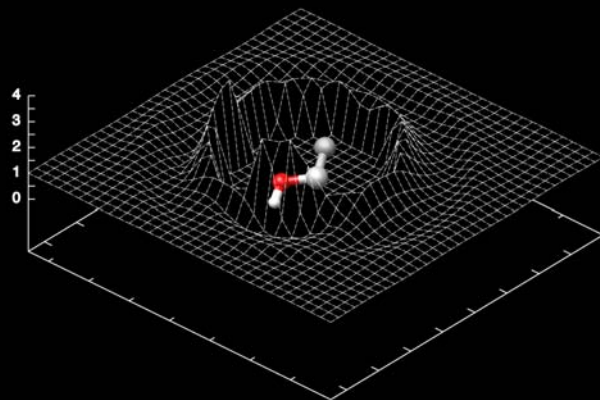
VIEW

ONLINE

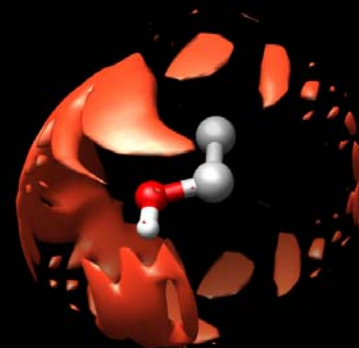
- 3D-RISM理論とは
- 3D-RISMの最近の応用例
  - Ion recognition of lysozyme
  - Proton exclusion of aquapolin
- 超大規模計算プロジェクトに向けて

# What is 3D-RISM Theory?

- 3D-RISM理論：液体の統計力学理論
  - 溶質分子の溶媒和構造を3次元分布で評価
- 3D-Distribution Function (3D-DF):  $g_a^s(\mathbf{r}_a)$ 
    - Example: Oxygen of water distribution around ethanol



3D-DF(  $g_o(r)$  ) on the X-Y plane



$g_o(r) > 2$  is painted

LCARS-3004

ONLINE

# Why choose 3D-RISM Theory?

378-212

MODE SELECT

VIEW

- 初期状態に依存しない、完全な統計平均としての溶媒和構造を得ることが出来る
- 統計誤差がない
- シミュレーションに比べて計算コストは圧倒的に少ない

ONLINE

# 3D-RISM Theory

## ■ 3D-RISM equation:

$$h_a^s(\mathbf{r}) = \sum_{\substack{s' \in \text{Solvent} \\ \text{species}}} \sum_{c \in \text{Site on } s'} c_c^{s'}(\mathbf{r}_c) * \left[ \varpi_{ca}^s + \rho^{s'} X_{ca}^{s's}(\mathbf{r}_{ca}) \right]$$

$$g_a^s(\mathbf{r}) = \begin{cases} \exp(-\beta u_a^s(\mathbf{r}) + h_a^s(\mathbf{r}) - c_a^s(\mathbf{r})) & \text{for } h_a^s(\mathbf{r}) \leq 0 \\ 1 - \beta u_a^s(\mathbf{r}) + h_a^s(\mathbf{r}) - c_a^s(\mathbf{r}) & \text{for } h_a^s(\mathbf{r}) > 0 \end{cases}$$

$$g_a^s(\mathbf{r}) = h_a^s(\mathbf{r}) + 1$$

$$u_a^s(\mathbf{r}) = \sum_{b \in \text{solute}} \frac{q_b^u q_a^s}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_b^u|} + \sum_{b \in \text{solute}} 4 \epsilon_{ab} \left\{ \left( \frac{\sigma_{ab}}{r_{ab}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ab}}{r_{ab}} \right)^6 \right\}$$

# Application: Selective Ion Binding by human lysozyme

- タンパク質による分子認識は生命を維持する上で基本的な生理機構の一つである
- 分子認識機構のもっともシンプルなものとして“**選択的なイオン結合(selective ion-binding)**”がある
- ここでは3D-RISM理論を用いてlysozymeの**選択的なイオン結合**について行った研究を報告する

LCARS-3004

ONLINE

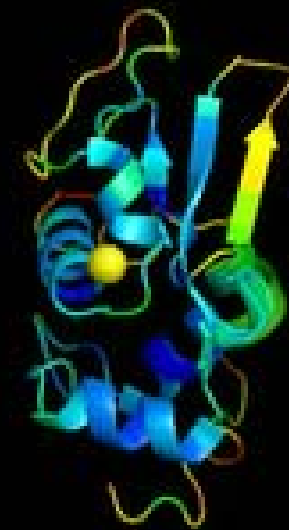
# Background

378-212

MODE SELECT

VIEW

- Target :  
Ion-binding  
by human lysozyme



holo-Q86D/A92D Human Lysozyme mutant

Reference : Kuroki, R.; Yutani, K. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 34310.

ONLINE

LCARS-3004

ONLINE

# Background

378-212

MODE SELECT

VIEW

- 下記のwild typeおよびmutantのイオン選択性を議論する

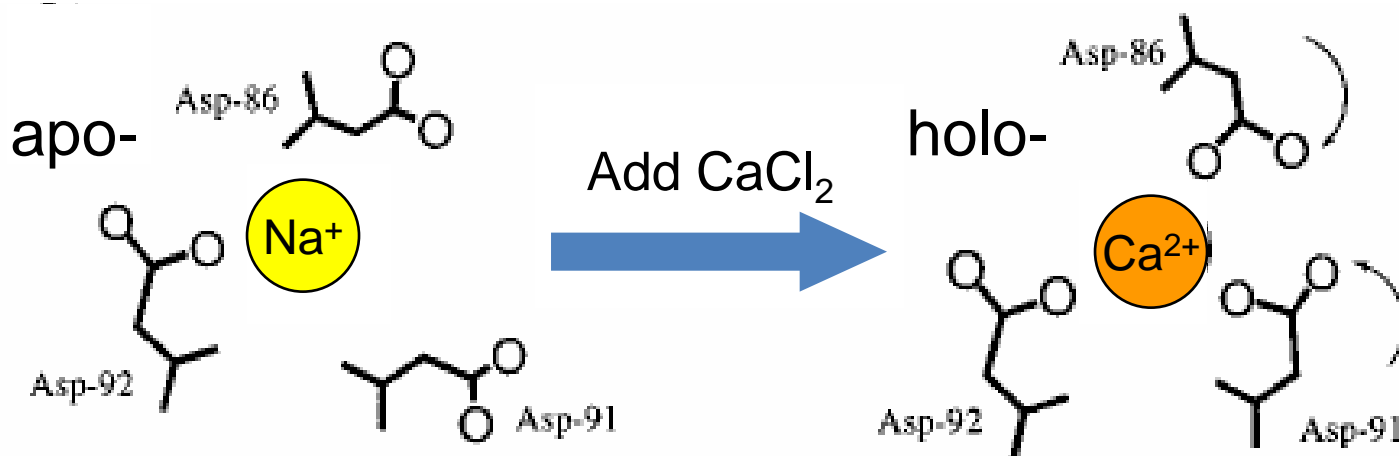
	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92
Wild type	Ala	Leu	Leu	Gln	Asp	Asn	Ile	Ala	Asp	Ala
Q86D	Ala	Leu	Leu	Asp	Asp	Asn	Ile	Ala	Asp	Ala
A92D	Ala	Leu	Leu	Gln	Asp	Asn	Ile	Ala	Asp	Asp
Q86D/A92D	Ala	Leu	Leu	Asp	Asp	Asn	Ile	Ala	Asp	Asp

