



第 4 回全体合宿会議 開催報告

北尾 彰朗 (東大分生研・総括班)

平成 27 年 11 月 24 日 (火) ～26 日 (木)、本新学術領域研究の第 4 回全体合宿会議が、北九州八幡ロイヤルホテル (北九州市) で開催された。会議には、88 名が参加し、26 件の口頭発表、87 件のポスター発表があった。

平成 27 年 4 月に公募研究が領域に加わって、より大きな研究グループが組織されてからおよそ 1 年 8 か月が経過した。平成 26 年 6 月に開催された前回の合宿会議では、新しい公募研究者を迎えて、異なる分野の研究者が長時間サイエンスについて意見をぶつけ合い、共通する興味や課題について議論し、またそれぞれが持つ手法を適用しうる研究ターゲットを探すことで、新しい共同研究の種を見つけ出すことに主眼があった。今回の会議は既に個々の研究課題や共同研究・若手の研究が大きな進展している状況で開催されることになった。そこで今回は、研究代表者による研究課題の発表 11 件に加えて、共同研究および若手の研究についても発表をおこない、議論を深めた。

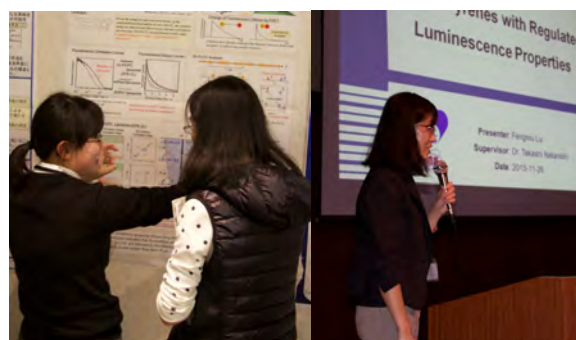
本領域でおこなっている共同研究では、既に素晴らしい研究成果が論文発表までに至ったケースが多数あるが、今回の会議では新しい試みの 1 つとして、公表済みの成果ではなく、現在進行中の注目される研究について計 6 件の発表を依頼した。具体的には、A01 北尾・A02 水谷、A01 畑中・A02 水瀬、A01 鳥居・A02 石橋・A03 尾谷、A01 八木・A02 藤井、A02 田原・A03 神取、A02 清水・A03 大洞の組み合わせであった。複数の発表者が次々と登壇して研究発表を行う形式はとても新鮮なものであった。論文になっていないとは言うものの、いくつかの研究はかなり進展しており、理論・計測・創成の複数のアプローチによってはじめて明らかになるこの新学術の特有の成果の発表が白熱

した議論を呼んだ。

今回の会議のもう一つの目玉である若手の研究発表では、既に研究成果が上がっており、若手の海外派遣で成果発表を海外の学会で発表している 9 人の若手研究員・大学院生が口頭発表をおこなった。その内訳は、A01 項目から内田芳裕さん (林重彦 G)・王聆鑑さん (森田 G)・Wei-Lin Hsu さん (櫻井 G)、A02 項目から井上賢一さん (田原 G)・齋藤雅嵩さん (高橋 G)・重田安里寿さん (川村 G)、A03 項目から矢崎晃平さん (吉沢 G)・神庭圭佑さん (片平 G)・Fengniu Lu さん (中西 G) であった。若手の活躍には目を見張るものがあったし、彼らが研究をアピールするよい機会にもなった。

研究代表者による口頭発表からは、当初計画していた研究でも、領域で新たに始まった共同研究でも、様々な困難に出会いつつも研究が進捗していることが示された。ポスターセッションは、24、25 日の夜におこなわれ、ポスターを前に活発な議論が交わされた。この全体合宿会議ではいつものことであるが、お互いに意見をぶつけ合うことで相互の理解や交流が更に深まった。

次回の全体合宿会議は平成 28 年 5 月 30 日～6 月 1 日開催の予定である。



業績紹介：立体構造サンプリングを効率化する nt-PaCS-MD 法の開発

北尾 彰朗 (東大・A01 計画研究代表者)

論文題目: "Nontargeted Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics for Enhancing the Conformational Sampling of Proteins"

著者: Ryuhei Harada, Akio Kitao

雑誌巻号: *J. Chem. Theo. Comput.* **11**, 5493 (2015).

