

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「マルチスケール・マルチフィジックス現象  
の統合シミュレーション」  
研究課題「DDS シミュレータの研究開発」

## 研究終了報告書

研究期間 平成18年10月～平成24年3月

研究代表者：三上 益弘  
( (独) 産業技術総合研究所ナノシステム  
研究部門、主任研究員)

## § 1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

薬物を特定の患部にのみ運搬し、作用させることは、薬効を飛躍的に高める上でも、また副作用を少なくする上でも、極めて重要であり、薬剤を内包し運搬するキャリアー(薬物運搬体)の研究開発が進められている。このような薬剤運搬システム(以下、DDS と呼ぶ)の開発は、(a)薬剤分子を内包する DDS ナノ粒子(リポソームと糖鎖の複合体)を構成する脂質分子の設計から DDS ナノ粒子の製剤設計、(b)疾患部近傍の血管壁にある糖鎖認識タンパク質(レクチン)を認識する糖鎖分子の分子設計(ターゲッティング技術の開発)、(c)血管中の DDS ナノ粒子の輸送プロセスの設計(吸収促進技術の開発)、そして(d)細胞内への DDS ナノ粒子の取り込みと膜融合による薬剤放出・核内移動プロセスの設計まで、ナノスケールからミリスケールに及ぶマルチスケール・マルチフィジックス問題である。このため、設計技術は未だ確立されておらず、いわば手探りで開発が進められている。

そこで、本研究では、能動的標的指向性 DDS の有力な候補として注目されているリポソームシステムを対象にして、(1)DDS ナノ粒子設計(製剤設計)、(2)糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析(ターゲッティング)、(3)血管内における DDS ナノ粒子の流動解析(吸収促進)を可能にするマルチスケールシミュレーション技術の開発と DDS 設計技術の確立を目的とし、研究開発を実施した。その結果、下記の成果をあげた。これらの成果は世界的水準を超えるものであり、今後、DDS の研究開発において活用されることが期待される。

#### 1) DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発(製剤設計)

リポソームのような DDS 材料の投与効果を高めるには、体内での運搬時におけるリポソームの安定性や内包する薬剤のリポソーム膜外へのリークの制御が重要である。そこで本研究では、リポソーム・脂質二重層膜の安定性や低分子の膜透過性を高精度で計算するために、脂質分子-水系の高精度分子間相互作用ポテンシャル、高速高精度自由エネルギー計算法、粗視化モデル、局所圧力解析法を開発した。さらに、これらの分子シミュレーション技術を用いて、DDS ナノ粒子設計に必要な、脂質二重膜の水分子の膜透過自由エネルギー計算、脂質二重層膜へのコレステロール添加効果、リポソームの付着と融合の研究、リポソームの形成過程の研究を行い、DDS ナノ粒子設計に必要なシミュレーション技術を開発した。これにより、原子モデル・分子モデルに基づいて DDS ナノ粒子を設計することが可能になった。

#### 2) 糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析(ターゲッティング)

DDS ナノ粒子表面の糖鎖分子とガン細胞近傍などの血管壁細胞表面に存在するタンパク質:レクチンの相互作用は、DDS ナノ粒子がガン細胞などの病巣を認識する重要な役割を持つが、分子レベルでの分子認識の詳細な理解はあまり進んでいない。そこで本研究では、古典分子動力学計算と量子化学計算を組合せたハイブリッド法に基づいたモデリング法を新規に提案し、Eセレクトリン-シアリルルイス X 糖鎖複合体に応用し、NMR の化学シフトの実験結果を良く再現する結果を得た。これによりこれまで複雑さのため計算が困難だった DDS ナノ粒子が病巣を見つけて出すターゲッティングを解析する計算技術を確立することができた。

#### 3) 血管内における DDS ナノ粒子の流動解析(吸収促進)

毛細血管内における DDS ナノ粒子の搬送過程では、血管内皮細胞に存在する糖鎖分子の林立した特異な構造(糖衣構造)や異常増殖細胞の近傍での細胞間隙拡大(EPR 効果)が特に重要である。そこで本研究では、糖衣層の厚さや変形能、および細胞間隙の大きさが、DDS ナノ粒子の間隙吸収に及ぼす影響を調べる流体力学モデルを開発し、間隙吸収を支配するパラメータを明らかにした。この計算に必要な DDS ナノ粒子の弾性率は、「DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術」で開発した分子モデルに基づいた計算法から求めた値を用いており、分子から連続体までを結びつけたマルチスケールシミュレーション技術を確立できた。

本研究では、DDS のうちリポソームシステムを対象としたが、ここで開発した DDS シミュレータは、リポソームシステム以外にも高分子マトリックス微粒子システムを用いたシステムの製剤設計や白血球、抗体などの抗体反応やウイルス感染、細胞間の認識の解明にも適用できるよう拡張

可能であり、DDS に限らず生体システムを研究するための基盤的手法となり得る。

(2) 顕著な成果

1. W. Shinoda, R. DeVane, M. L. Klein, “Zwitterionic lipid assemblies: Molecular dynamics studies of monolayers, bilayers, and vesicles using a new coarse grain force field” *J. Phys. Chem. B* 114, 6836-6849 (2010). (DOI: 10.1021/jp9107206)  
概要: 両親媒性イオン脂質分子の粗視化モデルを、原子モデルを用いた分子動力学シミュレーションから得られた分布関数と密度や表面/界面張力などの実験値の両方を再現するように決定し、この粗視化モデルを用いた分子動力学シミュレーションを行い、リポソームの形成過程を明らかにした。脂質集合体のサイズに依存しディスク状構造体のバイセルから小胞体のリポソームに構造転移する様子を分子シミュレーションにより観測した。それ以外の構造は安定構造として現れず、サイズを徐々に大きくすることによりリポソームがより安定構造として選ばれた。
2. T. Ishida, “Computational Modeling of Carbohydrate-Recognition Process in E-Selectin Complex: Structural Mapping of Sialyl Lewis X onto Ab Initio QM/MM Free Energy Surface.” *J. Phys. Chem. B* 114, 3950-3964 (2010). [DOI: 10.1021/jp905872t]  
概要: レクチン-糖鎖の分子認識機構を明らかにするための分子モデリング手法を提案し、E セレクチン-シアリルルイス X 糖鎖複合体に対し適用し、糖鎖結合構造は単一の固い糖鎖配座で記述されるのではなく、複数の揺らいだ集団構造の平均として表現されることと、糖鎖結合サイトで強い相互作用を持つのはフコースとカルシウムイオン結合領域に限られること、などを明らかにした。
3. O. Sano, “Flow-induced waterway in a heterogeneous granular material”, *Computer Physics Communications*, 182, 1870-1874 (2011). (DOI: 10.1016/j.cpc.2010.12.001)  
概要: 透水係数の一様でない媒質中では、浸透流は透水係数の大きな領域(「空洞」と略記)に集中する。それによって、応力の局所的な増加が引き起こされ、その上流側の境界が崩れて空洞の拡大や上流方向への移動が起こる。また、もし、複数の空洞がある割合以上に存在していると、それらが連結し、長距離にわたる流れの道筋が作られる。本論文はその過程を数値シミュレーションで調べたもので、生体組織内での血流誘導という新たな医療技術への応用可能性を示した。