ONLINE



# Background

- Q86D/A92Dは2つの構造をとる(apo と holo)
- apo-Q86D/A92D: Forms in NaCl aq
- holo-Q86D/A92D: Forms in NaCl/CaCl<sub>2</sub> aq



# Purpose

- Lysozymeの選択的イオン結合について議論する
- イオンの選択性はイオンの分布確率によって評価する  
⇒ イオンの分布関数を3D-RISM理論で求める
- どのmutantがどのイオンを結合するのか？
- 3D-RISM理論はそれらを再現できるのか？

LCARS-3004

ONLINE

# Computational Detail

378-212

MODE SELECT

VIEW

- 無限希釈系を考える
- Lysozyme は 0.01 M の電解質溶液に浸っている (KCl, NaCl, CaCl<sub>2</sub>)
- Lysozyme のポテンシャルパラメータはAmber 99.
- Lysozyme の構造は実験の値を使用(PDBより)

ONLINE

LCARS-3004

ONLINE

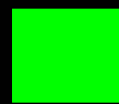
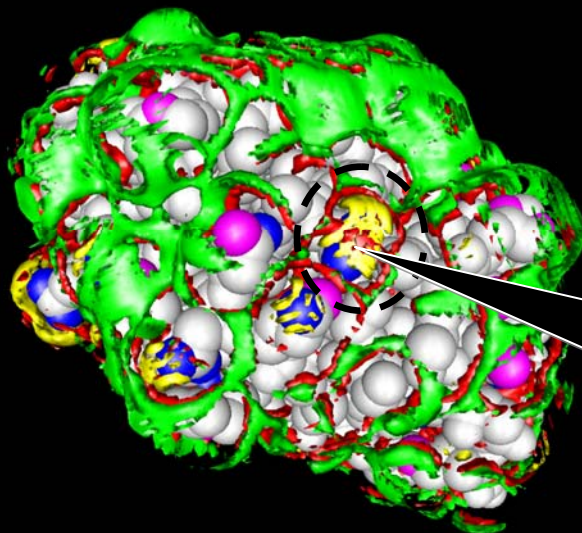
# Results

378-212

- Wild type lysozyme周りの水(の酸素)、 $\text{Na}^+$ 及び $\text{Cl}^-$ の3D-DF

MODE SELECT

VIEW



$\text{Cl}^-$  ( $g(r) > 5.0$ )



O of water ( $g(r) > 3.0$ )



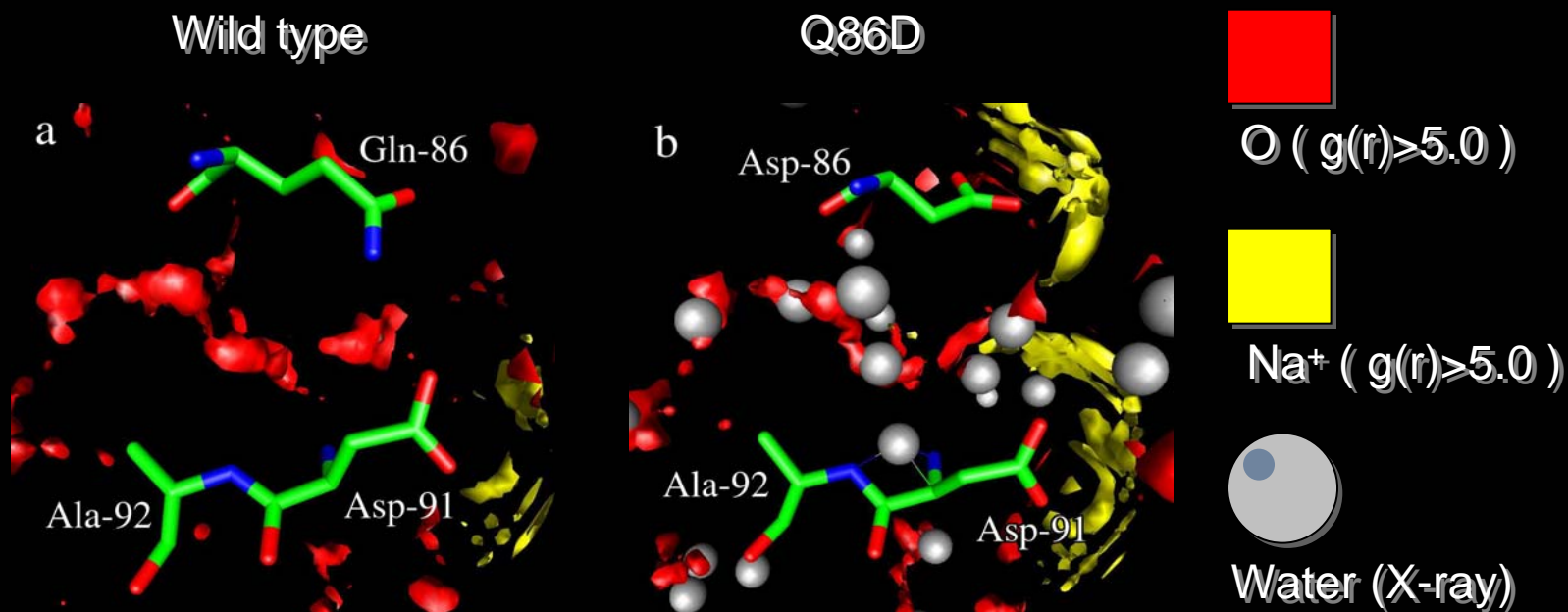
$\text{Na}^+$  ( $g(r) > 3.0$ )

Active site:  
Consists of residues  
from Gln-86 to Ala-92

ONLINE

# Wild type & Q86D

- いずれの場合もアクティブサイト中に $\text{Na}^+$ の分布はみられない
- 負電荷を持つ残基がアクティブサイトの外側を向いているため
- 水の分布は実験とよく一致している



