

# 研究終了報告書

## 「量子化学効果を取り込んだタンパク質のシームレスな動的解析法の開発と応用」

研究期間：2017年10月～2021年3月

研究者：渡邊 宙志

### 1. 研究のねらい

分子シミュレーションの目標はマイクロな現象の理論的予測にある。これを達成するためにはモデル精度と統計的精度の両方を満足する必要がある。前者はエンタルピックな寄与、後者はエントロピックな寄与の算出精度とも言える。分子モデルの一つである量子力学(QM)モデルは、古典的には再現・説明することができない様々な量子現象を取り扱える高精度のモデルであり、気相や固体などエントロピックな寄与が少ない系における物性の再現に威力を発揮する。一方で、計算コストが非常に大きいため、ダイナミクス計算などのサンプリングに不向きであり、統計的精度を稼ぐことが難しい。したがって、エントロピックな寄与の大きい生体系における量子的現象をシミュレーションにより再現することは、非常に困難である。そこで計算コストを低減する方法として古典と量子のハイブリッドモデルであるQM/MM法が伝統的に用いられてきた。これは、QMモデルにより取り扱う領域を系の一部に制限し、それ以外を古典的なモデル(MM)で再現する方法である。しかし、従来のQM/MM法では、時間発展に伴い拡散現象を引き起こす溶媒分子を量子化学的に取り扱うことができなかった。つまり電子に起因する溶媒の量子化学的な性質は、ダイナミクス計算に取り込むことが難しいことを意味する。

一方、生体系において水分子は、分子機能の発現に重要な役割を果たす。特にタンパク質の内部に水が出入りしている例が多々報告されている。これら内部に入り込んだ水分子の性質はバルクとは異なっており、個別のタンパク質の環境に大きく影響される。さらに水分子が反応の一部を担うなどタンパク質機能の制御に密接に関わっている。これらメカニズムを解析するには、量子力学(QM)モデルを用いて水分子の電子的な性質まで考慮する必要があるが、上述の問題のために理論的な解析が進んでこなかった。例えば、溶媒の量子化学効果が必要な現象には、水素イオン輸送や金属タンパク質の結合/輸送メカニズムなどが挙げられる。

そこでこれら一連の問題の解決のために近年、溶媒の量子性をダイナミクス計算に取り込む手法(adaptive QM/MM法)が提唱されている。しかし、これら手法はまだ実用的な段階に至ってはいない。そこで当研究では、生体系においても適用可能なようにこれら手法を拡張・改良し、タンパク質などの生体分子系において水の量子化学的性質が重要な役割を果たす現象を解析する枠組みを構築し、開発した手法は上述の生体現象の解析・解明に利用することを目標とする。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

分子の電子構造に由来する効果をシミュレーションに取り込むには、量子力学(QM)モデルという分子モデルを使う必要がある。しかし量子力学モデルは計算コストが高く、溶液系のような巨大な系に適用することは困難である。そこで量子と古典のハイブリッドモデルであるQM/MM法が用いられる。これは系を二分割し、このつまり溶媒の量子化学効果をダイナ

ミクスに取り込むためには、溶媒を量子化学的に取り扱う必要がある。しかし溶媒の拡散のために従来の QM/MM 法では、溶媒を量子化学的に取り扱うことはできなかった。(図 1)

この問題の解決のために adaptive QM/MM 法が提案された。これは溶質からの距離に応じて溶媒の性質を量子と古典との間で切り替えるというものである。

当プロジェクトでは、この adaptive QM/MM 法を生体分子系溶媒の量子化学効果が必要不可欠な現象に対して適用・解析することを目標とした。ただし、現在の

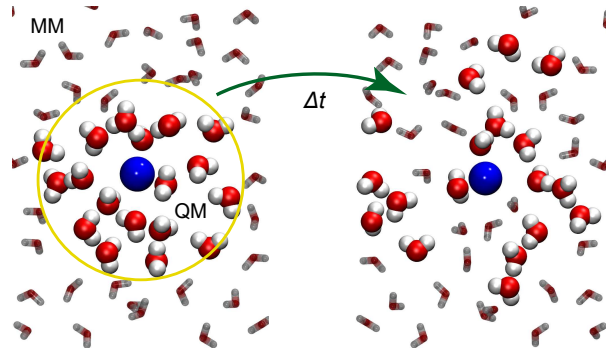


図 1 従来の QM/MM 法における溶媒拡散の問題

adaptive QM/MM 法は、計算精度や安定性など様々な問題を抱えており、解析手法として応用に足るものではない。そこでまずそれら一連の問題を解析/解決した。【詳細テーマ A】

