溶液中における生体関連分子複合系の 自由エネルギー解析

松林 伸幸

(大阪大学 基礎工学研究科)

ソフト分子集合系

分子スケール~µm程度の秩序とゆらぎによって機能が規定





多くの分子が関与する集合様態も反映 ⇒ 多体問題

溶媒和自由エネルギー



希薄ガス状態を基準とした場合の溶解度 S

溶媒和自由エネルギー Δμ = -RT log S (R: 気体定数、T: 絶対温度)

よく溶ける \Leftrightarrow *S*が大きい $\Leftrightarrow \Delta \mu$ が小さい

希薄ガス状態(真空)を基準に ⇒ 溶媒効果を抽出 真空 = 溶質が孤立した状態(「自分」しかいない状態) 溶媒効果 = 「周囲」の影響

△µ: 統計力学手法によって分子間相互作用から算出





「溶媒和」:物質分配の統一的問題設定

シースでの 溶媒和ドロ ア P<	溶質 = 溶 溶媒 = 溶	けるもの かすもの 普遍1	分配されるもの 溶質周りの分子) 子集団
均一系での 溶媒和脂質膜への 分子の分配ミセルへの分子の 分配(可溶化)界面への 物理吸着・分配の強度: 溶媒和自由エネルギー				
溶媒和 分子の分配 分配(可溶化) 物理吸着 • 分配の強度:溶媒和自由エネルギー	均一系での	脂質膜への	ミセルへの分子の	ション 界面への
• 分配の強度: 溶媒和自由エネルギー	溶媒和	分子の分配	分配(可溶化)	物理吸着

・分配のサイト: 配置に関する条件付きの溶媒和自由エネルギー 普遍化された溶媒和自由エネルギー



溶解 or 吸着自由エネルギー ⇒ 溶媒和自由エネルギーとして計算

直鎖ポリマー(溶媒)への水(溶質)の溶解



分子動力学(MD)シミュレーション

抽象的な統計力学表式を数値的に現実化

分子動力学(molecular dynamics, MD)は、 Newtonの運動方程式を解くことによって、 分子1個1個を動かして 分子集合系をコンピューター上で実現する

分子内・分子間相互作用を仮定すれば、 原理的にはどのような量でも計算可能

✓相互作用の妥当性の問題

✓ 系の有限サイズの問題

 $m\frac{d^2\mathbf{x}}{dt^2} = -\frac{\partial U}{\partial \mathbf{x}}$

MDによる分子集合系の解析

- 分子内および分子間相互作用ポテンシャル(力場)を取得 汎用力場(AMBER, CHARMM, OPLS, ...)を採用 量子計算からパラメータを構成
- 2. 運動方程式を解き統計集団(カノニカル、定温定圧、…)を生成 MDソフトを使用(GROMACS, LAMMPS, …)
- 3. 解析する

研究対象に応じたツールを使用

新しいアイデアに基づく解析には、プログラム開発が必要



運動方程式と平均

ハミルトンの運動方程式(H: ハミルトニアン)
 r_i: i番目の粒子の座標 **p**_i: i番目の粒子の運動量

 $\frac{d\mathbf{p}_{i}}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial \mathbf{r}_{i}}$ $\frac{d\mathbf{r}_{i}}{dt} = \frac{\partial H}{\partial \mathbf{p}_{i}}$ 統計集団 (アンサンブル)の生成 $\Rightarrow ミクロカノニカル (NVE) アンサンブル$

微視的状態 Γ: 系内の全粒子に対する(r_i, p_i)の組

$$\left\langle A\right\rangle = \lim_{T \to \infty} \frac{1}{T} \int_{0}^{T} A(t) dt = \int d\Gamma A(\Gamma) P(\Gamma)$$

MDで得られる時間平均

統計平均 *P*(Γ): 微視的状態Γの出現確率 (*NVE*アンサンブルなら、Γに依存しない)

統計集団:ミクロカノニカルアンサンブル

ミクロカノニカル・アンサンブル(*NVE*アンサンブル)

