特集:タンパク質構造機能相関再考

分子動力学シミュレーションによるタンパク質動的構造の解明: 電位依存カリウムチャネルでの適用を例として

笠原浩太¹,城田松之^{2,3},木下賢吾^{2,3,4}

タンパク質立体構造データベースである PDB には9万件以上のタンパク質が登録され るなど、タンパク質の立体構造情報はかなり蓄積されてきた.しかし、これらは基本的に は静的な構造であり、タンパク質の機能発現に不可欠な構造変化のような「動的構造」に 関して多くのことがわかっている状況ではない.核磁気共鳴法などで動的構造に関わる実 験情報が得られることもあるが、既に多くの構造が明らかにされている現状では、分子動 力学シミュレーションにより動的な構造を理解することが有力な手段の一つとなる.本稿 では、電位依存性カリウムチャネルでの筆者らの研究でわかってきたイオン透過メカニズ ムのイオン濃度依存性に関する知見と、シミュレーションによる動的構造理解の可能性と 今後の課題を議論する.

1. はじめに

タンパク質の立体構造が、その生化学的な機能を理解す る上で不可欠なものであることは述べるまでもないであろ う.その重要性から、基本的な構造パターンを網羅的に解 析することを試みた構造ゲノムプロジェクト(日本ではタ ンパク 3000 プロジェクト)や、構造解析が困難であるが 機能的に重要なタンパク質の構造を重点的に解析するター ゲットタンパク研究プログラムなどのプロジェクトが展開 され、大きな成果を上げてきてきた.特に、トランスポー ターの構造解析や電子伝達系の構造解析など、高分解能で

Molecular dynamics simulation, ion channel, dynamic structure, bioinformatics

Kota Kasahara¹, Matsuyuki Shirota^{2,3} and Kengo Kinoshita^{2,3,4} (¹Institute for Protein Research, Osaka University, 3–2, Yamadaoka, Suita-shi, Osaka 565–0871, Japan; ²Graduate School of Information Sciences, Tohoku University, 6– 3–09, Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai 980–8579, Japan, ³Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, ⁴IDAC, Tohoku University) の構造解析がその機能解明に果たした役割は大きい.今後,創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業などを通じて,構造解析の技術はより一般的な解析手段として広く用いられるようになってくるであろう.

一方,手法が洗練され数多くのタンパク質の立体構造が 明らかにされてきたが,X線の結晶構造解析は基本的に静 的な構造情報を与え,核磁気共鳴法(NMR)でも,動的 な構造に関する情報は含みつつも,静的な構造が主に利用 されているのが現状である.タンパク質は水溶液中にあ り,さまざまな機能を発揮するに当たって構造変化を伴う ことが知られており,静的な構造だけではその機能を理解 するには限界がある.実際,核内受容体である PPARγ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ)では,さまざ まな低分子が結合することで,その機能が促進されたり阻 害されたりするが,それら低分子との複合体X線結晶構 造解析では有意な構造の差が見いだせておらず,各低分子 によるタンパク質機能への干渉の分子的なメカニズムは解 明できていない.

本稿では,計算科学的な手法により静的構造からより多 くの情報を引き出す手法として分子動力学解析について紹 介する.特に,動的な構造が重要な意味をもっているイオ ンチャネルを例に,最近の我々の研究成果も含めて紹介す る.

¹大阪大学蛋白質研究所

² 東北大学情報科学研究科 (〒980-8579 仙台市青葉区荒 巻字青葉 6-3-09)

³東北大学東北メディカルメガバンク機構

⁴ 東北大学加齢医学研究所

2. チャネルタンパク質シミュレーションの歴史

イオンチャネルの分子機能に関する研究は1955年に Hodgkin と Keynes らによって切り拓かれた¹⁾. 彼らの主た る業績はイカ巨大軸索を用いた電気生理実験から得られた ものであるが、それに加えチャネルの分子構造を模したト イモデルでの実験によりチャネルポアの大まかな構造を予 見している点が興味深い、このモデルでは、図1に示すよ うに異なる色のボールがそれぞれ入っている二つの箱を, ボール一つがかろうじて通過できるほどの細い管でつない だ簡単な装置を考え、ボールがイオンに対応し、細い管が チャネルポアに対応すると考えた.この箱を一定回数揺 すったときに管を通過し隣の箱に移るボールの個数を観察 し、選択フィルターが細長い管状の構造を有していること を予測した.これらの見解は40年以上も後に報告された カリウムチャネル KcsA の結晶構造²⁾によって裏付けられ ることとなるが、トイモデルとは言っても、本質を見抜い たモデルであったと考えられる.