また手法の適用対象として、特に最も溶媒の量子効果が重要でありなおかつ、生体分子に研究にとってインパクトが大きいプロトン輸送をその主要の目標として定めた。ただしプロトン輸送には、溶質の切り替わりという特有の問題が存在している。そのために adaptive QM/MM 法をさらに拡張し full adaptive QM/MM 法という手法を提唱した。しかし実際、生体系における計算も実行可能にはなしたが、当初の目標であった生体分子の機能の理解までには至っておらず、継続的な研究を行う必要がある。

## (2) 詳細

### 研究テーマ A 「adaptive QM/MM 法と基盤確立」

溶媒の量子化学効果をダイナミクス計算にとりこむ枠組みは adaptive QM/MM 法と呼ばれる。これはダイナミクス計算の各時間ステップにおいて複数の QM/MM 分割を定義・計算する多分割法に基づくアプローチである。これまでに様々な adaptive QM/MM 法が提案されてきたが、系の温度が上昇しつづけるという不安化や、溶媒和構造が歪むようなアーティファクトが実用化の課題となっていた。(図2) そこで、我々は初めてこれらアーティファクトを定量的に解析すること成功した。その結果、これら不安定化と溶媒和構造の歪みは同一の起源を有しており、本来、溶媒分子は同一で区別できないはずであるが、古典と量子という人為的な境界を設定することで、エネルギー的な区別が生じていることに起因すると判明した。特筆すべきは、この分子区別の問題は、今回研究対象の adaptive QM/MM 法固有の問題ではなく、QM/MM 法を含むすべてのマルチスケール法分子シミュレーションに共通する問題であることが判明した。

加えて現在までに様々な adaptive QM/MM 法が提唱されているが、それらはマルチサイズ法と同一サイズ法に分類できる。そして前者は、様々なグループが提唱しているが、現在まで同一サイズ法は、我々のグループが提唱したもののみしか存在しない。重要な点は、今回の解析でマルチサイズ法より同一サイズ法の方が上述のアーティファクトを圧倒的に抑えられることが判明した。