3つの示量性変数:エネルギー(*E*)、体積(*V*)、粒子数(*N*)を指定 *W*(*E*,*V*,*N*): 全微視的状態の数

$$P(\Gamma) = \frac{1}{W(E, V, N)} = \exp\left(-\frac{S}{k_B}\right)$$

エントロピー

$$-TS(E,V,N) = -k_B T \log W(E,V,N) \quad \text{Boltzmann} \mathbf{O} 原理$$

$$= k_B T \log P(\Gamma) \quad \text{at each } \Gamma$$

$$= k_B T \sum_{\Gamma} P(\Gamma) \log P(\Gamma)$$

統計集団:カノニカルアンサンブル

カノニカル・アンサンブル (*NVT*アンサンブル)
2つの示量性変数:体積(*V*)、粒子数(*N*)と
1つの示強性変数:温度(*T*)を指定

$$P(\Gamma) \propto \exp\left(-\frac{E}{k_BT}\right) \quad (エ ネルギーEは確率的に分布)$$

$$P(\Gamma) = \exp\left(\frac{A-E}{k_BT}\right) \qquad \exp\left(-\frac{A}{k_BT}\right) = \sum_{\Gamma} \exp\left(-\frac{E(\Gamma)}{k_BT}\right) \quad 分配関数$$
ヘルムホルツ自由エネルギー

$$A(T,V,N) = E(\Gamma) + k_BT \log P(\Gamma) \text{ at each } \Gamma$$

$$= U - TS = \sum_{\Gamma} E(\Gamma)P(\Gamma) + k_BT \sum_{\Gamma} P(\Gamma) \log P(\Gamma)$$

$$-TS = k_BT \sum_{\Gamma} P(\Gamma) \log P(\Gamma)$$



統計集団:定温定圧アンサンブル

定温定圧アンサンブル (NPTアンサンブル) 1つの示量性変数: 粒子数(N)と 2つの示強性変数: 温度(T)、圧力(P)を指定 $P(\Gamma,V) \propto \exp\left(-\frac{E+PV}{k_BT}\right) \qquad (E, V \text{lt確率的IC分布})$ $P(\Gamma,V) = \exp\left(\frac{G-E-PV}{k_BT}\right) \qquad \exp\left(-\frac{G}{k_BT}\right) = \sum_{\Gamma,V} \exp\left(-\frac{E(\Gamma,V)+PV}{k_BT}\right)$ **ギブス自由エネルギー** $G(T,P,N) = E(\Gamma,V) + PV + k_BT \log P(\Gamma,V) \text{ at each } (\Gamma,V)$ $= U - TS + P\langle V \rangle = \sum_{\Gamma,V} (E(\Gamma,V) + PV) P(\Gamma,V) + k_BT \sum_{\Gamma,V} P(\Gamma,V) \log P(\Gamma,V)$ $-TS = k_BT \sum_{\Gamma,V} P(\Gamma,V) \log P(\Gamma,V)$

拡張ハミルトニアンの方法

NVTアンサンブルやNPTアンサンブルをMDで作る方法

能勢の拡張ハミルトニアン $H_{ext} = H(\Gamma) + \frac{p_s^2}{2Q} + gkT \log s$

元のハミルトニアン

能勢熱浴: *s*は周囲との熱交 換をモデル化した座標で、 *p*,がその共役運動量

*NVT*アンサンブルの生成 $P(\Gamma) \propto \exp\left(-\frac{H(\Gamma)}{kT}\right)$

拡張ハミルトニアンの設定で様々なアンサンブルを生成可能 拡張ハミルトニアンを用いると、系のダイナミクスは現実からずれる ⇒輸送係数の計算では、NVE系との比較がチェック項目

統計平均

ある物理量 $Q(\Gamma)$ の統計平均 $<Q>(\Gamma: 微視的状態)$ Q = 0do t = 1, # of snapshots get the value q of $Q(\Gamma_t)$ 各スナップショットは $P(\Gamma)$ の Q = Q + q 確率で出現 enddo Q = Q / (# of snapshots) $\langle Q \rangle = \int d\Gamma Q(\Gamma) P(\Gamma) = \frac{\int d\Gamma Q(\Gamma) \exp\left(-\frac{E(\Gamma)}{k_B T}\right)}{\int d\Gamma \exp\left(-\frac{E(\Gamma)}{k_B T}\right)}$ 確率(密度)

