

分子動力学計算システム PEACH の Windows 環境への移植とその応用 - タンパク質の熱変性シミュレーション

中田 吉郎*, 滝沢 俊治, 荻野 峰正, 宇野 雅美

群馬大学工学部工学基礎 II 生物物理学研究室, 〒 371-8510 前橋市荒牧町 4-2

*e-mail: nakata@aramaki.gunma-u.ac.jp

(Received: August 4, 2003; Accepted for publication: October 3, 2003; Published on Web: November 27, 2003)

生体分子用分子動力学システム PEACH を Windows 環境で動作するように移植した。移植には Visual Fortran を用いた。また計算速度を上げるため並列計算も使えるようにした。移植したシステムを用いて 2 つのタンパク質モデルの水中のシミュレーションをおこない、シミュレーション温度による構造の変化を検討した。分子量の小さなホルモンタンパク質であるグルカゴンを用いたシミュレーションでは、高温にした場合数ナノ秒の時間でヘリックスコイル転位が起きていることが判った。プリオンのモデル分子を用いた例では、400 K の高温にした場合でも数ナノ秒のシミュレーション時間では 300 K の場合と比べて顕著な構造の変化は認められなかった。

キーワード: 分子動力学計算, PEACH, 並列計算, MPICH, タンパク質, 熱変性, グルカゴン, プリオン

1 はじめに

現在、分子動力学計算法がタンパク質や核酸の研究分野で広く用いられている。そのプログラムは非常に複雑で大きなものであり主としてワークステーション用に開発されている。しかし近年、パソコンの性能が急速に発展してきたので、このような巨大なシミュレーションもパソコンで実行可能となってきている。

そこで我々は、古明地らによって開発された PEACH (Program for Energetic Analysis of biochemical molecules) [1–3] を Windows 環境に移植して広く利用できるようにし、そのシステムを用いて数種の系について実際にシミュレーションを行った。また、我々がこれまで開発してきた 3 次元分子表示プログラム [4, 5] をこのシステム用に変更して、PEACH 自身には含まれていない表示部分を補って、より使いやすいシステムにした。

パソコンで実際に計算を実行してみると、有意なデータを得るためには計算時間がまだ非常に長くかかることが判ったので、パソコンを数台用いた並列計算 [6] を利用して時間を短縮することも可能にした。

移植したシステムを用いて 2 つのタンパク質モデルの水中のシミュレーションをおこない、シミュレーション温度による構造の時間変化を検討した。

2 分子動力学プログラムの移植

2.1 Windows 環境への移植

オリジナル PEACH [7] は Unix 環境の FORTRAN90 で開発されている。Windows 環境への移植は Visual Fortran を用いて行った。移植に際しては若干のコンパイラの違いによる文法上の修正を行ったが、ほぼオリジナルどおりに移植することができた。

計算に際してオリジナルではシェルスクリプトファイルを用いて実行をしているが、Windows 版 [8] ではバッチファイルで計算を実行させるように変更した。利用者が用意すべきファイルは、入出力ファイル名を指定するためのファイル (* .csh) と計算に必要なパラメータを指定するためのファイル (* .in) と必要なデータファイルである。

Table 1. Comparison between Windows version and Unix version.

	Windows	Unix
Initial structure	312D.pdb	
Periodic box	39×42×48 (Å)	
Atoms	(solute ion solvent) 439, 6(Mg ²⁺), 6981(H ₂ O)	
Program	RUNMD(md4)	
Simulation time	2 ps	
Computer	SONY Vaio LX80	Alphastation 600au
CPU	PentiumIV 1.5 GHz	Alpha21164A 600 MHz
OS	Windows2000	Unix
Compiler	Visual Fortran	DEC Fortran
Execution time	1.49 h	2.51 h

PEACH システムに付けられている DNA (312D.pdb) のデモ計算について、Windows 版での実行結果(時間)を Table 1 に示す。これからパソコンでもワークステーションと同様の計算が可能であることがわかった。また市販の最高速のパソコンを用いればさらに計算時間を短縮できるはずである。

2.2 計算結果のグラフィック表示

分子動力学計算で得られた分子構造などの表示には、我々が開発した 3 次元分子表示プログラム PDB-DISP[3]、MDDISP[4] を組み込んだ。このプログラムでは計算前後の構造を重ね合わせて表示し比較することも可能である。シミュレーション結果のグラフ表示については、表計算プログラム EXCEL に簡単に計算結果のデータを移せるので、そのグラフ表示機能を用いることができる。

