

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22245002

研究課題名(和文)イオンチャネルの統計力学理論

研究課題名(英文)Statistical Mechanics Theory of Ion Channel

研究代表者

平田 文男(Hirata, Fumio)

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：90218785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,000,000円、(間接経費) 10,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はイオンチャネルのイオン透過機構とその選択性を分子レベルで記述する理論的方法論を構築することにある。その主な成果は以下の2点である。(1) 3D-RISM理論に基づき、カリウムチャネル(KcsA)の選択フィルター内部の水分子およびイオン(Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)の分布を解析した結果、すべてのイオンがフィルター内部に結合し得ること、その結合のモードはイオンにより大きく異なること、また、イオン選択性はこの結合モードの違いに起因することを明らかにした。(2) チャネル蛋白質の構造揺らぎを記述する新規の方程式を3D-RISM理論と一般化ランジェヴァン理論を結合することにより導出した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the study is to construct a new theory to describe the conduction mechanism and the ion selectivity of the ion channels in molecular detail. Main results of the study are as follows. (1) Analyses based on 3D-RISM for the distribution of water and ions (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) in the selective filter of the potassium channel (KcsA) have revealed that all the ions are bound in the filter region, that the binding modes are quite different from each other, and that the ion selectivity is originated from the difference in the binding modes. (2) We have derived new equations to describe the structural fluctuation of channel protein, which play crucial role in the gating of a channel, combining the 3D-RISM theory with the generalized Langevin theory.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：イオンチャネル RISM理論 3D-RISM理論 一般化ランジェヴァン理論 カリウムチャネル イオン透過機構 蛋白質の構造揺らぎ 分散・共分散行列

### 1. 研究開始当初の背景

イオンチャンネルは生物内の情報伝達機構において中心的な役割を担う分子機械である。この分子機械は細胞膜に埋め込まれた膜蛋白質であるが、細胞内外の電位差にตอบสนองして生じたイオンの入出力流を制御する。この分子機械は通常の電子機器における電子素子と同様に、イオン（電気）伝導機構とそれを制御するゲーティング（スイッチング）機構を有し、透過するイオン種を厳密に区別する優れた選択性をもっていることにその特徴がある。

研究開始当初、ゲーティング機構やイオン選択性を分子レベルで記述する理論は、ほとんど皆無に等しく、その構築が求められていた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、これまで申請者が開発してきた分子性液体の統計力学（RISM/3D-RISM 理論）を基軸にして、分子シミュレーションを援用しながら、イオンチャンネルのイオン透過機構とその選択性を分子レベルで制御する理論的方法論を構築することにある。

### 3. 研究の方法

本申請で提案する方法は平衡、非平衡の統計力学に基礎を置き、それを分子シミュレーションと結合することによって、上に述べた従来の取り扱いがもつ欠陥を根本的に克服する新しい方法であり、イオンチャンネルの理論的解析に新機軸を開くものである。

### 4. 研究成果

#### (1) イオンチャンネルのイオン選択性と透過機構の解明

KcsA カリウムチャンネルのイオン選択性と透過機構を調べるため、このチャンネルの選択フィルター領域内における正イオン ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ) および水分子の分布を3D-RISM理論によって計算した。その結果、上記の全てのイオンに関して、フィルター内に顕著な分布を見出した。この結果は、 $Na^+$ や $Li^+$ はKcsAフィルター内に結合できないとする従来の直感的描像を否定している。一方、その結合サイトおよび結合モードはイオンによって全く異なることが分かった。 $K^+$ はフィルターを構成するアミノ酸残基から出ている8個のカルボニルグループのほぼ中心 (cage site) に水分子と交互に結合する。一方、 $Li^+$ は4個のカルボニルグループが作る平面の中心 (plane site) に結合し、さらにそれを上下のcage siteに結合した水分子が安定化する。また、 $Na^+$ イオンはcage siteとplane siteの両方に幅広く分布することが分かった。