**次世代スパコン研究開発プロジェクト**

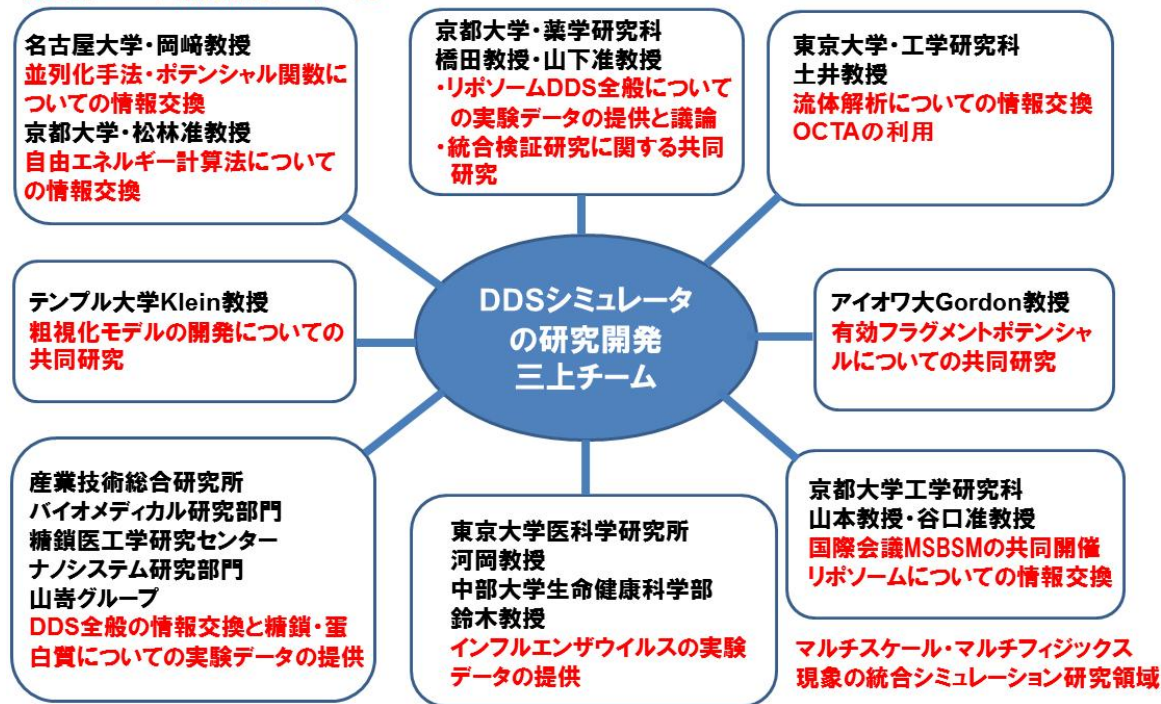


図 1. 三上チームの国内外の協力関係(代表的なもののみ)

**§ 2. 研究構想**

(1) 当初の研究構想

薬物を特定の患部にのみ運搬し、作用させることは、薬効を飛躍的に高める上でも、また副作用を少なくする上でも、極めて重要であり、薬剤を内包し運搬するキャリアー(薬物運搬体)の研究開発が進められている。このような薬剤運搬システム(以下、DDS と呼ぶ)の開発は、図 2 に示すように、(a)薬剤分子を内包する DDS ナノ粒子(リポソームと糖鎖の複合体)を構成する脂質分子の設計から、DDS ナノ粒子の形成プロセスの設計、(b)疾患部近傍の血管壁にある糖鎖認識タンパク質(レクチン)を認識する糖鎖の分子設計、(c)血管中の DDS ナノ粒子の輸送プロセスの設計、そして(d)細胞内への DDS ナノ粒子の取り込みと膜融合による薬剤放出・核内移動プロセスの設計まで、ナノスケールからミリスケールに及ぶマルチスケール・マルチフィジックス問題である。このため、設計技術は未だ確立されておらず、手探りで開発が進められている。

そこで、本研究では、能動的標的指向性DDSの有効な候補として注目されているリポソームシステムを対象にして、(1)DDS ナノ粒子設計、(2)糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析、(3)血管内における DDS ナノ粒子の流動解析を可能にするマルチスケールシミュレーション技術を開発し、(4)DDS シミュレータに統合し、DDS の設計技術を確立する。また、本研究で対象とする DDS ナノ粒子は数千万個の粒子系(分子動力学法を用いる)、溶媒中にある糖鎖とレクチン系は数万原子系(分子軌道法を用いる)になるので、次世代超並列スパコンの活用を視野に入れて、分子動力学法と分子軌道法の並列計算法の改良も行う。なお、細胞内への DDS ナノ粒子取り込み・膜融合による薬剤放出プロセスは、大きな研究課題であるため、本提案では対象外とし、将来課題とする。

本研究では、リポソームシステムを対象とするが、ここで開発した DDS シミュレータは、リポソームシステム以外にも高分子マトリックス微粒子システムを用いたシステムの設計や白血球、抗体などの抗体反応やウイルス感染、細胞間の認識の解明にも適用できるよう拡張可能であり、DDS に限らず生体システムを研究するための基盤的手法となり得る。

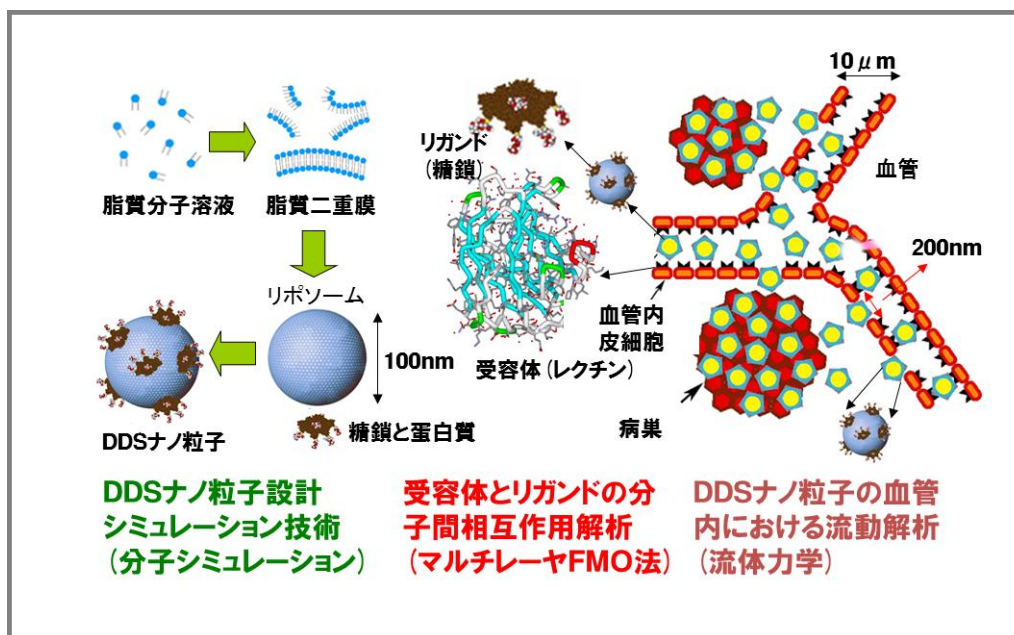


図 2. DDS シミュレータの研究開発の研究構想の概念図

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

1) 新たな研究項目の追加

産総研グループと京大グループで実施したEセレクトリン-シアリルルイスX糖鎖の認識過程の研究の発展として、同様な認識機構により感染するトリインフルエンザの感染過程の研究項目を追加した。トリインフルエンザを対象に選んだのは、豊富な実験データを持ちまた世界の鳥インフルエンザ研究をリードする東京大学医科学研究所河岡教授と中部大学生命健康科学部鈴木教授の協力が得られたからである。