1) 立体構造以前

1955年の Hodgkin と Keynes の論文を皮切りに,イオン チャネルの分子機能について様々な研究がなされてきた. 1971年には,選択フィルターの基本的な構造とイオン選 択性のモデル (snug-fit model)が Hille らによって提唱さ れ³,1980年代には,単一チャネルでの測定やチャネル遺 伝子のクローニングが次々に行われたことで徐々に精緻な データが蓄積されてきた.一方,分子シミュレーション分 野では,1957年に Alder らによる最初の分子動力学法の論 文が発表され,1977年には Mc Cammon, Karplus らによっ て分子動力学法がタンパク質に対して初めて応用され,タ ンパク質シミュレーションに向けた技術基盤が整備されつ つあったが,当時の計算機ではチャネルのような大きなタ ンパク質の挙動を解析することは困難であり,またそもそ も K⁺チャネルの立体構造解析は未知であった.

2) 立体構造以後

既に述べたとおり,1998年になって MacKinnon らのグ ループによって KcsA の立体構造が報告された².実際に 構造が明らかになると,選択フィルターは一列に連なった 主鎖カルボニル酸素による一連の八面体サイト(S1,S2, S3,S4)によって構成されているなど,さまざまな実験



┓ ポアの長さを変えて比較

図1 Hodgkin & Keynes のトイモデル(原著論文の図を参考に 作成)

や理論的な考察により予見されていたとおりであった (図2). その他,構造が明らかになったことにより, K⁺イ オンにとってエネルギー的に不利な膜厚の中央付近を透過 させるための工夫として,イオンを水和させる広いキャビ ティが選択フィルター直前まで広がっている構造と,選択 フィルター直前では各サブユニットからキャビティに向い たへリックス双極子によってカチオンを安定化させる仕組 みを持っていることも明らかになった.

3) 選択フィルターでのイオン透過経路とイオン選択性

結晶構造が明らかになると、分子シミュレーションによるチャネルタンパク質の研究が盛んに行われるようになった.これらのシミュレーションでは、選択フィルター内を K*イオンはどのように透過していくのか、いかにして異種のカチオンと区別しているのか、という問題に焦点が当 てられた.

2000年にÅqvistとLuzhkovはKcsA 選択フィルターを構成する四つの八面体サイトに着目した.四つのサイトに対して K^+ イオンが結合する状態数の組み合わせは、全く結合していない状態から四つすべてに結合した状態まで合わせて全16通り存在する.これらすべての組み合わせについて自由エネルギー計算により安定性を求め、S1、S3にイオンが結合した状態と、S2、S4に結合した状態を交互にとる経路が最も安定であるとしている.さらに Rb^+ やNa⁺イオンについても計算を行い、Na⁺透過性が K^+ と比べて100~1,000倍低いことを定量的に示している⁴.翌2001年にはBernècheとRouxがさらに詳細なエネルギー地形を作成し、三つの K^+ イオンが選択フィルター内を一次元的に移動する系を考え、自由エネルギーを各イオンの座標を



図2 KcsA の立体構造(PDB:1bl8の座標データから作成). 見やすくするため、四量体のうち二つのみを表示している。

示す3変数の関数として記述した.その結果,占有された 状態の細胞内側サイト(S4)に細胞内側から来たK⁺がア プローチしてすでに結合している二つのK⁺を押し込む knock-on型のイオン透過経路と,結合している二つのK⁺ が自発的に前進することで空いたS4へと新たなK⁺が収 まる vacancy-diffusion型のイオン透過の二つの経路が存在 し,前者がエネルギー的に有利であることが示された⁵⁾. 2004年にはNoskovらが,選択フィルターのダイナミック な揺らぎがイオン選択性に重要であることを,シンプルな 計算モデルによって示した.K⁺とNa⁺のイオン半径の差 (0.38Å)を判別するため,サブオングストロームの精度 でカルボニル基が配位すると考えられていた snug-fit modelに対して,揺れ動くことにより選別を行う選択フィ ルターの新しい描像を示した.