モンテカルロ法とレプリカ交換法

モンテカルロ法: マルコフ過程の理論を用いてアンサンブルを生成 昔は良く使用されていたが、分子が複雑になると適用が困難 になるため、最近は、あまり使われていない ただし、MDのサンプリング効率を上げるために、モンテカル ロ法の考え方を組合せることがある (例: レプリカ交換法、ハイブリッド モンテカルロ法)

レプリカ交換法:分子運動が早い高温状態などを含むいくつかの MDを平行して走らせ、モンテカルロ法の理論を用いることで、 NVTやNPTアンサンブルを効率的に生成

MDによる解析の流れ

- 分子内・分子間相互作用ポテンシャル(力場)の決定・取得 (量子計算、データベース)
 ・・・ 文献値のセット(OPLS, AMBER, CHARMM, ...)
- 2. 運動方程式を数値的に解き、対象とする分子集合系の 統計集団(アンサンブル)を生成(古典力学、統計力学)
 ・・・汎用パッケージ(GROMACS, LAMMPS, AMBER, ...)

3. 解析する

- ・統計集団が正しく生成されなければ、MDは正しく遂行されない
- ・どのような統計平均量を取るか、が解析の「腕」である



分布関数の考え方

ソフト分子集合系の構造は一意ではなく、常に揺らいでいる

- 分子レベルの記述は、確率論的なものになる
- ある特定の分子(「溶質」)の周囲の分布
- ・「何の」分布を考えるか(何を「横軸」とするか)?
- 熱力学量などの観測量との関係?

動径分布関数

分子間の距離の分布を定量化

中心に取った分子から見て、どの辺りの距離にどのぐらいの量の 分子が存在するかを記述する

距離rでの局所的な密度をバルクの密度で正規化



水の動径分布関数

O-O原子間の動径分布関数(g_{OO})の第1ピーク → 隣合った水分子が約2.8 Åにいる O-H原子間の動径分布関数(g_{OH})の第1ピーク → 分子間水素結合距離は、約2 Å g_{OO} の第2ピークは、第1ピークの約1.6倍の距離である約4.5 Åに出現





水のエネルギー分布関数

- 水分子間の相互作用エネル
 ギーの分布を記述
- 約 -6 kcal/molのピークは、
 分子間水素結合に相当
- 水素結合相互作用の 非一様性
- ・ 遠距離の双極子間相互作用
- 近距離での斥力的相互作用の存在







分布と自由エネルギー(1)

ある物理量*Q*(**X**)の値(= *q*)の確率密度

 $P(q) = \frac{\int d\mathbf{X} \delta(Q(\mathbf{X}) - q) \exp(-\beta U(\mathbf{X}))}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U(\mathbf{X}))}$ 微視的配置 **X**の する確率(密度)

微視的配置 X の出現

 $Q(\mathbf{X}) = q$ となる微視的状態だけからなる系の自由エネルギー

$$\exp(-\beta G(q)) = \int d\mathbf{X} \delta(Q(\mathbf{X}) - q) \exp(-\beta U(\mathbf{X}))$$

熱力学量である粒子数N.体積V.温度Tに加えて、 Q(X)の値をも指定した統計集団の自由エネルギー $(Q(\mathbf{X}) = q$ であるという条件付きの自由エネルギー)

ある物理量 $Q(\mathbf{X})$ の値(=q)の確率密度

$$P(q) = \frac{\int d\mathbf{X} \delta(Q(\mathbf{X}) - q) \exp(-\beta U(\mathbf{X}))}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U(\mathbf{X}))}$$

 $Q(\mathbf{X}) = q$ であるという条件付きの自由エネルギー

$$\exp(-\beta G(q)) = \int d\mathbf{X} \delta(Q(\mathbf{X}) - q) \exp(-\beta U(\mathbf{X}))$$

$$-k_B T \log\left(\frac{P(q_2)}{P(q_1)}\right) = G(q_2) - G(q_1)$$

左辺: q₁, q₂で指定される2つの状態の分布の比 右辺: q1からq2への移行に伴う自由エネルギー変化 log(分布) ∝(自由エネルギーの量)+ 定数



ポテンシャルエネルギー変化

 $U_A(\mathbf{X})$: 系Aのポテンシャルエネルギー $U_B(\mathbf{X})$: 系Bのポテンシャルエネルギー

ポテンシャルエネルギーの変化: $\Delta U(\mathbf{X}) = U_B(\mathbf{X}) - U_A(\mathbf{X})$ 微視的な量(系の微視的配置に依存)