§ 3 研究実施体制

(1) 「産総研」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
三上 益弘	産業技術総合研究所 ナノシステム研究部門	主任研究員	H18.10～H24.3
内丸 忠文	同上	主任研究員	H18.10～H24.3
都築 誠二	同上	主任研究員	H18.10～H24.3
古明地 勇人	同上	主任研究員	H18.10～H24.3
三浦 俊明	同上	主任研究員	H18.10～H24.3
篠田 渉	同上	グループ長	H19.4～H24.3
Dmitri FEDOROV	同上	主任研究員	H18.10～H24.3
森下 徹也	同上	研究員	H18.10～H24.3
石田 豊和	同上	研究員	H18.10～H24.3
西尾 憲吾	同上	研究員	H18.10～H24.3
齋藤 大明	同上	博士研究員	H19.4～H20.3
中村 壮伸	同上	博士研究員	H19.4～H24.3
澤田 敏彦	同上	博士研究員	H20.4～H23.3
高岩 大輔	同上	博士研究員	H21.4～H24.3

② 研究項目

- ・DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発
- ・糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発
- ・DDS シミュレータのシステム開発
- ・統合検証研究

(2)「農工大」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
佐野 理	東京農工大学大学院工学研究院	教授	H18.10～H24.3
永田 裕作	東京農工大学大学院 共生科学技術研究院	博士研究員	H18.10～H20.3
牧野 真人	同上	博士研究員	H20.4～H20.9
奈良 昌則	同上	博士研究員	H20.10～H21.10
牧野 真人	東京農工大学大学院工学研究院	博士研究員	H22.1～H23.12
伊藤 聡	理化学研究所計算科学研究機構	コーディネーター	H18.10～H24.3

② 研究項目

- ・DDS ナノ粒子の血管内における流動解析の研究開発
- ・DDS シミュレータのシステム開発
- ・統合検証研究

(3)「京大」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
北浦 和夫	京都大学大学院薬学研究科	教授	H18.10～H23.11

② 研究項目

- ・糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発
- ・統合検証研究

(4)「金沢大」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
齋藤 大明	金沢大学理工研究域数物科学系	助教	H19.4～H24.3

② 研究項目

- ・DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発
- ・統合検証研究

(5)「神戸大」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
北浦 和夫	京都大学大学院薬学研究科	教授	H23.12～H24.3

② 研究項目

- ・糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発
- ・統合検証研究

## § 4 研究実施内容及び成果

薬剤の患部指向性の向上と副作用の低減のために、薬剤を包んで運ぶ薬物運搬システム(DDS)が盛んに研究されている。しかしながら、DDS は、ナノスケールの分子膜からミリスケールの血管に及ぶマルチスケールな問題であるため、その実験的な研究開発は手探りで進められているのが現状である。そこで、我々は、この DDS 開発の現状を改善するために、現在、実用化の可能性が最も高いと言われているリポソームと糖鎖からなる能動的標的指向性 DDS を対象として、図 3 に示すように、分子シミュレーション(産総研グループ・金沢大グループ)・フラグメント分子軌道法(産総研グループ・京大グループ)・流体力学(農工大グループ)に基づいたマルチスケール DDS シミュレータを研究開発した。

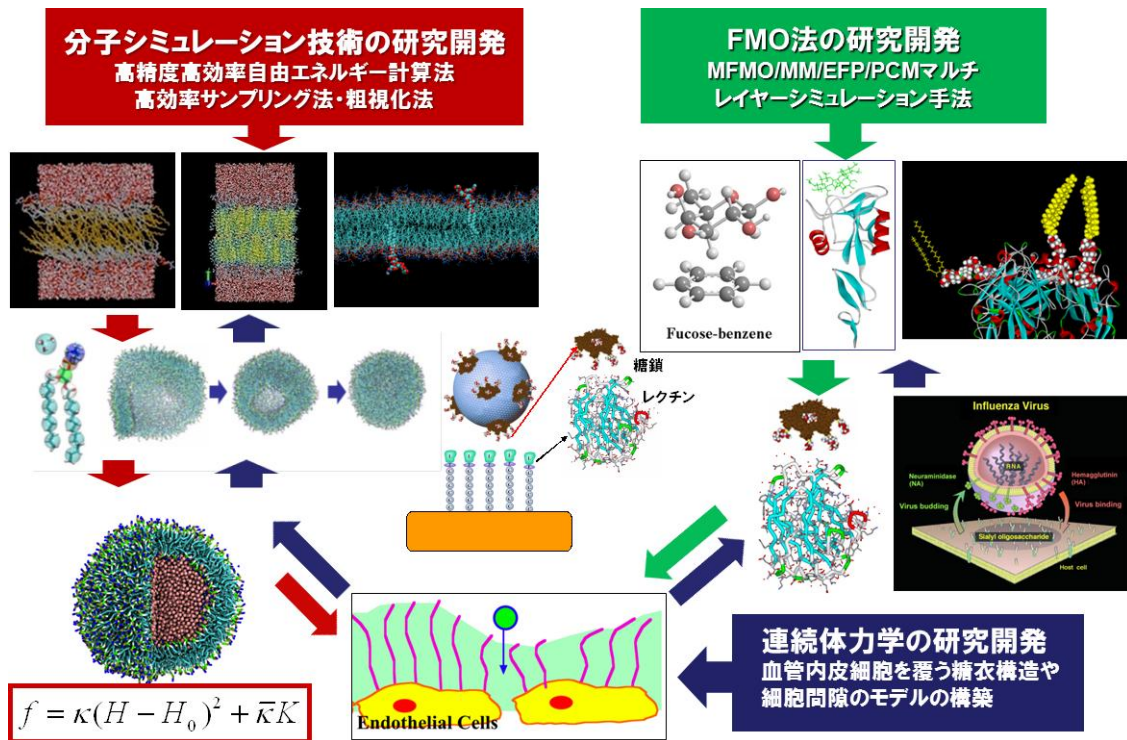


図 3. DDS シミュレータの研究開発の研究概要

リポソームのような DDS 材料の投与効果を高めるには、体内での運搬時におけるリポソームの安定性や内包する薬剤のリポソーム膜外へのリークの制御が重要である。そこで本研究では、リポソーム・脂質二重層膜の安定性や低分子の膜透過性などを高精度で計算するために、a)脂質分子-水系の高精度分子間相互作用ポテンシャルの開発、b)糖脂質分子膜の力場(GROMOS 力場と CHARMM 力場)の比較研究、c)効率的サンプリング方法、d)生体分子を含む系の温度制御に最適な数値計算方法の開発、e)高速高精度自由エネルギー計算法、f)粗視化モデルの開発をした。これらの分子シミュレーション技術を用いて、DDS ナノ粒子設計に必要な g)フッ化脂質二重膜の水分子の膜透過自由エネルギー計算、h)脂質二重層膜へのコレステロール添加効果、i)糖脂質膜の構造の研究、j)リポソームの生成条件と分子分岐構造の関係の研究、k)リポソームの付着と融合の研究、l)リポソームの形成過程、m)リポソームの局所圧力解析法の開発、n)流動場下におけるリポソーム構造と安定性、o)自己集合化膜の形成過程の研究を行い、DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術を開発した。これにより、原子モデル・分子モデルに基づいて DDS ナノ粒子設計の設計が可能になり、さらに、血管内壁細胞間からの DDS ナノ粒子の吸収を予測する流体力学シミュレーションの弾性パラメータの予測も可能になり、マルチスケールシミュレーション技術の構築を実現した。

