

立教大学学術推進特別重点資金 (立教 S F R)
 プロジェクト研究 (共同プロジェクト研究)
 2014 年度研究【経過・**成果**】報告書

研究代表者	所属部局・職	氏 名		
	理学部・教授	望月 祐志 印		
研究課題	固体表面と分子との相互作用に関する計算化学と分析化学の連携研究			
研究組織	所属研究機関・部局・職	氏 名		
	立教大学・理学部・教授 日本大学・松戸歯学部・助教 立教大学・理学研究科・化学専攻・博士前期 1 年	宮部 寛志 福澤 薫 島崎 裕紀		
研究期間	2013 年度 ～ 2014 年度			
研究経費	2013 年度	2014 年度	年度	総計
(上段: 支出金額)	2,823,562 円	2,998,897 円	千円	5,822,459 円
(下段: 採択金額)	3,000,000 円	3,000,000 円	千円	6,000,000 円

研究の概要 (200～300 字で記入、図・グラフ等は使用しないこと。)

本プロジェクトは、量子論に基礎を置く分子軌道 (MO) 法を主軸とする量子化学、それに古典力学による分子動力学 (MD) までを幅広く含む計算化学に対し、逆相液体クロマトグラフィー (以下、液クロと略記) など固体・液体表面での種々の分子種の吸着・脱着に基礎を置く分析化学実験とのインタープレイを目指して研究開発を行いました。

2013 年度は、DNA 塩基分子とアルキル鎖との相互作用エネルギーをモデル MO 計算で求め、液クロ実験による値と比較して妥当な一致を得ました。併せて、古典 MD によってフェノールの分離素過程を液滴モデルで計算しました。2014 年度は、前者の流れから β -シクロデキストリンとチモールの包接安定化エネルギーを脱水和条件も考慮した MO 計算で評価し、今後の液クロ実験に対する指針を与えました。一方、後者では MD のモデルを液滴から (より現実系に近い) 周期境界に変更して水溶媒/メタノール溶媒の挙動の違いを示しました。さらに、別系統の応用計算としてヒドロキシアパタイトへのペプチドの吸着をフラグメント分子軌道 (FMO) 法によって詳細に解析しました。

キーワード (研究内容をよく表しているものを 3 項目以内で記入。)

[液体クロマトグラフィー] [分子軌道計算] [分子動力学計算]

研究【経過・成果】の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

既述のように 2014 年度の主要な成果は、(I) MO 計算による β -シクロデキストリンの包接安定化エネルギーの評価、(II) 古典 MD による分離素過程のシミュレーション、(III) ヒドロキシアパタイトの FMO 計算、となります。以下では先ずこれらを詳述し、その後で他のアクティビティをまとめます。

(I) β -シクロデキストリンへのチモールの包接安定化エネルギーの評価 (宮部研 主体)

宮部のモーメント理論[K. Miyabe, Anal. Sci. 25 (2009) 219]では、液クロの実験からアルキル鎖(炭素数 18 のオクタデシル基など)と分離対象の溶質分子との相互作用・安定化エネルギーを測定することが可能です。従って、モーメント理論による実験値と MO 計算による算定値を直接比較することは、実験・理論のインタープレイの上で有意義です。2013 年度、相互作用の局所性を仮定して C18 アルキル鎖をヘキサン(炭素数 6)で近似し、ピリミジン系の DNA 塩基分子を分散力を考慮出来る B97D/6-31G*レベルで構造最適化して相互作用エネルギーを求め(シトシンで -4.7 kcal/mol)、液クロでの実験値と比較して誤差が 1 kcal/mol 程であることを確認し、計算化学アプローチの有用性を示しました。この成功を受け、より複雑な β -シクロデキストリンとチモールの包接系を取り挙げました(計算レベルは同じ)。こちらの計算も 2013 年度同様に、都築誠二博士(産業技術総合研究所 首席主任研究員)との共同研究になりました。