このように選択フィルター内部でのK⁺イオンの熱力学 的安定性を自由エネルギー計算により評価する計算が主で あったが、アンブレラサンプリング(後述)に基づく自由 エネルギー計算はバイアスの掛け方や運動エネルギーの扱 い方など技術的な問題点もある.そこで、系の時間発展を 追跡することでイオン透過過程を直接観察する試みも行わ れてきた.

古くは2000年にBernècheとRouxがKcsAの4nsのシ ミュレーションを実施し,K⁺のサイト間遷移を観測して いる.計算資源の限界と,KcsAの結晶構造が閉状態であ ることなどから,K⁺イオンが入って出ていく一連の流れ を観測することはできなかった.後の2006年にはKhalili-AraghiらがKv1.2の開状態の立体構造を用いて合計25ns のシミュレーションを行っている.これにより細胞内側の K⁺が選択フィルターにアプローチしてknock-on的にK⁺を 細胞外へ押し出す様子を観測した.さらに2010年には Jensen らが独自の多体問題専用計算機を用いてマイクロ秒 スケールのシミュレーションを行い,I-V特性曲線の計算 や,コンホメーション変化によるゲーティングの観測を 行った⁶⁾.2012年にはさらに計算時間を延ばし,ミリ秒ス ケールの検討から電位感受性ドメインのダイナミックな動 きを直接観測している.

3. 分子動力学の基本

分子動力学法は原子や分子の集団の物理的な振る舞いを 計算機シミュレーションによって解析する手法である.分 子シミュレーションには正確さの程度により様々な手法が あるが,多くの場合は原子を原子核の位置に置かれた質点 として扱い,原子間の相互作用をあらかじめ与えられた力 場に基づいて計算する古典的分子動力学法のみを扱う.こ の手法は量子化学計算を含む方法に比べて原理的な正確さ は劣るが,計算コストが比較的少ないためにより多くの原 子について長時間シミュレーションを行うことが可能であ る.分子動力学法はタンパク質や核酸,脂質などの生体分子を含む系の物理的性質の解析や原子レベルでの機能の解 析に広く用いられ,現在では数万原子から数百万原子の系 について,ナノ秒から長いものではマイクロ秒からミリ秒 程度の時間スケールのシミュレーションが行えるように なってきた.

詳しくは専門書(例えば,文献7)を見ていただくとし て,後の議論に関係する部分だけ少し説明をする.分子動 力学法において系の時間発展は Newton の運動方程式を積 分することで得られる.

$$m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i \tag{1}$$

ここで m_i , r_i はそれぞれ原子iの質量と座標を表す. F_i は 原子iに働く力を表し,これは系のポテンシャルエネル ギーVを座標で微分することで得られる.

$$\boldsymbol{F}_{i} = -\frac{\partial V}{\partial \boldsymbol{r}_{i}} \tag{2}$$

ポテンシャルVは原子座標の関数 $V = V(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)$ として表される.系のポテンシャルを記述する原子間相互 作用の関数形と必要なパラメータを合わせたものは力場と 呼ばれる.これらの力場は物理化学実験の結果や量子化学 計算に基づいてパラメータが決定されている.

分子動力学法においては、ポテンシャルとして原子間相 互作用の他に拘束力を加えることで、特定の生化学現象に 焦点を当てたシミュレーションを行うこともできる。イオ ンチャネルのシミュレーションの目的はイオン透過やイオ ン選択性の原子レベルでのメカニズムを解明することにあ る.しかし、イオンチャネルの流量は多いものでも毎秒 10°~10°個程度であり、イオン透過を観測するには数十ナ ノ秒からマイクロ秒程度のシミュレーションが必要となる ため、十分な計算機資源がなければ行えない計算である. また、チャネルの立体構造が解析された条件によっては細 胞内ドメインが閉じていることがあり(例えば KcsA²の構 造),完全なイオン透過が観察しえないものもある.この ような状況の中でも、選択フィルターにイオンをバイアス させるような拘束ポテンシャルを用いて、イオン透過のエ ネルギー障壁を下げたサンプリングを行うことで、イオン 透過や選択性のエネルギー地形や原子メカニズムの解明が 行われてきた (アンブレラサンプリング).

