

共同利用研究ハイライト

最小レポータータンパク質の構築を目指した組換えガウシアルシフェラーゼの解析と改変

黒田 裕 東京農工大学工学部生命工学科 准教授 Wu Nan 東京農工大学工学府生命工学専攻

生物発光を触媒するルシフェラーゼがバイオイメージングに於いて必須なツールとなっているなか^[1]、ガウシア（海洋カイアシ類 *Gaussia princeps*; 海洋性プランクトンの一種）由来のルシフェラーゼ（以下、GLuc; 169残基）は最も小さなレポータータンパク質として注目を集めている。GLucは、蛍ルシフェラーゼ（550残基）より安定性・活性・汎用性の面で優れたレポータータンパク質となる可能性を秘めているが、その配列が解明されたのは比較的新しい^[2]。10個のシステインがSS結合を形成する組換えGLucを汎用的な大腸菌で発現するのは難しいため、殆どの場合、GLucは高価な動物や昆虫細胞から精製されている。そのため、GLucを改良する研究は少なく、その応用範囲も未だ限られている。本稿では、大腸菌を宿主とした組換えGLucの発現・精製法の開発と、組換えGLucの活性

及び構造安定性における初めての生物物理学的な解析に関して述べ、現在進行中の発光活性改変実験についても紹介する。

大腸菌で組換えタンパク質を発現すると非天然型SS結合を形成することが非常に多い（図1）。変性状態ではGLucの10個のシステインが酸化されると、天然型SS結合を形成する確率は1/945とゼロに近い。そのため、大腸菌で発現したGLucの10個のシステインが天然型SS結合を形成するには、天然構造に近い状態で、SS結合を形成させる必要がある。よって、我々は、発現温度を37℃から25℃に下げ、可溶性画分で発現したGLucのみを収集するという工夫を行った^[4]。さらに、GLucのC末端に、12残基の溶解性向上ペプチド系タグ（C9Dタグ）^[5]を付加することによって、変性状態でもGLucが凝集し難いGLuc-C9D変異体を作製した。溶解性が高いGLuc-C9Dは、天然状態に折り畳まることが出来るため、天然型SS結合を形成し易くなる。以上の考えに基づき、大腸菌を宿主として用いて25℃で培養し、可溶性画分に発現したGLuc-C9DをHisアフィニティーカラム、逆相HPLCカラムによって精製した。その後、GLucの両端に融合するHisタグとC9DタグをFactor Xaによ

るプロテアーゼ処理で切断した後、再度逆相HPLC精製した結果、培養液1L当たり2 mgの天然型SS結合を形成する組換えGLucを得ることが出来た（図1B）。

高純度に精製された組換えGLucを用いることで、詳細な物理化学的な解析が可能となった。GLucの発光活性は今まで考えられていたよりはるかに強く、蛍ルシフェラーゼの10倍（同酵素濃度比較）以上であることを解明した。また、円偏光二色分光法から測定したGLucの変性温度が60℃であり、GLucが広い温度範囲で利用可能であることを示した。さらに、NMR測定によって、組換えGLucが単量体で天然状態にフォールドしていることが強く示唆された（図2）。現在までの解析で、GLucの結晶化が困難であることを確認しているため、今後もNMRを用いてGLucの構造解析を進めることも必要であると考えている。

最後に、現在進めているGLucの改変実験に関して少し述べる。GLucの発光色を改変する動機として、1回の実験で複数の反応を同時に測定することが可能になるため、バイオイメージングにおけるGLucの応用範囲が格段に広がるという利点が挙げられる。我々は、GLuc配列中の親水性領域の4残

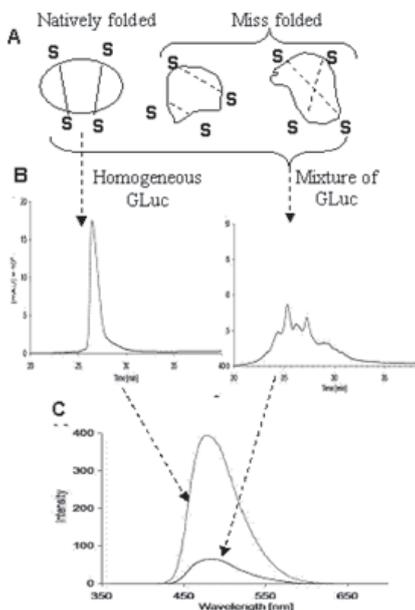


図1 大腸菌で発現した組換えGLucにおけるSS結合形成の問題。(A) 配列中に10個のシステインを有するGLucを、従来の手法で発現すると非天然型SS結合を形成する不活性GLucが多く混合する。本研究では天然GLucのみを大腸菌から精製する方法を開発した。(B) 大腸菌で発現したGLucの逆相HPLC。(左) 本手法で発現したGLucでは一本のHPLCピークが観測される。(右) 従来の発現方法では、非天然型SS結合を有するGLucが混合しているため、多数のプロードなピークがHPLCで観測される。(C) 組換えGLucの発光スペクトル。今回開発した手法で発現したGLucの発光活性が強いことから、天然型SS結合を形成する天然GLucの精製に成功したことが、強く示唆される。

基をランダム変異させ、pET21-GLuc-C9-Random プラスミドを作製し、それを大腸菌に形質転換した。ランダム変異を導入したGLucを発現した後、大腸菌を24時間さらに培養し、独自に開発中の大腸菌の自己溶菌効果を応用したスクリーニング法([5]、Kamioka T, Submitted)を用いて、未精製状態でGLucの発光活性を測定した。その結果、