DDS ナノ粒子表面の糖鎖分子とガン細胞近傍の血管壁細胞表面に存在するタンパク質:レクチンの相互作用は、DDS ナノ粒子がガン細胞などの病巣を認識する重要な役割を持つが、分子レベルでの分子認識の詳細な理解はあまり進んでいない。主な原因として、実験的な構造解析の限界から、糖鎖のとりうる多様な配座を正確に決定する事が困難な点と、タンパク質-糖鎖複合体の高分解能な構造解析が困難な点が挙げられる。そこで本研究では、古典分子動力学計算と量子化学計算を組合せたハイブリッド法に基づいたモデリング法を新規に提案し、E セレクチン-シアリルルイスX糖鎖複合体に応用し、NMRの化学シフトの実験結果を良く再現する結果を得た。これによりこれまで複雑さのため計算が困難だった糖鎖複合体の解析を可能にした。また、同様の分子認識は、トリインフルエンザウイルスのヒトへの感染機構でも重要な役割をはたしている。これを解明するために、多価相互作用の静的効果をFMO法で調べ、HA三量体に対する一つ目のシアロ糖鎖結合は、二つ目及び三つ目のシアロ糖鎖結合に影響しなかった。このことは、HA三量体とシアロ糖鎖の相互作用にアロステリック効果はないことを示しており、既存の実験結果を合理的に説明できた。

薬剤を内包したDDS ナノ粒子を患部に搬送させる際の要となる2種類の課題について研究を行った。その一つは、毛細血管が伸びている組織でのDDS ナノ粒子の搬送過程で、血管内を流れてきたDDS ナノ粒子が血管内皮細胞間隙を透過する過程である。血管内皮細胞に存在する糖鎖分子の林立した特異な構造(糖衣構造)や異常増殖細胞の近傍での細胞間隙拡大(EPR効果)がDDS ナノ粒子の間隙透過に重要であると予想されるので、糖衣層の厚さや変形能、および細胞間隙の大きさが流れに与える影響を調べるモデルを構築した。また、DDS ナノ粒子の標的細胞への接近や細胞間隙の透過に対してDDS ナノ粒子自身の変形能が及ぼす効果に着目し、数値計算とモデル実験を行った。これらの計算結果は本プロジェクト内の他のグループで設計しているDDS ナノ粒子の備えるべき条件として提供した。他の一つは肝臓のように細胞集合体の間隙を血液が流れる場合のDDS ナノ粒子の搬送過程で、間隙の不均一性が血液流を変化させDDS ナノ粒子の搬送に支配的な影響を及ぼすと予想される過程である。急速に増殖する細胞近傍での間隙の粗大化と血流の増加、腫瘍細胞に流入する血液の流路形成(血管新生)およびそれを利用したDDS ナノ粒子輸送の可能性をシミュレーションにより明らかにし、モデル実験と比較し、良好な結果をえた。

本プロジェクトでは、以上述べたように、分子シミュレーション・フラグメント分子軌道法・流体力学の三つの方法をデータで結合するマルチスケールDDSシミュレータを構築した。

#### 4.1 DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術の研究開発(「産総研」グループ、「金沢大」グループ)

##### (1)研究実施内容及び成果

##### ① 研究のねらい

薬剤を特定の患部にのみ運搬するDDS ナノ粒子を開発する上で、DDS ナノ粒子の本体であるリポソームのサイズと安定性、及びその表面を修飾する糖鎖の種類と数密度に関する情報が必要である。すなわち、DDS ナノ粒子の毛細血管壁の隙間への吸収率を向上させるためには、その隙間に適したサイズとその形状(剛直な球であるのが良いのか、それとも隙間の形状に合わせて自在に変形できるのが良いか)などの情報が必要である。そのためには、リポソームのサイズを決定する因子(表面張力、温度、脂質分子濃度など)や形状を支配する因子(弾性的性質など)を解明することが重要である。また、DDS ナノ粒子の投与効果を高めるには、体内での運搬時におけるリポソームの安定性や内包する薬剤のリポソーム膜外へのリークの制御が重要となる。これらを解明する上で、リポソームを形成する脂質二重膜の構造・性質と脂質分子の分子特性との関係を詳しく知ることが必要である。また、脂質二重膜の構造・物性を決めているのは、脂質分子間及び脂質分子と水分子間の分子間相互作用であるので、その詳細かつ精密な情報も必要である。そのために、②研究実施方法で述べる方法に従い本研究を実施した。

##### ② 研究実施方法

上記の研究のねらいを実現するために、第一ステップとして、a)脂質分子-水系の高精度分



子間相互作用ポテンシャルの開発, b)糖脂質分子膜の力場(GROMOS 力場と CHARMM 力場)の比較研究, c)効率的サンプリング方法, d)生体分子を含む系の温度制御に最適な数値計算方法の開発, e)高速高精度自由エネルギー計算法, f)粗視化モデルの開発をした. 第二ステップとして, これらの分子シミュレーション技術を用いて, DDS ナノ粒子設計に必要な g)フッ化脂質二重膜の水分子の膜透過自由エネルギー計算, h)脂質二重層膜へのコレステロール添加効果, i)糖脂質膜の構造の研究, j)リポソームの生成条件と分子分岐構造の関係の研究, k)リポソームの付着と融合の研究, l)リポソームの形成過程, m)リポソームの局所圧力解析法の開発, n)流動場下におけるリポソーム構造と安定性, o)自己集合化膜の形成過程の研究を行い, DDS ナノ粒子設計シミュレーション技術を開発した.

### ③ 研究成果

#### a) 脂質分子-水系の高精度分子間相互作用ポテンシャルの開発

脂質二重膜やリポソームの精密な分子動力学計算を行うには, 脂質分子と水の相互作用に関する精度の高い情報が必要だが, 脂質の極性部位と水の相互作用の詳細は十分に解明されていない. そこで, DPPC の極性部位のモデル分子と水の分子間相互作用を高精度の *ab initio* 分子軌道法で解析した. その結果, エステル部位と水との相互作用は比較的弱い, リン酸部位および4級アンモニウム部位と水の相互作用は非常に強く, 10 kcal/mol を超える引力の働くことが分かった. 水と脂質の極性部位の相互作用の高精度 *ab initio* 分子軌道法による解析は少なく, 解析結果は脂質の力場のポテンシャル関数とパラメータの精密化, 脂質膜の分子動力学シミュレーションの精度の向上をめざす際の基礎データとして有用なものと位置づけられる.