この研究は、北尾研で博士号を取得し現在は筑波大学で研究員をしている原田隆平さんとの共同研究の成果です。

我々は、2013 年に構造遷移パスウェイを効率的に探索する Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics (PaCS-MD)を開発しました[1]。PaCS-MD では並列に多数の独立な MD 計算を実行し、得られたトラジェクトリからターゲットに近い初期構造を選択して新たな MD を開始します。これを繰り返すことで効率的に立体構造空間を効率的にサンプリングすることができます。この方法が効率的である理由は、次のサイクルの初期構造として、構造分布の端にある起こるまれな揺らぎを選択することによって、構造転移をより起こりやすくしていることにあります。この論文では、ミニタンパク質シニョリンのフォールディング・アンフォールディングや T4 リゾチームのドメインの開閉運動を効率的に観察できることを示しました。

オリジナルの PaCS-MD は、上述のようにまずターゲットとなる量を設定して、MD トラジェクトリからターゲットに近いまれな揺らぎを選択していくことで構造変化を加速する計算法でした。今回の Nontargeted PaCS-MD (nt-PaCS-MD)では、平均から離れたまれな揺らぎを Gram-Schmidt 法を用いて決定した集団座標軸上の先端にある立体構造を選択していくことで、ターゲットの設定なしで構造変化を起こりやすくすることに成功しました。オリジナルの PaCS-MD でも研究対象としたミニ蛋白質シニョリンの折り畳みや、T4 リゾチームの開閉運動でも、nt-PaCS-MD はターゲットを設定することなしに同程度のパフォーマンスを上げることができました。更にグルタミン結合蛋白質の開閉運動でも短時間で観察できることを実証しました。

nt-PaCS-MD ではターゲットがはっきりしないケースに応用できるので、1つの蛋白質構造が得られたときに、どのような構造変化があるのか探る場合など、

より多くのアプリケーションの可能性があると期待されます。

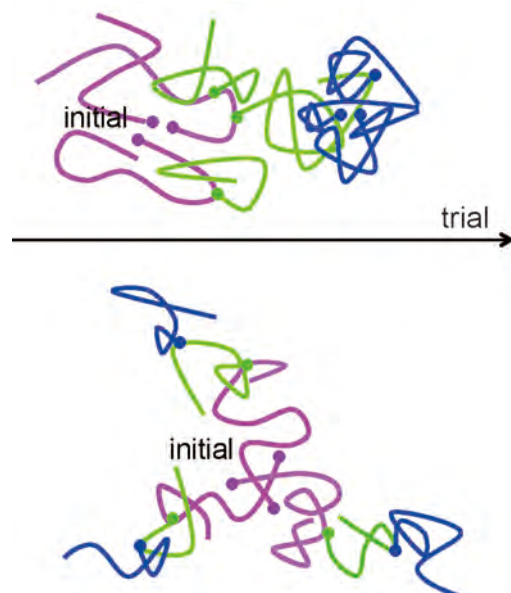


図1 オリジナルの PaCS-MD (上) と nt-PaCS-MD の探索法の模式図

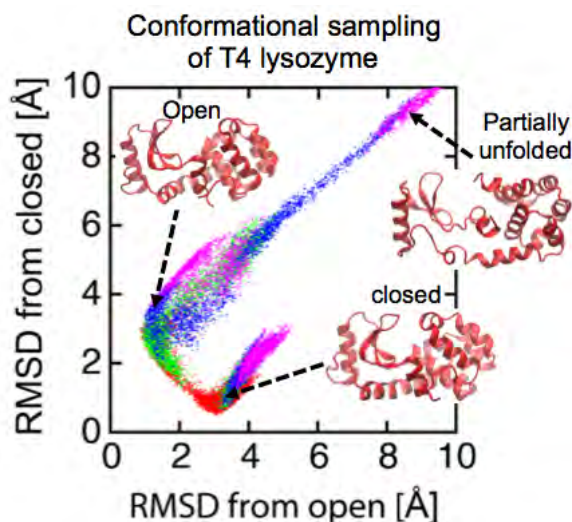


図2 nt-PaCS-MD で探索した広い構造空間

参考文献

[1] R. Harada and Akio Kitao, *J. Chem. Phys.* **139**, 035103 (2013).