今回の計算のポイントは、シクロデキストリンの環内部の水和/脱水和の影響を考慮したことです。シクロデキストリンには水酸基やエーテル酸素が多数あり、溶媒を水とした場合には水素結合の形成によって水和水を伴っていると考えられます。水和/脱水和を全く考慮しない場合、チモールの環内部への包接安定化のエネルギーは、最も安定な配向(実際には複数を指向)で -24.6 kcal/mol となり、実験での想定値である -10 kcal/mol 以下の値の倍以上となります。一方、水分子が環内に予め複数個存在していて、チモールの包接によって完全に排除されると仮定した場合、排除水の個数が 4 個と 5 個の場合で各々 -9.9 kcal/mol、 -4.9 kcal/mol となります。また、元の 5 個のうちで 1 個は残存するという条件では -9.3 kcal/mol です。これらは妥当な算定値と言え、2015 年度に予定されている実験的測定に対する指針を与えるものとなっています。

(II) 古典 MD によるフェノール分子の分離素過程のシミュレーション (望月研 主体)

この古典 MD シミュレーションは、シリカゲル表面に固定されたアルキル鎖と溶質としてのフェノール分子(分離対象)との動的な相互作用の様子を調べることを意図しています。2013 年度、沖山佳生博士(2013 年 4 月から理化学研究所の横浜研究所に異動)の協力を得て、古典 MD で必要となるシリカ(SiO_2)用を含む力場のパラメータセットの準備は出来ていました。しかし、MD プログラム AMBER を液滴モデルではなく周期条件下で動かすためのセッティングには高度な専門知識が必要であるため、当該分野のエキスパートである古明地勇人博士(産業技術総合研究所 主任研究員)に研究に参画いただき、実際のシミュレーションと結果の統計的解析を進めました。

溶媒分子は水とメタノールの 2 種です。前者では、周期条件の基本セルは $43.2 \text{ \AA} \times 56.6 \text{ \AA} \times 44.3 \text{ \AA}$ の大きさで、その中に 2489 個の水分子を入れました。温度は 300K です(シリカのクラスターと 2 本のアルキル鎖の構造などのその他の基本設定は、2013 年度の液滴と同じです)。液滴よりも水の個数が増え、周期性から 1 ステップあたりの計算コストが格段に上がるために 8 コアのサーバで並列化実行しました。系の低温凍結化、フェノールとアルキル鎖の距離に拘束条件をかけての昇温の後、拘束を緩和して総計 100 系統の MD 軌跡(1 つあたり 150 ns の時間)を取得しました。同様の MD 計算をメタノールに対しても行い、フェノールとアルキル鎖の距離の平均と揺らぎの時間変化を算出し、両溶媒で比較しました。

水(H_2O)、メタノール(CH_3OH)のどちらの場合も拘束解放後しばらくはフェノールがアルキル鎖付近に留まっていますが、一度離れるとメタノール中の方が素早く拡散するという挙動が 100 サンプルの軌跡から確認されました(本来、図でお示したいところです)。水に比してメタノールはプロトン性水素が少ないため水素結合の 3 次元的ネットワークが疎となること、またメチル基とフェノールのベンゼン環との疎水性相互作用から水よりも拡散が速く、結果的に速く分離されることが実験的に分かっています。2013 年度の液滴モデルでの MD では、定性的には逆の結果になっていましたが、周期条件を課した上で統計的に評価することで、実験と符合する描像を得ることが出来ました。