約100個のクローンから発光極大波長が最大で9 nmシフトしている変異体を同定した(図3)。今後は、発光極大波長をさらにシフトさせGLucの発光色を変えたいと考えている。それまでにGLucの構造が決定できれば、活性部位周辺に変異を導入することでGLucを迅速に改変する事が可能となる。

最後に、本研究を進めるにあたり、長

きに渡って活発な議論と温かいご支援をいただいた桑島邦博教授及び桑島研究室の皆様にご心からお礼を申し上げます。さらに、500Mhz、920MhzのNMR測定を可能にくださった分子科学研究所に感謝の意を表す。

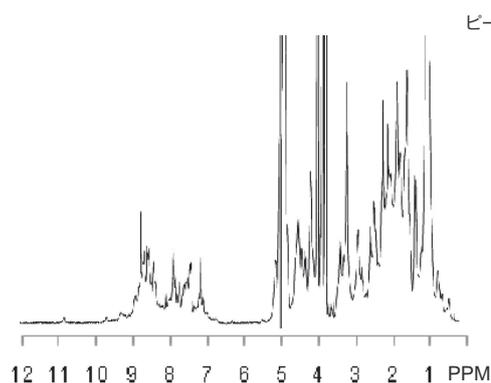


図2a 組換えGLucの一次元NMR

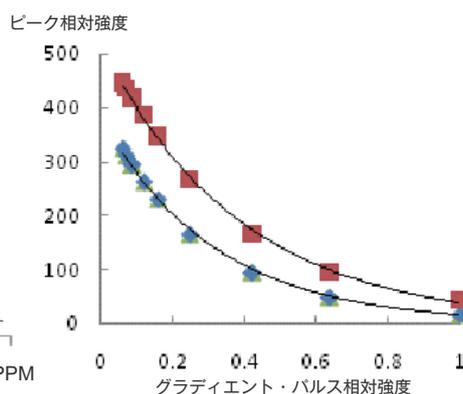


図2b PFG法による分子量の測定

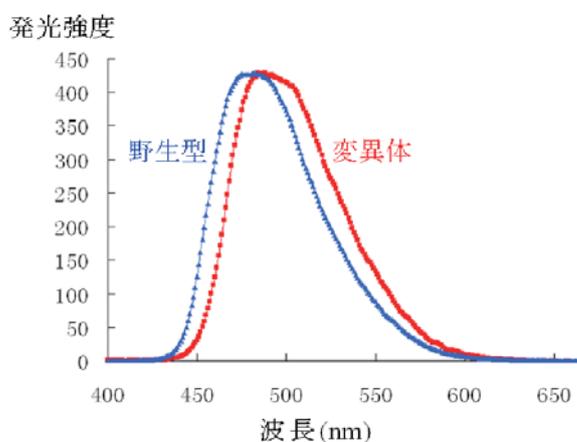


図3 野生型GLuc (赤) とランダム変異を含むGLuc (青) の発光スペクトル



くろだ・ゆたか
スイス・チューリッヒ連邦工科大学(ETH Zurich) 物理学科卒業、東京大学大学院理学系研究科物理学専攻終了(理博)、2004年より東京農工大学工学部生命工学科准教授
研究内容：生物物理学、タンパク質科学、構造バイオインフォマティクス
<http://www.tuat.ac.jp/~ykuroda>



Wu Nan
現在、東京農工大学工学部生命工学専攻博士課程、中国福建省国立華僑大学バイオテクノロジー学科卒業(2009年)。
研究内容：ランダム変異及びタンパク質工学的的手法によるガウシアルシフェラーゼの改良。

参考文献

- [1] O. Shimomura, *Bioluminescence: Chemical Principles and Methods*, World Scientific, Hackensack, N.J., 2006.
- [2] M. Verhaegent, T.K. Christopoulos, Recombinant Gaussia luciferase. Overexpression, purification, and analytical application of a bioluminescent reporter for DNA hybridization, *Anal Chem* 74 (2002) 4378-4385.
- [3] T. Rathnayaka, M. Tawa, T. Nakamura, S. Sohya, K. Kuwajima, M. Yohda, Y. Kuroda, Solubilization and folding of a fully active recombinant Gaussia luciferase with native disulfide bonds by using a SEP-Tag, *Biochim Biophys Acta. Proteins and Proteomics*, 1814(12):1775-1778 (2011).
- [4] A. Kato, K. Maki, T. Ebina, K. Kuwajima, K. Soda, and Y. Kuroda, Mutational analysis of protein solubility enhancement using short peptide tags, *Biopolymers*, 85:12-18. (2007).
- [5] 黒田裕、上岡哲也、惣谷志保里、VanXの溶菌活性の解明と菌体内生産物の精製工程の簡略化, *未来材料*, 11(7)32-36,(2011年8月号).

