

新拡張アンサンブル法によるタンパク質系の モンテカルロシミュレーション

岡崎国立共同研究機構 分子科学研究所 光武 亜代理¹

筆者は、ランダムな初期構造から全原子シミュレーションを行い、アミノ酸残基数 50 程度の小タンパク質の立体構造予測、折れ畳み問題を研究している。特に、拡張アンサンブル法の一つであるマルチカノニカル法をタンパク質系に適用し、シミュレーションを行ってきた。最近、より大きな系に拡張アンサンブル法を適用するために、レプリカ交換法やシミュレーテッド・テンパリング法などを取り入れ、結合することにより、新しい拡張アンサンブル法の開発することに努力してきた。本研究会では、マルチカノニカル法を適用した小ペプチド系のシミュレーションの結果を示し、更に、最近開発した新しい拡張アンサンブル法について報告した。ここでは、特に、拡張アンサンブル法の研究会ということもあるので、マルチカノニカル法について簡単にまとめ、新しく開発した拡張アンサンブル法を紹介する。

1 はじめに

タンパク質とは 20 種類のアミノ酸がペプチド結合によりつながった 1 本鎖の高分子化合物であり、生理的な条件 (適度な pH、温度、塩濃度など) においては 1 つの安定な天然構造をもつ。試験管中で、変性剤をいれたり、高温にするなど周りの環境を変化させるとタンパク質は変性してしまうが、生理的条件に戻すと、もとの規則正しい構造に巻き戻る。たくさんの実験家、理論家がこの巻き戻り過程の仕組みについて研究しており、これをタンパク質の折れ畳み問題という。これらの実験は、試験管中で行われており、このことから、タンパク質分子の立体構造は細胞内の複雑な因子により決定されるのではなく、そのアミノ酸配列の情報のみで決まっていることが仮定できる。各条件化での自由エネルギー曲面を求めれば、タンパク質の折れ畳み機構の詳細や、構造予測について研究できると考えられ、これは、物理的にも応用面でも興味ある問題といえる。筆者は、アミノ酸残基数 50 程度の小タンパク質に関するこれらの問題を、ランダムな初期構造から全原子シミュレーションを行うことにより研究している。

タンパク質やペプチドの計算機シミュレーションを行う際、系のエネルギー関数をいかに正確に与えるかという問題と無数のエネルギー極小状態が存在するため、極小状態にトラップされるという問題がある。タンパク質のエネルギー関数については、ここでは紙数の関係上、省略させて頂く。エネルギー極小状態にトラップされないための効率のよいサンプリング法が必要であり、筆者はこの問題に対して、拡張アンサンブル法を用いている。拡張アンサンブル法とは、従来のカノニカルモンテカルロ法が、ボルツマン因子に基づいてサンプルするのに対し、非ボルツマン因子を用いて状態をサンプルする方法である。これより、エネルギー空間上をランダムウォークし、広い構造空間の探索を実現する。良く知られている方法として、マルチカノニカル法 [1]-[3]、シミュレーテッド・テンパリング法 [4, 5]、レプリカ交換法 [6]-[8] などが上げられる。マルチカノニカル法は entropic sampling [9] や adaptive umbrella sampling [10] とも呼ばれている。シミュレーテッド・テンパリング法は、expanded ensemble 法 [4] とも呼ばれており、レプリカ交換法は multiple Markov chain method [12] や parallel tempering [13] とも呼ばれている (レプリカ交換法に似た考え方で、独立に開発された replica Monte Carlo method [11] という方法もある)。他の拡張アンサンブル法として 1/k 法 [14] や Tsallis statistical mechanics の重みを用いた方法 [15, 16] などもある。拡張アンサンブル法についてはレビュー [17]-[19] を参考にしたい。これらの方法から得られた結果は、Reweighting Technique (single histogram 法 [20] や multiple histogram 法 [21, 22]) を用いて解析する。