研究【経過・成果】の概要 つづき**(III) ヒドロキシアパタイトと人造ペプチドの FM0 計算による相互作用解析 (望月+福澤)**

ヒドロキシアパタイトは歯や骨の主成分として元来高い生体親和性を有する結晶性固体で、最近では液クロの母材としても使われます。ここで、安全性の高いインプラントやタンパク質を特異的に感知するバイオセンサーの設計の上で、ヒドロキシアパタイトの表面と生体分子との相互作用を原子・電子レベルで理解することはきわめて重要です。当該分野の理論的な研究はこれまでは古典 MD が主体で、電子状態計算の場合でも結晶側を数十原子程度のクラスター単位で近似するのがやっとでした。そこで今回、自主開発の ABINIT-MP プログラムによる 4 体フラグメント補正を含めた FM04 計算によって、この「壁」を打ち破ることを試みたのですが、前例のシリカの場合[Okiyama et al. Chem. Phys. Lett. 566 (2013) 25]に比べると、エネルギー計算の収束性(と言うよりは発散)の問題に苦しむこととなりました。幸い、基底関数の選択や FM0 の制御パラメータ設定を指向錯誤し、さらに一部コードも手直しすることで、4x4x2 の巨大な結晶格子(総原子数は 1408 個)まで安定した FM04 計算が出来るようになりました。この辺りの創意工夫は、みずほ情報総研(株)の加藤幸一郎博士のご協力・尽力に多くを負っています。

He ら[Nat. Mater. 2 (2003) 552]は、ESQES のペプチド並び(アミノ酸基の表記では Glu1-Ser2-Gln3-Glu4-Ser5)がヒドロキシアパタイトに対して特異的な親和性を持つことを遺伝子工学手法によって見出しています。そこで、上記の大規模な結晶の表面に ESQES を水和条件化で吸着させたモデルを作り、古典 MD シミュレーションによってペプチドと水の構造揺らぎを含む 30 個のサンプル構造を調製して FM04 計算を行い、相互作用を統計性を含めて詳細解析しました[Chem. Phys. Lett. に印刷中]。

解析の結果、Ser5 が電荷移動を通じてヒドロキシアパタイト表面への固着に効いていること(他方で Ser2 は二次的な役割)、Glu はポジションに依らず静電的な安定化を与えること、水分子が電荷移動に関与することなどが明らかになりました。これらは 30 サンプルを通じての描像であり、単一サンプルに基づく前のシリカの場合よりもリアリティの高い計算になっています。なお、これらの成果をまとめて 2015 年 5 月 7 日にプレス発表する予定です。

(IV) アルキル鎖長を延伸した場合の DNA 塩基分子との相互作用エネルギーの検証 (宮部研)

既述のように 2013 年度には、炭素鎖長 6 のヘキサシクロと DNA 塩基分子との安定化相互作用エネルギーの M0 計算による算定値とモーメント理論による液クロの実験値との間で良好な対応を得ていたのですが、鎖を短くした影響についての評価は出来ていませんでした。そこで、ヘキサシクロの両端を共に炭素数 6 個で延伸して、実際に実験で使われている C18 として検証計算を行いました(手法は同じ)。その結果、鎖長延伸によって 2 kcal/mol 程度の追加の安定化があり得るものの、元の C6 単位でも準定量的な議論には十分であることが分かりました。これは、簡易的モデルの M0 計算によって実験の前に安定化エネルギーを見積もるやり方の妥当性が裏付けられたとも言えます。

(V) 新規フラグメント分割法の検討 (望月研+福澤)

FM0 計算でタンパク質を分割する際、いわゆる結合脱離原子(BDA)と呼ばれる sp^3 混成の炭素原子を設定します。しかし、実際のペプチド結合では炭素原子は sp^2 混成となっているために、これまでは sp^3 の隣の α 炭素で結合を切断していました。相互作用エネルギーの結果を調べる際、このズレが系によっては顕在化してアミノ酸配列番号に対する誤解釈を生じることがあります。そこで、FM04 スキームの利用を前提にペプチド結合の sp^2 炭素で直截に切る新規のフラグメント分割法の検証を進めました。未だ途中ですが、多体フラグメントの補正によって定量性が保たれることを示す予備的なデータは得られています。

(VI) ABINIT-MP プログラムの整備 (望月研)

