

3D1b

カルシウムイオンポンプ内の水素結合ネットワークに関する理論的研究

○小林 千草, 杉田 有治

理化学研究所、杉田理論分子科学研究室

ckobayashi@riken.jp

膜輸送タンパク質は膜を通しての物質輸送を行い、様々な生命活動に重要な役割を果たしている。カルシウムイオンポンプ(SERCA)は筋小胞体膜中に存在する代表的な膜輸送タンパク質である。 10^4 倍の濃度差に逆らって、筋細胞中から小胞体内部へとカルシウムイオンを輸送する。SERCA の反応サイクルでは、プロトンの対抗輸送、ATP の結合、加水分解などの反応が行われており、イオン輸送に重要な役割を果たすことが知られている。現在まで結晶構造解析を始めとした実験研究が広くなされてきた。それらの研究結果から、カルシウムイオンの結合状態(E1 状態)と非結合状態(E2 状態, 図 1)の間には大きな構造の違いが存在すること、カルシウムイオン輸送にはプロトンの対抗輸送が必要であることが明らかとなった。特に、E2 状態から E1 状態への過程には、膜貫通部位に存在するカルシウムイオン結合部位から 2-3 のプロトンが細胞質側へ移動し、排出されることが知られている。E2 状態では、カルシウムイオン結合部位には 4 つのプロトン化された酸性残基が存在することは先行する研究によって明らかにされている。しかし、プロトン対抗輸送がどのように起きるのか、E1 構造への変化やカルシウムイオンの結合とどのような関係があるのかはいまだに明らかにされていない。本研究では、E2 状態でのプロトン状態の変化がカルシウムイオン結合部位の水素結合ネットワーク、更には膜貫通部位の構造にどのような影響を与えるのかについて解析を行った。

E2 状態の SERCA に対して、全原子モデルを用いた分子動力学(MD)計算を行った。力場は、SERCA に対しては charmm27、膜分子に対しては charmm36 をそれぞれ用いた。周期境界条件下で、長距離相互作用は PME 法を用いた。カルシウムイオン結合部位に存在する 4 つの酸性残基(E309, E771, D800, E908)のプロトン化状態を変化させ、MD 計算をそれぞれ 20ns ~ 100ns 間行った。

プロトン化された酸性残基を含む水素結合ネットワークがカルシウムイオンの非結合状態における結合部位の安定化に寄与している。(図 2) 一方で、E309, E771 のプロトン化状態の変化は水素結合の組み換え、水分子の挿入などを引き起こし、水素結合ネットワークの安定性を大きく変化させることを明らかにした。膜貫通部位の揺らぎや構造変化の詳細は当日発表する。

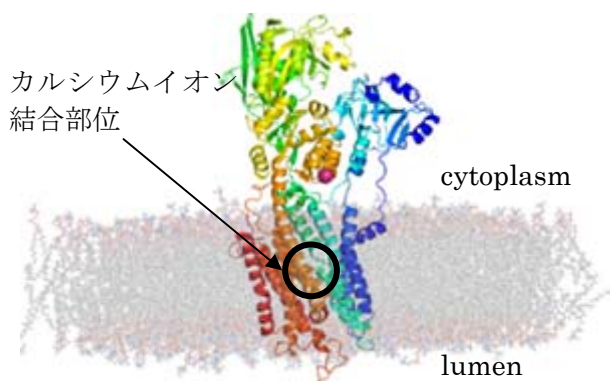


図 1 SERCA E2 状態

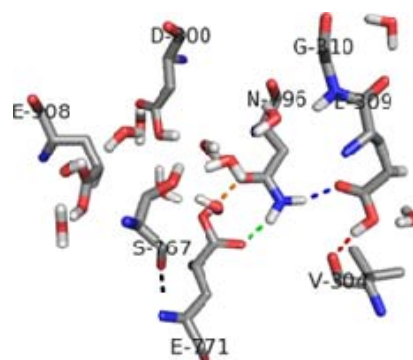


図 2 E2 状態におけるカルシウムイオン結合部位の水素結合ネットワーク

完全固体・完全液体 v2

○片岡洋右・山田祐理

法政大生命

yosuke.kataoka.7t@stu.hosei.ac.jp

目的

固相・液相・気相の間の相平衡を簡単に説明できるモデルを構築する。

対象とする系と仮定する相互作用

アルゴンのような球形分子からなる純物質系を対象とする。

分子間相互作用はレナード・ジョーンズ(LJ)関数で書く。分子間距離 r の関数である。エネルギーの定数 ε と長さの定数 σ を単位として用いる。

$$u(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]$$

固体の状態方程式

絶対 0 度のポテンシャルエネルギー $E_p(v, 0K)$ を最近接分子間に限定し、系は一様に膨張収縮すると仮定して体積の関数として定めた。内部エネルギーは完全気体項と E_p の和とした。対応する圧力の相互作用項は $-dE_p/dV$ とした。これは次に示す熱力学的状態方程式を満たす。

$$\left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_T = T \left(\frac{\partial p}{\partial T} \right)_V - p$$