¹ E-mail: ayori@ims.ac.jp

筆者は特に、拡張アンサンブル法の一つであるマルチカノニカル法をタンパク質系に適用してきた。最近では、より大きな系に拡張アンサンブル法を適用するために、レプリカ交換法やシミュレート・テンパリング法などを取り入れ、結合することにより、新しい拡張アンサンブル法の開発することを行ってきた。以下、エネルギー関数について簡単に述べ、マルチカノニカル法についてまとめ、新しい拡張アンサンブル法について述べる。

2 エネルギー関数

タンパク質の系として、タンパク質分子1つとそれを取り巻く多くの溶媒分子の系を考える。エネルギー関数 E_{TOT} はタンパク質の構造エネルギー E_P とまわりの溶媒とタンパク質間の相互作用によるエネルギー $\mathcal{E}_{SOL}$ の和からなる

$$E_{TOT} = E_P + \mathcal{E}_{SOL}. \quad (1)$$

ここでは、タンパク質の構造エネルギーは静電相互作用項 E_C 、Lennard-Jones 項 E_V 、水素結合項 E_H の分子内の全ての原子対についての和に全てのボンドの周りの回転角についての和であるねじれエネルギー項 E_T を足したもので与えられ、タンパク質の構造エネルギー関数のパラメータについては、ECEPP/2 [23]-[25] のものを用いた。ペプチドボンドの2面角である ω は 180° に固定し、残りの2面角(主鎖の ϕ_i and ψ_i と側鎖の χ_i^j) がシミュレーションでの自由度である。後で示すシミュレーションの結果では、すべての回転角を変えた時、1MC sweeps と呼ぶことにする。

3 マルチカノニカル法

ここでは、マルチカノニカル法について簡単にまとめ、その有効性を示す。マルチカノニカルアンサンブルでは、エネルギーの確率分布が次で定義される

$$P_{mu}(E) \propto n(E)W_{mu}(E) = \text{const.} \quad (2)$$

よって、マルチカノニカル法の重み因子はボルツマン分布ではなく、次で与えられる;

$$W_{mu}(E) \propto n^{-1}(E). \quad (3)$$

この重み因子でシミュレーションを行うと、全てのエネルギーに対して確率が一定なので、発生する状態の軌跡はエネルギー空間上をランダムウォークする。よって、従来の低温でのカノニカルモンテカルロ法だと極小状態にトラップされるが、この方法だと、極小状態から抜け出せ、効率良く状態をサンプルすることができる。そして、幅広い温度領域の構造をサンプルしているため、最小エネルギーばかりでなく、任意の温度の熱力学量を1回のシミュレーションで得ることができる(後にこの結果を示す)。

一般に、この重み因子 $W_{mu}(E)$ は前もって分かっていないので、数回の試行シミュレーションを繰り返して、求めなければならない。たとえば、以下のような変数を用いる。

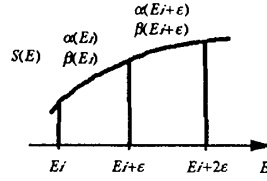
$$W_{mu}(E) = \exp(-S(E)) = \exp(-\beta_{mu}(E)E - \alpha_{mu}(E)), \quad (4)$$

ここで $S(E)$ は "microcanonical entropy" ($= \ln n(E)$) である。マルチカノニカル重み因子は $\beta_{mu}(E)$ と $\alpha_{mu}(E)$ の関数として与えられる。上の式(4)から、 $\beta_{mu}(E)$ は

$$\beta_{mu}(E) = \frac{\partial S(E)}{\partial E} = 1/k_B T_{eff} \quad (5)$$

であり、 T_{eff} はエネルギー E に対する effective な温度を意味する。このとき、 $\alpha_{mu}(E)$ は additive constant である。次に、エネルギーを ϵ の幅で離散化する。例えば、式(5)を以下の式で定義できるとする(図1を参照);

$$\beta_{mu}(E_i) = [S(E_i + \epsilon) - S(E_i)]/\epsilon \quad (\epsilon \text{ is smallest energy step}). \quad (6)$$

