

氏 名 榮 慶丈

学 位 記 番 号 総研大乙第 134 号

学位授与の日付 平成 16 年 9 月 30 日

学位授与の要件 学位規則第 6 条第 2 項該当

学 位 論 文 題 目 Optimizations of Protein Force-Field Parameters with the
Protein Data Bank

論 文 審 査 委 員	主 査	教 授	岡 崎 進
		助 教 授	岡 本 祐 幸
		教 授	永 瀬 茂
		教 授	青 野 重 利
		教 授	西 川 建

論文内容の要旨

タンパク質分子などの比較的大きな分子を対象とした計算機シミュレーションの分野では、分子の古典力学モデルによるシミュレーションが広く実行されている。これらのシミュレーションでは普通原子同士の結合長や結合角、二面角といった原子同士の共有結合に関するエネルギーと、原子同士の静電相互作用やvan der Waals力といった非結合のエネルギーなどが考慮された力場をもつエネルギー関数を使う。このエネルギー関数では各エネルギー項別にある複数のパラメータを必要とし、現在では力場パラメータとして、AMBER, CHARMM, OPLS, GROMOS, ECEPP などいくつもの種類が存在している。これらの力場パラメータは、実験から得られた結果や小分子などを対象とした量子化学計算をおこない、その結果得られるデータなどを元に決められている。しかしながら、これらの力場パラメータによってどの程度まで自然に存在する複雑な分子の立体構造を再現できるのかといった精度の問題に関しては、まだ明らかになっていない。これは、特にタンパク質のような大自由度系では、エネルギーの極小状態が無数に存在し、最安定状態を見つけることが極めて困難になり、力場パラメータ自体の精度に関する議論ができないためである。

近年、強力なシミュレーション手法の一つである拡張アンサンブル法を用いて、2つのペプチドによる折り畳みシミュレーションがおこなわれ、いくつかの既存の力場パラメータによる比較がおこなわれた。特に、それぞれの既存の力場パラメータでの、二次構造形成に関する傾向などが詳細に調べられ、その結果としてタンパク質の折り畳みシミュレーションにより自然の立体構造を再現できる程十分な精度をもつといえる力場パラメータは存在しなかった。

そこで彼らは、現在存在する力場パラメータに対し最適化をおこない、よりよい力場パラメータを作ることを目的とした。彼らはこの目的を実現するため、PDB (Protein Data Bank) を用い、複数のPDBデータを再現するようにパラメータを最適化しようと試みた。これまでに主な力場パラメータの最適化手法としては、PDBデータの構造などの実験から得られた構造を正しいものとし、同じアミノ酸配列で異なる構造をもつもの (decoy) よりもポテンシャルエネルギーがより低くなるように力場パラメータを最適化する Z-score 法と呼ばれる方法などがある。この方法の問題点は、同じアミノ酸配列をもつ複数の異なる構造を人為的に作らなければならない、最適化されるパラメータが構造の数や構造の種類に依存してしまう点にある。これに対し、彼らの提案する方法は、PDBデータの構造のみを最適化に用いるため、これまでの方法より間違った値をとりやすく最適化できる可能性がある。これは、もし正しいエネルギー関数があったとすれば、あらゆる分子に対し、自然に存在する構造のときに最も安定となるという仮定に基づいている。そして、構造が安定だということは、分子を構成するすべての原子に働く力の大きさがゼロとなることを意味する。そこで彼らは、分子が自然に存在する構造をもつときに、各原子に働く力がより小さな値をもつようにパラメータを最適化すれば、よりよい力場パラメータを作ることができると考えた。具体的には、PDBデータベースから得た複数の分子の立体構造に含まれるすべての原子にかかる力の計算をおこない、これらすべての力の大きさを足し合わせた値がより小さな値を持つように、力場パラメータを変数とするパラメータ空間上でのモンテカルロ法によるシミュレーションをおこなった。

