

令和元年6月19日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K05249

研究課題名(和文) 弱結合条件下の荷電タンパク質間実効相互作用と相挙動における溶媒分子の役割

研究課題名(英文) Roles of solvent particles in effective interactions between charged protein and phase behavior under weak coupling condition

研究代表者

秋山 良 (Akiyama, Ryo)

九州大学・理学研究院・准教授

研究者番号：60363347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：電解質溶液中における同符号荷電巨大分子間の実効相互作用は、ポアソン-ボルツマン方程式やその線形化した場合のデバイーヒュッケル理論の解を用いて、ある程度調べられている。液体の積分方程式理論を用いて、デバイーヒュッケル理論で用いられた近似が不十分になる条件で(Intermediate領域で)同符号荷電巨大分子間の実効相互作用を求めた。イオン強度が同じでも共イオンの価数が異なれば距離性に違いが出るのがわかった。これは上記のデバイーヒュッケル領域での結果と定性的に異なる。また、この結果は実験結果と定性的には対応している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的な意義として、クーロン相互作用よりも熱エネルギーが優勢な条件で、イオンの粒子性や価数を考慮した場合の同符号巨大荷電分子間実効相互作用の計算が行われたことが大きい。これまで、クーロン相互作用が十分に優勢な真逆とも言える条件で計算を行ってきたが、そこから従来よく理解されているデバイーヒュッケル理論が妥当な領域までの間を繋げられたことに意義がある。また共イオンの排斥が起きていると思われる結果は興味深い点になり、今回の計算結果を軸にした分子シミュレーションなどが期待される。また、凝集のためのサンプリング法が見えてきたので、相挙動研究の足がかりをつかめた事も大きな収穫である。

研究成果の概要(英文)：The effective interactions between like-charged macromolecules in an electrolyte solution has been investigated using the linearized Poisson-Boltzmann equation (ex. the Debye-Huckel theory). In the present study, the integral equation theory of the liquid (HNC-OZ theory) was used to determine the effective interaction between like-charged macromolecules under conditions where the Debye-Huckel theory becomes worse, namely the Intermediate region. We found that when the ion intensity is the same and the valence number of the coions is different, the distance property is different. These results are qualitatively different from the results in the Debye Huckel region above. Also, this result corresponds qualitatively to the experimental result.

研究分野：化学物理

キーワード：電解質溶液 荷電タンパク質溶液 液体の積分方程式理論 実効相互作用 DLVO理論 シミュレーション コロイド分散系 サンプリング方法

1. 研究開始当初の背景

本課題では、熱エネルギーがクーロン相互作用よりも優勢な場合の電解質溶液中の荷電コロイド粒子間実効相互作用を中心にそうした相互作用をする系がどのような相挙動を示すかを調べることを主目的とした。荷電コロイド粒子として、巨大陰イオンである酸性タンパク質を想定している。通常、その実効相互作用は分散力を実効引力と考える DLVO 理論を用いるが、引力部分には直接の実験的証拠は無く、議論の余地がある。

また、近距離性の引力と関係してタンパク質分子からなる平衡クラスターについて多くの実験研究が行われてきた。特に、小角散乱実験で得られる実効構造因子 $S^{eff}(k)$ を基に議論が進んでいる。(例えば、A. Stradner *et al.*, *Nature* 432 (2004) 492.) Stradner らは、 $S^{eff}(k)$ の高波数側のピークをタンパク質-タンパク質間相関、低波数側のピークをクラスター-クラスター間相関として議論した。しかし、それら高波数側のピークの解釈の議論にはまだ論争が残っている。(T. Sato *et al.*, *J. Phys. Soc. Jpn.* 81(2012)SA002-1.)

一方で、液体構造の van der Waals 描像(D. Chandler *et al.*, *Science* 220 (1983) 787.) の観点からは、実効引力の起源に関して上述の DLVO 理論とは異なる可能性が示唆される。すなわち、球状タンパク質の場合、コロイド粒子間には溶媒分子の並進運動効果による実効引力が働く事が示唆される。(M. Kinoshita, *J. Chem. Phys.* 116 (2002) 3493.) この実効引力は、浸透圧由来の枯渇相互作用(S. Asakura, F. Oosawa, *J. Chem. Phys.* 22(1954)1255.) の圧力版である。本課題で問題とされる系で $S^{eff}(k)$ 等の観測量を議論した理論研究は何故か無い。(なお、上述の van der Waals 描像は、『液体中での実効相互作用は、直接の引力は殆ど意味を持たず、分子間の斥力項でほぼ決まる』とする描像である。) 本課題は、溶媒分子を露に扱う液体論の立場からコロイド分散系で見られる現象を再検討するものである。