系Aから系Bへの変化に伴う自由エネルギー変化 ΔG

$$\exp\left(-\beta\Delta G\right) = \frac{\int d\mathbf{X} \left(-\beta U_B(\mathbf{X})\right)}{\int d\mathbf{X} \left(-\beta U_A(\mathbf{X})\right)}$$
$$= \frac{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta\Delta U(\mathbf{X})\right) \exp\left(-\beta U_A(\mathbf{X})\right)}{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_A(\mathbf{X})\right)}$$

平衡定数、反応速度定数、物質分布を決定



自由エネルギー摂動法

$$i = 0: 始状態 U_0 = U_A \qquad i = N: 終状態 U_N = U_B
0 < i < N: 中間状態 各 i について \Delta U_i = U_{i+1} - U_i
\Delta G = \sum_{i=0}^{N-1} \Delta G_i \qquad \exp(-\beta \Delta G) = \prod_{i=0}^{N-1} \exp(-\beta \Delta G_i)
\exp(-\beta \Delta G_i) = \frac{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U_{i+1})}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U_i)} = \frac{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta \Delta U_i(\mathbf{X})) \exp(-\beta U_i(\mathbf{X}))}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U_i(\mathbf{X}))} = \langle \exp(-\beta \Delta U_i) \rangle_i
\langle \cdots \rangle_i = \frac{\int d\mathbf{X} (\cdots) \exp(-\beta U_i(\mathbf{X}))}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U_i(\mathbf{X}))}$$

自由エネルギー摂動法

 ΔU_i (の絶対値)が小さければ、 ΔG_i の計算精度が向上 小さな $\Delta U_i \Leftrightarrow$ 大きな $N \Leftrightarrow$ 中間状態の数の増加 \Leftrightarrow 計算時間の増大 N = 10 - 20程度、問題に強く依存

連続的な中間状態

結合パラメータ λ $(0 \le \lambda \le 1)$ 連続的な $U_{\lambda}(\mathbf{X})$ $\lambda = 0$: 始状態 $U_0 = U_A$ $\lambda = 1$: 終状態 $U_1 = U_B$ $0 < \lambda < 1$: 中間状態 取り方は任意

$$\Delta G = -k_{B}T \log \left(\frac{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_{B}(\mathbf{X})\right)}{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_{A}(\mathbf{X})\right)} \right) = -k_{B}T \int_{0}^{1} d\lambda \frac{d}{d\lambda} \log\left(\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X})\right)\right)$$
$$= \int_{0}^{1} d\lambda \frac{\int d\mathbf{X} \left(\frac{\partial U_{\lambda}(\mathbf{X})}{\partial \lambda}\right) \exp\left(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X})\right)}{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X})\right)}$$
$$= \int_{0}^{1} d\lambda \left\langle \frac{\partial U_{\lambda}(\mathbf{X})}{\partial \lambda} \right\rangle_{\lambda} \qquad \left\langle \cdots \right\rangle_{\lambda} = \frac{\int d\mathbf{X} \left(\cdots\right) \exp\left(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X})\right)}{\int d\mathbf{X} \exp\left(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X})\right)}$$

熱力学積分法

熱力学積分法

$$\Delta G = \int_{0}^{1} d\lambda \left\langle \frac{\partial U_{\lambda}(\mathbf{X})}{\partial \lambda} \right\rangle_{\lambda} \qquad \left\langle \cdots \right\rangle_{\lambda} = \frac{\int d\mathbf{X}(\cdots) \exp(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X}))}{\int d\mathbf{X} \exp(-\beta U_{\lambda}(\mathbf{X}))}$$

結合パラメータ λ $(0 \le \lambda \le 1)$ 連続的な $U_{\lambda}(\mathbf{X})$ $\lambda = 0$: 始状態 $U_0 = U_A$ $\lambda = 1$: 終状態 $U_1 = U_B$ $0 < \lambda < 1$: 中間状態 取り方は任意

実際の運用ではパラメータ λ を離散化 注意点: 被積分関数が隣の離散点で急激な変化をしないこと ⇒離散点を増やす(計算時間の増大) λ 依存性が「小さく」なるようなU₄(X)の設定