2.3 並列計算の導入

対象とする系が巨大になると計算時間が非常にかかるようになる。そこで本システムでは計算能力を上げるために、何台かの計算機をつなぎ協調作業させ、一台のときよりも速く計算させる並列計算という方法も利用できるようにした。その方法の一つとして MPI (Message-Passing Interface) というライブラリーがあ

る。これは MPI フォーラムより 1994 年に発表され MPICH として Argonne National Laboratories より配布されている [9]。

並列計算までの手順は、まず始めにプログラムをライブラリーを用いて並列化する。PEACH Ver.3.3 の runmd モジュールは MPI ライブラリーを用いて並列化されているので、それを Windows 用に若干の変更を行った。次に複数台の WindowsNT マシン (NT,2000,XP) を用意し、それらを LAN でつなぎ、それぞれに MPICH をインストールする。このときすべてのマシンのユーザ名とパスワードは同一にしておく。そのうちの 1 台をホストマシンとして並列化されたプログラムを実行すると並列計算が行われる。MPI はマルチアーキテクチャには対応していないので、同一の OS/CPU アーキテクチャの計算機をクラスタリングして一つの計算機として使うのに向いている。

市販の Windows パソコン (PentiumIV、2 GHz) を使用して、1AG2 を用いた場合の計算速度は 10 ps 当たり 16 時間であった (Table 2)。つぎにパソコンを 3 台用いて並列計算を行ったところ、10 ps 当たり 6 時間ぐらいに高速化することができた。並列計算はパソコンの台数を増やすとその分計算速度は速くなるが、一方でネットワークを介してのデータのやり取りの時間もかかるようになるので、無制限に増やせばよいというものではない。今後はネットワークの速度や機器の性能の進歩によってこの部分の時間は短縮されると思われる。

Table 2. Execution time and Speed-up ratio in number of processors.

Number of Processors	Execution time (hours)	Speed-up ratio
1	16.2	1.000
2	9.33	1.736
3	6.40	2.531
4	5.30	3.057

Table 3. Simulation models.

	Amino Acids	Periodic box(Å)	H ₂ O molecules
1GCN	29	63×36×31	2197
1AG2	103	53×53×53	4004

3 分子動力学計算による計算例

具体的なタンパク質の系について、このプログラムを用いてシミュレーションを行った。水中のタンパク質の性質として熱変性と呼ばれる現象がある。一般に水溶性タンパク質は 70 ~ 90 で変性し失活することが知られている。そこでシミュレーション温度を変えてその立体構造を見ることによって、熱による変性が起きるかどうかを調べることにした。

今回の計算には、ホルモンタンパク質であるグルカゴン (1GCN.pdb) [10] と、ねずみの脳よりとられたプリオンタンパク質の中心部分 (1AG2.pdb) [11] を用いた。

普通、球状タンパク質の熱変性は秒の単位で、また部分的なヘリックス - コイル転位はナノ秒からマイクロ秒のあたりで起きることが知られている。ここで用いたグルカゴンはアミノ酸 29 個からなる小さなタンパク質で、その立体構造はヘリックス構造であることが知られている。そこで数ナノ秒のシミュレーションで構造変化が起きる可能性が考えられるのでモデルとして用いた。またプリオンタンパク質は現在狂牛病の原因物質として注目されているタンパク質で、その

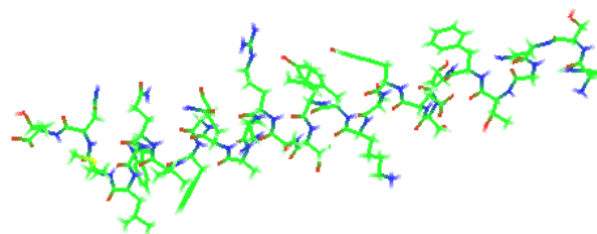


Figure 1. The initial structure of the glucagon model.

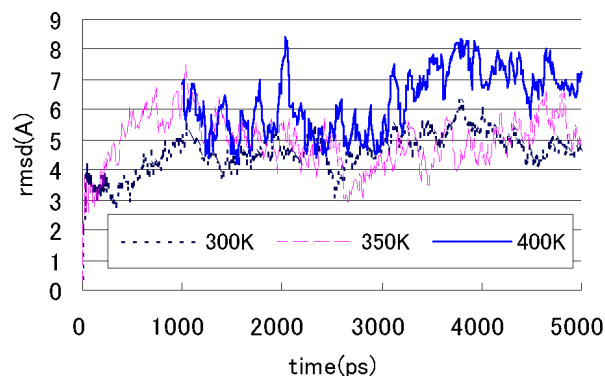


Figure 2. The RMSD as a function of time for the glucagon model.