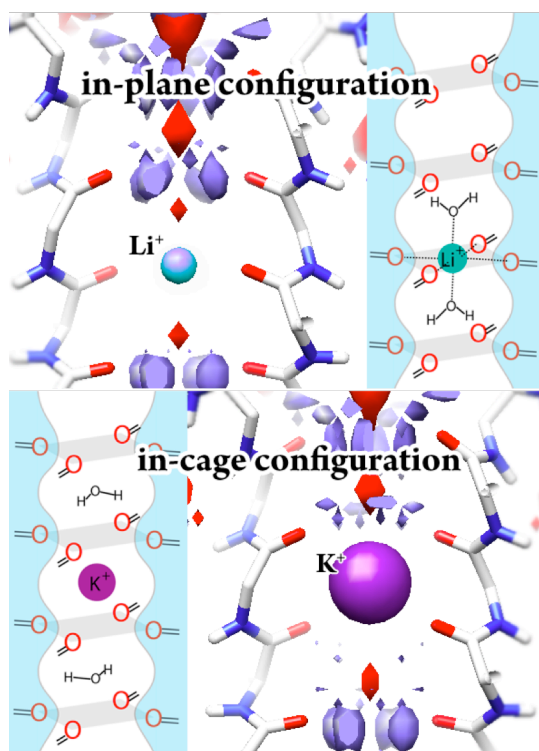


図1 KcsAチャンネルの選択フィルター内部の水分子、 $Li^+$ および $K^+$ の分布およびその模式図

それでは、イオンの選択性は何に起因するか？この疑問に答えるため、チャンネル軸に沿った $K^+$ と $Na^+$ の平均力ポテンシャルを3D-RISMにより求めた。その結果、まず、フィルターの両端からチャンネル内に侵入する場合の活性化障壁の高さを比較すると $Na^+$ が $K^+$ に比べて約2kcal/mol高い値を示した。これは、 $K^+$ の方がチャンネル内に侵入しやすいことを意味する。さらに、チャンネルの内側から抜け出る場合の活性化障壁を比較すると、 $Na^+$ は約10kcalの高い障壁をもっているのに対して、 $K^+$ は障壁の途中 (5~6kcal) に局所的な極小値が存在し、この極小領域を踏み台としてチャンネル外に抜け出ることができる可能性を示唆している。我々はこの結果をもとに $K^+$ の透過機構に関する新しいモデル (rock climbing model) を提案した。

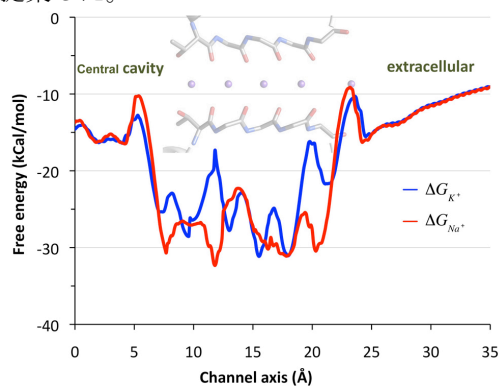


図2 KcsA チャンネルの選択フィルター内部での $K^+$ と $Na^+$ の平均力ポテンシャル (自由エネルギー)

(2) ゲーティング機構を記述する理論の構築  
イオンチャネルのゲーティングは蛋白質の「構造揺らぎ」によって制御されている。本研究では蛋白質の構造揺らぎを記述する新しい理論を、液体の平衡統計力学理論 (3D-RISM/RISM) および非平衡統計力学理論 (一般化ランジュヴァン理論) に基づいて提案した。この理論は、蛋白質の構造と溶媒の密度揺らぎの時間発展に関する二つの方程式に要約することができる。

$$M_{\alpha} \frac{d^2 \Delta \mathbf{R}_{\alpha}(t)}{dt^2} = -k_B T \sum_{\beta} (\mathbf{L}^{-1})_{\alpha\beta} \cdot \Delta \mathbf{R}_{\beta}(t) - \int_0^t ds \sum_{\beta} \Gamma_{\alpha\beta}(t-s) \cdot \frac{\mathbf{P}_{\beta}(s)}{M_{\beta}} + W_{\alpha}(t) \quad (1)$$

$$\frac{d^2 \delta \rho_{\mathbf{k}}^a(t)}{dt^2} = -k^2 \sum_{b,c} J_{ac}(k) \chi_{cb}^{-1}(k) \delta \rho_{\mathbf{k}}^b(t) - \frac{i\mathbf{k}}{N} \sum_{ac} J_{ac}^{-1}(k) \int_0^t ds M_{\mathbf{k}}^{bc}(t-s) \cdot J_{\mathbf{k}}^b(s) + i\mathbf{k} \cdot \Xi_{\mathbf{k}}^a(t) \quad (2)$$