一方,近年,計算機の性能向上によって,マイクロ秒程 度の長いシミュレーション時間の計算も可能となり,イオ ン透過のイベントを多数観察してコンダクタンスなどの統 計量を算出することも可能となってきている.そのような 目的のためには,

 $V_{volt}^* = V + E_Z \tag{3}$

とすることで,系全体にz軸方向の一様な電場 E をかけることができる.これは,脂質二重層が xy 平面に配置さ

れた系では細胞内外の膜電位差が存在する状況を作り出 し、電位勾配に沿ったイオンの透過をシミュレーションす る.生理的なイオン透過は膜を介した電気化学的勾配に よって駆動されているが、周期境界条件によって膜の両側 が実質連続している系では濃度差を作り出すことが難し く、このような電圧駆動型のシミュレーションが行われて いる.

4. イオン透過メカニズム

近年の絶え間ない計算機性能の向上により、イオンチャ ネルのような複雑な系でも長時間の分子動力学シミュレー ションが可能となってきており、Shawのグループでは世 界トップクラスの計算能力を持つ計算機を用いてミリ秒ス ケールのシミュレーションまで達成している.また高価な 専用計算機を用いなくても、安価なクラスター計算機の登 場や「京」をはじめとする大型計算機の共同利用が開かれ てきたことから、マイクロ秒スケールの計算が多くの研究 者の手によって現実可能になってきている.ここでは、電 位依存性カリウムチャネル Kv1.2 のイオン透過メカニズ ム解明に向けた筆者らの研究を紹介する⁸.

既に述べてきたように、K⁺チャネル選択フィルター内 でのK⁺イオン透過ダイナミクスの解明に向けて分子動力 学法による検討が盛んに行われてきた.これまで、イオン 透過のメカニズムに関しては、フィルターへとアプローチ したK⁺イオンが、選択フィルター内に結合しているK⁺イ オンを押し出す knock-on 型モデル、選択フィルターへの イオンの結合と解離が独立に起こる Association/Dissociation (A/D) モデル (先に述べた vacancy-diffusion モデル の一つ) などが提唱され、諸説決定打を欠いている状態に なっていた (図 3).

これに対して,Bernèche と Roux⁵⁰による自由エネルギー 計算の結果からは,細胞内側から選択フィルターへとアプ ローチした K⁺イオンが,選択フィルター内に結合してい る K⁺イオンを押し出す knock-on 型のメカニズムが支持さ れ,さらに 2010 年の Jensen らによる長時間シミュレー ションからも同様に,knock-on 型でのイオン透過が観測 された.この結果,自由エネルギー計算だけでなく長時間 シミュレーションによっても knock-on 型のイオン透過が



Knock-on Association/Dissociation 図3 提唱されているイオン透過モデル

支持されたことから、イオン透過メカニズムの議論には決 着がついたかに見えた.

しかし, Jensen らの長時間シミュレーションモデルで は,溶液中の KCI 濃度が 600 mM と生理的条件に比べて 非常に高濃度の条件を設定している.これはイオン透過量 が飽和するイオン濃度であり,より短いシミュレーション で最大限のイオン透過過程をサンプリングすることを目指 した条件設定である.これに対して筆者らは、イオン濃度 がイオン透過過程のダイナミクスに影響を与えると考え、 より生理的条件に近い 150 mM, 300 mM, 450 mM, 600 mM の4条件で合計 3.0 µs の分子動力学シミュレーショ ンを実施し、濃度の影響を調べた.

我々が本研究に用いた計算機は, Intel[®] Xeon[®] X5670 を 二つずつ搭載した12ノードのクラスター計算機である. 系の原子数は150 mM では51,269 原子であり、すべての 原子の XYZ 座標,速度,力を1ps ごとに単精度実数とし て保存する. したがって合計 3.0 µs のシミュレーション からは51,269(原子)×3(次元)×3(座標+速度+力)× 3,000,000(ps) 個の実数値が計算され,保存される.単精 度浮動小数で保存した場合,データ量は約5テラバイトと なる.この実数データの塊から、興味ある情報(ここでは K⁺の透過メカニズム)をいかにして得るかが問題であり, 情報科学的な視点が必要になる.今回扱う分子動力学計算 のデータ量は昨今言われているビッグデータという観点か らは大きなデータではなく、情報科学技術的側面からの解 析はそれほどの困難はないように見える.しかし,いわゆ るビッグデータは、web 上の文章のような多様な過程から 得られたデータの総体としての側面が強いのに対して、分 子動力学計算では単一の系のみからはき出されるテラバイ トオーダーのデータである.この規模のデータ量だと, データハンドリングやデータベースの技術的障壁は少ない が、個々のシミュレーション系ごとに、系の条件と計算の 目的に応じたテーラーメイドな情報処理が必要となる.