図 1: 離散化した $\alpha_{mu}(E_i)$ と $\beta_{mu}(E_i)$ の表示

$E = E_i + \epsilon$ で $S(E)$ が連続だと要求すると、

$$\beta_{mu}(E_i)(E_i + \epsilon) + \alpha_{mu}(E_i) = \beta_{mu}(E_i + \epsilon)(E_i + \epsilon) + \alpha_{mu}(E_i + \epsilon) \quad (7)$$

なので、

$$\alpha_{mu}(E_i) = \alpha_{mu}(E_i + \epsilon) + [\beta_{mu}(E_i + \epsilon) - \beta_{mu}(E_i)](E_i + \epsilon) \quad (8)$$

が得られる。ここで、 $\alpha_{mu}(E_{max}) = 0$ (E_{max} はランダムウォークしたいエネルギー領域の最大エネルギー値) とすると、すべての $\beta_{mu}(E_i)$ が決定されれば、すべてのエネルギー領域の $\alpha_{mu}(E_i)$ を決定することができる。

重み因子である $\beta_{mu}(E)$ と $\alpha_{mu}(E)$ を求めるには、1 例として以下の手順を行う。

1. 始めに高温 T_0 ($\beta_{mu}^0(E) = \beta_0$ ($\beta_0 = 1/kT_0$), $\alpha_{mu}^0(E) = 0$) で従来のカノニカルモンテカルロシミュレーションを行う。その結果エネルギーヒストグラム $H^0(E_i)$ が得られたとする。この際、ヒストグラムが最大値をとるエネルギーを E_{max} とする。
2. m 回目以降は ($m \geq 1$)、 $m-1$ 回目に得られたヒストグラム $H^{m-1}(E_i)$ を用いて、 $\beta_{mu}^m(E_i)$ を以下の式を用いて決定する。

$$\beta_{mu}^m(E_i) = \begin{cases} \beta_0, & \text{for } E_i \geq E_{max}, \\ \beta_{mu}^{m-1}(E_i) + \frac{\ln H^{(m-1)}(E_i + \epsilon) - \ln H^{(m-1)}(E_i)}{\epsilon}, & \text{for } E_{min} \leq E_i < E_{max}, \\ \beta_{mu}^m(E_{min}), & \text{for } E_i < E_{min} \end{cases} \quad (9)$$

ここで、 E_{min} は $m-1$ 回目までに得られた最低エネルギー値である。すべての $\beta_{mu}^m(E_i)$ を求めた後、 $\alpha_{mu}^m(E)$ は式 (8) から得られる。(上の式 (9) の中段の式は、 $H^{(m-1)}(E_i) = n(E_i) \exp(-S^{m-1}(E_i))$ から、 $S^m(E_i) = \ln n(E_i) = S^{(m-1)}(E_i) + \ln H^{(m-1)}(E_i)$ が得られ、これと、式 (6) を用いると導出される。)

3. 新しい重み因子 $\exp(-\beta_{mu}^m(E)E - \alpha_{mu}^m(E))$ を用いて、シミュレーションを行う。必要なエネルギー領域のヒストグラムが平らになるまで、2、3 を繰り返す。

最終的に得られた $\alpha_{mu}(E)$ と $\beta_{mu}(E)$ でシミュレーションすることにより $E_{min} < E < E_{max}$ をランダムウォークするマルチカノニカルシミュレーションを行うことができる。

上記の方法は、1 例であり、重み因子を速く決定する方法がいくつか開発されている [26]-[31], [10]。筆者は、従来のマルチカノニカル法を行う時は、初期のころ論文 [27] の方法を用いていた。後になり、論文 [31] の方法を用いている (最近の後で紹介する REMUCA を用いている)。