上の(1)式は蛋白質の構造揺らぎとダイナミクスを記述する式である。式中の各記号は以下の物理的意味をもっている。

$\Delta \mathbf{R}_{\alpha}(t)$  : 生体高分子中の原子座標の平衡位置からの変位 (揺らぎ)

$M_{\alpha}$  : 生体高分子中の原子の質量

$\Gamma_{\alpha\beta}$  : 生体高分子の原子に働く摩擦力

$W_{\alpha}(t)$  : 生体高分子の原子に働くランダムな力

(1)式の右辺第一項は、変位 (原子座標の揺らぎ) に比例する復元力を表しており、その係数に含まれる行列  $\mathbf{L}$  が次の式で表されることを発見した。

$$\mathbf{L}_{\alpha\beta} = \langle \Delta \mathbf{R} \Delta \mathbf{R} \rangle_{\alpha\beta} \quad (3)$$

(3)式中の  $\Delta \mathbf{R}$  は平衡状態で生体高分子の原子座標の平衡位置からのずれ (揺らぎ) を表しており、したがって、行列  $\mathbf{L}$  は構造揺らぎの分散・共分散行列を表す。

(2)式は生体高分子の周りの溶媒の密度揺らぎとダイナミクスを記述する方程式である。式中の各記号は以下の物理的意味をもっている。

$\delta \rho_{\mathbf{k}}^a(t)$  : 生体高分子の周りの溶媒原子の密度のバルクの密度からのずれ

$J_{ac}(k)$  : 平衡状態にある溶媒中の二つ原子間の運動量密度の相関

$\chi_{cb}(k)$  : 平衡状態にある溶媒中の二つ原子間の密度相関関数

$M_{\mathbf{k}}^{bc}(t-s)$  : 溶媒原子に働く摩擦力

$\Xi_{\mathbf{k}}^a(t)$  : 溶媒原子に働くランダムな力

上の方程式(1)は一般化ランジュヴァン方程式の形式を持っているが、この方程式の右辺第2項 (摩擦項) と第3項 (ランダムな力) を無視すると、連成振動子と類似の形式をもつ。そうすると、右辺第1項は生体高分子の原子の平衡構造からの変位 ( $\Delta \mathbf{R}$ ) に比例する「復元力」という物理的解釈が成り立ち、その比例定数に関しては連成振動子における「力の定数」(Hessian) との類推が成立する。一方、この方程式で記述する生体高分子のダイナミクスはその平衡構造 (自由エネルギー曲面の最小点) の周りの揺らぎであり、上に述べた比例定数はこの自由エネルギー曲面の原子変位に関する2次微分 (連成振動子の場合は原子間のポテンシャルエネルギーの2次微分) という物理的解釈が成り立つ。このことから論理的に次式が導かれた。

$$\langle \Delta \mathbf{R} \Delta \mathbf{R} \rangle_{\alpha\beta} = -k_B T \left( \frac{\partial^2 F(\{\Delta \mathbf{R}\})}{\partial \Delta \mathbf{R}_{\alpha} \partial \Delta \mathbf{R}_{\beta}} \right)^{-1} \quad (4)$$

式中の  $F(\{\Delta \mathbf{R}\})$  の引数である  $\{\Delta \mathbf{R}\}$  は生体高分子のすべての原子座標の平衡構造からずれ (揺らぎ) を表している。上式によれば、蛋白質の構造揺らぎの分散・共分散行列を得るためには、溶液内の生体高分子の自由エネルギー曲面 ( $F(\{\Delta \mathbf{R}\})$ ) を求めれば良いことになる。 $F(\{\Delta \mathbf{R}\})$  は蛋白質原子間の相互作用エネルギーと溶媒自由エネルギーの和として定義される量であるが、我々は3D-RISM/RISM理論に基づき  $F(\{\Delta \mathbf{R}\})$  を求める方法を発表しており、本研究において、生体高分子の構造揺らぎの分散・共分散行列を求める数値計算アルゴリズムを確立した。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計20件)

1. Saree Phongphanphanee, Norio Yoshida, Shigetoshi Oiki, and Fumio Hirata, "Distinct Configurations of Cations and Water in the Selective Filter of the KcsA Potassium Channel Probed by the 3D-RISM Theory," *J. Mol. Liq.*, (査読あり) : 167巻、発行年 : 2014年、印刷中. (DOI: 10.1016/j.molliq.2014.3.050)