2. 研究の目的

荷電タンパク質溶液の平衡クラスター、相挙動を統計力学理論と分子シミュレーションを用いて理論的に研究する事が目的である。最近、分散状態にある荷電タンパク質溶液の散乱実験結果を再現出来る直接の粒子間相互作用モデルを発見した。そのモデルに対して積分方程式理論とシミュレーションを組み合わせて、タンパク質溶液の相挙動等の電解質濃度、混み合い分子濃度依存性を探索する。例えば、電解質濃度の増加に伴う、巨大分子間引力は巨大分子の並進運動効果から溶媒分子の並進運動効果への切り替わりに着目する。この切り替わりは、相挙動に影響を与える。また、議論が収束していない平衡クラスターに関して溶媒分子の並進運動効果の観点から議論出来る。更に、理論的な理解から実験研究への提案を目指す。

3. 研究の方法

実験結果を再現出来る粒子間直接相互作用のモデルと液体の積分方程式理論を用いて、巨大荷電分子(酸性蛋白質)や他のイオンのサイズ変化、密度変化、温度変化に関する系統的研究を実行した。図1は、計算された巨大荷電分子間の動径分布関数であり、この動径分布関数を用いて実効相互作用を求めることができた。実効相互作用のビリアル係数などを調べる事で、平衡クラスターの存在率について調べる。対応する巨大分子の無限希釈系に対して積分方程式理論を用いて実効相互作用を求め、それに基づいたシミュレーション研究を進めた。

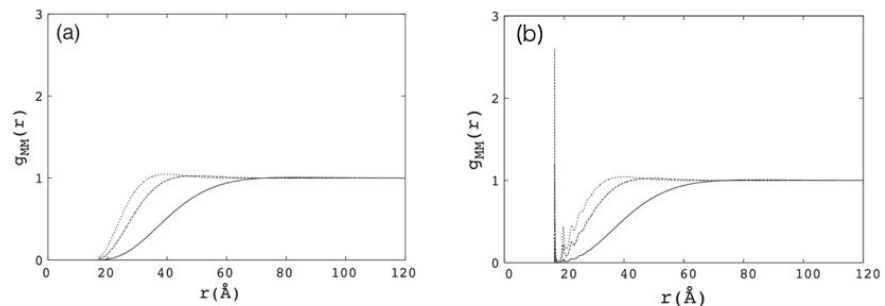


図1: 巨大分子間の動径分布関数 $g(r)$ 。(a)溶媒をあらわに扱わない場合(b)溶媒の粒子性を考慮した場合。3つの結果は低塩濃度から高塩濃度まで電解質濃度依存性を考えているからである。塩濃度が上がるにつれて、巨大分子が近距離まで近づくことができる。R. Akiyama *et al.* *J. Mol. Liq.* (2014)

4. 研究成果

弱結合領域での実効相互作用に関しては、ポアソン-ボルツマン方程式やその線形化した場合のデバイ-ヒュッケル理論の解を用いて、ある程度調べられている。特に電解質濃度が低く、クーロン相互作用より熱エネルギーが十分に大きな領域では、デバイ-ヒュッケル理論が妥当であると考えられる条件では、イオン強度が同じならば、デバイ距離は同じになり実効相互作用の斥力のテールは同様な距離性になることがわかっている。(その様にイオン強度が定義されたと述べるほうが良いかもしれない。) 液体の積分方程式理論の一つである HNC-OZ 理論を用いた場合にもその様な結果が得られ、この理論でもいわゆるデバイ-ヒュッケル領域で妥当な結果が得られることを確認した。

それだけでなく、デバイ-ヒュッケル理論の近似が不十分になる Intermediate 領域 (図 2) のパラメータで計算すると、イオン強度が同じでも距離性に違いが出ることがわかった。(図 3 参照) すなわち、イオン強度を一定にしたまま電解質の共イオンの価数変化をした場合には、共イオンの価数が大きくなるほど斥力相互作用のテールが長距離まで伸びるという結果が得られた。これは、デバイ-ヒュッケル理論の予測とは全く異なるものである。さらに、イオン強度がどうなるかを無視して、対イオンの濃度を合わせれば、概ね斥力のテールは同じになることがわかった。これは実験で知られている結果と定性的には似た結果を示している。図 4 にその結果 (図 3 と同様に、イオンの価数は -1 価、-2 価、-2.5 価で調べてある。) を示しているが、これは Intermediate 領域の中でも横軸に非常に近い条件での計算結果である。ここから少しでデバイ-ヒュッケル領域に近いところへずれた場合、さらにこれらの曲線の違いはなくなる。