次に、マルチカノニカル法で得られた結果について報告する。ここでは、ribonuclease T₁ のフラグメントを切り出した 17 残基からなる小ペプチド系を用いた。この小ペプチドは低温では、 α ヘリックス構造をとり、高温ではランダムコイルになる。低温 ($T = 200\text{K}$) での従来のカノニカルモンテカルロシミュレーションとマルチカノニカルシミュレーションから得られた結果について述べる (マルチカノニカルシミュレーションでは、論文 [31] の重み因子決定法を用いた)。図 2 に、温度 200K のカノニカルシミュレーション (a) とマルチカノニカルシミュレーション (b) から得られたエネルギーのトラジェクトリ (120000 MC から 300000 MC sweeps) を示した。低温でのカノニカルシミュレーションでは、 -160 kcal/mol のまわりでエネルギーが揺らいでいる。200K の平均エネルギーは約 -200 kcal/mol (マルチカノニカルシミュレーションの結果から) なので、

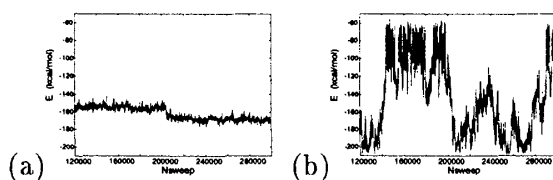


図 2: 低温での従来のカノニカルモンテカルロ法 (a) とマルチカノニカル法 (b) で得られた ribonuclease T_1 のフラグメントのエネルギーの time series

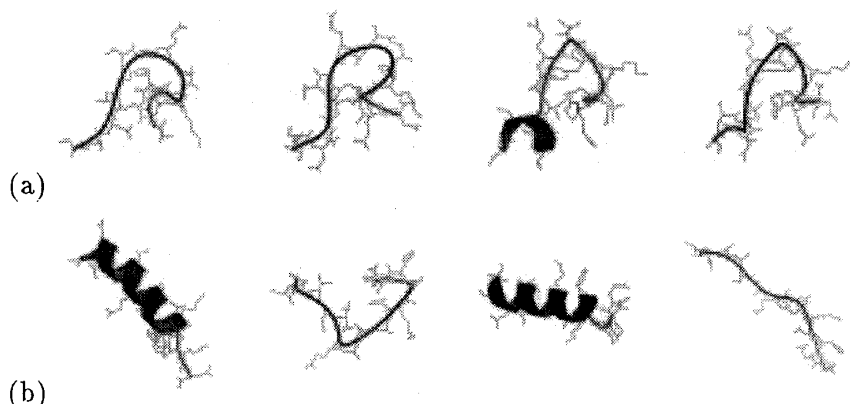


図 3: 低温でのカノニカルモンテカルロ法 (a) とマルチカノニカル法 (b) で得られた ribonuclease T_1 のフラグメントのスナップショット。マルチカノニカルシミュレーション (b) のスナップショットの左から 1、3 番目の構造は低エネルギーに対応する構造であり、ヘリックス構造である。2、4 番目は高エネルギーに対応する構造であり、ランダムコイルである。

このシミュレーションは極小状態にトラップされてしまい、200K に対応するエネルギー構造を正しくサンプルできない。一方、マルチカノニカル法だと、エネルギー空間上をランダムウォークするため、低温 (200K) に対応する構造をサンプルしていることがわかる。図 3 にそれぞれのシミュレーションのトラジェクトリから得られた構造のスナップショットを示す。従来のカノニカルシミュレーションだと、極小状態にトラップされて 1 つの構造から大きな変化を示すことができず、低温のシミュレーションにもかかわらず、ヘリックス構造をサンプルできないが、マルチカノニカル法だとトラップされことなく、効率良く構造をサンプルでき、低温の構造に対応するヘリックス構造をサンプルできることがわかる。また、図 4 にマルチカノニカルシミュレーションから得られた温度に対するヘリックス形成傾向性を示した。高温になるにつれ、ヘリックスが壊れてしまい、形成傾向性が下がることがわかる。このように、マルチカノニカル法は、一回のシミュレーションで任意の温度の熱力学量も計算することができ、非常に強力なサンプリング法である。