2. Yutaka Maruyama, Norio Yoshida, Hiroto Tadano, Daisuke Takahashi, Mitsuhsa Takahashi, and Fumio Hirata, "Massively Parallel Implementation of 3D-RISM Calculation with Volumetric 3D-FFT," *J. Comp. Chem.*, (査読あり) : 35巻、発行年 : 2014年、印刷中. (DOI: 10.1002/jcc.23619)

3. Masaru Matsugami, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, "Theoretical Characterization of the "Ridge" in the Supercritical Region in the Fluid Phase Diagram of Water," *J. Chem. Phys.*, (査読あり) **140**, 104511 - 104517 (2014), (DOI: 10.1063/1.4867974).
4. Saree Phongphanphanee, Norio Yoshida, Shigetoshi Oiki, and Fumio Hirata, "The "ambivalent" snug-fit sites in the KcsA potassium channel probed by 3D-RISM theory," *Pure Appl. Chem.* (査読あり), **86**, 97-104 (2014); (DOI 10.1515/pac2014-5018)
5. N. Yoshida, H. Tanaka, F. Hirata, "Theoretical Study of Salt Effects on Diels-Alder Reaction of Cyclopentadiene With Methyl Vinyl Ketone Using RISM-SCF Theory," *J. Phys. Chem. B*, (査読あり) **2013**, *117* (45), 14115-14121 (DOI: 10.1021/jp4091552)
6. Daniel Sindhikara and Fumio Hirata, "Analysis of Biomolecular Solvation Sites by 3D-RISM Theory," *J. Phys. Chem. B*, (査読あり) **117**, 6718 - 6723 (2013). (DOI: dx.doi.org/10.1021/jp4046116)
7. Katsura Nishiyama, Yasuhiro Watanabe, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, Solvent dependence of Stokes shift for organic solute-solvent systems: A comparative study by spectroscopy and reference-interaction-site-model-self-consistent-field theory," *J. Chem., Phys.* (査読あり), **139**, 094503 - 094514 (2013). (doi:10.1063/1.4819268)
8. Bongsoo Kim and Fumio Hirata, "Structural fluctuation of protein in water around its native state: A new statistical mechanics formulation," *J. J. Chem. Phys.* (査読あり) **138**, (2012) 054108 ~ 054119. (DOI: 10.1063/1.4776655)
9. Maruyama, Yutaka; Hirata, Fumio\*, "Modified Anderson Method for Accelerating 3D-RISM Calculations Using Graphics Processor Unit," *J. Chem. Theory Comput* (査読あり), **8**, (2012) 3015 - 3021. (dx.doi.org/10.1021/ct300355r)
10. Hong, Jooyeon; Yoshida, Norio; Chong, Song-Ho; Lee, Chewook; Ham, Sihyun; Hirata, Fumio\*, "Elucidating the Molecular Origin of Hydrolysis Energy of Pyrophosphate in Water," *J. Chem. Theory Comput.* (査読あり) **8**, 2239-2246(2012). (dx.doi.org/10.1021/ct300099e)
11. Sindhikara, Daniel; Yoshida, Norio; Hirata, Fumio\*: "Placevent: An Algorithm for Predicting of Explicit Solvent Atom Distribution - Application to HIV-1 Protease and F-ATP Synthase," *J. Comp. Chem.*, (査読あり) **33**, (2012) 1536 - 1543. ( DOI: 10.1002/jcc.22984)
12. Dannel J. Sindhikara, Norio Yoshida, Mikio Kataoka, Fumio Hirata, "Solvent Penetration in Photoactive Yellow Protein R52Q mutant: A Theoretical Study," *J. Mol. Liq.* (査読あり) **164**, (2011) 120 - 122. (doi:10.1016/j.molliq.2011.04.007)
13. Y. Kiyota, N. Yoshida, and F. Hirata, "A New Approach for Investigating the Molecular Recognition of Protein: Toward Structural-Based Drug Design Based on the 3D-RISM Theory," *J. Chem. Theor. Comp.* (査読あり) **7**, (2011) 3803-3815. (dx.doi.org/10.1021/ct200358h)
14. Imai, Takashi; Miyashita, Naoyuki; Sugita, Yuji; Kovalenko, Andriy; Hirata, Fumio; Kidera, Akinori, "Functionality Mapping on Internal Surfaces of Multidrug Transporter AcrB Based on Molecular Theory of Solvation: Implications for Drug Efflux Pathway," *J. Phys. Chem. B* (査読あり), **115**, (2011) 8288 - 8295. (dx.doi.org/10.1021/jp2015758)
15. Tatsuhiko Miyata, Yasuhiro Ikuta, and Fumio Hirata, "Free energy calculation using molecular dynamics simulation combined with three dimensional reference interaction site model (3D-RISM) theory. II. Thermodynamic integration along reaction coordinates," *J. Chem. Phys.* (査読あり), **134**, (2011) 44127-44144. (doi:10.63/1.3462276)
16. Yutaka Maruyama, Taku Matsushita, Ryuichi Ueoka, and Fumio Hirata, "Solvent and Salt Effects on Structural Stability of Human Telomere," *J. Phys. Chem. B* (査読あり), **115**, (2011) 2408 - 2416. (dx.doi.org/10.1021/jp1096019)
17. Tatsuhiko Miyata, Yasuhiro Ikuta, and Fumio Hirata, "Free energy calculation using molecular dynamics simulation combined with three dimensional reference interaction site model (3D-RISM) theory. I. Free energy perturbation and thermodynamic integration along coupling parameter," *J. Chem. Phys.* (査読あり), **133**, (2010) 044114 - 044129. (doi: 10.1063/1.3462276)