LCARS-3004

ONLINE

# Wild type & Q86D

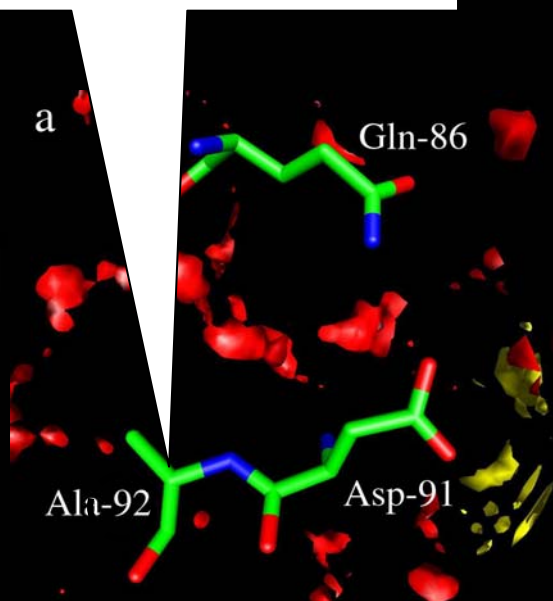
378-212

- Ala-92の炭素を中心として3D-DFを角度方向に平均したRDFを示す
- アクティブサイト内にイオンのピークが無いことがわかる

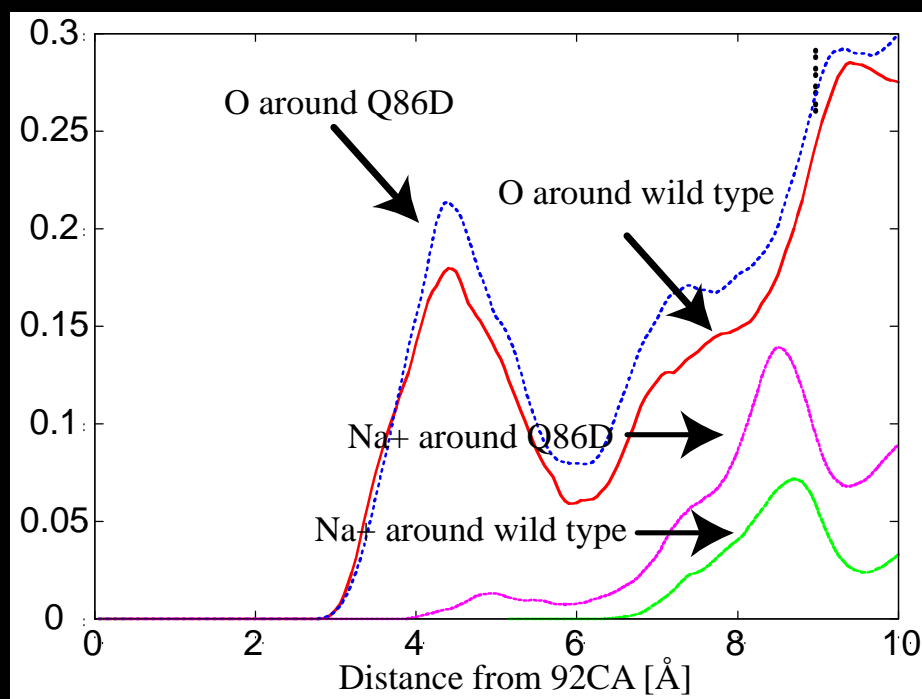
MODE SELECT

Averaging center

VIEW



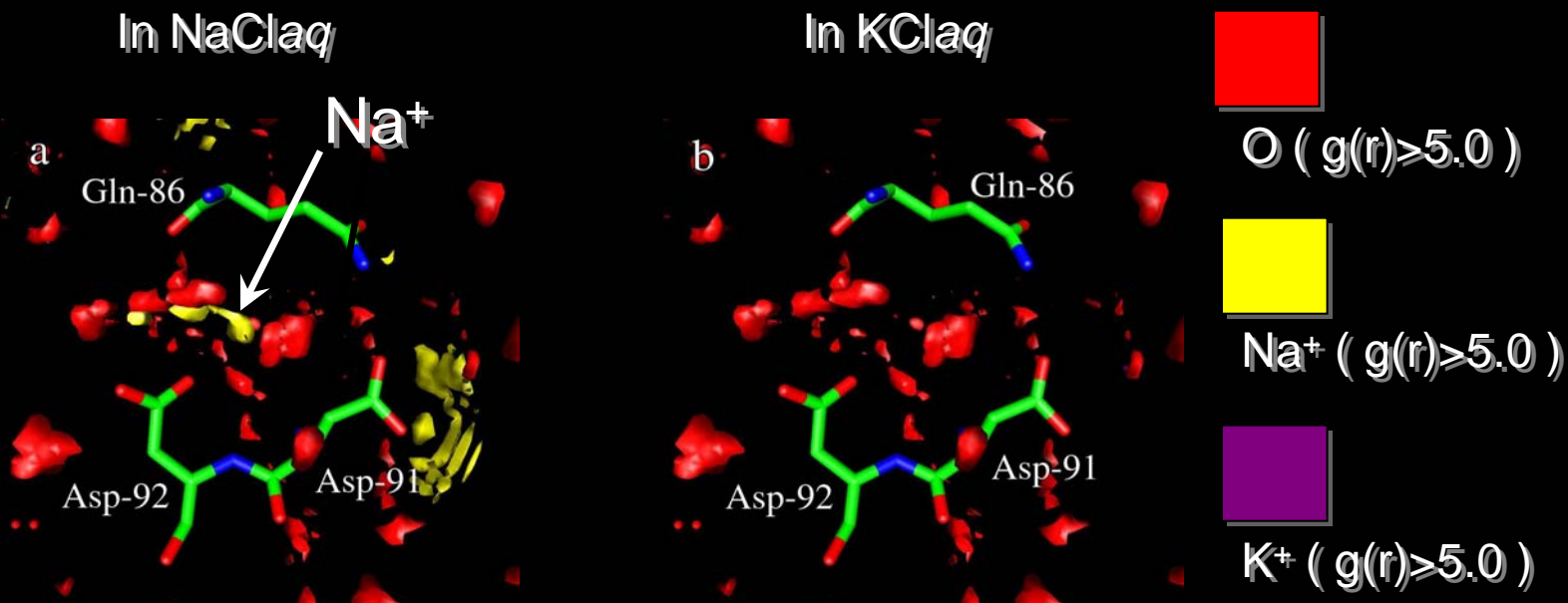
ONLINE





## A92D

- Ala-92をAspで置換したところNa<sup>+</sup>の分布が見られた。→Aspの負電荷がcation親和性をあげた
- K<sup>+</sup>のピークは見られない→サイズが大なので



LCARS-3004

ONLINE

# A92D

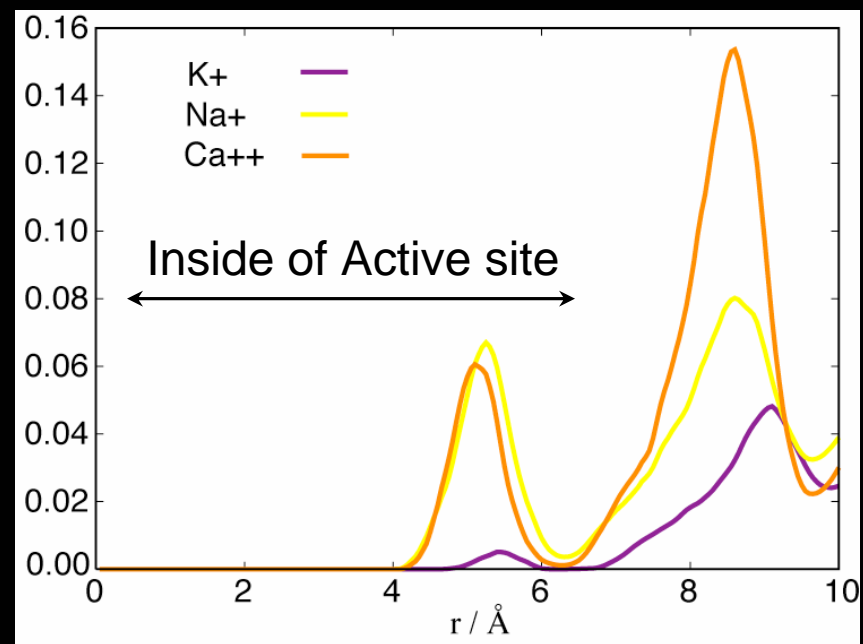
378-212

MODE SELECT

VIEW

ONLINE

- $\text{Na}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ のピークは見られるが $\text{K}^+$ はごく小さいピークのみ
- A92Dが $\text{Ca}^{2+}$ を結合できることがわかったが、これは実験では観測されていない
- $\text{Na}^+$ のピークのほうが大きいため、 $\text{Na}^+$ の親和性の方が高いと予想される