分子:対象溶液系のMD

溶媒和における溶質一溶媒相互作用

溶媒和:溶質-溶媒相互作用の導入

 ψ : 溶質の配置(座標)、 x: 溶媒分子の配置 $v(\psi, \mathbf{x})$: 溶質-溶媒間の対(ペア)相互作用ポテンシャル

通常はCoulomb項とLennard-Jones項の和

$$v(\boldsymbol{\psi}, \mathbf{x}) = \sum_{ij} \left(\frac{Q_i q_j}{r_{ij}} + 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right)$$

i: 溶質分子の原子サイト(相互作用サイト)
 j: 溶媒分子のサイト
 Q_i、q_j: 各サイト上の部分電荷
 ε_{ij}、σ_{ij}: Lennard-Jonesのエネルギーと距離のパラメータ
 r_{ij}: サイト i とサイト j の動径距離

soft-core potential

Lennard-Jones項の λ に対する変化を「小さく」する \Rightarrow soft-core potential (排除体積効果の急激な印加を抑制)







 0
 5
 10
 -5
 0

 原子間距離 r
 分子間相互作用エネルギー ε

 1930年代:
 Kirkwood
 エネルギー表示溶液理論

 1970年代~:
 RISMなど
 エネルギー分布による新タイプのDFT



自由エネルギー計算ソフトERmod

Software HP: http://sourceforge.net/projects/ermod/





POPCとアラメシチン

POPC: 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine



平面状の2重膜を形成

アラメシチン: 20残基 Ac-Aib-Pro-Aib-Ala-Aib-Ala-Gln-Aib-Val-Aib-Gly-Leu-Aib-Pro-Val-Aib-Aib-Glu-Gln-Phl (Ac = acetyl, Phl = phenylalaninol, Aib = 2-aminoisobutyric acid) α-ヘリックス、チャンネル形成



密度可変領域における水の役割



界面領域の水=バルクと比べて斥力が減少し引力は保持 超臨界水(中密度)が疎水分子を溶解する機構も同様 界面(脂質膜、ミセル、気液)や超臨界水での水の役割の共通性

溶媒和における引力と斥力

引力:溶媒和自由エネルギーをマイナスにする(安定化)



水素結合、分散引力、・・・

溶質が溶けた状態で働く

斥力:溶媒和自由エネルギーをプラスにする(不安定化)



疎水効果 重なる溶媒分子を「除ける」

(排除体積効果)

脂質ー水「混合溶媒」からの引力と斥力



水の寄与によりペプチド溶質が膜界面領域で安定化



ペプチド凝集体の全原子計算

NACore: *α*シヌクレインのアミロイド凝集中心(11残基、148原子) パーキンソン病の原因物質

Gly-Ala-Val-Val-Thr-Gly-Val-Thr-Ala-Val-Ala



純水溶媒中での凝集

E_s: 溶質内(ペプチドの分子内と分子間)の相互作用エネルギー Δ*μ*: 溶媒和自由エネルギー

<...>: 溶質構造上の統計平均



尿素およびDMSO共溶媒による安定化

c: 共溶媒濃度

 $\Delta \mu$ の変化 = < $\Delta \mu$ >(共溶媒あり) - < $\Delta \mu$ >(純水溶媒)

 $(\partial < \Delta \mu > / \partial c)/n$ at c = 0 (kcal/mol/M) 共溶媒による安定化: 0 モノマー > 凝集体 -1 urea -2 -3 凝集阻害 -4 DMSO -5 共溶媒添加による溶質構造の 8 16 24 1 変化の効果は? 会合数 n ⇒統計力学原理に基づく解析



共溶媒添加に伴う溶質構造の変化の情報は不要

凝集体形成への共溶媒効果



まとめ

- 全原子MDシミュレーションは、生体関連分子集合系の原子レベル解析に好適
- タンパク質などの柔らかい分子は、溶媒など周囲環境の影響を
 受けるため、溶媒効果を取り入れたMDが必要
- 自由エネルギー計算によって、平衡条件における構造、分布、
 溶解性を予測可能
- 溶液統計力学理論との融合によって、自由エネルギーを高速計算し相互作用に関する解釈を提示できる
- 溶媒効果を用いることで生体関連分子の凝集性を制御できる