立体構造の変化が狂牛病の原因ではないかと考えられている。熱に対する性質に他のタンパク質との相違があるかを検討するためのモデルとした。

Table 3 に分子動力学シミュレーションに用いたモデル系を示す。

3.1 水中のグルカゴン

グルカゴンの X 線解析構造 (29 アミノ酸残基、1GCN) を用いて、水中での分子動力学計算によるシミュレーションを行った。設定温度を 300 K と 350 K と 400 K とし、熱的な性質を比較検討した。力場は AMBER94[12] をもちい、溶媒は水 (2197 分子) とし、周期境界条件、NTV の箱型モデル、クーロン力の計算にはエワルド法を用いた。Figure 1 に PDBDISP によるグルカゴンの立体構造を示す。

Figure 2 に、溶質分子全原子の初期構造からの位置の変位 (根平均二乗変位、RMSD) の時間変化を示す。このデータから見ると、300 K においては、水中に入れた結晶構造が最初の 100 ps ぐらいまでの間で緩んで大きく変位し、さらに熱運動により若干の変動が生じ

ている。1000 ps 以降はほぼ一定値を保っている。350 K, 400 K に温度を高くしてシミュレートした場合には、400 ps あたりからさらに別の構造変位が起こり、400 K では 3000 ps でまた別の構造変位を起こしている。350 K では 2000 ps のあたりでもとの構造(300 K での平衡構造)に戻っているように見える。

次に 1GCN の時間に対する二次構造の変化を Figures 3-5 に示す。グラフの縦軸は 1GCN のアミノ酸番号、塗りつぶし部分(水色)がヘリックス構造を表している。

Figure 3 より、300K では立体構造は安定化してほぼ変化していないことが確認できた。また Figure 4 から、350 K では加熱を始めてしばらくたってから少

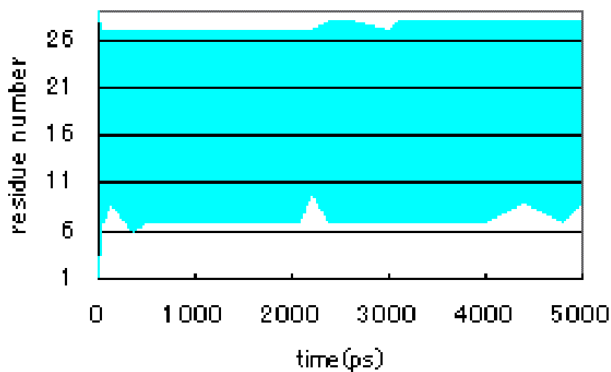


Figure 3. Secondary structure in glucagon model as a function of simulation time at 300 K. The blue zone represents α -helix structure.

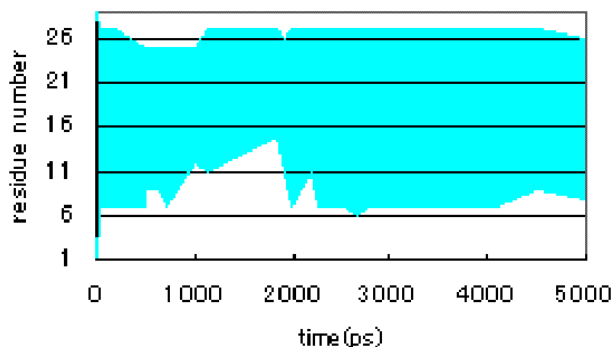


Figure 4. Secondary structure in glucagon model as a function of simulation time at 350 K.

しヘリックスが解け、2500 ps 後には初めとほぼ同じ場所にヘリックスができていくことが分かる。Figure 5 から、400 K では加熱を始めるとすぐにヘリックスが解け始め、5 ns 後にはヘリックス部分が非常に短くなっていることが分かった。これは熱変性によって立体構造が変化し、変性したためだと思われる。

Figure 6 に 400 K において 5000 ps シミュレートした時点での構造を WebLab ViewerLite[13] を用いて示す。これを見るとほぼヘリックス構造が解けてコイル構造になっていることが分かる。このようにグルカゴンのような短いヘリックス鎖の場合、温度を 350 K から 400 K に上げることにより数ナノ秒の時間でヘリックスコイル転移が起こることが示された。

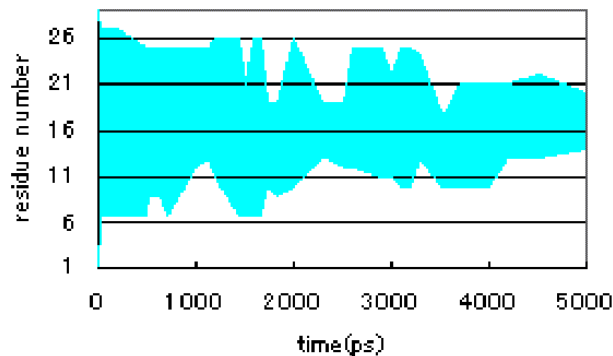


Figure 5. Secondary structure in glucagon model as a function of simulation time at 400 K.