4 新しい拡張アンサンブル法

上記で示したように、マルチカノニカル法は一度重み因子が決定すれば、非常に強力な方法であるが、この重み因子を決定するのが難しく、熟練しなくてはならない。ここでは、マルチカノニカル法の重み因子を従来よりも簡単に決定できる方法を紹介する。この方法は、短いレプリカ交換シミュレーションを行い、その結果を multiple histogram 法を用いて解析し、状態密度を見積もり、これらの値からマルチカノニカル重み因子を決定する方法である。また、ある温度領域でマ

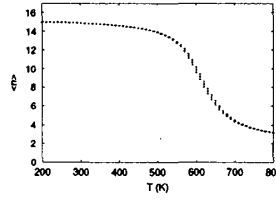


図 4: マルチカノニカル法で得られた ribonuclease T_1 のフラグメントの温度の関数としたヘリックス形成傾向性 $\langle n \rangle$

マルチカノニカルアンサンブルを実現するレプリカを用意し、これらのレプリカ交換から全エネルギー空間をランダムウォークする方法も開発された。これらの方法をそれぞれ、レプリカ交換マルチカノニカル法 (REMUCA)、マルチカノニカルレプリカ交換法 (MUCAREM) と呼んでいる。分子動力学法に関しては、REMUCA、MUCAREM を、同研究室の杉田助手が既に開発を行った [32]。ここでは、モンテカルロ版 [33] について述べる。また、さらに、シミュレーティッド・テンパリング法の重み因子も上記の手順で決定する方法を開発したので、この方法についても簡単に述べる [34]。これを、レプリカ交換シミュレーティッド・テンパリング法 (REST) と呼ぶことにした。

レプリカ交換法は、福島らが開発しているので、その報告を参考にさせていただきたい。レプリカ交換法により、 T_1 から T_M まで M 個の温度のカノニカルシミュレーションのトラジェクトリ $x_i (i = 1, \dots, M)$ が得られたとする。このトラジェクトリーから multiple histogram 法を用いて、あらい状態密度と自由エネルギーを計算することができる。

状態密度は以下の式から得ることができる；

$$n(E) = \frac{\sum_{k=1}^M g_m^{-1} N_m(E)}{\sum_{k=1}^M g_m^{-1} n_m \exp(f_m - \beta_m E)}. \quad (10)$$

ここで、

$$\exp(-f_k) \equiv \sum_E n(E) \exp(-\beta_k E) \quad (11)$$

であり、 $g_m = 1 + 2\tau_m$ で τ_m は温度 T_m における integrated autocorrelation time である。 $N_m(E)$ と n_m はそれぞれ、温度 T_m のエネルギー E に対するヒストグラムと全サンプル数である。 $n(E)$ と f_m は式 (10) と式 (11) を逐次的に解くことにより得られる。以上から、状態密度を近似的に求めることができるので、式 (6) と式 (8) を使うと、マルチカノニカル重み因子を決定することができる。この拡張版として、あるエネルギー領域内 $[E_{sta}^m < E \leq E_{end}^m] (m = 1, \dots, M)$ でマルチカノニカルアンサンブルが実現できるレプリカを M 個用意して、それぞれをレプリカ交換することにより、エネルギー空間上のランダムウォークを再現する方法が、マルチカノニカルレプリカ交換法 (MUCAREM) である。これらの詳細は、論文 [32, 33] を参考にしたい。

次に、レプリカ交換シミュレーティッド・テンパリング法に関して簡単に述べる。シミュレーティッド・テンパリング法は、温度空間上をランダムウォークする方法である；

$$P_{ST}(T) = \int dE n(E) W_{ST}(E; T) = \int dE n(E) e^{-\beta E + a(T)} = \text{const.} \quad (12)$$