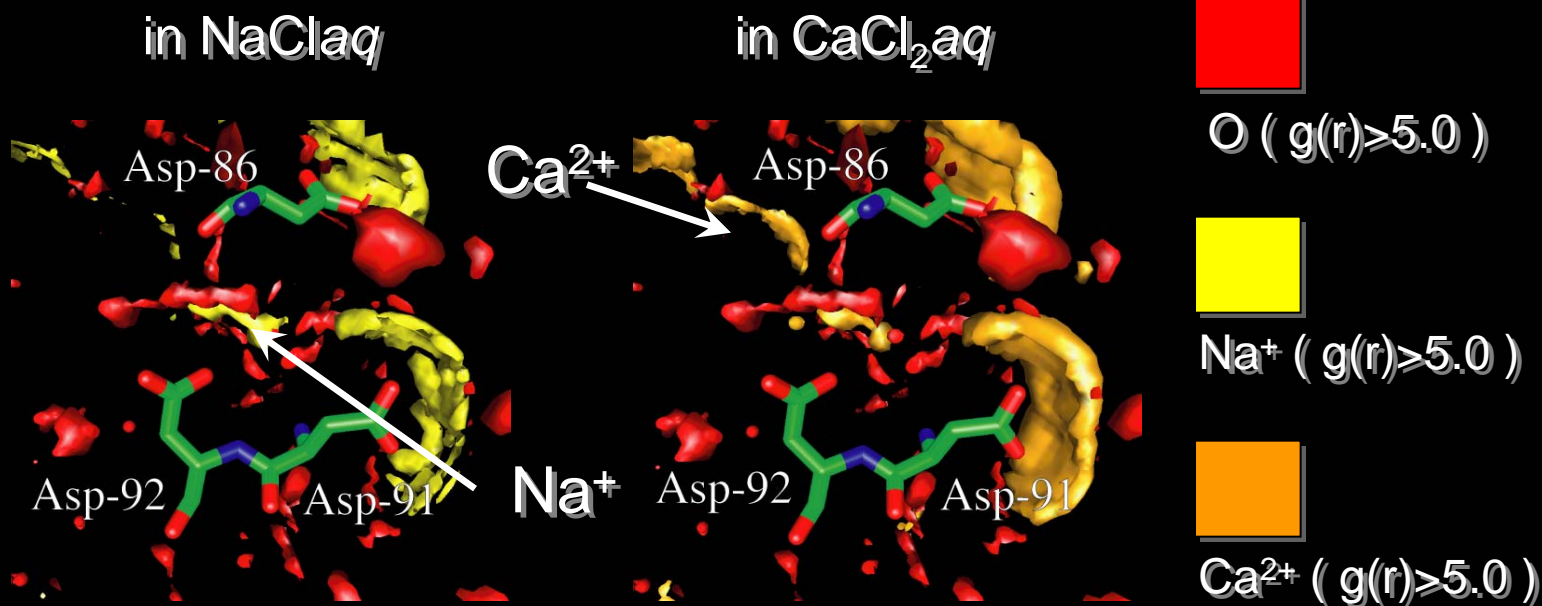
## apo-Q86D/A92D

378-212

MODE SELECT

VIEW

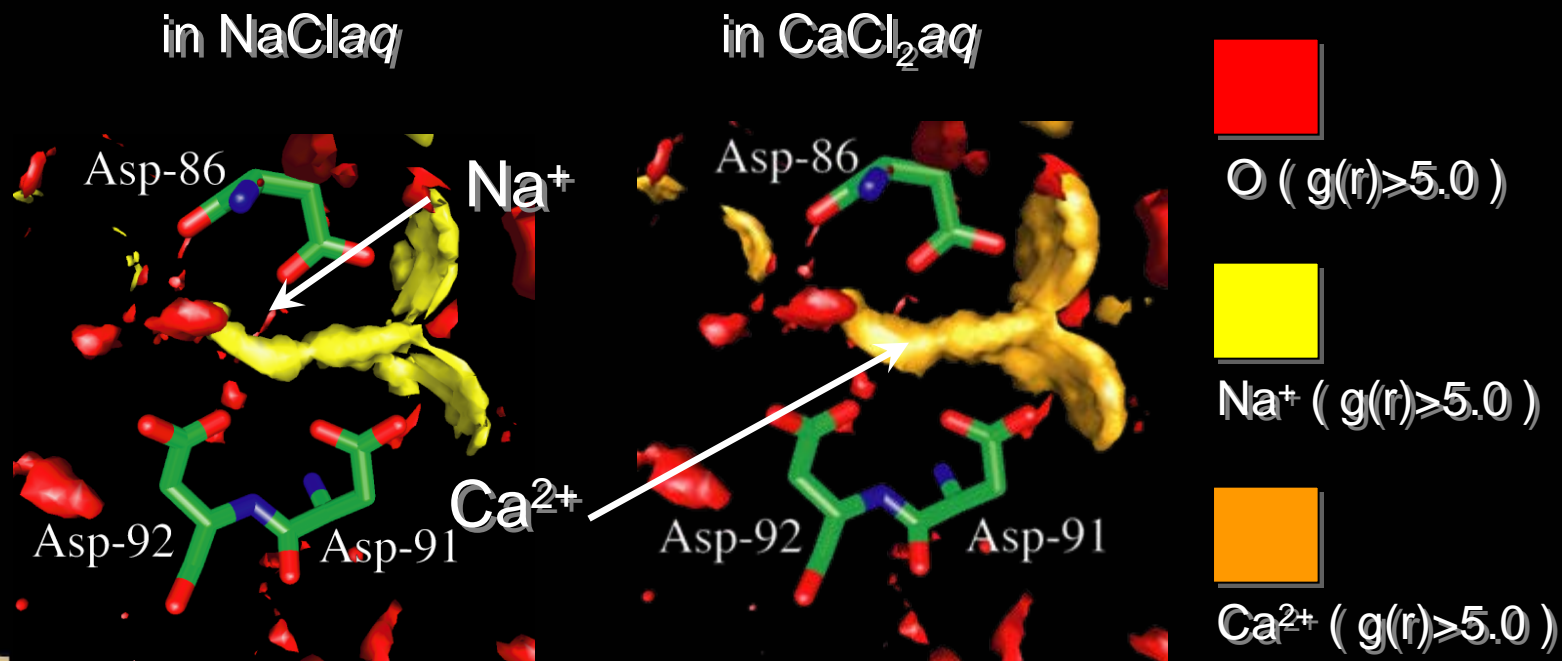
- apo mutantは  $\text{Na}^+$  及び  $\text{Ca}^{2+}$ のいずれも結合する
- 実験では $\text{Ca}^{2+}$ 存在化ではholo体に変異してしまうため、apo体の $\text{Ca}^{2+}$ 親和性は分かっていなかった