業績紹介：第一原理 MD による和周波発生分光のシミュレーション

大戸 達彦 (阪大・A01 公募研究代表者)

論文題目: "Toward ab initio molecular dynamics modeling for sum-frequency generation spectra; an efficient algorithm based on surface-specific velocity-velocity correlation function"

著者: Tatsuhiko Ohto, Kota Usui, Taisuke Hasegawa, Mischa Bonn and Yuki Nagata

雑誌巻号: *J. Chem. Phys.* **143**, 124702 (2015).

気液・液液・固液界面の構造とダイナミクスを明らかにする上で、表面選択的な和周波発生 (SFG) 分光スペクトルは有用な手法である。これらのスペクトルを分子動力学法 (MD) を用いて再現することで、実験との一致を直接比較でき、分子の構造を可視化することが可能となる。今までは古典力場を用いた MD 計算がなされていたが、電子状態の複雑な分子系 (例えば固体・液体界面など) のスペクトルを計算する場合には、第一原理 MD 計算を用いることで、複雑な電子状態を反映した界面の構造やダイナミクスを記述できるであろう。しかし第一原理 MD 計算は計算コストが非常に高いという難点がある。

本論文[1]では表面選択的な速度・速度相関関数 (ssVVCf) を導出し、収束を妨げる電荷の揺らぎを相関関数の計算から分離することで、第一原理 MD 計算から直接 SFG スペクトルを計算することを可能とするアルゴリズムを開発し、この方法を水・空気の界面に適用した。

最初にこの方法論の有用性を確認するために、古典力場を用いた MD 計算を行い、従来の双極子・分極率の相関関数 ($\mu - \alpha$) と開発した ssVVCf との収束の度合いの比較を行った (図を参照)。自己相関関数を計算する場合には ssVVCf では、従来の方法の 10 分の 1 程度の MD Trajectory しか必要としないことが分かる。およそ 100ps で水の界面のスペクトルが得られると見積もられる。

これらの知見をもとに ssVVCf を用いて 80ps 程度の第一原理 MD のトラジェクトリから SFG スペクトルを計算した。この際、密度汎関数法の交換相関汎関数などいくつかの手法で計算を行い、比較した (図を参照)。計算結果は汎関数の特徴を反映し、正の 3700 cm^{-1} 、負

の 3400 cm^{-1} ピークのシフトが見られる。試した汎関数の中では、実験に近い位置にピークが見られるのは BLYP である。また 3100 cm^{-1} の正のピークは見られなかったが、これは最新の実験結果[2]と一致している。

本論文により、第一原理 MD を用いて SFG スペクトルを計算する手法を確立することができた。今後は、第一原理計算による記述をより活かすことのできる固液界面などの系の研究とそのための方法の拡張を進めていく予定である。