完全気体項とビリアル項に調和振動を仮定して温度効果を導入した。[1]

液体の状態方程式

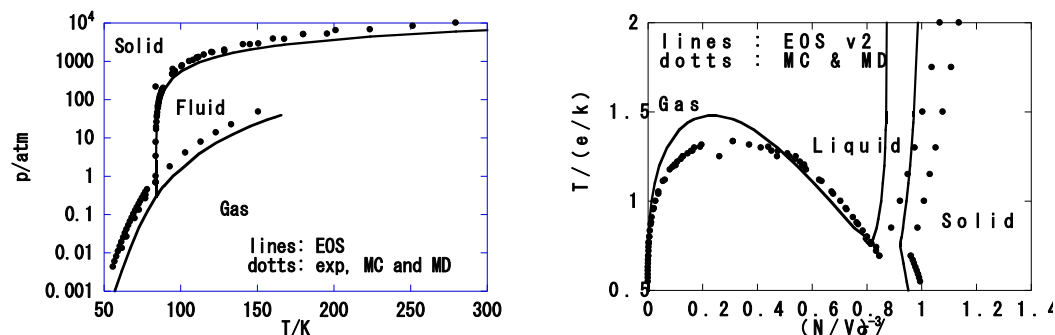
液体には剛体球部分にカーナハン・スターリングの式[2]を用いたファンデルワース式を使用した。基本的な式を次に示す。剛体球の直径は $\sigma_{CS} = 1.02 \sigma$ とした。

$$\eta = \pi N \sigma_{CS}^3 / 6V$$

$$p(CS) = (1 + \eta + \eta^2 - \eta^3) NkT / \{V(1 - \eta)^3\} - a/V^2$$

相平衡圧-温度及び温度-数密度図

Ar についての計算結果を図に示した。実験及びモンテカルロ(MC)・分子動力学(MD)の結果に対応する。



参考文献

[1] Y. KATAOKA* and Y. YAMADA, J. Compt. Chem. Jpn, 10, 98 (2011)

<http://www.istage.jst.go.jp/article/jccj/10/3/98/pdf-char/ja/>

[2] N. F. Carnahan and K. E. Starling, J. Chem. Phys., 53, 600 (1970).

3D3b

単分子膜に覆われた液体界面における取り込み確率：

分子動力学と Langevin 動力学を用いた計算

○坂口 俊¹, 森田 明弘¹

¹東北大院理

b1sd5007@s.tohoku.ac.jp

【序論】気液界面を介する物質輸送の速度は界面の状態によって大きく変化する。例えば、Langmuir膜が覆っている界面での水の蒸発速度は、その炭素鎖数 n が $12 < n < 22$ の範囲で増加するにつれ、指数関数的に減少する。¹近年、 $n=4$ の単分子膜での蒸発速度が真空中の実験で初めて測定され²、ほとんど影響を及ぼさないと報告された。この違いは、単分子膜の性質によって、水分子の膜透過のダイナミクスが定性的に変化していることを示唆している。界面での物質輸送は、界面化学の基礎であるがそのダイナミクスは未解決の点が多い。

一般にMD法を用いて、膜透過のような長時間かつ確率が非常に低い事象(rare event)を統計的に解析することは難しい。そこで、このようなダイナミクスをLangevin動力学法(LD法)で解析した。この時、気相から衝突した水分子はLangevin方程式に従うとした。

$$m \frac{dv_z}{dt} = - \frac{\partial G(z)}{\partial z} - m\gamma(z)v(z) + R(z,t)$$

特に今回の問題では、摩擦力が気相から液相にかけて著しい空間依存性を持つことが特徴である。この運動方程式に含まれる自由エネルギー曲面および摩擦係数をMDから計算した。

【結果】本研究の主な結果をここで紹介する。

1. 単分子膜の炭素鎖が増えることにより、水分子の膜透過に対する自由エネルギー曲面には障壁が現れるようになり、徐々に増加していく。その自由エネルギー障壁の形成には、水界面の大きな揺らぎによる "water finger" が関係している。
2. 炭素鎖が伸びた時、あるいは単分子膜の表面過剰量が増えた時に、取り込み確率が指数関数的に減少するという実験結果を再現した。減少する要因は主に膜透過での自由エネルギー障壁によるものであった。
3. 膜透過の途中で水分子が感じる摩擦係数は、対応する疎水性溶液中での水分子の感じる摩擦係数と比較すると非常に小さい。これにより、膜透過のダイナミクスは、有機溶媒中での拡散とは異なる事がわかった。
4. Grote-Hynes theoryは、摩擦が取り込み確率に与える効果のある程度表現できた。しかし、Grote-Hynes theory は、気相から液相にかけて空間的に摩擦係数が大きく変化する効果を表せないため、取り込み確率を20-50%程度過大評価した。
5. $n=4$ の単分子膜は蒸発速度を減少させる働きがあることが確認された。 $n=4$ の単分子膜が蒸発速度に影響を及ぼさないとという実験結果²は、その溶液中の硫酸イオンの影響によることが明らかとなった。

(1) Barnes, G. T. *Colloid Surface A* **1997**, 126, 149.