ONLINE

## holo-Q86D/A92D

- 2つのAspが内側を向くため、つよいcation親和性をしめす
- $\text{Na}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ の両方のピークが見られる



LCARS-3004

ONLINE

# apo- & holo-Q86D/A92D

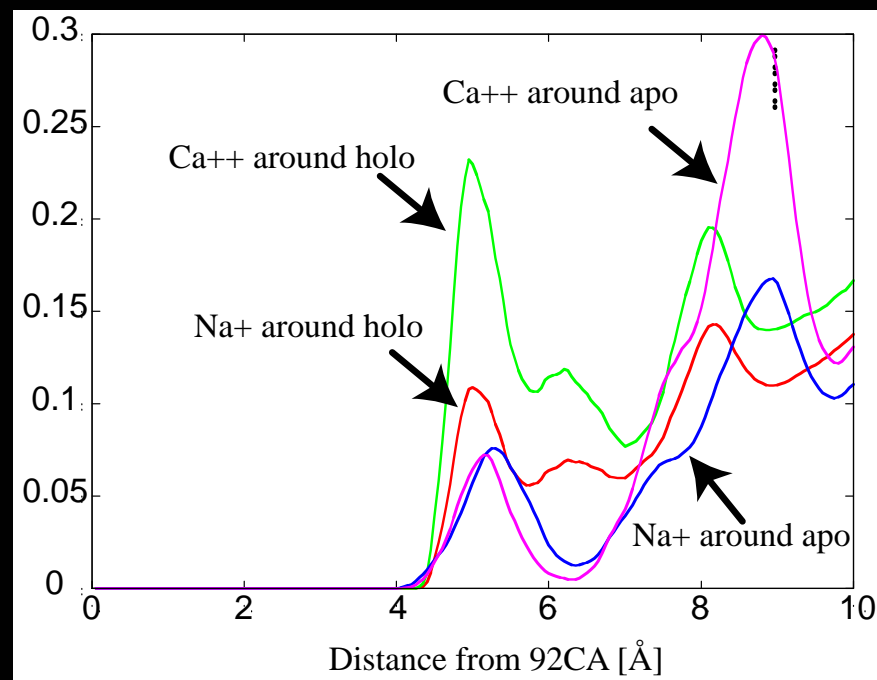
378-212

MODE SELECT

VIEW

- holoでは $\text{Ca}^{2+}$  のピークは $\text{Na}^+$ のピークの2倍以上
- apoで $\text{Ca}^{2+}$ を結合した後、holo体へ変異か？

ONLINE

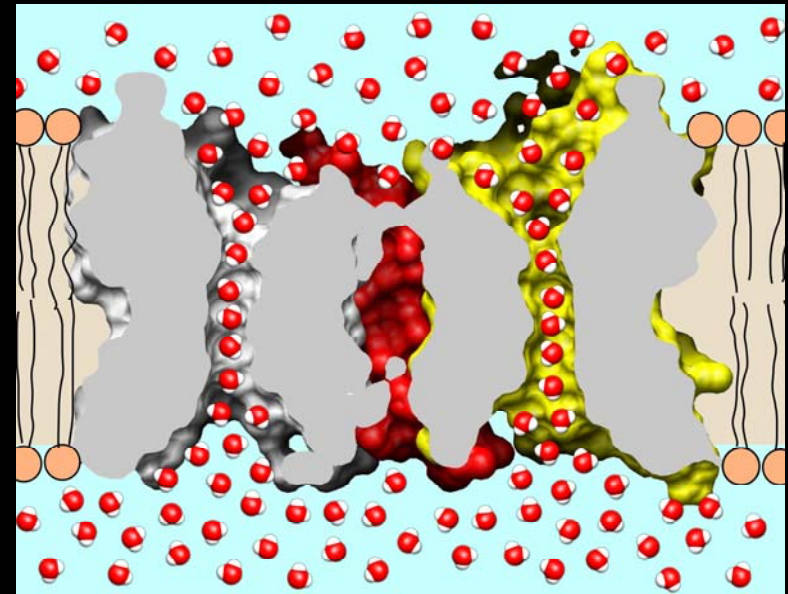


# Summary

- Wild typeおよびQ86Dはどのイオンも結合しない  
Q86D/A92Dは $\text{Na}^+$ 及び $\text{Ca}^{2+}$ いずれも結合する→実験と一致
- A92Dは実験と異なり $\text{Ca}^{2+}$ とも親和性をみせた  
(ただし、 $\text{Na}^+$ の方が親和性は高い)
- 3D-RISM理論で実験が再現できたことで、実験が行われていない別のmutantなどに対してもイオン選択性を予言出来ることが示された

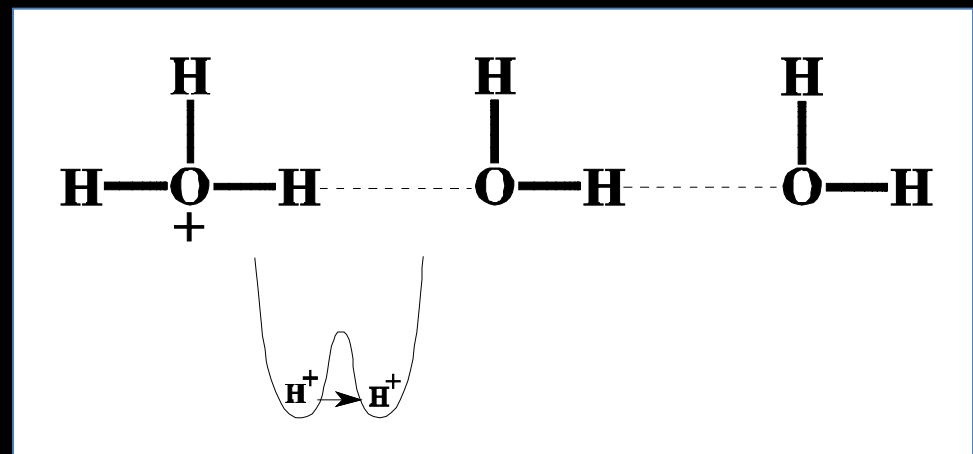
# Application: Proton exclusion in aquaporin channels

- アクアポリンは4個の分子チャンネルからなる複合チャンネルであり、水分子を透過することにより細胞内の水の濃度を調節する重要な蛋白質である。
- アクアポリンチャンネルは高い選択性を持ち、イオンはおろかプロトンさえも通さない
- アクアポリンのプロトン排斥機構についてはこれまで多くの研究がされているが未だに議論はつきない