これまで分子動力学法からのイオン透過メカニズムの解 析には図4のような自由エネルギー(またはPotential of mean force)地形図が用いられてきた.選択フィルター内 での三つのK⁺イオンの動きを二次元の図で表現するため, 水平軸を三つめのK⁺イオンの座標,垂直軸を一つめと二 つめのK⁺イオンの中間点の座標としている.ここでは一 つめと二つめのK⁺イオンが完全に共役して移動すること を見込んでおり,また三つのK⁺イオンの動き以外は無視 する.しかし実際には,イオン同士の動きがある程度独立 している場合や四つめのK⁺イオンがフィルターにアプ ローチする場合もあり,より詳細な解析が必要となる.

そこで我々は,選択フィルター内でのイオン結合状態を 離散的に表現し,エネルギー地形をネットワーク図として 表現する方法を考案した.選択フィルター内でのイオン結

〔生化学 第85卷 第8号

合状態の遷移をネットワーク図として記述すること自体は 以前からよく行われてきたが(文献4など),従来は、極 めて単純化された概念図として利用されてきた.本研究で は分子動力学法によって得られた原子レベルの座標情報を



図4 シミュレーションから得られたエネルギー地形

直接的にエネルギー地形として表現する方法として、ネッ トワーク図を利用した.150 mM での計算から得られた ネットワーク図を図5に示す. 各ノード(四角,六角,八 角形)が各イオン結合状態を、ノード間の矢印が状態遷移 を示している.イオン結合状態はたとえば0:2:4のよう にコロン ':'で接続された数字で表現され、これはイオ ン結合部位 S0, S2, S4 それぞれに K⁺イオンが結合して いる状態を示している. ここで観測された各状態はさらに 四つに大別される.イオンが二つ結合している状態(II), 四つ結合している状態 (IV),イオン三つの最安定状態 (IIIr; resting state), そして最安定状態の前状態 (IIIe; entrance) である. 図中での右から左への遷移は選択フィル ターからのイオンの解離を、下から上はイオンの結合を意 味し、この二種類の遷移が交互に行われることでイオン透 過が起こる.本研究ではIIIrからII, IIIeを経由してIIIr に戻る過程が A/D 型で, IV, IIIe を経由する過程が knockon 型であることを示し、生理条件に近い低 KCI 濃度では A/D 型のメカニズムが優位であることを示した.

このネットワーク図ではある程度イオンの空間座標を離



図5 イオン結合状態ネットワーク図

散化する代わりに,複数のイオン同士の複雑な動きがよく わかる.さらにネットワークという一般的なデータ表現に 落とし込むことにより各種グラフアルゴリズムの適用が可 能であり,今後さらに様々な解析を行っていく予定であ る.

5. ナトリウムチャネル

Na⁺チャネルは K⁺チャネルと並んで活動電位などの生 理現象で重要な役割を果たすチャネルであるが、その立体 構造が解明されたのは K⁺チャネルの構造決定から 10 年以 上後のことであった。2011 年に Arcobacter butzleriの電位 依存性 Na⁺チャネル NavAb を皮切りに次々と Na⁺チャネ ルの立体構造についての報告がなされ[®]、これらの立体構 造は K⁺チャネルとの間の共通点と相違点を明らかにした。 Na⁺チャネルは K⁺チャネルと同様に四つの相同なドメイ ンが中心にイオン透過性のポアを形成し、その周囲に四つ の電位センサードメインが配置されるという共通の構造を 持っていた。電位センサードメインは S1~S4 の4本の膜 貫通へリックスからなり、ポアドメインは S5、S6 の2本 の膜貫通へリックスと S5-S6 間の P-loop と呼ばれる領域 からなる。P-loop は細胞外から膜に入り込み選択フィル ターの一部を形成した後再び細胞外に出る構造をとる。