最後にこの研究は A01 計画班林重彦グループのメンバーである長谷川博士の協力を得て行われたことを付記する。

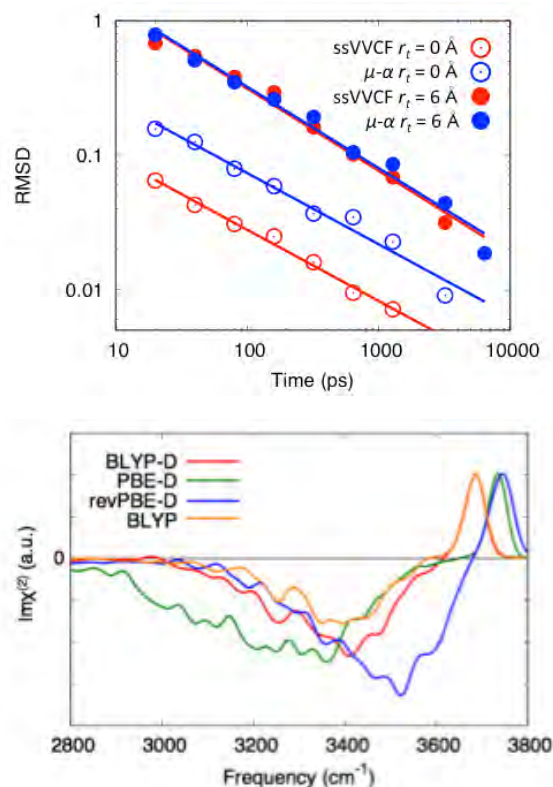


図 (上) 古典 MD によって計算された、収束した SFG スペクトルと限定されたトラジェクトリにより計算された SFG スペクトルの平均 2 乗誤差 (下) ssVVCf によって計算された第一原理 MD による水・空気界面の SFG スペクトル

引用文献

- [1] T. Ohto et al., *J. Chem. Phys.* **143**, 124702 (2015).
- [2] S. Yamaguchi, *J. Chem. Phys.* **143**, 034202 (2015).

業績紹介：ナトリウムイオンポンプロドプシンの

フェムト～ピコ秒領域における光反応ダイナミクス

田原 進也 (理研、A02 計画研究協力者)
 竹内 佐年 (理研、A02 計画研究分担者)
 吉住 玲 (名工大、A03 計画研究協力者)
 井上 圭一 (名工大、A03 計画研究連携研究者)
 神取 秀樹 (名工大、A03 計画研究代表者)
 田原 太平 (理研・A02 計画研究代表者)

論文題目: "Ultrafast Photoreaction Dynamics of a Light-Driven Sodium-Ion-Pumping Retinal Protein from *Krokinobacter eikastus* Revealed by Femtosecond Time-Resolved Absorption Spectroscopy"

著者: Shinya Tahara, Satoshi Takeuchi, Rei Abe-Yoshizumi, Keiichi Inoue, Hiroyuki Ohtani, Hideki Kandori, Tahei Tahara

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. Lett.* **2015**, *6*, 4481-4486.

ロドプシンは光駆動のイオン輸送やセンサー機能を有する光受容タンパク質である。その発色団であるレチナールはリシン残基側鎖のアミノ基とプロトン化シッフ塩基結合している。バクテリオロドプシンなどのプロトン輸送ロドプシンは、シッフ塩基のプロトンを送り出し、その反対側からプロトンを受け取ることで、その機能を発揮している。一方、プロトン化シッフ塩基は正の電荷を持ち、静電反発を生じるため、プロトン以外のカチオンをポンプするロドプシンは存在しないと考えられてきた。ところが最近、ナトリウムイオンを輸送する新しいロドプシン KR2 が発見された¹。KR2 のナトリウムイオン輸送機構解明のため、KR2 の光反応は赤外吸収分光、X 線回折、マイクロ秒の時間分解吸収分光により活発に研究されている。これまでマイクロ秒からミリ秒の時間領域で、KR2 のプロトン化シッフ塩基周辺のアミノ酸配置に起因した、特有の反応ダイナミクスが示唆されている^{1,2}。本研究では KR2 のより速いダイナミクスを明らかにするため、フェムト秒時間分解吸収分光による研究を行った。

KR2 のフェムト秒時間分解吸収スペクトルを図に示す。励起状態の分子に由来する励起状態吸収帯(460 nm 付近)および誘導放出帯(720 nm 付近)は 1 ps 以内