# Proton transport in water

- $\text{H}_3\text{O}^+$ としての輸送
- 水素結合を介したプロトンジャンプまたはGrotthuss機構による輸送





LCARS-3004

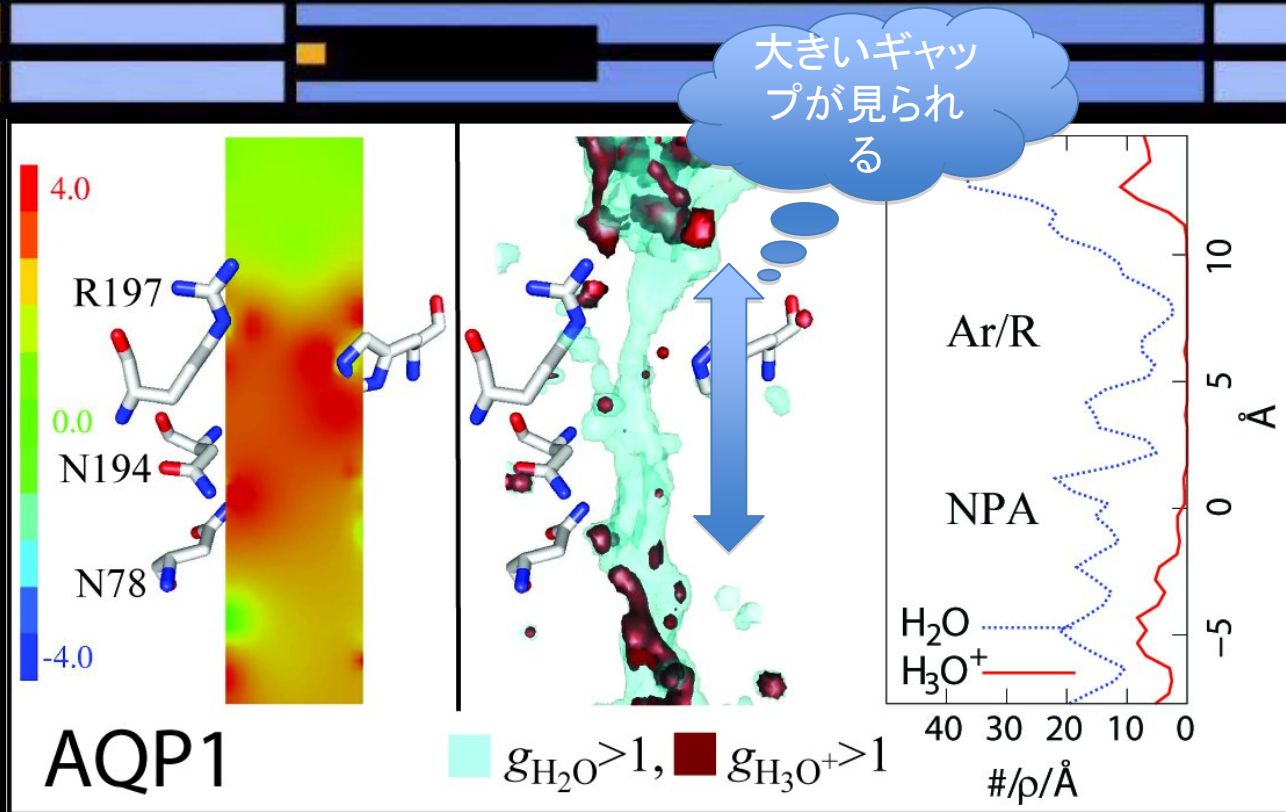
ONLINE

# Results : AQP1

378-212

MODE SELECT

VIEW



AQP1

$g_{H_2O} > 1$ ,  $g_{H_3O^+} > 1$

$\#/\rho/\text{\AA}$

Electronic Potential

3D-DFs

1D profiles

ONLINE

LCARS-3004

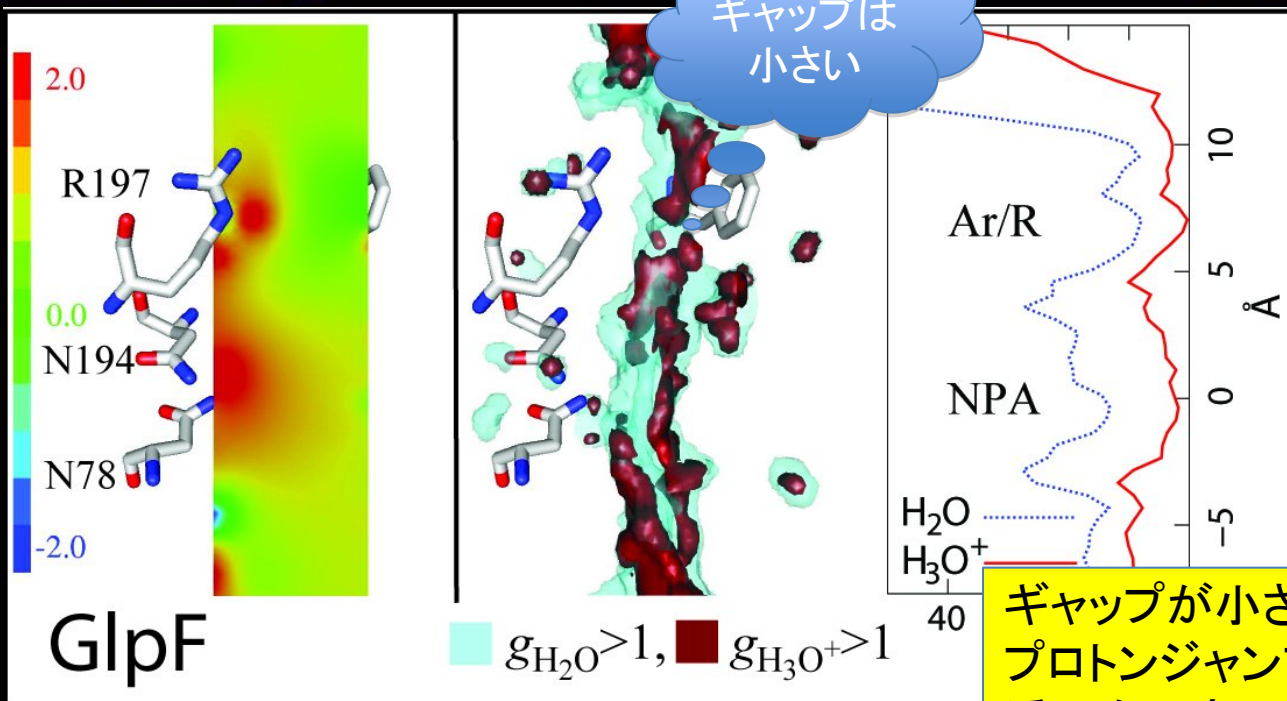
ONLINE

# Results : GlpF

378-212

MODE SELECT

VIEW



Electronic  
Potential

3D-DFs

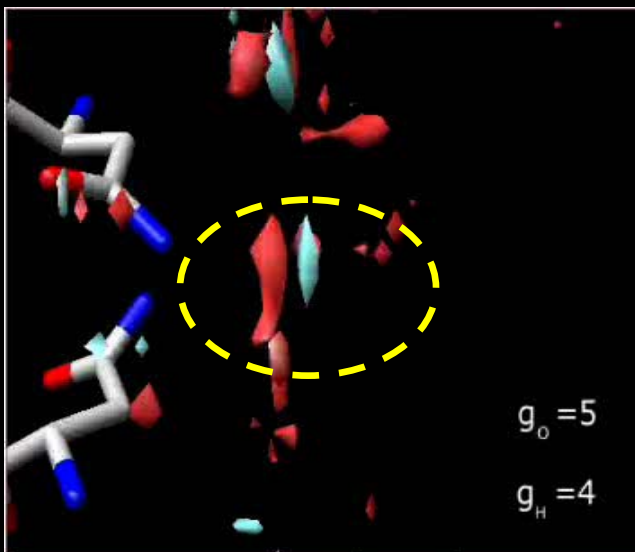
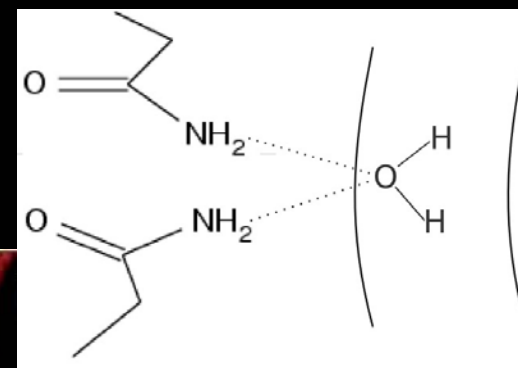
1D profiles