(2) Lawrence, J. R.; Glass, S. V.; Nathanson, G. M. *J Phys Chem A* **2005**, 109, 7449.

QM/MM 法に基づく溶質の電子密度の揺らぎによる
溶媒和自由エネルギーの新規な計算法の開発とその応用

○高橋 英明*, 近江 惇, 森田明弘

東北大院理

hideaki@m.tohoku.ac.jp

1. はじめに 我々はこれまでに QM/MM 法とエネルギー表示の理論[1]を組み合わせることにより、溶液の溶質の溶媒和エネルギー $\Delta\mu$ を効率良く、且つ高い精度で計算する方法を開発した(QM/MM-ER)[2]。エネルギー表示の標準的な定式化は、溶質—溶媒間の相互作用が 2 体的であることを前提にしているため、QM/MM-ER 法においては、2 体的な相互作用による寄与 $\Delta\bar{\mu}$ と残りの多体的な寄与 $\delta\mu$ に分割する必要がある ($\Delta\mu = \Delta\bar{\mu} + \delta\mu$)。 $\delta\mu$ の寄与はアニオンや遷移状態分子において特に顕著であり、反応経路に大きな影響を与える。従来の方法では、溶質の電子密度が溶媒の運動に応答して揺らぐことによる寄与 $\delta\mu$ の計算は、手続きが複雑であり近似的な汎関数を必要とする。最近、我々は多体の寄与 $\delta\mu$ の定式化を根本的に見直すことによって、極めて簡便且つ数値的に厳密に $\delta\mu$ を計算する方法を開発した[3]。

本発表では、溶媒や溶質の性質をパラメータとして多体の寄与を変化させることによってベンチマークテストを実施し、本方法の数値的な有効性を検証した。ここでは、水中のグリシンの異性化に伴う自由エネルギー変化 ΔG_{iso} の計算結果を紹介する。

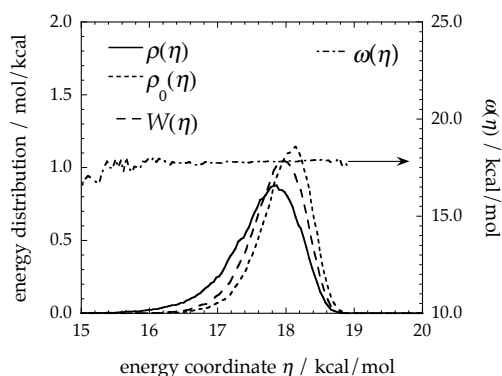
2. 計算方法 本方法の特徴は、量子化学的に扱う溶質の電子分極に伴うエネルギー変化 η をエネルギー表示法におけるエネルギー座標とみなし、溶液系と参照系の分布関数 $\rho(\eta)$ と $\rho_0(\eta)$ をそれぞれ構築することにある。これらの分布関数によって、 $\delta\mu$ は近似無しに

$$\delta\mu = \int d\eta \left[k_B T \ln \left(\frac{\rho(\eta)}{\rho_0(\eta)} \right) + \eta \right] W(\eta) \quad (1)$$

と表される。ただし、式(1)において $W(\eta)$ は統計平均のための重み関数である。

QM/MM シミュレーションにおいては、溶媒の水を 496 個の SPC/E モデルの水分子で表現し、QM 系として扱う中性型(NF)および双極性型(ZW)のグリシンを実空間グリッドによる KS-DFT 法で記述した。交換相関汎関数には BLYP を用いた。分布関数は 300 ps の QM/MM シミュレーションの統計平均によって構築した。

3. 結果と考察 ZW グリシンの η の分布関数 $\rho(\eta)$ と $\rho_0(\eta)$ を図 1 に示した。図 1 において、 $\omega(\eta)$ は式(1)の被積分関数の $W(\eta)$ の係数部分であり、原理的には η の値によらず一定となる。図 1 によれば、 $\omega(\eta)$ は $\rho(\eta)$ と $\rho_0(\eta)$ が有為な値を持つ領域でほぼ一定であり、溶媒和自由エネルギーが健全に計算されていることが分かる。2 体および多体の自由エネルギー(kcal/mol)は ZW において、それぞれ、 $\Delta\bar{\mu} = -62.1$, $\delta\mu = 17.8$ 、NF において、 $\Delta\bar{\mu} = -20.0$, $\delta\mu = 5.1$ であり、 ΔG_{iso} は -6.8 kcal/mol と得られた。これは過去の QM/MM-ER 法の計算値 -7.8 kcal/mol や実験値 -7.3 kcal/mol と良く一致しており、本方法の有効性が示された。



[1] N. Matubayasi and M. Nakahara, J. Chem. Phys. **113**, 6070 (2000).

[2] H. Takahashi and N. Matubayasi et al, J. Chem. Phys. **121**, 3989 (2004).

[3] H. Takahashi, A Omi et al, J. Chem. Phys. 2012, submitted.