一方,選択フィルターはK⁺チャネルのように主鎖O原 子により囲まれるのではなく,グルタミン酸残基の側鎖に より構成されていた.興味深いことに,Na⁺イオンはK⁺ イオンよりもファンデルワールス半径が小さいにも関わら ず,選択フィルター部の径はK⁺チャネルよりもNa⁺チャ ネルの方が幅広く,向かい合うグルタミン酸残基のファン デルワールス表面間の距離は約4.6Åと大きかった.この ことから,K⁺チャネルではカリウムが完全に脱水和して チャネルを透過するのに対して,Na⁺チャネルではナトリ ウムは水和状態を保ったまま透過すると考えられている.

このような立体構造に基づいて、アンブレラサンプリン グを用いた分子動力学シミュレーションによってチャネル 内のイオン透過の自由エネルギー地形を計算した報告があ る^{10,11)}. その結果、Na⁺チャネルはK⁺チャネルほど強くは ないが、細胞外から来る新しいイオンがチャネル内のイオ ンの移動を助けるという knock-on 式の透過が起こること が示唆されている. K⁺チャネルと異なり Na⁺チャネルで は、イオンが選択フィルターを通る時にはグルタミン酸側 鎖の一つに配位し、残りの部分は水和している. チャネル の選択性はこのように部分的に水和したイオンの選択フィ ルターにおける安定性によって生じていることも同時に示 唆された. 一方、現在解析された電位依存性 Na⁺チャネル の構造の多くは四つの S6 ヘリックスの終端が細胞内で近 接してポアを塞いでいるため、閉じた構造であると考えら れている. そのため、膜電位によってイオンがチャネルを 通って細胞膜を越える一連の現象を観察するためには,完 全に開いた構造のチャネルが必要となるかもしれない.

6. MD 問題点と今後の課題

1) ポテンシャル関数の問題

生体分子のシミュレーションに必要な非結合性ポテン シャル関数は、計算を簡略化するために二体相互作用によ り近似したものであり、三体以上の多体効果は無視されて いる.これらの力場パラメータは、二体相互作用のみで目 標とする物理量や化学的性質が実験データを再現できるよ うに決められており、これを有効ポテンシャルという.そ のため、分子動力学法の力場はパラメータが決められたと きに目標とされた以外の物理的、化学的性質を十分精度よ く表現できるとは限らない.

ファンデルワールスポテンシャルを例にとると,ここで のパラメータは相互作用する原子ペアの種類によって決ま るものである.これらは標準のパラメータが全ての条件で 実験値と合うことが保証されているわけではない.例え ば,AMBERやCHARMMの力場で設定されているK⁺と カルボニルO原子についての標準的なパラメータは,K⁺ の液体*N*-メチルアセトアミド(NMA)での溶媒和自由エ ネルギーを5~10 kcal/mol高く見積もると考えられてい る.NMA はタンパク質主鎖O原子のモデル分子である. したがって,標準的なパラメータでは選択フィルター内の K⁺イオンがおかれた環境を正確に表すとはいえず,この 点を修正したパラメータが提案されており,K⁺チャネル のシミュレーションで用いられている¹²⁾.このように,シ ミュレーションを行う系の物理化学的性質を考えた上でそ れぞれの条件に適した力場を選ぶ必要がある.

2) 膜電位の問題

膜電位は式(3)のように、ポテンシャルに電圧に相当す る項を付加することによって実現される.これは、z 方向 に一様な電場 E をかけることを意味している.では、こ のような条件下で実際に膜が感じている電圧はどれほどに なるのであろうか? 系のz 軸方向の長さを L。 膜の厚み を d とすると、系全体に外部からかけられる電圧は EL。 膜の厚みにかかる電圧は Ed であり、このどちらが実際の 膜電位に相当するのだろうか.