共同利用研究ハイライト

発光性配位高分子の複合化

柘植 清志 富山大学大学院理工学研究部 教授

近年、光の利用に関連して発光性物質の研究が盛んに行われている。発光性の化合物としては、共役系を持つ有機物、酸化物・硫化物などの無機物、ランタノイド化合物などが挙げられるが、筆者の研究しているd遷移金属錯体の分野でも、発光性の化合物が数多く合成・研究されるようになってきた。発光性金属錯体として、トリス(2,2'-ピピリジン)ルテニウム(II)錯体や、ターピリジン白金(II)錯体のようなd⁶, d⁸金属錯体は以前から広く研究されている。これに対して、d¹⁰の金属中心を持つ化合物も発光性を示すものがあり、銅(I)や銀(I)を中心金属とする発光性の錯体について研究が発展してきている^[1-3]。我々は強発光性を示す一連の錯体[M^I₂X₂(PPh₃)₂(L)_n] (M: Cu, Ag; X: Cl, Br, I)に注目し、種々のN-ヘテロ芳香族配位子Lを用いた系統的な合成により、発光性に対するX⁻やLの影響について検討を行ってきた^[4]。最近、これらの化合物が配位高分子である事を利用し、混晶化により異なる発光ユニットを組み合わせた化合物の合成を行っている。

これらの化合物[M₂X₂(PPh₃)₂(L)]は、{M₂X₂}骨格にPPh₃とLが配位した構造をもつ。このため、Lとして架橋配位子を用いると{M₂X₂(PPh₃)₂}ユニットが架橋配位子Lによって連結された一次元鎖状構造を持つ配位高分子となる。このような配位高分子では、例えばMに二種類の金属を用いることができる、一つの鎖上に異なる発光性ユニットを持つ化合物を合成することができる(図1)。

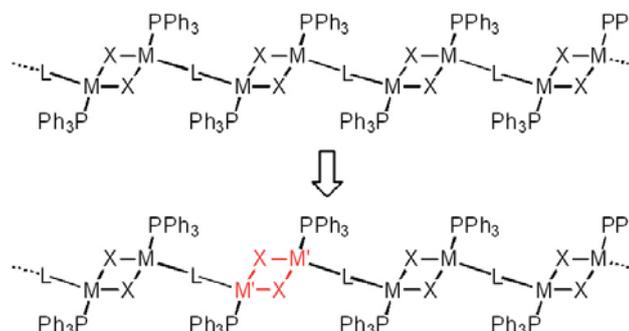


図1 配位高分子[M₂X₂(PPh₃)₂(L)]の模式図および混合配位高分子化。

このような混合型の配位高分子では、発光ユニット間の相互作用による新たな発光性の発現やヘテロ発光ユニット間のエネルギー移動など、単一錯体とは異なる性質を期待することができる。幸いにもこれらの配位高分子[M₂X₂(PPh₃)₂(L)]の多くは、同じLを用いた場合に、M, Xによらず同形構造をとった。これを利用して、銅-銀混合金属錯体[(Cu_xAg_(1-x))₂-I₂(PPh₃)₂(bpy)₂] (bpy: 2,2'-ピピリジン)を合成したところ、銀(I)発光ユニットから銅(I)発光ユニットへ非常に高効率のエネルギー移動が進行することが分かった。また、混合ハロゲノ銀(I)錯体[Ag₂(X_xX'_(1-x))₂(PPh₃)₂(bpy)₂] (X: Cl, Br, I)の合成により、混合ハロゲノ配位高分子中で非常に速やかなエネルギー移動が進行していることが分かった^[5]。このようにして、同じLを持つ際に[M₂X₂(PPh₃)₂(L)]が同形結晶を生成すると、銅-銀混合金属錯体や混合ハロゲノ錯体が合成可能であることがわかってきた。今回の協力研究では、これらの研究をさらに進め、架橋配位子Lを混合した錯体[M₂X₂(PPh₃)₂(L_xL'_(1-x))]の合成につい

て研究を行った。

まず、構造および性質の類似した配位子として、ピラジンとアミノピラジンを選択した。ピラジンとアミノピラジンはサイズが異なるが、この系では同形結晶を生成する。また、ピラジン錯体もアミノピラジン錯体も{Cu₂X₂}単位から配位子Lのπ*軌道への電荷移動励起状態由来の発光を示し、ピラジン錯体は赤色、アミノピラジン錯体は、π*軌道がピラジンに比べて高エネルギーシフトするため黄色に発光する。ピラジンとアミノピラジンの混合比率を変えて合成を行った所、任意の比率で単結晶として化合物が得られることがわかった(図2)。単結晶X線構造解析の結果、結晶内では架橋配位子部分にアミノピラジンとピラジンがディスオーダーして存在し、ピラジンとアミノピラジンの両方を連結配位子とした配位高分子が生成していることが明らかになった。写真に示したように、ピラジン-アミノピラジン混合配位子錯体では、反応当量比を変えることにより、黄色から赤色まで、連続的に結晶の色と発光色が変化し、二つの化合物の性質を併せ持つことが分かった。次

に、ピラジンに構造が類似しているという観点から、脂肪族のピペラジンを混合した化合物の合成も行った。ピペラジンは、ピラジンに比べ塩基性が高く、ピペラジン単一錯体は、 $\{Cu_2X_2\}$ 骨格由来とされる非常に弱い青色の発光を450 nm付近に示す。ピラジン-ピペラジン混合系でも、任意のピペラジンとピラジンの反応比率で単結晶として化合物が得られた。単結晶構造解析により、この場合にもピペラジンとピラジンの両方を含む配位高分子が生成していることが明らかとなった。この化合物の場合にはピペラジンとピラジンの反応当量比が9:1の場合でもほぼピラジン化合物と同様の発光がみられ(図3)、発光性についてはピラジン配位子の方が支配的なることが分かった。