ここで、重み因子は

$$W_{ST}(E; T) = e^{-\beta E + a(T)} \quad (13)$$

であり、

$$e^{-a(T)} \propto \int dE n(E) e^{-\beta E}. \quad (14)$$

である。 $a(T)$ は T での “dimensionless” Helmholtz free energy に対応する。この方法は温度を離散化 ($T_m (m = 1, \dots, M)$) して、何回かに 1 回の頻度でシミュレーションの温度 T_m を

$$W_{ST}(E; T_m) = e^{-\beta_m E + a_m} \quad (15)$$

の重み因子に基づいて変えることにより、温度空間上をランダムウォークする方法である。ここで、 $a_m = a(T_m)$ ($m = 1, \dots, M$) である。 a_m がこの方法で決定しなければならない重み因子である。この方法もマルチカノニカル法と同じように a_m を短いシミュレーションを繰り返し行うことによって、決定しなければならない。今回のRESTは、この a_m は式(11)の f_k と同じなので、短いレプリカ交換法の結果から f_k を求め、 $a_m = f_m$ とすることによりシミュレーティッド・テンパリングの重み因子を決定する方法である。詳細は、論文[34]を参考にして頂きたい。

これらの方法のテストとして、真空中の5残基からなるエンケファリンを用いた。レプリカ交換シミュレーション(REM)に関しては、 $T=50\text{K}$ から $T=1000\text{K}$ までの温度10個を用いた。温度の分布の選び方については、論文[35]のものをを用いた。10MCsweeps 毎に1回の頻度でレプリカ交換を行った。REMUCA、MUCAREM、RESTの重み因子はレプリカ交換シミュレーションが平衡に達するまで10000MCのシミュレーションを行った後、50000MCsweepsのトラジェクトリを解析して、決定した。MUCAREMに関しては、 $[-12.0 < E < -6.0]$ と $[-9.0 < E < 2.0]$ と $[-4.0 < E < 10.0]$ と $[6.0 < E < 20.0]$ でランダムウォークする4つのレプリカを用いて、10MCsweeps 毎に1回の頻度でレプリカ交換を行った。RESTに関しては、10MCsweeps 毎に1回の頻度で温度交換を行った。図5にそれぞれのシミュレーションのトラジェクトリの様子を示した。REMとMUCAREMに関してはそれぞれ、10個と4個のレプリカの内1つのトラジェクトリーを示した。左から、REM、REMUCA、MUCAREM、RESTのトラジェクトリーである。この系の最小エネルギー状態は約 -12.0kcal/mol で、どの方法でも最小エネルギー値をサンプルしていることがわかる。REMの50000MC sweeps までの結果は2回ぐらいしか、ランダムウォークしていないが、この情報から各シミュレーションの重み因子を決定することができた。何MCsweeps 毎にレプリカ交換を行うかが、これらのシミュレーションのランダムウォークの頻度に依存すると考えられるが、この系では、マルチカノニカル法が一番頻繁にランダムウォークすることがわかった。最後に、これらのシミュレーションから得られた平均エネルギーを温度の関数として図6に示す。全シミュレーションでの結果が良く一致している。

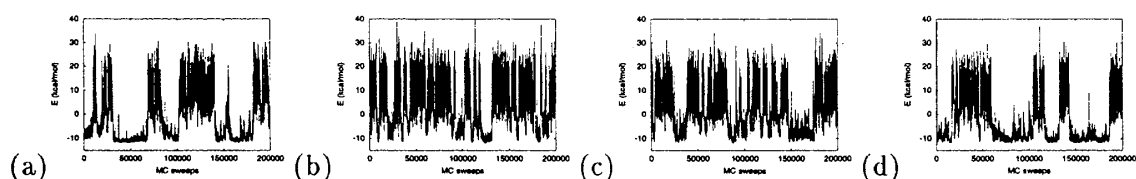


図 5: 各拡張アンサンブル法 (レプリカ交換法 (REM)(a)、レプリカ交換マルチカノニカル法 (REMUCA)(b)、マルチカノニカルレプリカ交換法 (MUCAREM)(c)、レプリカ交換シミュレーティッド・テンパリング法 (REST)(d)) で得られた真空中のエンケファリンのエネルギーの time series