にほとんど 0 に減衰した。このことは 1 ps 以内にほとんどの励起状態分子が基底状態に緩和していることを意味する。またそれに伴い、光反応生成物に由来する吸収帯(620 nm 付近)が現れた。したがってこの光反応生成物は 1 ps 以内に S₁ 状態から直接生成することが示唆される。さらにこの光反応生成物の吸収帯はピコ秒の時間領域で短波長シフト(620 → 590 nm)を示した。バクテリオロドプシンやセンサリーロドプシン I における中間体の帰属を基に、この短波長シフトを J 中間体から K 中間体への緩和過程に帰属した。

得られたデータをさらに定量的に解析するため、キネティクスのフィッティング解析を行った。その結果、S₁ 状態の KR2 は 180 fs で直接 J 中間体を与え、そこから 500 fs で K 中間体を生成することが明らかとなった。これらのダイナミクスはバクテリオロドプシンなどの典型的な微生物型ロドプシンに比べ、数倍以上速い。これは KR2 のプロトン化シッフ塩基周辺のアミノ酸配置の特異性を反映したものと考えられる。

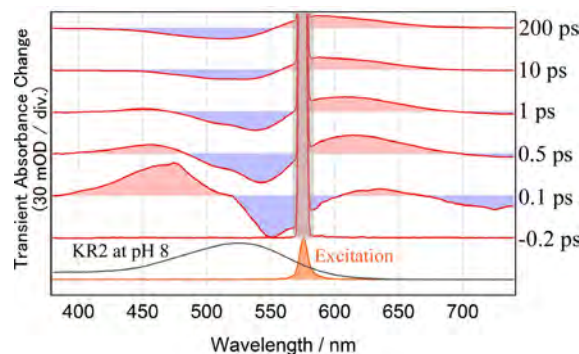


図. KR2 のフェムト秒時間分解吸収スペクトル。

この成果はナトリウムポンプロドプシンを初めて発見した神取グループと、先端的な光計測を行う田原グループの協同によるものであり、新学術領域「柔らかな分子系」の共同研究の成果である。

References

- (1) K. Inoue *et al.* *Nature Commun.* **2013**, *4*, 1678.
- (2) H. E. Kato *et al.* *Nature* **2015**, *521*, 48-53.

業績紹介：外部電場が励起状態分子内プロトン移動に及ぼす効果

関谷 博 (九大院理・A02 公募研究代表者)

論文題目： External Electric Field Effects on Excited-State Intramolecular Proton Transfer in 4'-N, N-Dimethylamino-3-hydroxyflavone in Poly(methyl methacrylate)

著者： Kazuki Furukawa, Kazuyuki Hino, Norifumi Yamamoto, Kamlesh Awasthi, Takakazu Nakabayashi, Nobuhiro Ohta, Hiroshi Sekiya

雑誌巻号： *J. Phys. Chem. A*, **119**, 9599-9608 (2015).

フレキシブルな分子の励起状態ダイナミクスは周囲の分子環境の影響を受けやすい。4'-N,N-dimethylamino-3-hydroxyflavone (DMHF, 図 1) は、励起状態分子内プロトン移動 (ESIPT) が起こる分子として環境プローブによく用いられている。DMHF のジメチルアミノ基とフェニル環は C-C 単結合の周りで容易にねじれてコンフォメーションが変化するので、液相と固相の励起状態ダイナミクスはかなり異なることが予測される。本研究では DMHF をポリメタクリル酸メチル (PMMA) にドープし、電子スペクトルと蛍光減衰曲線を測定した。外部電場が ESIPT に及ぼす効果を初めて観測したので紹介する。

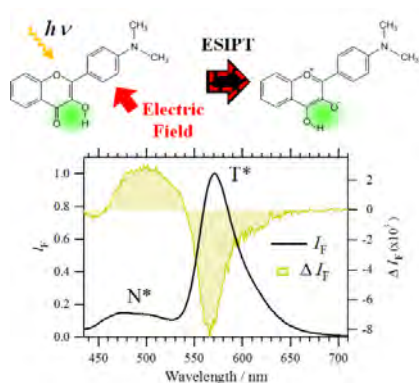


図 1. DMHF の ESIPT による構造変化 (上図) と蛍光スペクトル (下図, 黒色の実線). 塗りつぶされたスペクトルは外部電場を印加したときの蛍光強度 (I_F) の変化量 (ΔI_F) を示す. N* 蛍光の強度が増加し, T* 蛍光の強度が減少している.