さらに解析で得られた結果をもとに、一連のアーティファクトを補正する方法を提案した。図にも示すように確かに、より精度が高く安定したシミュレーションが実現した。

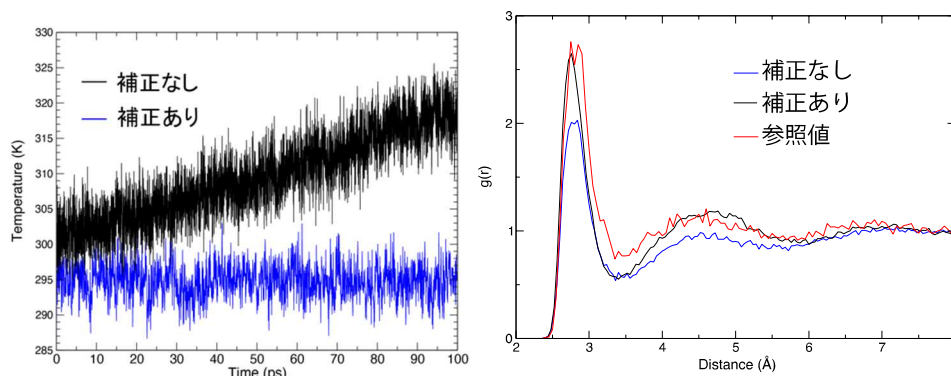


図2. アーティファクト補正した adaptive QM/MM 法(左) adaptive QM/MM 法における系の温度変化, (右)溶媒水の動径分布関数

#### 研究テーマ B 「プロトン輸送シミュレーション技術の創出」

水素イオンは、我々にとっても馴染みが深い重要な分子であるが、分子シミュレーションにおいては最も取り扱いが難しい対象の一つである。その理由は、第一にグロータスメカニズムで説明されるように、プロトンが溶媒の水分子との共有結合の生成と消滅の繰り返しにより輸送される。したがって共有結合の生成消滅を記述できる量子力学(QM)モデルを溶質と溶媒の両方に適用する必要性、つまり溶媒に量子力学的取り扱いにする adaptive QM/MM が必要不可欠であることを意味する。第二の問題は溶質つまりプロトンの取り扱いである。一般的に adaptive QM/MM 法ではシミュレーションの最初に溶質とみなす粒子を指定し、その定義は固定される。このことは一般的なイオンなどを扱う場合には問題とならない。しかしプロトン移動の場合は溶質とみなすべきプロトンが時事刻々移り変わってゆくために、従来の adaptive QM/MM 法が機能せず、計算の破綻を引き起こす(図 2)。この問題を回避するには、溶媒だけでなく溶質もアダプティブに取り扱う必要がある。つまり、シミュレーションの最中に適宜、余剰なプロトンを定義し直す必要がある。過去にも同様コンセプトは提唱されていたが、以下に挙げる問題が存在し実用には適さない。

- (a) 計算が不安定になり、長時間のシミュレーションが実行できない。
- (b) 系に含まれる水分子の数が増加すると不自然な結果になる
- (c) 系に含まれる水分子の数  $N$  に対して計算コストが  $N^2$  で増加する

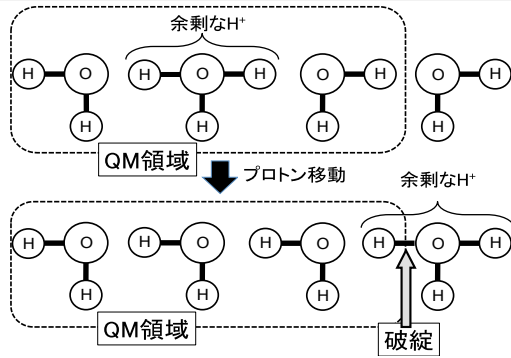


図3.プロトン輸送の問題点

そして問題解決のためには、余剰なプロトンの座標を以下の条件を満たすように数値的に表現する必要がある。

- (1) 微分可能で連続的な関数
- (2) すべての水分子の座標を変数に含んだ関数
- (3) 水素イオン近傍の局所的な水和構造の特徴を抽出する関数

今回我々は上記の条件を満たす表現する方法を見つけ、QM 中心がシミュレーションの最中に移り変わっていく枠組み(solute adaptive QM/MM 法)を提唱した。開発した手法は以下の優位性がある。

- (i) 従来、数ピコ秒で破綻していた計算が安定して実行可能になった。
- (ii) 開発した系のサイズに大きく依存することはなく(図4)高速で計算可能
- (iii) 今まででは近似を用いて間接的に算出することが多かった拡散係数などの水素イオンに関連する物理量を直接、算出することが可能になった。(図5、6)
- (iv) プロトンのダイナミクスを人為的に制御することが可能になった。これにより様々なサンプリング技術と組み合わせ、限られた計算時間で効率的な自由エネルギーなどの物理量の算出が可能になることを意味する。