#### b) 糖脂質分子膜の力場(GROMOS 力場と CHARMM 力場)の比較研究

糖脂質分子:GM1 を含む混合脂質膜系の力場として, 現在, 最もよく利用されている GROMOS 力場と CHARMM 力場[MacKerell 教授より開発中の最新パラメータの提供を受けた]の比較研究を行った. 図 4 には, GM1 糖鎖頭部に含まれる二つの原子を結ぶベクトルの回転相関関数の時間変化を示した. GROMOS 力場を用いて計算した回転緩和時間は異常に長く, 100 ns 経過しても回転緩和関数の値が 0.8 以上の高い値のままである(左図). また, 回転緩和関数の GM1 濃度依存性が見られないという現象が得られた. これは GM1 分子の頭部である糖鎖同士, または糖鎖と他の脂質分子の頭部, ホスファチジルコリンと異常に強く結合し, 脂質頭部の運動性が著しく低下したためであることが分かった. この挙動は水溶性の糖鎖としては異常であり, GROMOS 力場では糖鎖間, 糖鎖とリン脂質頭部間の相互作用を過大評価していると結論づけた. 一方, CHARMM 力場(右図)では, GM1 糖鎖が他の官能基と強く結合することではなく, 糖鎖の回転緩和を観測した. また, GM1 濃度の増加とともに, 膜面積は減少, 膜の厚さは増加, 脂質二重膜の疎水鎖は秩序化, GM1 糖鎖頭部, DPPC 頭部の回転緩和時間の増加

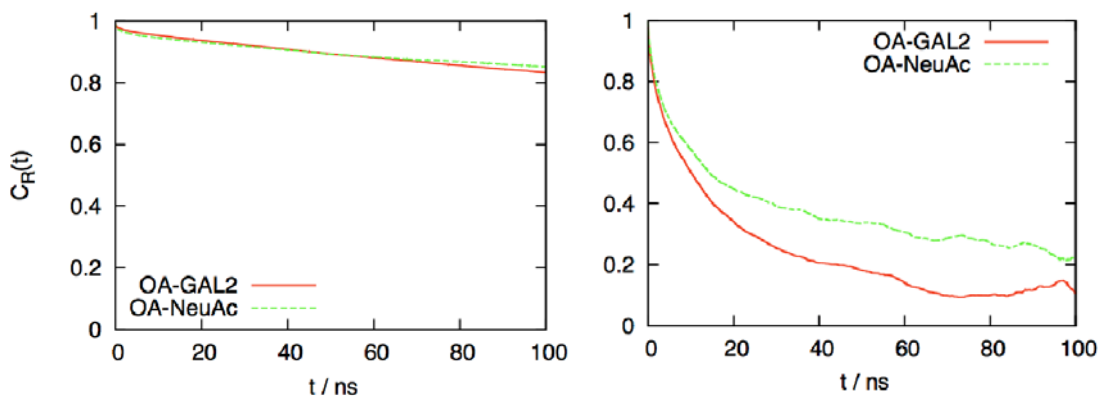


図 4. GM1 糖鎖頭部に含まれる二つの原子を結ぶベクトルの回転相関関数の時間変化. 左図は GROMOS 力場による結果, 右図は CHARMM 力場による結果.

などが見られ、CHARMM 力場の結果は実験的な観測事実に照らしてリーズナブルであった。これにより新しい CHARMM 力場は糖脂質膜系の力場としてより適切であると判断した。

c) 効率的サンプリング法の開発[1]

生体系や高分子などの分子シミュレーションでは、しばしば局所安定状態に系が捕らわれ、与えられた条件下における最安定状態が実現されない。このような問題を回避するために、相空間の広い領域を効率良くサンプルできるマルチカノニカル集合や、Tsallis 統計などが提案されている。本研究では、マルチカノニカル MD 及び Tsallis 統計を、系と熱浴との結合形式から解釈することを試み、(1)式のハミルトニアンを導入すると、それから得られる運動方程式による MD 計算は、 $\alpha$  を適切な値にとれば、エネルギー分布をガウス分布とみなしたマルチカノニカル MD と同じ形式になることが分かった。

$$H_{gc}(\mathbf{p}, \mathbf{q}) = \sum_{i=1}^N \frac{\mathbf{p}_i^2}{2m_i} - \frac{gkT}{2(1-\alpha)} \left\{ \exp\left(-\frac{2(1-\alpha)\delta\Phi_0}{gkT}\right) - \alpha \right\} \quad (1)$$

ここで  $p_i$  と  $q_i$  は原子  $i$  の運動量と座標ベクトル、 $m_i$  は質量、 $N$  は粒子数で  $g$  は系の自由度の数、 $k$  はボルツマン定数、 $T$  は運動エネルギーの初期値に対応する温度、 $\delta\Phi_0 (= \Phi - \Phi_0)$  はポテンシャルエネルギーとその初期値との差、 $\alpha$  は熱浴との結合の強さをあらわすパラメータである。さらに、Tsallis 統計で導入される  $q$  パラメータが  $q=1+\alpha(1/N)$  のときは、上記のハミルトン系が生成する(位置座標空間に関する)統計分布が、Tsallis 統計分布と一致することもわかった。 $\alpha < 0$  は熱浴との結合がカノニカル集合より強い状態に相当する。この  $\alpha$  ( $=-1.4$ ) を用いた  $H_{gc}$  による MD 計算を同じ LJ 系に実行したところ、より幅広いエネルギー領域がサンプルできた。本方法の利点は、様々な物質系で適切な  $\alpha$  の値を用いることにより、効率的なサンプリングができる。本方法は、柔軟なため多くの構造を持つ糖鎖とレクチン系などの系のサンプリング効率向上に貢献できると考えられる。

d) 生体分子を含む系の温度制御に最適な数値計算方法の開発[18]

分子動力学シミュレーションにおいて温度制御を可能とする手法として、能勢-Hoover 熱浴法がよく知られている。この手法は運動量座標空間も含めて、カノニカル分布を実現する。しかしながら調和振動子や stiff な系ではエルゴード性が保たれず、能勢-Hoover 熱浴でもカノニカル分布が実現されないという問題がある。そのため複数の熱浴を導入した能勢-Hoover chain (NHC) 熱浴などが提案されているが、double well 型ポテンシャルを持つ系などではそれでも十分ではない。そこで本研究では NHC 熱浴を拡張として、一般化された複数の能勢-Hoover 熱浴形式を開発した(能勢-Hoover network)[18]。能勢-Hoover network 形式を用いることで、NHC 熱浴よりさらに高効率な熱浴を簡単に構築することが可能となる。特に生体分子の原子間相互作用エネルギーには近似的に double well 型のものが多く、そのような系における位相空間上でのサンプリング向上が期待される。能勢-Hoover network 熱浴の一例として Recursive 能勢-Hoover (RNH) 熱浴を導入し、実際に一次元 double well 型ポテンシャルで記述される簡単な系でサンプリング能力を検証した。図 5 は MD 計算で生成される統計分布とカノニカル分布とのズレが、時間発展につれどのように振る舞うかを示している。実線が RNH 熱浴、破線が NHC 熱浴の結果である(ともに熱浴の数は 2)。ど

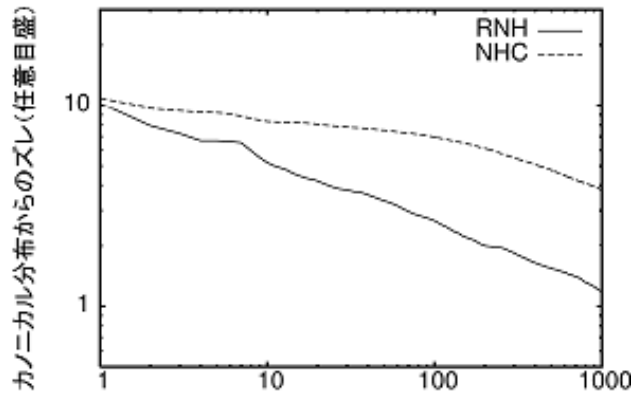


図 5. MD 計算で生成される統計分布とカノニカル分布とのズレ

らの熱浴でも時間を経るにつれズレは減少しているが、同じ計算ステップ数では RNH 熱浴の方がカノニカル分布の実現が早いことがわかる。本成果は DDS のような複雑な系のサンプリングに効果を発揮し、計算の高速化に大いに貢献すると考えられる。

e) 高速高精度自由エネルギー計算法[6]