今回紹介した例は同形結晶の混合化であり、生成物は同形構造をとり発光性は連続的な変化がみられることが多い。一方で、同じLを用いた場合でも、ハロゲン配位子によって結晶形が異なる場合がある。このような化合物の混合化についても検討し、親構造が異なる場合にはある混合比率を境に親構造のどちらかをとり例が多いことがわかってきた。またこの場合には、構造変化に伴い発光性も不連続に変化し、発光に構造も重要な影響を与えることもわかってきた。今後は、発光寿命や発光量子収率の測定により、これらの混合配位子型の錯体の励起状態の詳細

やエネルギー移動の解明を進めていきたい。

混合するという手法は、無機化合物のドーピングや、有機高分子の共重合などに見られるように、化合物の特徴を組み合わせることで新たな能力を引き出す一般的な方法の一つであると考えられる。今はまだ、手持ちの化合物を起点に、どのような組み合わせが可能かを検討しているが、将来的には発光ユニット間の相互作用の発現や、単独ではその構造を作らないユニットをドーパントとして導入し、新たな機能性の賦与へと展開したい。

最後になりますが、これらの研究を進めるにあたっては、効率良く単結晶構造解析を進める必要があり、分子研の単結晶X線構造解析装置を利用して多くの結晶構造を決定させて頂きました。地方大学にはまだまだ不足した装置があり、分子研に共同利用できる装置があるのは非常にありがたいことだと考えています。単結晶X線構造解析装置をいつでも利用しやすい環境に整えて頂いた岡野氏をはじめとする技術職員の皆様に感謝いたします。また、協力研究では、研究室学生ともども分子研に行くことが可能であり、ディスカッションや装置利用など、各所で“分子研らしい”刺激を私も学生も得ることができました。今回の協力研究に対応頂いた永田先生とそのグループの皆様にも感謝いたします。

参考文献

- [1] A. Barbieri, G. Accorsi, N. Armaroli, *Chem. Commun.*, 2185 (2008)
- [2] 坪村太郎, 佃俊明, 松本健司, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.*, **52**, 29 (2008).
- [3] 柘植 清志, *Bull. Jpn. Soc. Coord. Chem.*, **56**, 24 (2010).
- [4] H. Araki, K. Tsuge, Y. Sasaki, S. Ishizaka and N. Kitamura, *Inorg. Chem.*, **44**, 9667 (2005)
- [5] 柘植 清志, 「混合化による銅(I)および銀(I)配位高分子の発光性制御」日本化学会第92春季年会, 1S7-11 (2012)

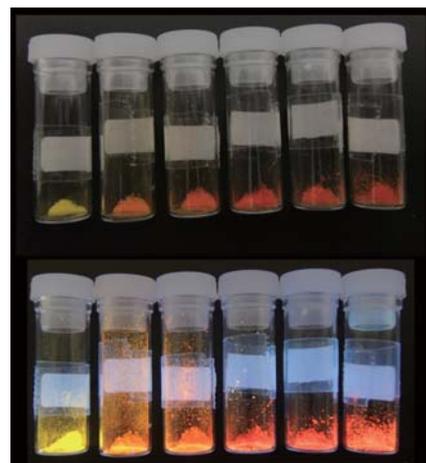


図2 アミノピラジン-ピラジン混合配位高分子。左から、反応比率10:0, 9:1, 7:3, 3:7, 1:9, 0:10で合成した試料。上: 蛍光灯下、下: 紫外線照射下。

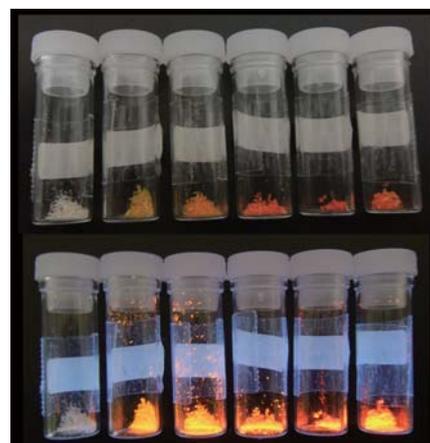
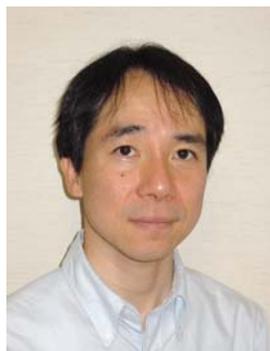


図3 ピペラジン-ピラジン混合配位高分子。左から、反応比率10:0, 9:1, 7:3, 3:7, 1:9, 0:10で合成した試料。上: 蛍光灯下、下: 紫外線照射下。



つげ きよし

1995年 東京大学大学院理学研究科博士課程修了、博士(理学)。1995-2000年 分子科学研究所錯体化学実験施設助手、2000-2008年 北海道大学大学院理学研究科助手、2008-2010年 大阪大学大学院理学研究科准教授、2010年より現職。専門は錯体化学で、発光性 d^{10} 金属錯体の開発、酸化還元活性な金属錯体の合成、錯体の動的挙動に関する研究を行っている。

共同利用研究ハイライト

磁場で固まり方を制御する： フェロセン系イオン液体の磁場応答

持田 智行 神戸大学大学院理学研究科化学専攻 教授

1. はじめに

フェロセン系錯体からなる電荷移動塩は、従来、固体物性の面から興味を持たれてきた物質群である。これらの塩は通常高融点であるが、私たちは最近、フェロセン系錯体の塩を「液化」することに成功した。これらは「金属を含む新しい機能性液体」であり、通常の液体・溶液では実現不可能な優れた機能性を発現する。本稿では、物質分子科学研究領域・中村グループとの共同研究として行われた、フェロセン系イオン液体の磁場応答性の研究について紹介する。