この問題は過去の研究において研究者間で見解の相違が 見られた点であるが、最近のRouxらの報告によって一定 の収束をみたと考えられる^{13,14}. つまり、膜のような不導 体の層を中央に含みその上下がイオン溶液のような導体で 満たされた系に一様の電場をかけると、導体部分では外部 電場を打ち消すような反応場が生じるように水やイオンが 分極する.このような分極による反応場は水溶液中の外部 電場を打ち消すように働くが、膜の層に対しては他で打ち 消された電場の分まで強める方向に働く. 結局,不導体の



図6 一様な外部電場が引き起こす細胞内外の電位差

膜の層にかかる電場は系全体にかけた外部電場 EL_eに等し くなるのである.図6にK⁺チャネルを脂質二重層に埋め 込み,周囲をイオン溶液で満たした系に対して,Z軸方向 にEL_e=920 mV となるように電場をかけた際に生じる静 電ポテンシャルの分布を示す.系全体に一様な電場をかけ ても,細胞内外のイオン溶液には電位差がなく,電圧降下 は膜やチャネルの部分でのみ起こることがわかる.

単純な計算によってイオン溶液層にこのような反応場を もたらす電荷の偏りは非常に少なくてすむことが分かる. 距離 d だけ離れた 2 平面に面積 s あたりそれぞれ + Q, -Q の電荷が帯電している時にその間に生じる電位差 Vは,真空の誘電率を ε_0 として, $V = Qd/\varepsilon_0 S$ で表される. この式から,一般的に分子動力学シミュレーションが行わ れる 100 nm² (100 Å×100 Åに相当) 程度の面積について, 100 Åあたり 1 V の電位差を生じるためには Q = 0.55 e で あることがわかる (e は電気素量). すなわち,このよう な系においては膜の上層と下層においてイオン 1 個以下の 電荷の偏りさえあれば 1 V 程度の溶液層の外部電場を打ち 消すことができる.そのため,外部電場をかけたシミュ レーションでも電荷の偏りが目に見える形で観測されるこ とはほとんどない.

7. まとめ

以上駆け足で分子動力学シミュレーションの可能性と限 界を見てきたが、このアプローチはいくつかの問題はまだ 残るものの強力な解析手段となってきており、計算機が高 速になるに応じて、より大きな系への応用やより長時間の シミュレーションが現実的になってきている.その一方 で、シミュレーションの結果は一種のビッグデータとなり つつあり、その計算結果を解析することが情報科学的な課 題となりつつある.今後は、シミュレーションパラメタの 問題を解決するために、核磁気共鳴法などの実験データと 合わせることで、より精度の高い動的構造に関する分子レ ベルでの理解が得られることを期待している.

献

- 1) Hodgkin, A.L. & Keynes, R.D. (1955) J. Physiol., 128, 61-88.
- Doyle, D.A., Morais Cabral, J., Pfuetzner, R.A., Kuo, A., Gulbis, J.M., Cohen, S.L., Chait, B.T., & MacKinnon, R. (1998) *Science*, 280, 69–77.
- 3) Hille, B. (1971) J. Gen. Physiol., 58, 599-619.

文

- 4) Åqvist, J. & Luzhkov, V. (2000) Nature, 404, 881-884.
- 5) Bernèche, S. & Roux, B. (2001) Nature, 414, 73-77.
- Jensen, M.O., Borhani, D.W., Lindorff-Larsen, K., Maragakis, P., Jogini, V., Eastwood, M.P., Dror, R.O., & Shaw, D.E. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107, 5833–5838.
- 7) 岡崎 進,吉井範行 (2011) コンピュータシミュレーションの基礎 [第2版],化学同人.
- Kasahara, K., Shirota, M., & Kinoshita, K. (2013) *PLoS One*, 8, e56342.
- Payandeh, J., Scheuer, T., Zheng, N., & Catterall, W.A. (2011) Nature, 475, 353–358.
- 10) Corry, B. & Thomas, M. (2012) J. Am. Chem. Soc., 134, 1840–1846.
- 11) Furini, S. & Domene, C. (2012) PLoS Comput. Biol., 8, e1002476.
- 12) Roux, B. & Berneche, S. (2002) Biophys. J., 82, 1681-1684.
- 13) Roux, B. (2008) Biophys. J., 95, 4205-4216.
- 14) Gumbart, J., Khalili-Araghi, F., Sotomayor, M., & Roux, B. (2012) Biochim. Biophys. Acta, 1818, 294–302.