癌細胞の増殖を防ぐ代表的な薬剤は、細胞膜を透過し細胞質に入った後、核酸と相互作用し、その増殖作用を阻害する。こうした DDS において、細胞膜(脂質二重膜)における有機分子の透過機構の解明は重要な課題である。この研究項目では、脂質二重膜を透過する低分子の自由エネルギーの高速高精度計算法の開発を行った。脂質二重膜-水系のように高密度から低密度までの様々な密度領域が存在する非均一系の自由エネルギーを従来の自由エネルギー計算法(熱力学積分法, 摂動法, Widom 法など)で、全密度領域にわたり精度高く計算するには、計算コストが高く、効率が悪い。そのため、それぞれの密度領域に適した自由エネルギー計算手法を組み合わせることにより、この問題の改善がはかられてきた。しかしながら、これらの方法は、熱力学積分法(自由エネルギー差が得られる)と Widom 法(化学ポテンシャルが得られる)を組み合わせるため、自由エネルギープロファイルを接続する際に誤差が生じる問題点を持っていた。そこで、本研究では、高密度領域(水領域)に Overlapping 法を、低密度領域(膜領域)に Widom 法のサンプリング効率を上げた Cavity Insertion Widom(CIW)法を適用する組み合わせ法を開発し、これまでの問題点を解決した。

膜を透過する低分子は剛体として扱う。この時、化学ポテンシャルは、Overlapping 法では(2)式を、CIW 法では(3)式を用いて計算される。

$$\mu = kT \ln g_N(\Delta U) - kT \ln f_{N-1}(\Delta U) + \Delta U - kT \ln \frac{4\pi^2 \Lambda^{-3} B_1 B_2 B_3}{N} \langle V \rangle_{N-1} \quad (2)$$

$$\mu = -kT \ln \left( \frac{4\pi^2 \Lambda^{-3} B_1 B_2 B_3}{N} \langle V \exp[-\beta \Delta U] \rangle_{N-1} \right) - kT \ln \langle P_{cav} \rangle_{N-1} \quad (3)$$

ここで  $\Lambda = \sqrt{h^2 / 2\pi m k T}$  で、 $h, m, k, T$  はそれぞれ、プランク定数、質量、ボルツマン定数、温度である。 $N, V$  は粒子数、体積である。 $\Delta U$  は、挿入される低分子とその他の全ての原子との相互作用エネルギーの総和で、 $f_{N-1}(\Delta U)$  と  $g_N(\Delta U)$  は insertion エネルギー分布関数と deletion エネルギー分布関数ある。 $\langle \dots \rangle$  はアンサンブル平均を示す。 $B_i = \sqrt{2\pi I_i k T / h^2}$ 、 $I_1, I_2, I_3$  は慣性主軸モーメント、 $\langle P_{cav} \rangle_{N-1}$  はキャビティの確率分布である。

本方法を図6に示す分岐のある疎水鎖がグリセロール骨格にエーテル結合する脂質膜に適用し、図7に示すように、自由エネルギー障壁を0.1 kcal/molの誤差で見積もることに成功した。CIW法に比べ、CIW法とOverlapping法を組み合わせた計算法は、特に、高密度領域の自由エネルギー計算値の精度の向上を実現することが分かった。

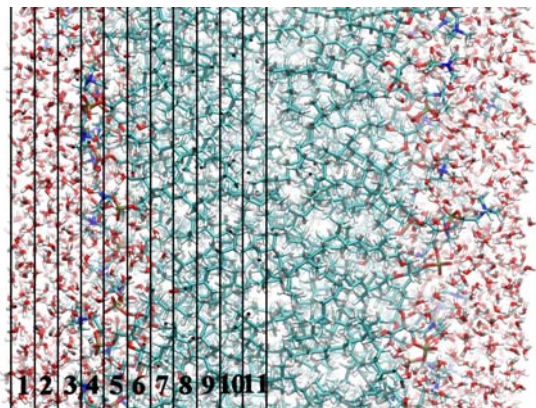


図6. DPhPC 脂質二重膜のスナップショット。図中の数字と縦の黒線は Overlapping 法の各領域の境界線

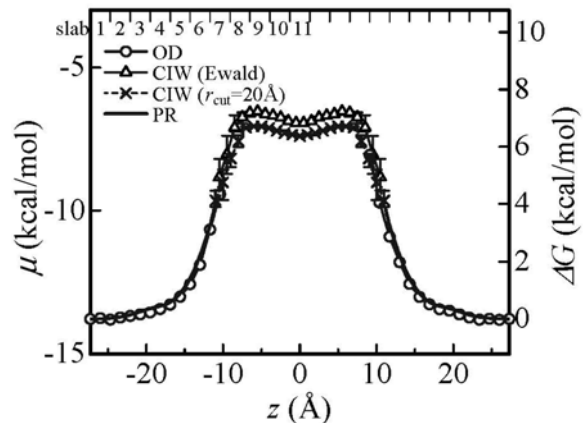


図7. DPhPC 脂質二重膜を横切る水の自由エネルギープロファイル

f) 粗視化モデルの開発[20, 21, 22, 23, 36]

粗視化された分子モデルは、これまで分子シミュレーションでは不可能であった自己集合構造の形成過程を追跡可能とするばかりか、リポソームのような分子集合体の動態を観測することも可能とする。粗視化において重要なことは、微視レベルの情報を粗視レベルへと引き継ぐことである。本研究では、原子レベルのシミュレーション結果を利用した、系統的な粗視化の方法を開発した。脂質分子系は、界面挙動が系の性質を決めるため、粗視化モデルにおいて界面張力、密度の再現を目的とし、さらに水・油系への第3分子の分配を正しく記述するため、溶媒和自由エネルギーの再現を試みた。同時に、原子レベルのシミュレーションから得られた2体分布関数の再現も行った。これまで飽和・不飽和疎水鎖を持つホスファチジルコリンやホスファチジルエタノールアミンの脂質分子モデルを作成し、その二重層膜の膜弾性も再現可能なモデルを作成した。膜面積、オーダーパラメータ、膜の曲げ弾性といった基本的な物性をすべて満足するモデルの生成が可能となり、きわめて定量的にリポソームの挙動を追跡可能となった。リポソーム形成過程のシミュレーション(図 8)では、水中に浮かぶ膜のフラグメントがエッジのエネルギー的不利を少なくするために約 100ns の間にリポソームを形成する様子を観測した。この時間はシミュレーション時間であり、物理的な時間はこれより 1 オーダー位長く、現実には約 1 $\mu$  秒に相当するものと予測される。

原子間ポテンシャル関数を用いた分子動力学シミュレーションの結果に基づいて系統的な粗視化モデルの開発が成功した結果、分子構造のわずかな違いを正確に反映した大規模系の分子シミュレーションが可能になった。さらにフラーレン材料を DDS に使用する可能性が示唆されることをうけ、フラーレンと脂質膜との相互作用の粗視化モデルの研究を行った。