18. Saree Phongphonphanee, Thanyada Rungromongkol, Norio Yoshida, Supot Hannongbua, and Fumio Hirata, "Proton Transport through the Influenza A M2 Channel: 3D-RISM Study," *J. Am. Chem. Soc.* (査読あり), 132, (2010) 9782 - 9788. (DOI:10.21/ja1027293)

19. Saree Phongphonphanee, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, "Molecular Selectivity in Aquaporin Channels Studied by the 3D-RISM Theory," *J. Phys. Chem. B* (査読あり), 114, (2010) 7967 - 7973. (DOI:10.1021/jp101936y)

20. Yutaka Maruyama, Norio Yoshida, and Fumio Hirata, "Revisiting the Salt-induced Conformational Change of DNA with 3D-RISM Theory," *J. Phys. Chem. B* (査読あり), 114, (2010) 6464-6471. (DOI: 10.1021/jp912141u)

[学会発表] (計 17 件)

1. Fumio Hirata, "Structure, Fluctuation, and Function of Biomolecules in Solution Explored by the 3D-RISM/RISM Theory," "The 18th International Annual Symposium on Computational Science and Engineering (ANSCSE18)," March 15, 2014, Pattaya, Thailand.

2. Fumio Hirata, "Structural Fluctuation of Proetin in Water around Its Native State: A New Statistical Mechanics Formulation," "The 13th KIAS Protein Folding Winter School," February, Jan. 20 ~ Jan. 24, 2014, Gohan, Korea.

3. Fumio Hirata, "Role of water to convert 'non-biological' fluctuation to the 'biological' one," "6th Japan-Korea Seminars on Biomolecular Sciences: Experiments and Simulation," Nov. 26, 2013, Okazaki Conference Center (愛知県)

4. 平田文男, 「液体中の化学、化学における液体論」、第36回溶液化学シンポジウム、2013年10月10日、北海道大学学術交流会館 (北海道)

5. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Statistical Mechanics of Molecular Solution," "The 71<sup>st</sup> Okazaki International Conference: New perspectives on molecular science of glycoconjugate," 2012年10月13日、岡崎コンファレンスセンター (愛知県)

6. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a theory featuring chemical 'specificity' and physical 'universality'," "Israel -Japan Joint Symposium on Biophysics: Protein

Dynamics: From single molecules to whole cell" in Biophysics Society meeting in Japan, 2011年9月16日、兵庫県立大学 (兵庫県)

7. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a Statistical Mechanics of Molecular Solution," "32th International Conference on Solution Chemistry," August 28, 2011, La Grande Motte, France.

8. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics Theory of Molecular Recognition and its Application to Pharmaceutical Design," "Telluride Wrokshop on Free Energy Simulation," July 3, 2011, Telluride, Colorado, USA,.

9. Fumio Hirata, "Collaboration between computer and computational scientists make high performance computing on the K-computer a reality," "ISC'11 HPC in Asia Workshop," June 18, 2011, Hamburg, Germany.