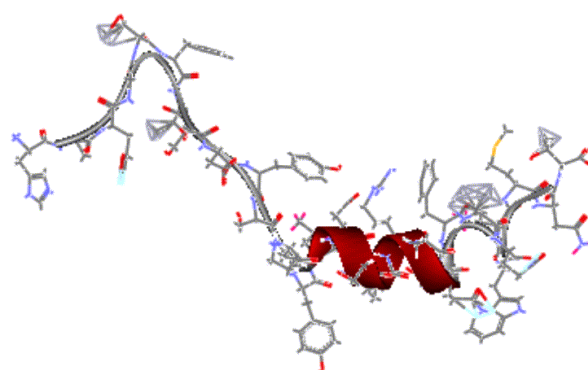


Figure 6. The structure of glucagon after 5 ns simulation at 400 K.

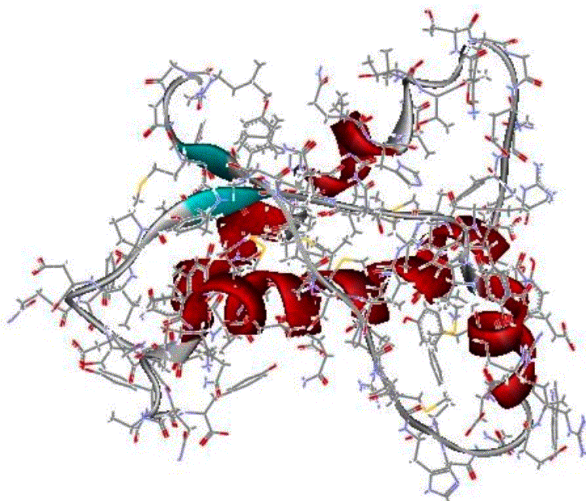


Figure 7. The structure of the prion model.

3.2 水中のプリオン分子モデル

NMR 解析により得られたプリオンタンパク質の中心部分の構造 (103 アミノ酸残基、1AG2) を用いて、水中での分子動力学計算によるシミュレーションを行った。Figure 7 にその構造を示す。設定温度を 300 K と 400 K として熱的な性質を比較検討した。力場は AMBER94 をもちい、溶媒は水 (4004 分子) とし、周期境界条件、NTV の箱型モデル、クーロン力の計算にはエワルド法を用いた。シミュレーション時間は数ナノ秒を目標とした。

Figure 8 には、溶質分子全原子の初期構造からの位置の変位 (根平均二乗変位) の時間変化を示す。この図から見ると、始めの 200 ps ぐらいまでの間で水中に入れた結晶構造が緩んだ構造変位が生じている。その後 300 K の場合には徐々に構造が緩んできていることが読み取れる。一方 400 K に温度を高くしてシミュレートした場合は、300 K の場合に比べて構造の変位が早く現れている。しかし 5 ns までのシミュレーション結果では、双方の温度での構造の違いは現れていない。これは今回用いた構造がプリオン分子の中心部分の構造のみで、残りのペプチド鎖の中心部分への影響が入っていないこと、シミュレーション時間が系の大きさに対して不足していることなどが原因として考えられる。また 300 K の値が平衡値になっていないことなどから力場パラメータの影響も考えられるので、他のパラメータなどを用いてその影響を検討することも必要と思われる。

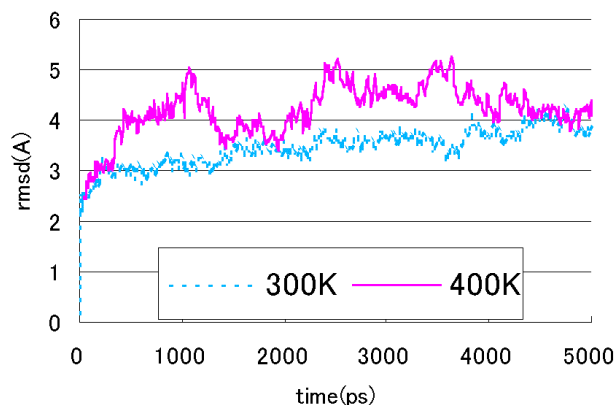


Figure 8. The RMSD as a function of time for the prion model.

