

課題名 (タイトル) :

Dmol3 及び VASP による固体表面吸着分子構造の計算

利用者氏名 : 山田 太郎

所属 : 小林脂質生物学研究室

小林脂質生物学研究室では、平成 24 年度よりリン脂質分子やタンパク分子を始めとする生体系分子を固体表面に展開して、走査トンネル顕微鏡、原子間力顕微鏡及び表面分光法で観測する研究を展開している。平成 18 年度から 25 年度までの「リピッドダイナミクス研究」26 年度からは「インテグレートドリップドロジー」に所属して、生体物質観測の共同研究を行っている。また平成 25 年度後期からは理研が参画する JST の「COI アクアイノベーション拠点」(信州大学)の研究に関与している。

従来はよく規定された固体表面に吸着した分子を各種の実験的手法で観測し、数々の吸着系につきその構造を明らかにしてきた。ことに最近では走査トンネル顕微鏡が生体分子にも幅広く利用可能であることが多彩な実例によって示されてきて、単純な金属表面に吸着した単一孤立分子の電子構造、振動構造のようなレベルから、モデル細胞膜に組み込まれたタンパク分子の可視化に話題が広がってきている。したがって、個々の実験結果についても、生体分子を対象とする理論計算と具体的に対比することが必要な課題となってきた。

固体表面吸着系は元来必然的に対称性の低い系であり、精密な理論計算には卓越したプログラミングと多量の計算資源を費やさざるを得ない。かてて加えて、一般に巨大分子である生体系分子を計算に取り込むのは一段と複雑である。しかしプログラミングについては、既に多くの研究成果が世に現れており、それらに基づいたプログラミング業者製造の高性能のソフトウェアも各種販売されているので、そのようなものを購入して使用することで解決する。計算機資源については、パソコンやサーバーレベルの計算速度、計算量の常識的限界を大幅に越えるものを要するので、Linux クラスタレベル以上のリソースが必要である。

我々は平成 16 年度に旧表面化学研究室の研究成果全般に対し、理論計算の裏付けを可能な限り施す為のインフラ整備として、米国アクセルリス社の分子軌道計算ソフトウェア "Dmol3" を購入し、これを RICC 上で動作させ、算出された計算結果が実際我々の実験結果とど

のような関係にあるか、また未だ結果のない企画中の実験系に対し、分子軌道計算による予測がどの程度妥当であるかも検討した。その結果、原子数が数十の分子が固体表面上に吸着した形のモデルクラスターにおいて、密度汎関数理論に基づく分子軌道計算構造最適化により、実測の結果と比べて妥当な構造、電子エネルギー、分子内及び格子振動数が算出され、少なくとも大まかな予測には有用であると認められた。

本年の生体分子系の研究は (1) リン脂質分子のドメイン形成および吸着格子形成、及び、(2) 高速 AFM によるトキシン類タンパクの膜結合の動的観測、また非生物系の研究としては (3) 水和高分子中の水分子の振動スペクトルである。このうち (2) と (3) については、計算研究は計画中の段階で、具体的には未着手である。そこで本報告書では (1) についてだけ述べる。

2. 具体的な利用内容、計算方法

平成 16 年度にライセンス取得した米国アクセルリス社の分子軌道計算ソフトウェア "Dmol3 Ver. 4.0" を RICC のディスクに常駐させ、理研和光本所内ネットワークからバッチジョブ投入して計算操作を行う。現在、最高 64 コアでの運用が可能である。入出力はネットワークパソコン上の Dmol3 対応 GUI 「MS Visualizer」を利用して入力ファイルを作成し、計算終了後はやはり「MS Visualizer」を用いて結果の表示、画像表示、評価を行う。

3. 結果

(1) リン脂質分子のドメイン形成および吸着格子形成

リン脂質分子は生体細胞の細胞膜およびオルガネラの外皮をなす重要な分子であり、水溶液環境において脂質二分子層をなすものである。この細胞膜の状況を

モデル化して STM で観測するため、水溶液中で固体基板上にリン脂質分子を展開した形の試料を用いた。具体的には金の単結晶表面を基板として、その表面を有機物分子で疎水化または親水化して、電解質水溶液に浸し、その水溶液中にリン脂質分子を懸濁させて表面に吸着させる。その様子を電気化学 STM でその場観測する。

まず、金基板表面をオクタンチオールで修飾して、疎水化させた上に、2種類のリン脂質 (1,2-dihexanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DHPC) 及び 1,2-dihexanoyl-*sn*-glycero-3-phospho-L-serine (DHPS)) を混合して展開し、その様子を STM で観測した。その結果、大過剰の DHPC に少量の DHPS を混合した状況では、DHPS が凝集して、直径 6 nm 程度の二次元のドメインが形成されることを見出した。DHPS はセリン基 (カルボン酸) を含み、水溶液中では陰イオンとして存在するが、溶液中バッファー成分 (アンモニウムイオン) が存在することから、結合して島状の構造をなすものと考えられる。ここにカルシウムイオンを加えると、この島状構造は消滅する。そこにさらに、DHPS のようなフォスファチジルセリンとカルシウムの共存下で選択的に結合するアネキシン V というタンパク質を加えると、この分子が混合脂質膜に結合して、STM 像にその形状が現れることが確認された。