特に『対イオンの濃度を合わせれば、斥力のテールは概ね同じになる』ということは、驚くに値するが、菱田らの実験と理論解析を踏まえると解釈可能になる。その条件では共イオンは殆ど巨大荷電イオン間から排斥されていて、ほぼ遮蔽が対イオンのみで決まる、すなわち対イオンの濃度が同じであれば、遮蔽の程度は同様になり曲線が重なると考えれば、頷く事もできる。現在、以上の結果に対する論文の作成を進めている。ただし、こうした描像が成り立つパラメータ範囲などが未だ明確でなく、今後の研究を要する。

この様に実効ポテンシャルの電解質濃度依存性については、特に共イオン価数依存性に関して、理解を進めることができたが、その一方で、こうした実効ポテンシャルに基づく実効 1 成分系のシミュレーションは、思う様に進まなかった。鋭い実効引力と長い斥力テールに阻まれた事もあるが、特に凝集が進むとクラスターの非常に移動が難しくなり、平衡状態を調べる非常に長い計算時間を要することがわかってきた。

そこで、実効 1 成分系のシミュレーションのサンプリング方法を再検討することからやり直すことにした。最近、取り組んだサンプリング方法が凝集挙動のシミュレーションに関して成功を収めつつある。具体的には、クラスターを 1 つの集団として移動させるプロセスを含めて、モンテカルロシミュレーションを行う方法を導入した。その結果、凝集挙動を伴う平衡状態の探索がかなり高速化することが分かってきた。現在は計算を進めやすい 2 次元のモデル系でそのシミュレーションを行なっているが、今後 3 次元系、本課題で求めた実効相互作用系へ適用

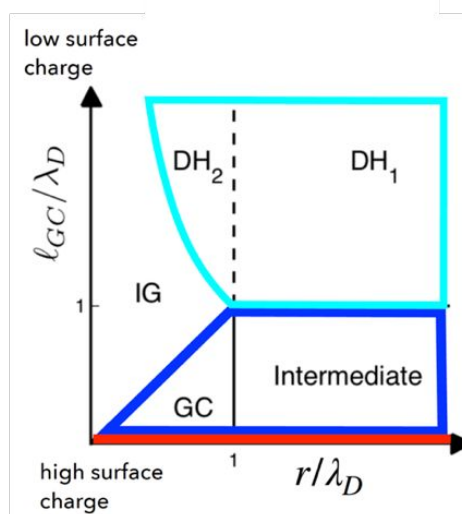


図 2: 表面電荷とデバイ距離を用いて上記の様な分類が行われているが、従来のデバイ-ヒュッケル理論の評価が当てはまらない Intermediate 領域から横軸上のパラメータ領域を主に探索した。

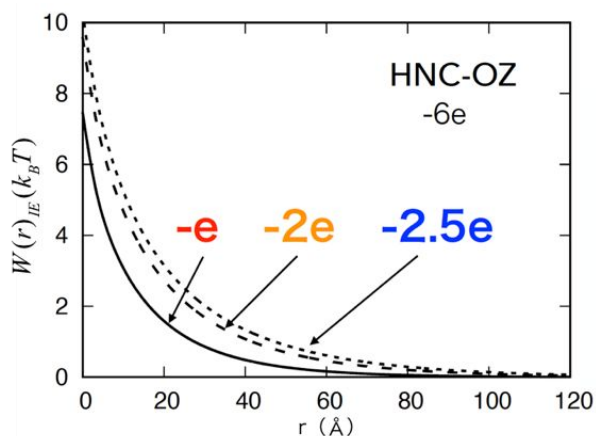


図 3: 同符号巨大イオン表面間の実効相互作用。HNC-OZ 理論を用いて計算した。イオン強度は同じなので、デバイ-ヒュッケル理論を用いた場合には同一の線になるが、HNC-OZ 理論の場合、共イオン価数が大きくなるほど斥力のテールが伸びる。