2. フェロセン系イオン液体の開発

まず研究の経緯について触れる。イオン液体は100℃以下の融点を持つ「塩」であり、多彩な物性・機能性を示すことで注目されているが、多くがイミダゾリウム塩などのオニウム塩である。筆者はもともと、フェロセン系錯体からなる電荷移動塩の物性を研究

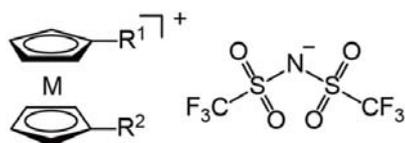
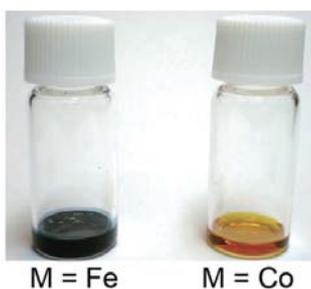


図1 フェロセン系イオン液体 (M=Fe) およびコバルトセン系イオン液体 (M=Co) の写真 (R¹ = R² = Et)。下に化学式 (一般式) を示した (アニオンはTf₂N⁻)。

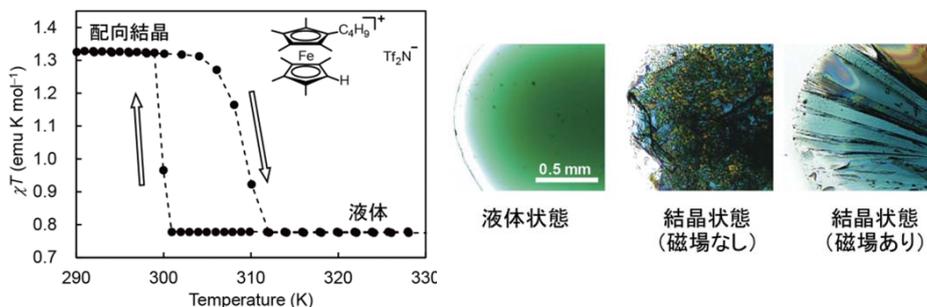


図2 (左) [(C₄H₉)Me₈Fc][Tf₂N]の磁化率の温度依存性 (磁場0.5 T)。冷却過程と昇温過程を示した。(右) 左から、液体状態、磁場なしで結晶化させた場合、および磁場中で結晶化させた場合の偏光顕微鏡写真。磁場中では、磁場(図中では上下方向に印加)に対して垂直に結晶成長が起こる。

していたが、これらの錯体を液化できれば、特異な常磁性液体が実現すると考えた。様々な試行錯誤の末、フェロセンのアルキル誘導体に対してフッ素系アニオンを組み合わせた一連の塩が、いずれも室温でイオン液体となることを見出した^[1]。

これらのフェロセン系イオン液体は濃青色の常磁性液体であり (図1左)、無溶媒反応によってアルキルフェロセンから高効率で合成できる。中心金属をコバルトに変えると、オレンジ色の非磁性液体となる (図1右)。これらはイオン電導性を有する不揮発性液体である。フェロセン系イオン液体の多くは空気中で不安定であり、評価に手間取ったが、環をメチル化することで、十分な耐酸素性を持つ緑色液体が生成した。この物質の磁気物性について次節に述べる。

3. フェロセン系イオン液体の磁場応答

フェロセン系イオン液体は、カチオン中の鉄イオンがスピンを担う常磁性液体である。このカチオンは一軸磁気異方性を持ち、分子の5回軸が磁場方向を向きやすいという特徴がある。以

下、室温付近に融点を持つ、図2(挿入図)の物質の磁性について述べる^[2]。この物質を磁場中 (0.5 T) で結晶化・融解させると、室温付近でヒステリシスを伴う顕著な磁化率変化を示した (図2)。すなわち、この液体を磁場中で凍らせると磁化率が上昇し、再び融解させると元の磁化率に戻る。この磁性変化は上述の磁気異方性に基づく現象であり、磁場に沿って分子あるいは結晶が配向しつつ結晶化が起こったことに起因する。印加磁場を強めると配向度が上がり、結晶相の磁化率がさらに増加した (2 Tでほぼ飽和)。この磁場配向は、偏光顕微鏡観察でも確認できた (図2右)。すなわちこのフェロセン系イオン液体は、磁場によって固まり方を制御できる特異な磁性流体である。

ところで液体の凝固に対する磁場効果に関しては、古くから酸化物や有機物を対象とした研究例が多数あり、それ自体は決して珍しい現象ではない。しかしながら、このように弱磁場下、室温付近で容易に磁場配向が実現するような系はきわめて稀である。本系では磁化率 (配向度) を室温付近で再現性良く磁場制御できることから、磁気

記憶の新しい原理ともなりうる。以上の現象は、室温付近に融点を持つイオン液体と、磁気異方性を持つフェロセンの組み合わせによって初めて実現したものである。

4. おわりに

私たちは現在、「金属錯体を液化する」という概念に基づき、新しい機能性液体化学の開拓を進めている。上述

のフェロセン錯体に加え、アレーン錯体、ハーフメタロセン錯体^[1,3]を順次液化し、さらに一連のキレート錯体^[4]を液化した。これらは特異な外場応答性、気体吸着能、化学反応性などを示す斬新な液体材料である。