PMMA 膜中の DMHF に 424 nm の光を照射して得られた蛍光スペクトルを図 1 に示す. Normal (N) 体の S_1 励起状態 (N*) から基底状態 (N) への遷移によるバンドと ESIPT によって生成した Tautomer (T) 体の励起状態 (T*) から基底状態 (T) への遷移によるバンド

が観測されている. 1 MV/cm の外部電場を印加して得られた蛍光スペクトルを N* 蛍光と T* 蛍光に分割して、電場蛍光スペクトルを解析したところ、N* 蛍光が ~2% 増加し, T* 蛍光が ~1% 減少していることが分かった. 蛍光の減衰曲線の時定数が電場印加によって変わらないことから、N* 蛍光を与える状態の分子数が増加し, T* 蛍光を与える状態の分子数が減少することが示された. すなわち、外部電場の印加が ESIPT を抑制することが明らかとなった.

図 2 に密度汎関数計算から得られた DMHF の遷移エネルギーと電気双極子モーメント (μ) の値を示す. μ (N*) の値は μ (N) の値より著しく大きいものに対して μ (T*) の値は μ (T) の値と殆ど変らない. したがって、外部電場の印加により N* 状態の安定化と比べて、T* 状態の安定化の度合いは小さい. そのため、ESIPT のポテンシャル障壁が増加し、ESIPT が抑制される.

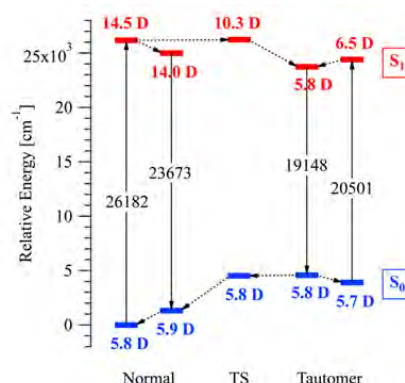


図 2 mPW1PW91/6-311+G(d,p) 汎関数を用いて得られた気相の DMHF の電気双極子モーメントと $S_1 \leftarrow S_0$ 遷移エネルギー.

N* 蛍光と T* 蛍光の減衰曲線は三重指数関数でフィッティングされ, N* 状態の減衰の時定数として τ_1 (100 ps), τ_2 (1.29 ns), τ_3 (3.83 ns), T* 状態の減衰の時定数として τ_4 (0.88 ns), τ_5 (2.61 ns), τ_6 (3.02 ns) が得られた. これらの時定数から、N* 状態, T* 状態それぞれに 3 つのコンフォメーションに対応する多数の発光状態 (manifold) が存在する. PMMA 中の DMHF は不均一で固い環境にあり、光励起後の緩和過程においてスムーズなコンフォメーション変化が妨げられる. そのため、複数のポテンシャル極小が生じ、それぞれの状態から蛍光が発せられると推察される. DMHF のコンフォメーションと ESIPT ポテンシャルエネルギー曲面について、理論的に解明されることが期待される.