この一連の観測結果は、(a)DHPC と DHPS・NH₄⁺ は STM で区別できる。(b) DHPC と DHPS・Ca²⁺ は STM で区別できない、と言う条件で初めて説明が可能である。STM においては、原理的には、表面吸着分子の電子状態の差異が STM のコントラストとして現れるので、まず DHPC、DHPS・NH₄⁺、DHPS・Ca²⁺ の 3 種類のモデルクラスターの電子状態を RICC/dMol³ で計算してみた。その結果、STM 観測に最も関連のある最低非占有軌道 (LUMO) の形状が、DHPS・NH₄⁺ のみ、他の二つと、分子内で明らかに違う場所に分布していた。もちろん水溶液中のリン脂質分子は単純なモデルでは全てを語りたいが、計算による電子状態はもう質的なレベルで異なっており、STM のコントラストに対応していることは明白である。DHPC と DHPS は形状的には似通っているが電子状態は異なり、その状況が STM で捉えられたということである。細胞膜のナノメートルスケール

の観察はなかなか容易ではないが、明白なコントラストがつくケースはこのようにいくつか考えられ、こういうものを足がかりとして画像を解釈することが可能となった。

もう一方の例として、下地金表面を 3-メルカプトプロピオン酸で修飾して親水化させた上に palmitoyl-oleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (POPC) をナノ粒子として展開し、その後の表面を STM で時間を追って観測した。まず最初の段階では、ナノ粒子そのものは表面上に観測できなかったが、ナノ粒子がはじめて表面に展開する (ベシクルフュージョン) の様子を示す、ドーナツ型のパターンをしばしば認めることができた。そのパターンは一時出現し、時間がたつと消滅する。その後表面はストライプ状のドメインパターンで覆われる。このストライプは、1.9nm×1.0nm の長方形の単位格子を持つ、二次元格子であることが示された。

ところで、この POPC 分子は全長約 2.5nm、直径約 0.5nm の棒状の外形であり、表面に平行に配列させようとすると、上記の単位格子の中にはおさまらない。何か立体的な構造を考えなくてはならない。POPC 分子は原子 134 個からなり、数多くの関節を持つ複雑な分子であり、その形状は、やはり分子軌道計算で再現させて、可能なモデル構造を考察しなくてはならない。そこで RICC/dMol³ で単一 POPC 分子の構造最適化計算を行い、表面に対し立体的にはどのような構造が可能か、考察した。その結果、POPC 分子を、親水基側を金表面に寄せた形で斜めに立ち上がったポジションとし、1.9nm×1.0nm の長方形の単位格子に対称的に二分子を配置すると、つじつまの合う構造であることが示された。この構造は、親水表面上に、両面が親水性であるリン脂質分子二重層が形成される前駆的な構造と見られ、固体基板上でのリン脂質二重層の展開の過程の一段階として大変興味深い。

4. まとめ

本年度展開した実験研究 ((1) リン脂質分子のドメイン形成および吸着格子形成) においては、大規模計算機による計算シミュレーションも随所で力を発揮してきており、その貢献はまことに大きい。

5. 今後の計画・展望

以上の成果はすでに論文執筆中で、数ヶ月以内には出版される見込みである。また、「(2) 高速 AFM によるトキシン類タンパクの膜結合の動的観測」については、ナノメートルスケールの映像観測がほぼ終了し、今後分子軌道計算を含めた解釈の段階に進むと思われる。来期中に論文投稿出版の準備を進めている。「(3) 水和高分子中の水分子の振動スペクトル」については、「アクア・イノベーション」プログラムにおいて、前田バイオ工学研究室の藤田雅弘専任研究員、杉田理論生物学研究室の八木清研究員等と共同で行っており、基礎的観点から高分子中の水の組織と膜透過のダイナミクスを解明する研究に着手する予定である。従来発展維持してきた理研の表面科学的研究手法がおおいに生かされる活躍のチャンスであり、このチャンスを大切にして、理研の他の研究グループと協働して、基礎的手法の実用的展開の新しいプロトタイプを提示すべく努力したい。

平成 26 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

本年度はなし

(昨年度末に出版された

S. Y. Matsushita, K. Matsui, H. Kato, T. Yamada, S. Suto;

“Anisotropic surface phonon dispersion of the hydrogen-terminated Si(110)-(1×1) surface: one-dimensional phonons propagating along the glide planes”

J. Chem. Phys. **140** (2014) 104709 (1-8).

の別刷りを添付します)

【国際会議、学会などでの口頭発表】

1. H. Shimizu, T. Yamada, S. Matsunaga, T. Kobayashi, M. Kawai;

“Self-assembly and Intermolecular Interaction of Lipid Molecules on Solid Surfaces Discerned by STM”

30th European Congress on Surface Science (ECOSS 30) (トルコ アンタルヤ市、平成 26 年 9 月 1 日)