し、本課題の最終目標の一つである平衡クラスターの存在率について調べる予定であり、相挙動についての結果も期待できる様になってきた。

また、この研究と関係して、図2のほぼ横軸上にある条件で、酸素サイズの1価アニオン間に強い引力が発生することがわかった。その実効引力は電解質が多価イオンを含む場合にのみ働き、電解質濃度の上昇とともに斥力、引力、引力消失とリエントラントな挙動を示すこと、および弱い長距離斥力が多価イオンの場合には消えることがわかった。この結果は負に帯電したタンパク質分子溶液で見られる挙動とよく対応する。すなわち、電解質濃度の上昇とともに分散、凝集、分散のリエントラント挙動をとるタンパク質溶液に対する実験とよく対応する。それらの結果をまとめて論文として発表した。また、こちらの課題に関しては密度汎関数理論と熱力学的摂動論を用いた相挙動の結果も得つつあり、論文文化を急いでいる。

さらに、派生的な研究として、巨大分子の移動の遅さに関連して調べられた巨大分子の拡散係数についての結果も得られ論文を発表している。その巨大分子の拡散係数を計算する過程で、剛体球系の動径分布関数を正確に求める必要性に迫られた。その結果、非常に正確なブリッジ関数が特定された。このブリッジ関数は、少なくとも相互作用が短距離的な場合には極めて精度が高く、従来のクロージャー方程式の結果に比べて、近距離での振る舞いも漸近的な長距離での振る舞いも極めて分子シミュレーションを用いたものとよく一致する。その研究結果をまとめた論文を投稿中である。そのブリッジ関数を用いた積分方程式理論による計算が今後期待される。

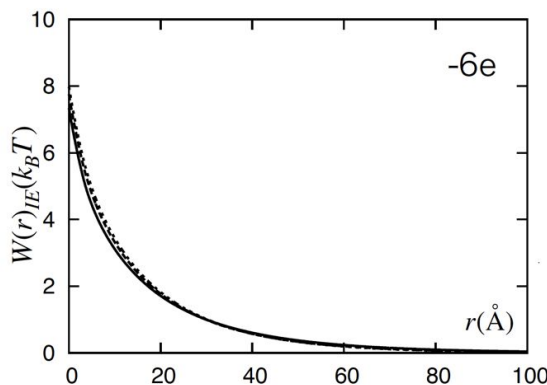


図4：同符号巨大イオン表面間の実効相互作用。HNC-OZ理論を用いて計算した。対イオン濃度を同じにして電荷中性条件を守りながら共イオン価数を変えた。イオン強度は異なるが、ほぼ同一の線になる。Intermediate領域でも横軸に極めて近接しているパラメータ領域である。ここよりも横軸から離れると実効相互作用の一致度は高くなる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

1: Suematsu Ayumi, Sawayama Takuto, Akiyama Ryo, Effective potential between negatively charged patches on acidic proteins immersed in various electrolyte solutions, *The Journal of Chemical Physics*, 149 (2018) 074105-1-8(査読有).

2: Nakamura Yuka, Yoshimori Akira, Akiyama Ryo, Yamaguchi Tsuyoshi: Stick boundary condition at large hard sphere arising from effective attraction in binary hard-sphere mixtures, *THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS*, 148 (2018) 124502-1-12(査読有).

3: Tokunaga Ken, Akiyama Ryo: Basic Cell Size Dependence of Displacement for a Solvation Motor in a Lennard-Jones Solvent, *J. Comput. Chem. Jpn.*, 17 (2018) 80-84(査読有).

4: Okumura Hisashi, Higashi Masahiro, Yoshida Yuichiro, Sato Hirofumi, Akiyama Ryo: Theoretical approaches for dynamical ordering of biomolecular systems, *Biochimica et Biophysica Acta(BBA) - General Subjects*, 1862 (2018), 212-228(査読有).

5: Chiba Ayano, Inui Masanori, Kajihara Yukio, Fuchizaki Kazuhiro, Akiyama Ryo: Isotactic poly(4-methyl-1-pentene) melt as a porous liquid: Reduction of compressibility due to penetration of pressure medium, *THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS*, 146 (2017) 194503-1-5(査読有).

6: Hishida Mafumi, Nomura Yoko, Akiyama Ryo, Yamamura Yasuhisa, Saito Kazuya: Electrostatic double-layer interaction between stacked charged bilayers, *PHYSICAL REVIEW E*, 96 (2017) 040601(R)-1-5(査読有).

7: A. Suematsu, A. Yoshimori and R. Akiyama: Effects of interactions between depletants in phase diagrams of binary hardsphere systems, *EPL (Europhysics Letters)*, 116 (2016) 38004-1-7(査読有).