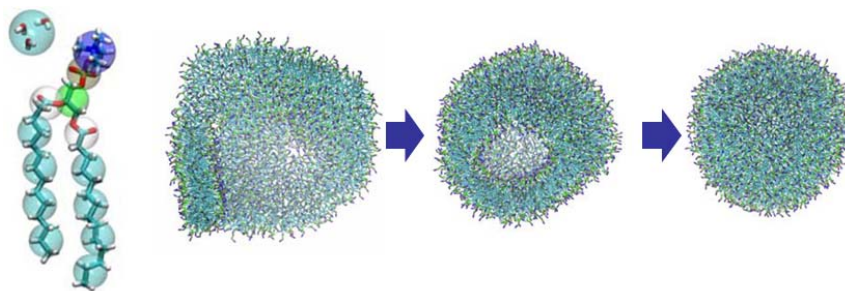


図 8. 脂質分子の粗視化モデルとそれを用いたリポソーム形成シミュレーション

g) フッ化脂質二重膜の水分子の膜透過自由エネルギー計算[4, 8]

DDS 材料が内包する薬剤をリークすることなく輸送されるためには、DDS 材料を構成する膜の分子透過性が少なくメカニカルに安定である必要がある。炭化水素鎖の一部をフッ素化した脂質(FPC)膜は高い疎水性と構造安定性を有することから、有効な DDS 材料として期待されている。本研究ではFPC膜の疎水性を分子論的に解明するために、FPC膜のMDシミュレーションおよび水分子の膜透過性自由エネルギー計算を行った。自由エネルギー計算では、新たに改良を加えた高速高精度自由エネルギー計算法(cavity biased particle insertion 法)を用いた。図 9 に通常の脂質膜(HPC)と FPC の自由エネルギープロフィールを示す。計算の結果、

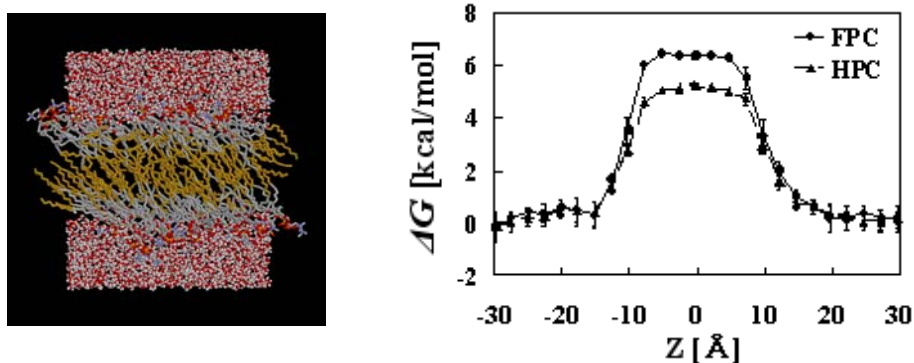


図 9. FPC 脂質二重膜の構造と FPC, HPC 膜を透過する水分子の透過自由エネルギー

FPC は HPC に比べておよそ 2 kcal/mol 膜透過の自由エネルギー障壁が高いことが示された。これはフッ素化膜の水漏れが低いことを示しており、実験で観測される FPC 膜の高い疎水性と一致する結果が得られた。また詳細な膜内構造解析の結果、膜内のフッ化セグメントの高いパッキング構造がこのような高い疎水性の原因となっていることを明らかにすることができた。これにより、フッ素系脂質分子膜は DDS 材料として有望であることが分かった。

#### h) 脂質二重層膜へのコレステロール添加効果

スフィンゴ脂質二重膜系へのコレステロールの効果を明らかにするために、コレステロールを含まない系とコレステロール濃度 10%, 20%, 30%, 40%, 50% の 6 種類の系で行った。図 10 にコレステロール濃度の 0% と 40% の時の平衡状態における系のスナップショットを示す。MD シミュレーション結果を解析したところ、コレステロール導入により膜面積は減少し、それに伴いラメラ相の膜厚は増加することが分かった。これはコレステロール分子のステロール面に接近している脂質のアシル鎖のゴーシュ構造が減少し、膜圧方向に対する配向性が増加することに起因しており、実際、膜内でのコレステロール存在領域でのアシル鎖のオーダーパラメータは顕著に増加をする結果が示された。また、アシル鎖のゴーシュ構造の減少に伴い、膜内のパッキング特性が上昇する結果も示されており、実験結果との良い一致が見られた。また、空隙挿入法を用いて DPPC 二重膜の膜面法線方向に沿った水分子の膜透過自由エネルギー障壁の変化の様子を図 11 に示す。この図で横軸原点が二重膜中心に対応し、およそ  $|Z| < 20 \text{ \AA}$  が二重膜の疎水鎖領域となる。同領域における水の化学ポテンシャルは膜外の領域 ( $|Z| > 30 \text{ \AA}$ ) に比べて高く、これは水分子の膜透過の自由エネルギー障壁の高さを示す。また、コレステロール濃度の増加に伴って自由エネルギー障壁の増加が見られ、特にコレステロール分子の存在する  $|Z| < 5-15 \text{ \AA}$  における増加は著しい。これはコレステロール添加により水分子の膜透過性が減少することが意味する。同様の結果は PSM 二重膜においても見られた。しかしながら、コレステロール濃度 30% 以下におけるエネルギー障壁の比較を行うといずれの系においても PSM 二重膜の自由エネルギー障壁の方が高いことが示された。

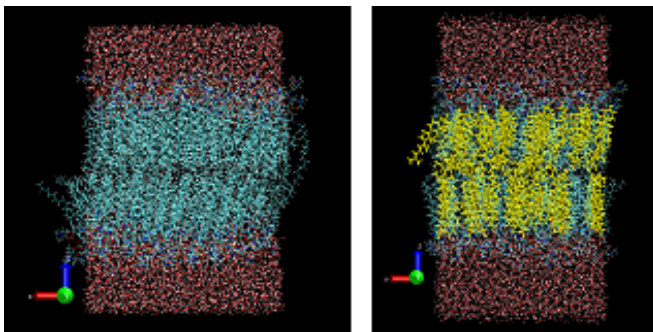


図 10. スフィンゴ脂質二重膜(左)とスフィンゴ脂質とコレステロール混合二重膜(右)

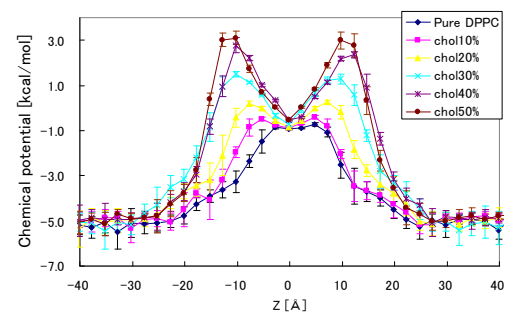


図 11. コレステロール濃度変化に対する水の化学エネルギー(DPPC)

#### i) 糖脂質膜の構造の研究

糖脂質膜 GM1/DPPC の糖鎖頭部の立体配座の GM1 濃度依存性を調べた。GM1 糖鎖に含まれる四つグリコシド結合間の二面角 ( $\Phi, \Psi$ ) マップ (ラマチャンドランマップ) を、CHARMM 力場を用いた分子動力学シミュレーションにより計算した。Gal-NeuAc 間の二面角 ( $\Phi, \Psi$ ) 以外には GM1 の濃度によらず同じ分布を示した。GM1 濃度が 25 mol % 含まれる GM1/DPPC 膜における GM1 分子の Gal-NeuAc の ( $\Phi, \Psi$ ) マップはピークを一つ持つ場合 (図 12(a)), 二つ持つ場合 (図 12(b)), 三つ持つ場合 (図 12(c)) の三つのタイプを持つことが分かった。