彼らはこの新しい最適化手法を既存の力場パラメータである AMBER parm94, AMBER parm96, AMBER parm99, CHARMM version22, OPLS-AA の 5 種類のパラメータに適用した。使用した PDB データベースの立体構造は、全て X 線回折実験によるものであり、分解能が 1.8 Å またはそれ以上の精度を持ち、アミノ酸数が 200 以下のタンパク質分子 100 個のものである。最適化をおこなうパラメータとしては、静電相互作用項に含まれる部分電荷パラメータと主鎖の二面角 ϕ と ψ のねじれエネルギー項の係数のパラメータを選んだ。この最適化の結果、電荷のパラメータに関しては 5 種類すべての力場パラメータにおいて、オリジナルの力場パラメータと比較し、それほど大きな変化はみられなかった。ねじれエネルギー項のパラメータに関しては、オリジナルと比較して、最適化したパラメータによるねじれエネルギーの関数形は 5 種類の力場パラメータ間で収束する傾向が見られた。さらに、最適化により得られた力場パラメータとオリジナルの力場パラメータの精度を議論するために、分子の折り畳みシミュレーションによる立体構造形成の傾向を調べた。対象とした分子は、実験により α ヘリックス構造をもつことが知られている分子である C ペプチドと、実験では β ヘアピンの構造をもつことが知られている分子である G ペプチドの二つです。シミュレーションには徐冷法を用い、これら二つのペプチド分子に対して、独立な徐冷シミュレーションをそれぞれ 16 回実行した。その結果、例えばオリジナルの AMBER parm94 は α ヘリックス構造を、また、オリジナルの AMBER parm96 は β ヘアピン構造を形成し過ぎる傾向が見られるなど、オリジナルの力場パラメータの問題点が明らかとなった。これに対し最適化した力場パラメータはオリジナルの力場パラメータよりも、実験により得られる構造を再現する傾向にあることが分かった。そして、主鎖の二面角に関するねじれエネルギー項の微妙な修正がタンパク質の二次構造形成傾向性を大きく変えることが分かり、特にこのパラメータの今後の更なる改善が重要であることを示すことができた。

論文審査結果の要旨

タンパク質の折り畳み問題等を議論する場合、計算機シミュレーションの手法が良く使われる。これらの分子シミュレーションでは、分子力学に基づく力場（エネルギー関数）が使われる。標準的に使われている力場にはAMBER, CHARMM, OPLSなどがあるが、最近、これらの力場パラメーターの比較がなされ、完璧なものはないという結論が得られている。本博士論文はこれらの既存の力場関数をProtein Data Bank (PDB)に基づいて改良しようというものであり、新手法を提案していることは意義深い。本論文は序章（第1章）及び結論（第5章）を含む5章からなる。

第2章では、本研究の方法が詳しく説明されている。実験的に得られたタンパク質の立体構造の座標データは、現在までに2万個以上PDBに登録されている。本研究では、これらの自然の構造は最も安定な構造なので、それぞれのタンパク質分子内の原子に働く力はゼロであるという考察のもとに、力場パラメーターを最適化する。この新しい手法が丁寧に説明されている。

第3章では、この新しい力場パラメーター最適化法を5つの力場関数（AMBER parm94, AMBER parm96, AMBER parm99, CHARMM ver. 2, OPLS-AA）に適用した結果を述べる。PDBからは100個のタンパク質の立体構造を抽出し、これらの立体構造にできるだけ矛盾ないように、力場パラメーターを最適化した。具体的には、部分電荷のパラメーターと主鎖のねじれエネルギー項のパラメーターのみを最適化した。部分電荷パラメーターには大きな変化は見られなかったが、主鎖のねじれエネルギー項は大きく変わり、5つの力場関数間で、同一の関数形に収束して行く傾向が見られた。

第4章では、上の5つのオリジナルの力場関数と前章で得られた、それらの最適化版を使って、2つの小ペプチドの折り畳みシミュレーションを実行した結果を述べる。小ペプチドとしては、実験で α ヘリックス構造を形成することが知られている、ribonuclease AのC-peptideと、実験で β ヘアピン構造を形成することが知られている、protein GのG-peptideを採用し、これらの2次構造がランダムな初期構造から始めるシミュレーションにおいて再現されるかどうかを判定した。そして、ほとんど全ての力場において、オリジナルパラメーターより、最適化されたパラメーターの方が、より実験結果に近い結果を与えることが示されている。

本論文の内容は明快なものであり、独創性も高いものと判断された。また、本研究の内容は、国際学術雑誌に1報の論文（*Chem. Phys. Lett.*）として、既に発表され、更に2報（*J. Theor. Comput. Chem.*）が印刷中である。

以上のことから、本申請論文は博士（理学）の学位論文として十分であると判断する。

口述試験は8月27日に実施された。出願者がその学位論文の内容に基づいて約1時間の研究発表を行い、その後、約1時間の質疑応答を行った。研究発表は研究の背景も含めて要領よくまとめられ、質問に対しても的確な回答を行った。研究内容は十分に独創性があり、多くの新発見が得られていると認められた。

語学力については、博士論文が分かり易い英語で書かれており、既に発表済みの英文論文等からも十分な水準に達していると判断された。更に、8月30日の公開発表会においては、時間の関係で博士論文の一部が発表されたのみであったが、活発な質疑応答が行われ、それにも的確に回答しており、審査委員全員の一致した評価として、出願者が本学の博士（理学）として適格であると判定した。