本稿の結果は、舟浴佑典氏、稲垣堯氏（神戸大・大学院生）、および古川貢助教、中村敏和准教授（分子研）との共同研究によるものである。分野を

超えた挑戦であり、かつ液体を扱う難度の高い実験であったにもかかわらず、心よりご支援頂いた分子研スタッフに重ねて感謝を申し上げたい。このほか、電荷移動錯体の研究^[5]でも共同利用研究を実施させて頂いている。

参考文献

- [1] (a) T. Inagaki, T. Mochida, M. Takahashi, C. Kanadani, T. Saito, D. Kuwahara, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 6795; (b) T. Inagaki, T. Mochida, *Chem. Lett.* **2010**, *39*, 572.
[2] Y. Funasako, T. Mochida, T. Inagaki, T. Sakurai, H. Ohta, K. Furukawa, T. Nakamura, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4475
[3] T. Inagaki, T. Mochida, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 8070.
[4] Y. Funasako, T. Mochida, K. Takahashi, T. Sakurai, H. Ohta, *Chem. Eur. J.*, **2012**, *18*, 11929.
[5] (a) A. Funabiki, T. Mochida, K. Takahashi, H. Mori, T. Sakurai, H. Ohta, M. Uruichi, *J. Mater. Chem.*, **2012**, *22*, 8361; (b) A. Funabiki, H. Sugiyama, T. Mochida, K. Ichimura, T. Okubo, K. Furukawa, T. Nakamura, *RSC Adv.*, **2012**, *2*, 1055.



もちだ・ともゆき

1994年 東京大学大学院総合文化研究科・博士課程中退。同年、分子研助手（宮島グループ所属）。1997年 東邦大学理学部講師、2003年 同 助教授。この間、1997～2000年 JST さきがけ 兼務。2007年より現職。博士（学術）。専門は物性化学。

共同利用研究ハイライト

新しい自由エネルギー計算手法の開発

森下 徹也 産業技術総合研究所 ナノシステム研究部門

1. はじめに

自由エネルギーは系の熱力学的安定性の評価に重要な量であり、それ故分子シミュレーションにおいて効率良く自由エネルギーを計算できることが望まれている。熱力学的積分法は自由エネルギーの計算によく用いられているが、後処理として数値積分が必要であり、またエルゴード性の破れが問題になることもある。そこで最近になって、反応座標を自由エネルギー面上の力学変数として扱う手法が導入され [mean force dynamics (MFD)]、より効率の

高い自由エネルギー計算が試みられている^[1-3]。私は最近、分子研の奥村准教授と伊藤助教の協力を得て、MFDの枠組みに立脚した新しいMFD法を提案した^[4]。従来のMFD法では、自由エネルギー障壁を乗り越えて効率良くエネルギー面をサンプルするために、人為的なポテンシャルエネルギーの付加や (metadynamics^[1])、非物理的な高温 dynamics (AFED^[2] or TAMD^[3]) が導入されている。我々の新しい手法は従来法とは異なり、元のエネルギープロファイルを人為的に変換する機構を

取り入れている。さらに（原理的には）“on the fly”で自由エネルギーが得られる (metadynamics では、全座標空間を十分サンプルしなければ局所的な自由エネルギー差も得られない)。本稿では、MFDをベースにする我々の新しい自由エネルギー計算手法^[4]—LogMFD法—を簡単に紹介する。

2. Logarithmic Mean-Force Dynamics (LogMFD)

$\mathbf{X} (= \{X_1, X_2, \dots, X_n\})$ を反応座標とする自由エネルギープロファイル $F(\mathbf{X})$

の構築を考える。 X_i は多くの場合分子の位置座標の関数であるが(例えば二面角など)、ここでは仮想的な力学変数として扱い、その時間発展は以下の運動方程式に従うとする。

$$m_i \ddot{X}_i = -\frac{1}{(\alpha F + 1)} \frac{\partial F}{\partial X_i} - m_i \dot{X}_i \dot{\eta} \quad (1)$$

m_i は X_i に対する仮想質量で、 α は任意パラメータである。 X_i にかかる力はポテンシャルエネルギーを F ではなく

$$F \rightarrow \frac{1}{\alpha} \log(\alpha F + 1) \quad (2)$$

とした場合の力に相当する。 α を適切な値に設定すれば、 F におけるエネルギー障壁を低くすることができ、 F 面上の効率よいサンプリングが可能となる。

(1)式右辺の第2項は熱浴に関するもので、 η を能勢-Hoover熱浴の変数とすると以下の保存量が存在する。

$$\tilde{H} = \sum_i \frac{1}{2} m_i \dot{X}_i^2 + \frac{1}{\alpha} \log(\alpha F + 1) + \frac{1}{2} Q \dot{\eta}^2 + gkT\eta \quad (3)$$

$-\partial F / \partial X_i$ はいわゆる平均力であり、通常のMFDと同様に、 \mathbf{X} を固定した時にかかる瞬間力のカノニカル平均から求める。仮想質量は、metadynamicsやAFEDと同様に断熱的に \mathbf{X} が時間発展できるように、粒子系の質量より数オーダー大きくする。(1)式の力の項には求めるべき F が含まれているが、断熱性が高く $\partial F / \partial X_i$ が正しく評価されていれば \tilde{H} が保存されるので、(3)式を F について解けば各時刻での F が“on the fly”で求まる(さらに(3)式に従って \mathbf{X} を時間発展させることができる)。実際には通常のMD計算ほど \tilde{H} の保存性は良くないが、複数の \mathbf{X} の軌跡による結果を平均することで、reasonableな F を与えることが期待される。