4 まとめ

生体分子用分子動力学システム PEACH を Windows 環境で動作するように移植することができた。PEACH システムに付けられている DNA のデモ計算について、Windows 版で実行した結果、UNIX 版と同じ値を得ることができた。また計算時間に関しては、有用な結果を得るためには並列計算を用いることで対処できることがわかった。

さらに 2 つのモデルタンパク質について、このシステムを用いて分子動力学シミュレーションを行った。グルカゴンモデルは 300 K, 350 K, 400 K でシミュレーションを行い、プリオンモデルは 300 K, 400 K でシミュレーションを行った。またグルカゴンモデルの 400 K は 350 K で 1000 ps まで計算し、その後 400 K に温度を上げた。これらのグラフを比べると両方とも結晶構造からのずれ (RMSD) は、300 K よりも 400 K の方が大きくなっていることが分かった。このことからタンパク質は 300 K でのシミュレーションでは安定であるが、350 K 以上では 2 次構造を中心とした構造変化が起きていると考えられる。またグラフより、グルカゴンモデルはプリオンモデルよりも結晶構造からのずれが大きいことが分かった。つまりグルカゴンモデルは熱変化により構造が変化していると考えられる。このことからグルカゴンモデルはプリオンモデルよりも分子量が小さいため相互作用を受けやすいと考えられる。

参考文献

- [1] Komeiji, Y., Uebayashi, M., Takata, R., Shimizu, A., Itsukashi, K., Taiji, M., *J. Comp. Chem.*, **18**, 1546-1563 (1997).
- [2] 古明地勇人、上林正巳、長島雲兵, 生体分子の分子動力学シミュレーション (1) 方法, *J. Chem. Software*, **6**, 1-36 (2000).
- [3] 古明地勇人、田島澄恵、原口誠、高橋伸幸、上林正巳、長島雲兵, 生体分子の分子動力学シミュレーション (2) 応用, *J. Chem. Software*, **7**, 1-28 (2001).
- [4] 中田吉郎、滝沢俊治、上林正巳、中野達也, OpenGL を用いた生体分子の立体構造表示プログラム, *J. Chem. Software*, **6**, 157-164 (2000).
- [5] 中田吉郎、滝沢俊治, Windows 版 PEACH とそのシミュレーション表示, 化学ソフトウェア学会年会 2001 研究討論会, 埼玉 (2001).
- [6] Komeiji, Y., Haraguchi, M., Nagashima, U., *Parallel Computing*, **27**, 977-987 (2000).
- [7] <http://staff.aist.go.jp/y-komeiji/peach/peach.html>
- [8] <http://www3.nibh.go.jp/~nakata/peach/peachw.html>
- [9] <http://www-unix.mcs.anl.gov/~ashton/mpich.nt/>
- [10] Sasaki, K., Dockerill, S., Adamiak, D. A., Tickle, I. J., Blundell, T., *Nature*, **257**, 751 (1975).
- [11] Riek, R., Hornemann, S., Wider, G., Billeter, M., Glockshuber, R., Wuthrich, K., *Nature*, **382**, 180 (1996).
- [12] Cornell, W. D., Cieplak, P., Layly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 5175-5197 (1995).
- [13] *WebLab ViewerLite Version 4.0*, Molecular Simulation Inc. (2000).

Transplantation of the PEACH System from UNIX Computer to Windows Computer and Practice in the Simulation of Thermal Denaturation of Proteins

Yoshiro NAKATA*, Toshiharu TAKIZAWA, Minemasa OGINO and Masami UNO

Department of Biophysics, Faculty of Engineering, Gunma University

4-2 Aramaki, Maebashi, 371-8510 JAPAN

*e-mail: nakata@aramaki.gunma-u.ac.jp

PEACH, a program for molecular dynamics simulation of biochemical molecules, was transplanted from UNIX computer to Windows computer. Visual Fortran was utilized as the compiler. MD simulation of two model proteins, glucagon and prion, was performed at several different temperatures. The structures of 1AG2 and 1GCN were used as initial structures for the simulation. The helix-coil transition was observed in a few nano seconds at 400 K in the case of the glucagon model.

Keywords: Molecular dynamics simulation, PEACH, Parallel computing, Message passing interface (MPICH), Proteins, Thermal denaturation, Glucagon, Prion