〔学会発表〕(計46件)

1: 末松安由美, 菱田真史, 秋山良: 多価カチオンを含む電解質中におけるタンパク質表面の負に帯電した酸素間の実行相互作用, 日本物理学会第73回年次大会, 2018.

2: 中村有花, 吉森明, 秋山良, 山口毅: 溶媒の密度分布で決まる粒子表面の境界条件, 日本物理学会第73回年次大会, 2018.

3: 菱田真史, 秋山良, 山村泰久, 齋藤一弥: 荷電脂質膜が作る多重層ベシクルの表面電位, 日本物理学会第73回年次大会, 2018.

4: 田村雄大, 末松安由美, 吉森明, 秋山良: 荷電コロイド粒子の結晶化に影響する平均力ポテンシャルの斥力, 日本物理学会第73回年次大会, 2018.

5: Ryo Akiyama, Ayumi Suematsu: Effective attraction between negatively charged oxygen atoms on protein surface in an electrolyte solution, 新学術領域研究「動的秩序と機能」

第6回国際シンポジウム, 2018.

6: : 中村有花, 荒井翔太, 秋山良, 吉森明, 木下正弘: 大きさの異なる粒子を含む剛体球系の動径分布関数, 日本物理学会 2018 年秋季大会, 2018.

7: 中村有花, 吉森明, 秋山良, 荒井翔太, 木下正弘: 剛体球の動径分布関数から計算する大きな粒子の拡散係数, 日本物理学会 2018 年秋季大会, 2018.

8: 吉森明: 基礎セミナー2「生物物理に理論は必要か」, 第 58 回生物物理若手の会 夏の学校, ぼくらの生物物理の教科書, 2018.

9: Ayumi Suematsu, Ryo Akiyama, SIMULATIONS OF LIKE-CHARGED MACROIONS IN AN ELECTROLYTE SOLUTION BASED ON THE EFFECTIVE INTERACTION, The 5 th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions, 2017.

10: 秋山良: マクロアニオン間の実効相互作用と凝集挙動, 「水和と ATP エネルギー」研究会, 2017.

11: 田村雄大, 吉森明, 末松安由美, 秋山良: 蛋白質の結晶化に対する理論的手法の開発, 「水和と ATP エネルギー」研究会, 2017.

12: 千葉文野, 折戸朗子, 秋山良: 空隙のある高分子結晶 P4MP1 および sPS への分子吸蔵(II), 日本物理学会第 72 回年次大会, 2017.

13: 大島 章生, 秋山良: 2 成分剛体球系での固体表面への分子吸着における活性化自由エネルギー及び吸着量のモル分率依存性, 凝縮系の理論化学 2017, 2017.

14: 末松安由美, 吉森明, 秋山良: 統計力学的手法による 2 成分剛体球系の相挙動の研究, 凝縮系の理論化学 2017, 2017.

15: Akio Oshima, Ayano Chiba, Ryo Akiyama: Selectivity of large hard sphere on a hard wall immersed in binary hard-sphere fluid, The 10th Liquid Matter Conference, 2017.

16: Ayumi Suematsu, Akira Yoshimori, Ryo Akiyama: Effective potential and crystallization by depletion effect in binary hard-sphere systems, The 10th Liquid Matter Conference, 2017.

17: Ryo Akiyama, Statistical Mechanics Study of Reentrant Phase Behavior of Proteins in an Electrolyte Solution, The 17th KIAS Conference on Protein Structure and Function, 2017.

18: A. Suematsu, R. Akiyama and M. Hishida: Exclusion of coions from space between two macroions in an electrolyte solution: the charge dependence, 11th Mini Symposium on Liquids, 2017.

19: Ken Tokunaga, Ryo Akiyama: System Size Dependence of the Motion of Solvation Motor, 11th Mini Symposium on Liquids, 2017.

20: Y. Tamura, A. Suematsu, A. Yoshimori, R. Akiyama: Short and long range effects of an effective force on crystallization of like-charged colloidal particles, , 11th Mini Symposium on Liquids, 2017.

21: 山下拓海, 秋山良: 同符号コロイド粒子間相互作用における同符号イオンの価数依存性, 日本物理学会 第 71 回年次大会, 2016.

22: 秋山良: 巨大分子を使った寄木細工の為の方針の 2 つ, 『分子を使った寄せ木細工』: 自己組織化したソフトマテリアルが織り成す『かたち』と機能, 2016.

23: 秋山良: 電解質溶液中で働く強い同符号荷電間実効引力の理論的研究とタンパク質の凝集挙動, 福岡大学化学科談話会, 2016.