3. シミュレーション結果

図1に本手法を真空中のグリシンジペプチド分子に適用した結果を示す

(実線: log-MFD)。計算したのは、上図にある分子モデルにおいて二面角 ϕ を80度に固定した際の、 ψ に関する自由エネルギープロファイルである。 ϕ と ψ の二面角を制御するために、 $k[X - \psi(r)]^2/2$ のばねポテンシャルを追加して、 ψ の代わりに X を力学変数として扱った。 X に働く平均力は、recursive 能勢-Hoover熱浴^[5]を用いた短いMD計算から求めた(CHARMM力場を使用)。比較のために熱力学的積分法による結果(●)も示しており、両者は良く一致している。同精度の結果が熱力学的積分法の約13%の計算量で得られており、本手法の効率が良いことがわかる。図中の点線は実線の $F(\psi)$ を(2)式に代入して得られるエネルギープロファイルで、LogMFD計算ではこのエネルギー面上を、力学変数である X (or ψ)が動いている。元々の自由エネルギー障壁は約10 kcal/molであり室温より遥かに高いエネルギー値であるが、(2)式によりlogarithmic形式に変換された後ではせいぜい1 kcal/molほどの障壁となり、エネルギー面を一様に効率よくサンプリングできることがわかる。

多次元の自由エネルギープロファイルも同様にして求めることが可能である。二面角 ϕ を ψ と同様に自由エネルギー面上を動かすことができるようにして、図2のラマチャンドラプロットが得られた。元の分子形状から180度の回転対称性を示す筈であるが、得られた結果は確かにその対称性を良く再現できている。

4. 今後の課題

LogMFD法は、mean force さえ精度

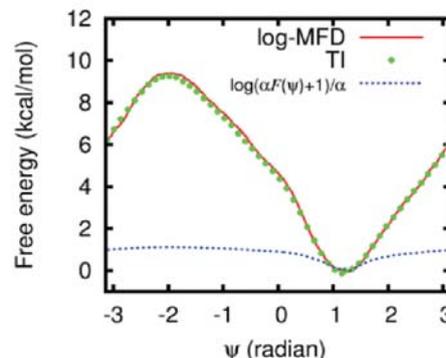
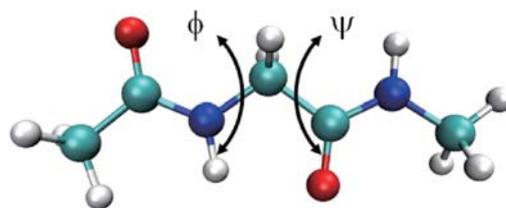


図1 ψ に関する自由エネルギープロファイル (縦軸は自由エネルギーで単位はkcal/mol)

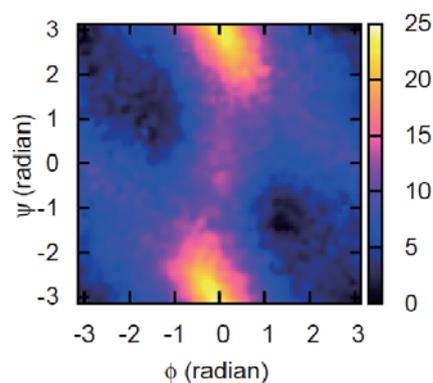


図2 グリシンジペプチド分子のラマチャンドラプロット (単位はkcal/mol)

良く得ることができれば、自由エネルギーを“on the fly”で求めることができる。そのため、効率の良い自由エネルギー計算が期待される。まだ適用例は少ないものの、今後様々な系に適用して、本手法の適用性をさらに検証していきたい。現在は第一原理計算への適用も進めており、preliminaryな結果を得ている。

本研究の実施にあたり、伊藤助教(分子研)、奥村准教授(分子研)並びに三上教授(筑波大学)の各氏と議論させていただいた。

参考文献

- [1] A. Laio and M. Parrinello, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **99**, 12562 (2002).
[2] L. Rosso et al., *J. Chem. Phys.* **116**, 4389 (2002).
[3] L. Maragliano and E. Vanden-Eijnden, *Chem. Phys. Lett.* **426**, 168 (2006).
[4] T. Morishita, S. G. Itoh, H. Okumura, and M. Mikami, *Phys. Rev. E* **85**, 066702 (2012).
[5] T. Morishita, *Mol. Phys.* **102**, 1337 (2010).