ONLINE

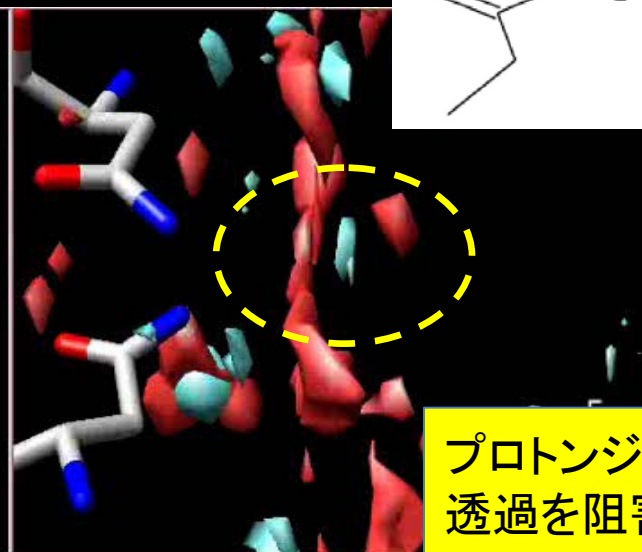


# NPA region

水の酸素が二つのNH<sub>2</sub>の  
方向に配向している



AQP1



GlpF

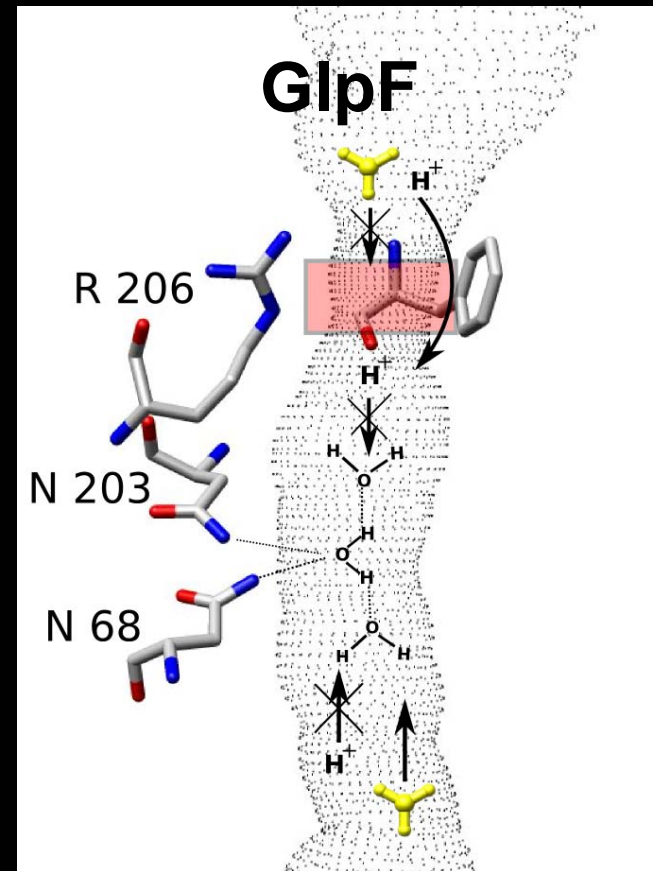
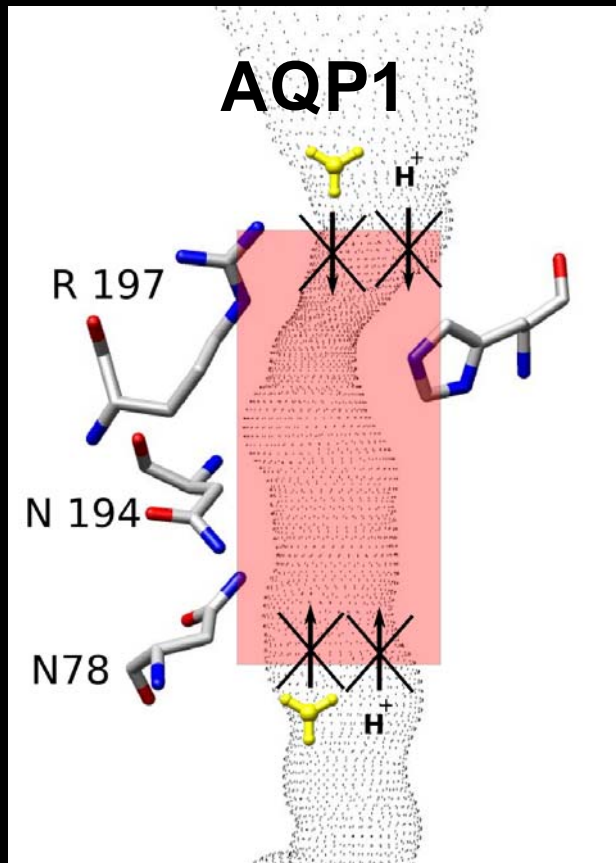
プロトンジャンプによる  
透過を阻害

# Proton exclusion in AQPs

378-212

MODE SELECT

VIEW



ONLINE

LCARS-3004

ONLINE

# Summary

378-212

MODE SELECT

VIEW

- 3D-RISM理論でAQP1とGlpFのプロトン排斥機構についての研究を行った
- AQP1の場合チャンネル内の強い正の静電ポテンシャルによりプロトンの透過を阻害している
- GlpFの場合、静電ポテンシャルによる阻害領域はAQP1よりも小さくプロトンジャンプでの透過の可能性がある。NPA領域では強く配向した水分子がプロトンジャンプ機構を阻害している。

ONLINE

# 今後の課題

- タンパク質の構造ゆらぎ
  - 現在は実験の構造を使用 (PDBなどから)
  - induced fitが必要
- 電子状態理論との連成
  - 3D-RISM-QM/MM, FMO, DFTなど