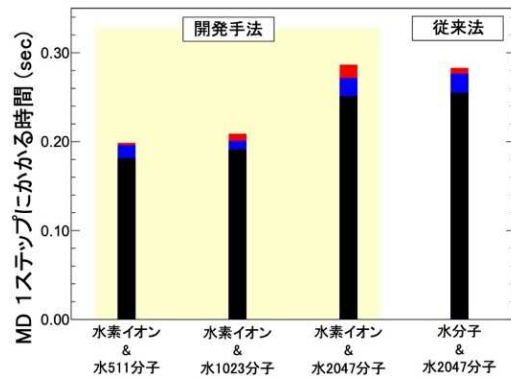


図4.開発手法の系のサイズと計算コスト

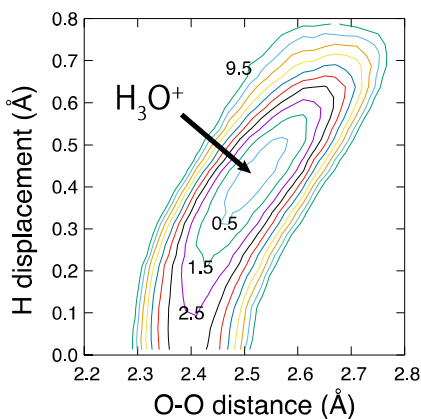


図5.溶液中の水素イオンの自由エネルギー局所

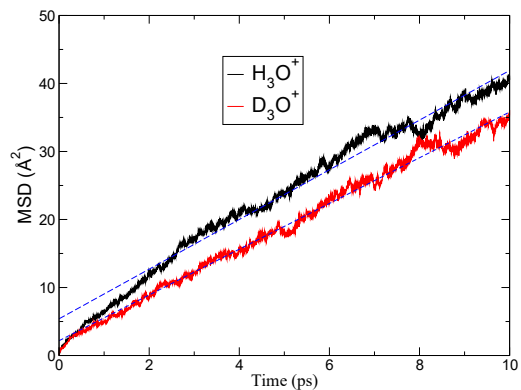


図6 水と水素イオンの拡散係数



### 3. 今後の展開

今回開発した手法を実際に生体系に適用しすべく研究を進めている。プロトン輸送が生体分子の機能の発現において重要な系として以下の2つを選定している。

- (1) 光駆動型チャネル: 光によるイオンチャネルのゲート開閉が操作可能なタンパク質は、人工的な光刺激による神経細胞の活性/不活性化に用いられている。その際、他の陽イオンと競合する水素イオンの輸送能をコントロールすることが重要であるが、その水素イオンを解析する手法がなかったためにそのメカニズムはわかっていない。また、ゲートそのものの開閉にもプロトンが関わっているという説も提唱されており、それらを分析する計算ツールが求められている。
- (2) アクアポリン: また生命が細胞の浸透圧コントロールする上で必要不可欠なタンパク質アクアポリンは、水素イオンを通さず水分子だけを選択的に通すことが重要であり、実際にその機能を備えていることが確認されているが、機能的にどの部位がその選択性の役割を担っている候補部位は複数提唱されており、議論が分かれている。しかし、これら候補部位は構造安定性に寄与しておりそれら、候補を実験的に改変して確認することが困難であり、シミュレーションによる役割が期待されている。

これらタンパク質がいかに効率的・選択的にプロトンをバルクから取り込む(排除する)かは、わかっていない。そこでそのためにタンパク質近傍でのプロトンのダイナミクスとエナジェティクスを解析すべくシミュレーションを実行している。また上述のように今回開発した手法は、これら計算を効率化するためのサンプリング手法との融合も原理上可能であるので、その拡張も進めている。

### 4. 自己評価

申請時の大きな目標の一つであったプロトン輸送のダイナミクス計算手法を創出できたことは、大きな成果であると考えている。しかし、それを実現していく上で当初、想定していなかった技術的な問題が2点みつき、当初の見通した計画が甘かったことを痛感した。

一つ目の問題点は、今回開発した技術固有の問題ではなく、その基盤技術になっているQM/MM法に起因するアーティファクトである。QM/MM法自体は広く認知され使用されている手法であり、近年もノーベル賞の対象となった技術である。したがって、そこに起因する問題が成否を左右するほど重要になるとは想定していなかった。ただし、その問題解決への取り組みの結果、QM/MM法における問題を定量的に初めて議論し、分子シミュレーション領域全体へ問題提起研究行うことができた。実際に発表した論文は雑誌のカバーとして選定された。また結果的に競合する他の手法と比較して、現在開発している手法の優位性が浮き彫りになり、意義深い結果も得ることができた。