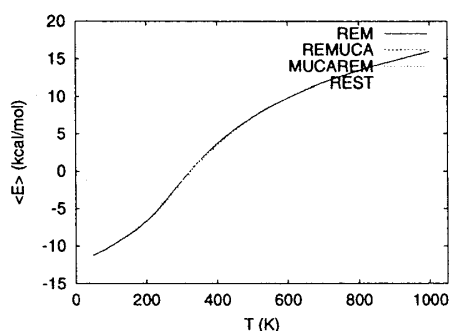


図 6: それぞれの拡張アンサンブル法から得られた真空中のエンケファリンの温度の関数に対する平均エネルギー

5 まとめ

今回はあまりタンパク質のシミュレーションの結果の話はせず、マルチカノニカル法と新しい拡張アンサンブル法について述べた。講演ではタンパク質系のシミュレーションの話として、ホモポリマーのヘリックス・コイル転移の研究 [36]、真空中やいろいろな溶媒効果を取り入れたエンケファリンのシミュレーション [37]-[39] の結果について報告した。レプリカ交換法は重み因子を決定する必要がなく、非常に簡単に拡張アンサンブルシミュレーションを実現できる方法であるが、系が大きくなるにつれレプリカの数が増大になってくる。一方、マルチカノニカル法やシミュレーティッド・テンパリング法は、重み因子を決定することは非常に難しいが、たくさんのレプリカを必要としない。よって、大きな系のシミュレーションを行う場合は、始めに短いレプリカ交換シミュレーションを行い、マルチカノニカル法やシミュレーティッド・テンパリング法の重み因子を決定し、長いシミュレーションを行う REMUCA、MUCAREM、REST が非常に有効であると考ええる。これらの方法により、より大きなタンパク質系のシミュレーションが容易に実現できると筆者は考える。最後に、拡張アンサンブル法について有意義な議論をしていただいた、ミシガン工大の U.H.E. Hansmann 氏 (元同研究室助手)、同研究室的杉田有治助手と、岡本祐幸助教授に感謝したい。

参考文献

- [1] B.A. Berg and T. Neuhaus, Phys. Lett. **B267** (1991), 249.
- [2] B.A. Berg and T. Neuhaus, Phys. Rev. Lett. **68** (1992), 9.
- [3] B.A. Berg, Fields Institute Communications **26** (2000), 1; also see cond-mat/9909236.
- [4] A.P. Lyubartsev, A.A. Martinovski, S.V. Shevkunov, and P.N. Vorontsov-Velyaminov, J. Chem. Phys. **96** (1992), 1776.
- [5] E. Marinari and G. Parisi, Europhys. Lett. **19** (1992), 451.
- [6] K. Hukushima and K. Nemoto, J. Phys. Soc. Jpn. **65** (1996), 1604.
- [7] K. Hukushima, H. Takayama and K. Nemoto, Int. J. Mod. Phys. C **7** (1996), 337.
- [8] C.J. Geyer, in *Computing Science and Statistics: Proc. 23rd Symp. on the Interface*, Keramidas, E.M., Ed., Interface Foundation, Fairfax Station (1991), 156.
- [9] J. Lee, Phys. Rev. Lett. **71** (1993), 211; *ibid.* **71** (1993), 2353.
- [10] C. Bartels and M. Karplus, J. Phys. Chem. B **102** (1998), 865.
- [11] R.H. Swendsen and J.-S. Wang, Phys. Rev. Lett. **57** (1986), 2607.
- [12] M.C. Tesi, E.J.J. van Rensburg, E. Orlandini, and S.G. Whittington, J. Stat. Phys. **82** (1996), 155.
- [13] E. Marinari, G. Parisi, and J.J. Ruiz-Lorenzo, in *Spin Glasses and Random Fields*, A.P. Young, Ed., World Scientific, Singapore (1998), 59.
- [14] B. Hesselbo and R.B. Stinchcombe, Phys. Rev. Lett. **74** (1995), 2151.
- [15] U.H.E. Hansmann and Y. Okamoto, Phys. Rev. E **56** (1997), 2228.
- [16] U.H.E. Hansmann, F. Eisenmenger, and Y. Okamoto, Chem. Phys. Lett. **297** (1998), 374.
- [17] Y. Okamoto, Recent Res. Devel. and Applied Chem. **2** (1998), 1.