LCARS-3004

ONLINE

# 超大規模計算プロジェクトに向けて

378-212

MODE SELECT

VIEW

- RISM理論の展開
  - 各種の連成計算
- 課題
  - 3D-FFTの高並列化

ONLINE

LCARS-3004

ONLINE

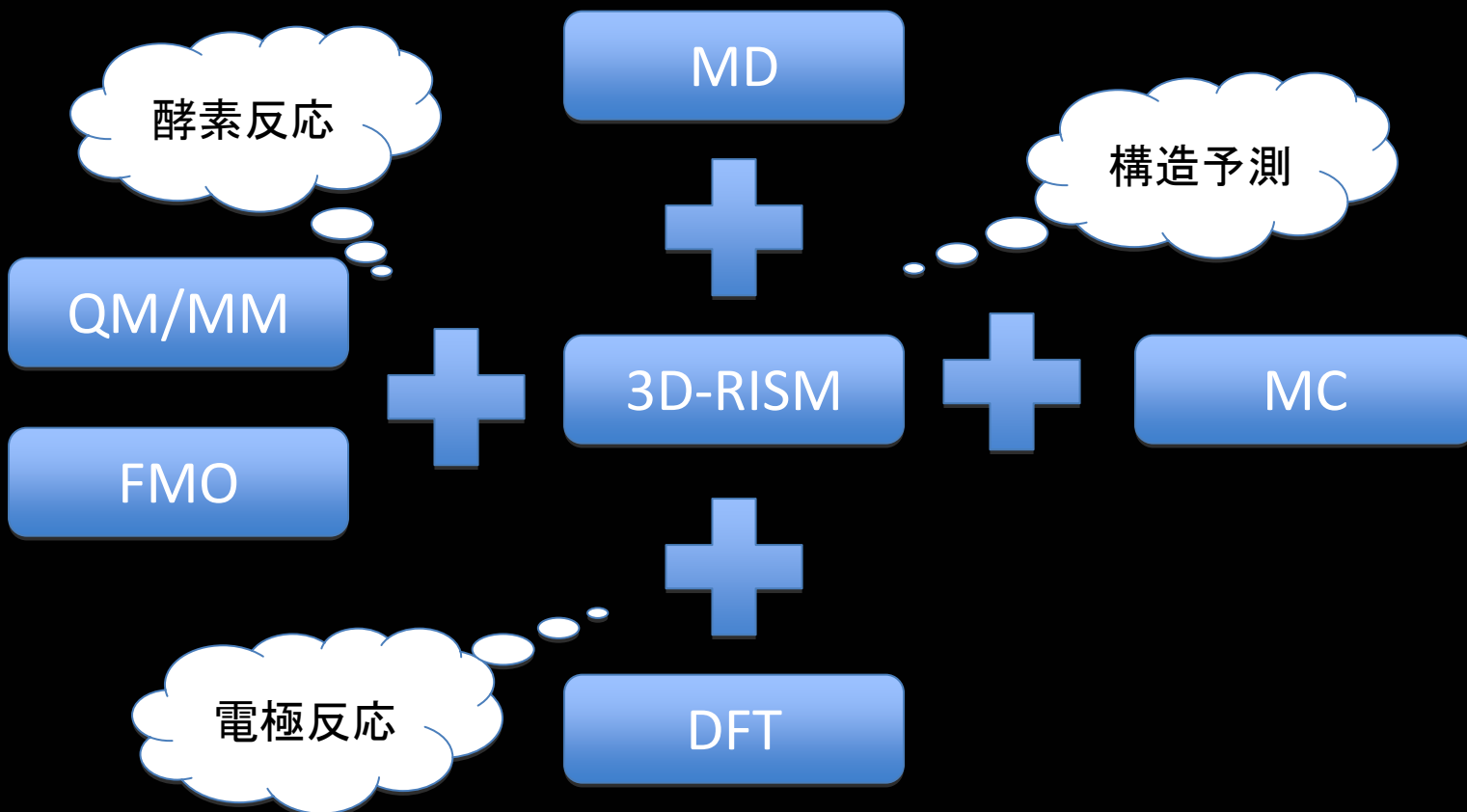
# 3D-RISM理論の展開

378-212

MODE SELECT

VIEW

ONLINE



LCARS-3004

ONLINE

# 3D-RISMとの連成計算

378-212

MODE SELECT

VIEW

- 3D-RISMを繰り返し解く必要がある
- MD/MCでは3D-RISMが律速
- 3D-RISMの律速は三次元フーリエ変換

## 3D-RISMのコスト

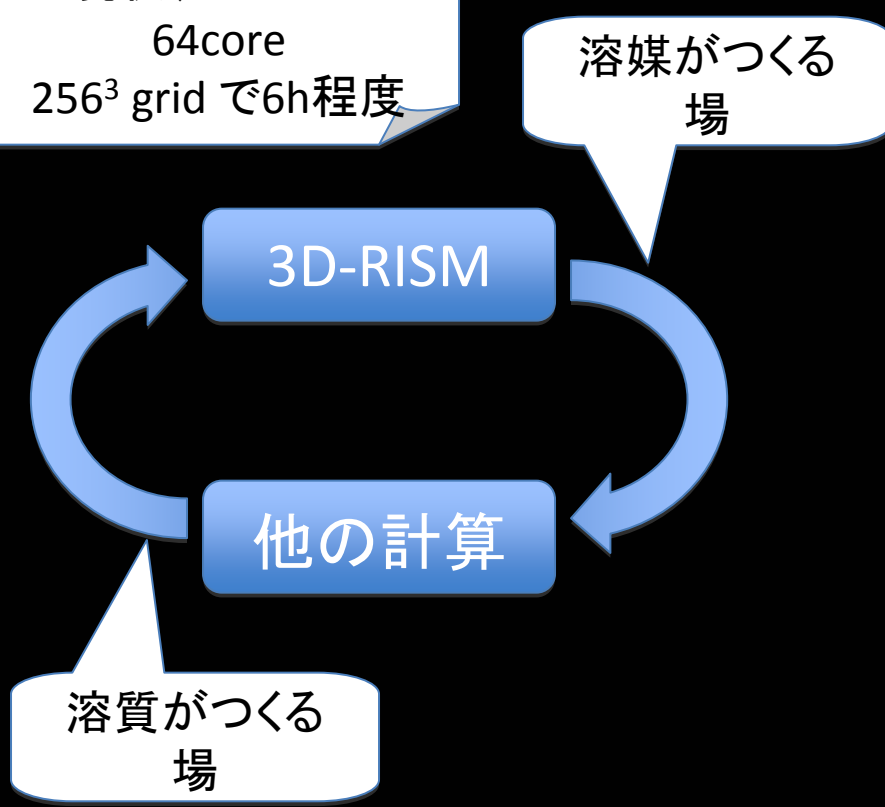
現状、SR11000  
64core  
256<sup>3</sup> grid で6h程度

溶媒がつくる場

3D-RISM

他の計算

溶質がつくる場



ONLINE

# 超大規模計算での課題

- 3D-RISMと各種理論との連成が必要
- 3D-RISMを何度も解かなければならない
- 律速となっている3D-FFTの高速化が必要
  - $xyz$ のうち $z$ グリッドだけの並列化では高並列化は不可能
  - $yz$ などの2次元分割で対応？



LCARS-3004

ONLINE

# Acknowledgement

378-212

MODE SELECT

VIEW

- We are also grateful to the support by the grant from the Next Generation Supercomputing Project, Nanoscience Program, MEXT, Japan.

ONLINE