もう一つの問題は水素イオンという存在の曖昧さに起因する。分子シミュレーションでは、水素イオンを数値的に定義(座標・速度)する必要があるが、水素イオンは、その定義が曖昧で数値化が難しいという点にある。水素イオンはその重要性もあり、この問題についても多くの研究グループが議論し、独自の解決手法を提案していた。したがって、プロジェクト開始当初は、それらを踏襲すれば良いと楽観視していた。しかし実際にそれらを自らの手でプログラムに実装し、試してみると論文ではわからない様々な問題点があることに気づいた。そのために、再度、自らで水素イオンの定義を考案する必要が生じてきた。

これら問題への取り組みにより、結果として自らの手法の精度とオリジナリティを高めることができたが、当初の研究計画から大幅な遅延をきたすこととなった。さらにコロナ禍による機器の発注や学生アルバイトなどへの予算の執行が困難なこともあり、当初の目標であった生体分子への応用でその有用性を実証するところまで終えることができなかった。ただし、当手法は生体分子の理論的解析手法の重要なツールとなるとの確信を深めることができた。今後も継続的な研究により、同手法の有用性を実証すると同時に新しい分子メカニズムの発見に努めたい。

## 5. 主な研究成果リスト

### (1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 7件

1. H. C. Watanabe and Q. Cui. Qualitative analysis of QM/MM boundary artifacts and corrections in adaptive QM/MM simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation* 2019, 15, 3917–3928 (雑誌カバー)

溶媒の量子効果を取り込んだダイナミクスシミュレーション手法は、adaptive QM/MM 法とよばれ、これまでもいくつか提唱されているが、それらは非常に不安定でありアーティファクトを含んでいた。当論文は、そのアーティファクトの起源を初めて明らかにすると、同時に我々が提唱している手法が最も精度において、優れていることを数式とデータを持って実証すると同時に、これらアーティファクトの補正方法を提唱した。

2. H. C. Watanabe. Improvement of Performance, Stability and Continuity by Modified Size-Consistent multipartitioning QM/MM. *Molecules*. 2018, 23, 1882

溶媒の量子効果を取り込んだダイナミクスシミュレーション手法である adaptive QM/MM 法は、各 MD のステップにおいて QM/MM 計算を複数回実行する他分割法に基づいている。この分割の数は、計算の精度と安定性に関わってくるが、実際にどれくらいの分割数を用いればよいかという明確な指標はなかった。また各分割はシミュレーションの最中に適宜更新されるが、その更新の明確な手続きというのは決まっていない。当該論文では、最適な分割数と、効率的な更新方法について水溶液系を例にとりて提唱した。

3. H. C. Watanabe, M. Yamada, Y. Suzuki, Proton Transfer in Bulk Water by Full Adaptive QM/MM Method: Integration of Solute- and Solvent-Adaptive Approaches, *Phys. Chem. Chem. Phys.* accepted

溶媒をシミュレーションの最中に量子と古典の間でアダプティブに切り替える計算手法である adaptive QM/MM 法は、溶媒の量子化学効果をダイナミクスに取り込むことが可能である。しかし、溶質が切り替わるプロトン輸送は取り扱うことができない。そこで adaptive な取り扱いを溶質にまで拡張し、full adaptive QM/MM 法として提唱した。これにより、バルクでのプロトンのダイナミクスが解析可能になった。

### (2) 特許出願

該当なし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

● 招待講演

(ア) 渡邊宙志 “溶媒の電子状態を取り込んだ分子動力学計算と生体分子への応用”  
量子生命科学会第2回大会 (2020)

(イ) 渡邊宙志 “水の量子化学効果を取り込んだダイナミクス計算手法の開発と生体系への  
応用” QIQB シンポジウム (2019)

(ウ) Hiroshi Watanabe “The development and the applications of the seamless analysis of  
protein dynamics with incorporated quantum chemical effect”

(エ) Hiroshi Watanabe, “Quantum chemical effects on solvation incorporated by size-  
consistent multipartitioning quantum mechanics/molecular mechanics method”  
International Symposium on Molecular Science (2018)

● 著作物

渡邊宙志 “量子古典ハイブリッドモデルによる溶液系のダイナミクスシミュレーション:溶媒量  
子効果の取り込みへの挑戦” 物理学会誌:「最近の研究から」

● 論文表紙

Journal of Chemical Theory and Computation 第 15 巻, 7 号