10. Fumio Hirata, "Exploring life phenomena with a theory featuring chemical 'specificity' and physical 'universality'," "Statistical Mechanics Approaches to Biomolecular Applications," June13, 2011, Seoul, Korea,.

11. Fumio Hirata, "Theory of Molecular Recognition and its Application to Drug Design," "International Conference on Computer Science (ICCS) 2011," June2, 2011, Singapore.

12. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics of Molecular Liquids Reveals Elementary Processes in Life Phenomena," "Third Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences: - Experiments and Simulations," Feb. 27, 2011, Jeju, Korea.

13. 平田文男, "分子認識の統計力学と生体機能"、自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター「10周年記念シンポジウム」、2011年2月12日、岡崎コンファレンスセンター(愛知県)

14. Fumio Hirata, "Ligand binding and escaping pathway in myoglobin studied by the 3D-RISM theory," Dynamics and Mechanisms of Photochemical Reactions of Biological Proteins, Pacificchem 2010, Dec. 17, 2010 - Dec. 18, 2010, Honolulu, USA.

15. Fumio Hirata, "Molecular Recognition in Biological Functions Revealed by Statistical mechanics of Molecular Liquids," 4th International symposium on "Molecular Science of Fluctuations toward Biological

Functions, Dec.1, 2010,ピアザ淡海 (滋賀県)

16. Fumio Hirata, "Statistical Mechanics of Molecular Liquids Reveals Elementary Processes in Life Phenomena" EMLG-JMLG joint meeting 2010, Sep. 8, 2010, Lviv, Ukraine.

17. Fumio Hirata, "On the origin of energy produced by the hydrolysis reaction of ATP:3D-RISM-SCF study" ICPOC-20: 20th International Conference on Physical Organic Chemistry, Aug. 23, 2010, Busan, Republic of Korea.

〔図書〕 (計 5 件)

1. 平田文男、「分子認識の統計力学・実験科学と創薬」、寺嶋正秀編「揺らぎ・ダイナミクスと生体機能」18.1~4 節、化学同人、(2013 年 9 月発行) 総ページ数 11 ページ

2. 吉田紀生、丸山豊、清田泰臣、平田文男、今井隆志、「水と生体分子のハーモニー」。日本化学会編「巨大分子系の計算科学」第 15 章、化学同人 (2012 年 3 月発行) pp. 147 ~ pp. 158.

3. 平田文男、「新しい分子統計力学・統計的動力学記述法」、日本化学会編「巨大分子系の計算科学」第 7 章、化学同人 (2012 年 3 月発行) pp. 88 ~ pp. 99

4. 平田文男、吉田紀生、Saree Phongphanphane, 「分子認識とイオンチャネルの統計力学理論」、「揺らぎと生体機能」第 01-3 章、Medical Bio, オーム社、(2010 年 9 月発行)

5. Norio Yoshida, Yasuomi Kiyota, Saree Phongphanphane, Takashi Imai and Fumio Hirata, "Statistical-mechanics theory of molecular recognition: water and other molecules recognized by protein," in Bihan and Fukuyama(Ed.): "Water, the forgotten biological molecule." (Pan Stanford Publishing, Singapore, 2010) Chapter 4.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称 : Analysis of Biomolecular Solvation site by the 3D-RISM Theory

発明者 : Hirata, Fumio; Sindhikara, Daniel, Jon

権利者 : Hirata, Fumio; Sindhikara, Daniel, Jon

種類 : 特許

番号 : [\(PCT/JP2013/060996\)](#)

出願年月日 : 2013 年 04 月 5 日

国内外の別 : 外国

名称 : 溶液中の生体高分子の構造揺らぎとダイナミクスを記述する方程式

発明者 : 平田文男 ; Kim, Bongsoo

権利者 : 平田文男 ; Kim Bongsoo

種類 : 特許

番号 : PCT/ JP2013/ 051940

出願年月日 : 2013 年 01 月 23 日

国内外の別 : 外国

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者 : 平田 文男 (Hirata Fumio)  
立命館大学・生命科学部・教授  
研究者番号 : 90218785

(2) 研究分担者 : 吉田 紀生 (Yosida Norio )  
九州大学・理学 (系) 研究科 (院)・准教授  
研究者番号 : 10390650