もりした・てつや

2000年慶応義塾大学大学院理工学研究科博士課程修了。同年、理化学研究所 基礎科学特別研究員。日本学術振興会 特別研究員を経て、2003年より産業技術総合研究所 研究員（現職）。2009-2010年にメルボルン王立工科大学の客員研究員。2012年から分子研客員准教授。専門は化学物理、物性理論。特に、第一原理分子動力学計算による非秩序相やナノスケール物質の物性解明、並びにMD計算手法開発に力を入れている。

共同利用研究ハイライト

第1回分子科学若手シンポジウム」及び「第52回分子科学若手の会夏の学校 講義内容検討会」の開催報告

山崎 馨 東北大学大学院理学研究科化学専攻 博士課程後期1年

1. はじめに

「分子科学若手の会」（若手の会）は、分子科学を専攻する大学院生などの若手研究者が所属・運営する研究者団体であり、1961年から続く「分子科学若手の会夏の学校」（夏の学校）を中心に、分子科学を専攻する若手研究者の交流と最先端知識の習得による相互研鑽の機会を提供してきた。2012年度も、分子科学研究所（分子研）の平成24年度共同利用研究（前期）「若手研究会等」の支援のもと、「第1回分子科学若手シンポジウム」及び「第52回分子科学若手の会夏の学校 講義内容検討会」を開催した。本稿では、これら2つの研究会及びその成果を踏まえて開催した「第52回分子科学若手の会夏の学校」の様子について報告する。

2. 第1回分子科学若手シンポジウム

今回は、若手の会会員及び分子研

所属の大学院生等の若手研究者による専門を超えた相互理解を深めるために、「第1回分子科学若手シンポジウム」を開催した。本シンポジウムは分子研からの参加者4人を含む19名が参加し、16件のポスター発表が行われた。分子科学討論会等と比較すると小規模な開催であったため、1件ずつ丁寧に発表を聴いて回ることが可能であった。このため、専門の違いを超えた非常に濃密な議論が行われ、大変充実した時間を過ごすことができた。

3. 第52回分子科学若手の会夏の学校 講義内容検討会

分子科学若手シンポジウム開催後に、講師の先生方と分科会担当の学生を中心として夏の学校の講義内容検討会を開催した。ここでは、講師の先生方が執筆したテキスト及び講義資料を基



第1回分子科学若手シンポジウムの集合写真

に、講義の進行計画について詳細に議論した。これらの議論により若手の会役員・分科会担当者・講師の先生方間で顔合わせと運営方針の統一を図ることができた。

また、分子科学若手の会役員会も同時に開催し、より充実した夏の学校をより効率的に2013年度以降運営するための組織改革について議論した。その結果、幹事研究室に集中していた会場準備や広報等の業務を分割して、幹事研究室以外の研究室に所属する学生

をそれぞれの業務ごとに担当者として配置することにした。

4. 第52回分子科学若手の会夏の学校

講義内容検討会の結果を踏まえて、2012年8月20-24日に東京大学本郷キャンパスを会場として第52回分子科学夏の学校を開催した。参加者総数は過去5年間で最多の103人を数える大盛況であった。また、参加者の所属も北は北海道大学から南は九州大学まで、分子研を含む22大学51研究室に上った。この為、非常に多様なバックグラウンドを持った若手研究者が一堂に会して分子科学の最前線について討議する非常に有意義な会となった。

4.1 分科会

本年度は、5つの分科会に分かれて次の様な講義を行った。

第1分科会：

「化学のための密度汎関数理論 (DFT)」
講師：常田 貴夫 氏 (山梨大学)

第2分科会：

「分子シミュレーションの基礎」
講師：志賀 基之 氏 (日本原子力研究開発機構)

第3分科会：

「気相レーザー分光の変遷—微量分子検出の半世紀—」
講師：松本 剛昭 氏 (兵庫県立大学)

第4分科会：

「時間分解赤外・テラヘルツ分光で捉える強相関電子系の超高速ダイナミクス」
講師：岩井 伸一郎 氏 (東北大学)

第5分科会：

「表面・界面の二次非線形分光の信号表式の導出」
講師：山口 祥一 氏 (理化学研究所)

どの分科会も、演習・論文輪読・参加者の研究発表などを有効に取り入れて、参加者と講師の先生方の間に双方



分科会の様子 (第3分科会)

向のコミュニケーションが成り立つように工夫されていた。今回開催した分科会のテキストの一部は、分子科学会のご厚意で「分子科学アーカイブス」に収録される予定である。読者の諸兄の積極的なご活用をお願いしたい。

4.2 全体講演・特別講演

分科会での講義に加えて講師の先生方には、ご自身の最近の研究をその背景も含めて全体講演として紹介していただいた。さらに今回は、特別講演(新企画)として名古屋大学の吉井 範行氏により、「超並列計算による大規模分子集合体の分子動力学シミュレーション」と題して、アジア最速のスーパーコンピュータ「京」による分子シミュレーションの現状と、その背景にある超並列シミュレーション向けアルゴリズム

について、平易に説明していただいた。これらの講演は、他領域のトピックを基礎から最前線まで効率良く吸収できる良い機会となった。

4.3 ポスターセッション

ポスターセッションでは63件の発表があり、領域の垣根を越えた熱い議論が夜遅くまで繰り広げられた。2013年度は本ポスターセッションを「第2回分子科学若手シンポジウム」として執り行う予定である。

5. まとめ

本稿では「第1回分子科学若手シンポジウム」及び「第52回分子科学若手の会夏の学校 講義内容検討会」、そして第52回分子科学若手の会夏の学校の活動報告を行った。来年度は夏の学校の活動報告を行った。来年度は夏の学校の53年の歴史の中で初の分子研開催を計画しており、上智大学理工学部南部研究室の学生(若手の会事務局代表: 博士課程後期1年 村上 龍大)を中心に鋭意準備を進めている。分子研及び諸先生方におかれましては、講義室及び宿泊先の確保などに関して、更なるご理解とご協力をよろしくお願い申し上げます。



全体集合写真, 東大安田講堂前にて