2013 年度に続けて、ABINIT-MP プログラムの公開に向けてのソースの整理・整備を進めることが出来ました。動作チェックは、インテル系のサーバ、「京」、富士通 FX10 などで行っています。大規模なテストとドキュメント化は未だ作業として残ってはいますが、2015 年度中には第一版のリリースは出来そうです。

※ この(様式 2)に記入の【経過・成果】の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 縦型横書き 1 枚・自由様式)を添付すること。

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①～④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ① 雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ② 図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③ シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④ その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

① 計 6 (以下は抜粋)

1. "Explicit solvation modulates intra- and inter-molecular interactions within DNA: electronic aspects revealed by the ab initio fragment molecular orbital (FMO) method", K. Fukuzawa*, I. Kurisaki, C. Watanabe, Y. Okiyama, Y. Mochizuki, S. Tanaka, Y. Komeiji, Comp. Theo. Chem. 1054 (2015) 29-37.
2. "Moment Equations for Chromatography Based on Langmuir Type Reaction Kinetics", K. Miyabe, J. Chromatogr. A 1356 (2014) 171-179.
3. "Moment Analysis of Chromatographic Behavior of Separation Media for Fast HPLC", K. Miyabe*, Y. Murata, Anal. Sci. 30 (2014) 277-283.
4. "Modeling of hydroxyapatite - peptide interaction based on fragment molecular orbital method", K. Kato, K. Fukuzawa, Y. Mochizuki*, Chem. Phys. Lett., in press.

② 計 1 (解説)

1. "クロマトグラフィー分離機構のモーメント解析理論" 宮部寛志, ぶんせき 11 (2014) 604-611.

③ なし

④ 計 16 件 (以下は抜粋)

1. "固定相リガンド-溶質分子間相互作用のモーメント解析法の開発" (口頭発表) 宮部寛志, 第 74 回分析化学討論会, 郡山, 2014 年 5 月 24 日.
- "水を移動相として使用する逆相液体クロマトグラフィー系の分離挙動のモーメント解析" (ポスター発表) 島崎裕紀, 甲原翔太, 宮部寛志*, 第 74 回分析化学討論会, 郡山, 2014 年 5 月 24 日.
2. "HPLC を用いる分子間相互作用のモーメント解析法の開発" (口頭発表) 宮部寛志, 第 27 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 東京, 2014 年 8 月 20 日.
3. "フラグメント分子軌道計算のナノバイオテクノロジーへの展開(その1)" (口頭発表) 望月祐志*, 福澤薫, 加藤幸一郎, 沖山佳生, 塚本貴志, 宮部寛志, 都築誠二, 古明地勇人, 小沢拓, 大畠広介, 渡邊千鶴, 永田大樹, 豊島輝, 酒井泉美, 奥脇弘次, 応用物理学会秋季年会 2014, 札幌, 2014 年 9 月 18 日.
4. "Chromatographic Behavior in Reversed-Phase Liquid Chromatography Using Water as the Mobile Phase Solvent" (Poster) Y. Shimazaki, S. Tsuzuki, Y. Mochizuki, K. Miyabe*, Pittsburgh Conference 2015 (Pittcon 2015), New Orleans, LA USA, 2015/3/8.
5. "フラグメント分子軌道法でナノ-バイオ界面を見る" (招待講演) 望月祐志*, 福澤薫, 応用物理学会春期年会 2015, 平塚, 2015 年 3 月 12 日.
6. "アパタイト結晶に対するフラグメント分子軌道法の試み #2" (口頭発表) 加藤幸一郎, 福澤薫, 望月祐志, 応用物理学会春期年会 2015, 平塚, 2015 年 3 月 13 日.
7. "ペプチド結合における新規フラグメント分割方法の検証および精度評価" (口頭発表) 坂口正貴, 福澤薫*, 渡邊千鶴, 望月祐志, 日本化学会 2015 年春期年会, 習志野, 2015 年 3 月 30 日.