- [18] U.H.E. Hansmann and Y. Okamoto, in *Annual Reviews of Computational Physics VI*, Stauffer, D., Ed., World Scientific, Singapore (1999), 129.
- [19] A. Mitsutake, Y. Sugita, and Y. Okamoto, *Biopolymers (Peptide Science)*, in press; also see cond-mat/0012021.
- [20] A.M. Ferrenberg and R.H. Swendsen, *Phys. Rev. Lett.* **61** (1988), 2635; *ibid.* **63** (1989), 1658.
- [21] A.M. Ferrenberg and R.H. Swendsen, *Phys. Rev. Lett.* **63** (1989), 1195.
- [22] S. Kumar, D. Bouzida, D., R.H. Swendsen, P.A. Kollman, and J.M. Rosenberg, *J. Comput. Chem.* **13** (1992), 1011.
- [23] F.A. Momany, R.F. McGuire, A. W. Burgess, and H.A. Scheraga, *J. Phys. Chem.* **79** (1975), 2361.
- [24] G. Némethy, M.S. Pottle, and H.A. Scheraga, *J. Phys. Chem.* **87** (1983), 1883.
- [25] M.J. Sippl, G. Némethy, and H.A. Scheraga, *J. Phys. Chem.* **88** (1984), 6231.
- [26] B.A. Berg and T. Celik, *Phys. Rev. Lett.* **69** (1992), 2292.
- [27] Y. Okamoto and U.H.E. Hansmann, *J. Phys. Chem.* **99** (1995), 11276.
- [28] S. Kumer, P. Payne, and M. Vásquez, *J. Comput. Chem.* **17** (1996), 1269.
- [29] G.R. Smith and A.D. Bruce, *Phys. Rev. E* **53** (1996), 6530.
- [30] U.H.E. Hansmann, *Phys. Rev. E* **56** (1997), 6201.
- [31] B.A. Berg, *Nucl. Phys. B (Proc. Suppl.)* **63A-C** (1998), 982.
- [32] Y. Sugita and Y. Okamoto, *Chem. Phys. Lett.* **329** (2000), 261.
- [33] A. Mitsutake, Y. Sugita, and Y. Okamoto, (2000), in preparation.
- [34] A. Mitsutake and Y. Okamoto, *Chem. Phys. Lett.* **332** (2000), 131.
- [35] Y. Sugita and Y. Okamoto, *Chem. Phys. Lett.* **314** (1999), 141.
- [36] A. Mitsutake and Y. Okamoto, *J. Chem. Phys.* **112** (2000), 10638.
- [37] A. Mitsutake, M. Irisa, Y. Okamoto, and F. Hirata, *Bull. Chem. Soc. Japan* **72** (1999), 1717.
- [38] A. Mitsutake, U.H.E. Hansmann, and Y. Okamoto, *J. Mol. Graph. Mod.* **16** (1998), 226.
- [39] A. Mitsutake, M. Kinoshita, Y. Okamoto, and F. Hirata, *Chem. Phys. Lett.* **329** (2000), 295.