第 13 回ワークショップ 開催報告

井上 圭一（名工大・A03 計画研究連携研究者）

去る 2015 年 10 月 28～29 日に「柔らかな分子系」領域の第 13 回ワークショップが、愛知県犬山市の名鉄犬山ホテルにて開催されました。今回のワークショップは「光駆動ナトリウムポンプからタンパク質の柔らかさと機能のつながりを考える」というタイトルで、本領域で行われている光駆動型ナトリウムポンプロドプシン（NaR）の研究にフォーカスした内容で行われました。NaR は微生物型ロドプシンの一種で、光を使って細胞内から Na^+ を汲み出す機能を持ち、一昨年神取グループより海洋性細菌 *Krokinobacter eikastus* の持つもの（KR2）が初めて報告されました[1]。この KR2 は海水中のような Na^+ を含む環境では Na^+ を選択的に輸送しますが、 Na^+ の無い場合は H^+ ポンプとして働きます。このように周囲の環境に応じて、輸送するイオンを大きく変化させる KR2 は、非常に“柔らかな”機能を持っている分子として、本領域内で数多くの共同研究が行われており、タンパク質の柔らかさを調べる上での一つのモデル系となっています。しかしそれらの研究を独立に行っていたのでは、複雑なタンパク質の動作メカニズムを統合的に理解することは困難です。そこで今回、現在既に KR2 の研究を行っているグループや、ロドプシン研究に対して高い実績のあるグループにより、最新の結果を含む多角的な観点から、KR2 の持つ柔らかさを徹底的に議論し、理解することを目的として本ワークショップが開催されました。

ワークショップは 28 日の午後より開催され、まずはじめに領域代表の田原太平氏（理研）から、開催の辞が述べられ、KR2 の柔らかさを明らかにするには、理論研究、先端計測および機能創成の三つの観点から研究を行い、相互に理解を深めることが重要であると語られました。その後井上より趣旨説明に続いて、KR2 のメカニズムのほか、最近の機能創成研究について講演を行いました。続いて唯一の領域外講演者として石谷隆一郎氏（東京大）より、東京大濡木グループにおいて、濡木理氏（東京大）、加藤英明氏（現スタンフォード大）と共に初めて明らかにした KR2 の X 線結晶構造について講演があり、詳細な構造とそこから明らかになった機能メカニズムについて説明されました[2]。続いて田原進也氏（理研・大学院生）より、KR2 の超高速過渡吸収研究の講演があり、KR2 の初期過程において反応性と非反応性の過程があることが報告されました[3]。次に水野操氏（大阪大）と西村尚氏（大

阪大・大学院生）によって、共鳴ラマン分光による KR2 の光反応中間体の発色団構造について発表がありました。続いて伊藤奨太氏（名工大・大学院生）より、全反射 FTIR 分光を用いた KR2 の Na^+ 結合サイトの構造研究について講演が行われました。さらに内橋貴之氏（金沢大）により KR2 の高速 AFM 研究の最新の結果が紹介されたあと、初日の最後の講演として加藤善隆氏（名工大・大学院生）から KR2 の Na^+ と H^+ の選択性の定量的なメカニズム研究について発表がありました。そしてその夜の懇親会では A02 班班長の水谷泰久氏（大阪大）から、KR2 研究について理論・計測の重要性は言わずもがなであるが、今後機能創成へのつながりがさらに重要になるというコメントがありました。

二日目の最初には川村出氏（横国大）より、KR2 の固体 NMR 研究について最新の結果が発表されました。引き続き最後の二講演では吉田紀生氏（九州大）による 3D-RISM 法を用いたロドプシンの理論研究と、林重彦氏（京都大）による、LRPF 法を用いたタンパク質の機能発現メカニズム研究の講演があり、それぞれ KR2 研究への応用の可能性が話されました。そして最後は A03 班班長の神取秀樹氏（名工大）より、本ワークショップで講演された各研究の今後について強い期待が寄せられた閉会の辞によって締め括られました。

今回のワークショップは KR2 という一つの分子に着目した非常にチャレンジングな内容でしたが、会全体でそれぞれの研究成果に対する白熱した議論があり、本領域で明らかになった数多くの知見に加え、今後更なる研究が必要な問題があることが明らかになりました。これにより今後本領域で KR2 の柔らかさに対する研究が更に大きく発展することを予感させる内容のワークショップとなり、講師の先生および参加者の方々にはこの場を借りて深く御礼申し上げます。

[1] Inoue, K., et al. *Nat. Commun.* (2013) 4, 1678.

[2] Kato, H. E., et al. *Nature* (2015) 521, 48.

[3] Tahara, S., et al., *J. Phys. Chem. Lett.* (2015) 6, 4481.