24: Ryo Akiyama, Appearance and Disappearance of Strong Attraction between Negatively Charged Macromolecules in an Electrolyte Solution, The 4th International Kyushu Colloid Colloquium, 2016.

25: Ayumi Suematsu, Ryo Akiyama: Radial distribution function of interaction between the charged colloid particles obtained by the Montecarlo simulation using effective interaction calculated by the HNC-OZ theory, The 10th Mini-Symposium on Liquids, 2016.

26: 秋山良: 積分方程式理論で計算した電解質溶液中の同符号荷電粒子間実効相互作用, 第 6 回ソフトマター研究会, 2016.

27: Ayumi Suematsu, Ryo Akiyama: Molecular simulation of macroanions in an electrolyte solution based on the effective potential, 第 54 回日本生物物理学会年会, 2016.

28: Takuto Sawayama, Ryo Akiyama: Aggregation behavior of macroanions in an electrolyte solution, The 9th Mini Symposium on Liquids, 2015.

29: Takumi Yamashita, Ryo Akiyama: Dependence of Effective Potential of Mean Force between Negatively Charged Colloidal Particles Immersed in an Electrolyte Solution on Charge of Small Anion, The 9th Mini Symposium on Liquids, 2015.

30: Yuichi Kawabata, Ryo Akiyama: Solute Size Dependence of Preferential Interaction in Hard-Sphere Mixture, The 9th Mini Symposium on Liquids, 2015.

31: Ken Tokunaga, Ryo Akiyama: Energy Conversion Efficiency of Solvation Motor driven by a Reaction on the Motor Surface, The 9th Mini Symposium on Liquids, 2015.

32: Takumi Yamashita, Ryo Akiyama: Effects of Co-ions with Different Valences on Effective Interaction between Macroanions in an Electrolyte Solution, 2015 International Conference of Colloids and Interface Science, 2015.

33: Ryo Akiyama, Takuto Sawayama: Phase behavior of Acidic Protein electrolyte solution: Theoretical approach with a simple model, 2015 International Conference of Colloids and Interface Science, 2015.

34: Ryo Akiyama: Spatiotemporal dynamic ordering regulated by ATP hydrolysis and effective attraction between negatively charged sites in a biofluid, International, The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Formation of spatiotemporal dynamic ordering mediated by ATP hydrolysis, 2015.

35: Takuto Sawayama, Ryo Akiyama: Aggregation behavior of macroanions immersed in electrolyte solution, The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2015.

36: Yuichi Kawabata, Ryo Akiyama: Effects of Preferential Solvation on Partial Molar Enthalpies in Binary Mixture Systems: Molecular Simulation Study, The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, 2015.

37: Ryo Akiyama: Effective attraction between negatively charged sites on proteins and ordering of proteins in an electrolyte solution, The 4th International Symposium "Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for creation of integrated functions, 2015.

38: Takuto Sawayama, Ryo Akiyama: Aggregation of acidic proteins and effective attraction between like-charged particles, The 4th International Symposium "Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for creation of integrated functions, 2015.

39: Ayumi Suematsu, Akira Yoshimori, Ryo Akiyama: Effects of depletion interaction on the crystallization, The 4th International Symposium "Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for creation of integrated functions, 2015.

40: Takumi Yamashita, Ryo Akiyama: Dependence of effective interaction between macroanions in electrolyte solution on valence of coions, The 4th International Symposium "Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for creation of integrated functions, 2015.

[図書] (計 2 件)

1: 安池智一、秋山良: エントロピーからはじめる熱力学, 放送大学教育振興会, 2016, 300.

2: Ryo Akiyama: Theoretical Studies of Strong Attractive Interaction Between Macro-anions Mediated by Multivalent Metal Cations and Related Association Behavior: Effective Interaction Between ATP Binding Proteins Can Be Regulated by Hydrolysis "The Role of Water in ATP Hydrolysis Energy Transduction by Protein Machinery" (Ed. Makoto Suzuki), Springer, 2018, 53-67 (総ページ数 353).

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 吉森 明

ローマ字氏名 : Akira Yoshimori

所属研究機関名 : 新潟大学

部局名 : 自然科学系

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 90260588

研究分担者氏名 : 徳永 健

ローマ字氏名 : Ken Tokunaga

所属研究機関名 : 工学院大学

部局名 : 教育推進機構 (公私立大学の部局等)

職名 : 准教授

研究者番号 (8 桁) : 30467873

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 末松 安由美

ローマ字氏名 : Ayumi Suematsu

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。