また GM1 濃度 2mol % の GM1/DPPC 膜(二重膜の上層と下層にそれぞれ GM1 を一分子ずつ含む系)では、Gal-NeuAc の ( $\Phi, \Psi$ ) マップは図 12(a) と図 12(b) と類似の分布を持つことがわかった。但し GM1 濃度が 25 mol % との違いは、ピーク A の高さがピーク B に比べて非常に

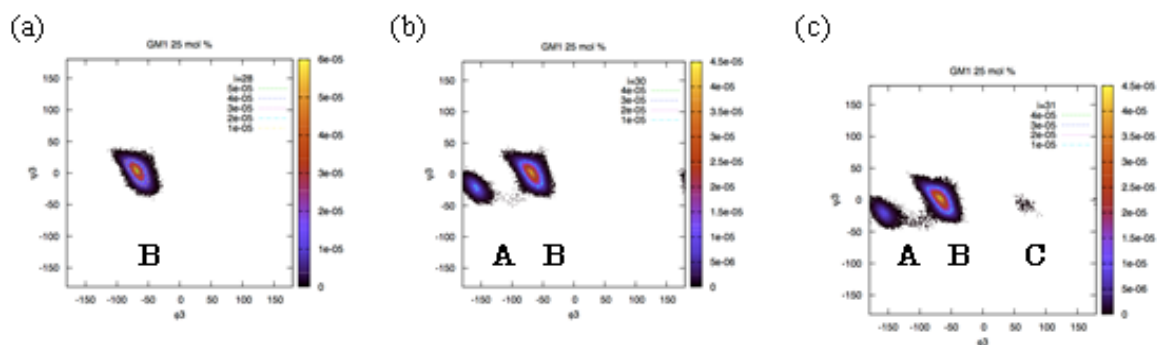


図 12. GM1 濃度 25 mol % の GM1/DPPC 二重膜上の各々の GM1 に含まれる Gal-NeuAc グリコシド結合間の二面角 ( $\Phi, \Psi$ ) マップ

小さいのでどちらかという図 12(a)に近い分布になることが分かった. このように GM1 濃度が 25 mol % の系のように GM1 分子が複数含まれている二重膜において GM1 が同じ系に存在する個々の GM1 分子の ( $\Phi, \Psi$ ) マップが 3 種類に分類される理由の一つは, この Gal-NeuAc 間の ( $\Phi, \Psi$ ) の運動が, GM1 糖鎖頭部の回転緩和や GM1 の並進運動よりも時間スケールの長いものであり, シミュレーション時間 (100ns) で十分に統計を取れなかったということが, MD トrajektoriyにおいて例えば図 12(b)に示されるピーク A からピーク B へ移動が数回しか起こらなかった事実から支持される. とところで 25 mol % の系と 2mol % の系での GM1 糖鎖頭部環境の違いは, GM1 糖鎖頭部が, 他の糖鎖頭部集団と孤立しているか否かである. 300 ns のバルク中 GM1-Os の長時間 MD でも図 12(a)のようにピーク B しか現れなかったことから, GM1 の周りに他の GM1 分子が存在することにより GM1 糖鎖頭部の Gal-NeuAc 間の ( $\Phi, \Psi$ ) の trajektoriy がピーク A からピーク B に移動しやすくなることが推測される.

膜面上での GM1 の濃度が 2~25 mol % からなる GM1/DPPC 二重膜を水和している水の構造について解析を行った. GM1/DPC 膜と垂直な方向を z 軸とし, 脂質二重膜の中心が  $z=0$  になるようにして水の物理量の z 軸に対する変化を調べた. 図 13 に水の双極子ベクトルの z 軸に対する配向分布を示す. DPPC の P 原子が存在する位置 ( $z=20$  Å 付近に存在) で強い相関が示されたが, GM1 濃度が上がるにつれて GM1 糖鎖頭部の末端であるガラクトースの方へ水の双極子へ向くことが示された. また膜表面の水分子を z 軸に対して 5.0 Å 刻みにグループ分けした. それらの厚さ  $\Delta z=5.0$  Å のスラブの水の回転緩和時間, 膜平面に平行な方向の側方拡散を調べた. 膜表面に近くなるにつれて水の回転緩和ならび側方拡散は抑制されることが分かった. また, M1 濃度が増加すると水分子の運動が拘束されることも分かった.

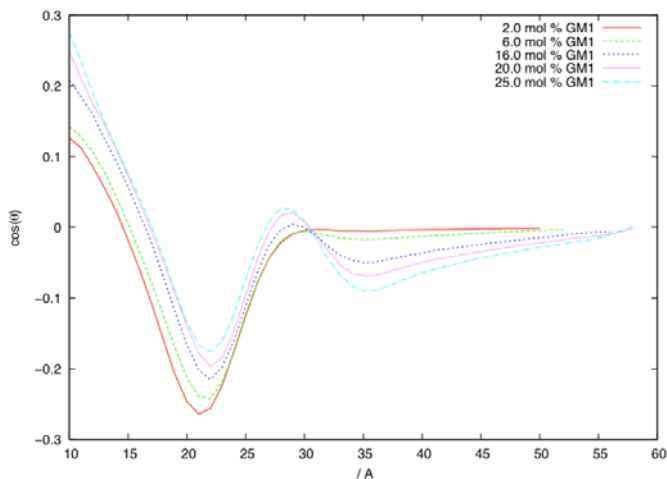


図 13. GM1 濃度 2~25 mol % での GM1/DPPC 膜における膜に垂直な z 軸に対する水の双極子の平均回転分布

#### j) リポソームの生成条件と分子分岐構造の関係の研究

リポソームを構成する脂質二分子膜は, 2本の末端鎖を持つ天然脂質分子に加え, 1本鎖構造のコレステロールや糖鎖などの混合系であり, 二分子膜やリポソームの強度, 安定なサイズや膜の透過度などは, これらの混合比率などにより, 大きく異なってくる. しかし, 二分子膜を構

成する両親媒性分子の分岐構造や末端鎖の剛直性が、リポソーム形成ダイナミクスに及ぼす影響については、これまで系統的な研究が少なく、本研究では粗視化分子動力学法を用いて解明することを試みた。2本鎖系分子の場合には、適当な温度領域において二分子膜が端面を閉じていくことで、内部に多くの溶媒を含んだベシクル構造を速やかに形成していくことが明らかになった。一方、1本鎖系分子の場合には、界面を閉じる過程で二分子膜が折れ曲がって、座屈を起こしやすく、単層の球状ベシクルを形成させる相互作用パラメータの範囲や熱力学条件は非常に狭いということが示唆された。この原因を解明するために、1本鎖分子系と2本鎖分子系における膜の曲げ弾性率の評価と構造安定性を調べた。膜の曲げ弾性率は、1本鎖分子系よりも2本鎖分子系のほうが大きな値を取っており、弾性エネルギーの違いによる評価だけでは1本鎖系分子のほうがベシクルになりやすいと予測される。しかし、膜の圧縮変形に対する応答を解析した結果、1本鎖分子系においては、小さい歪みにおいても二分子膜の部分的な座屈の発生が見られるが、2本鎖分子系においては、1本鎖分子系の5倍程度の変形を加えても座屈が発生しないことが確認された。この解析で見られるような面圧縮に対する座屈強度の違いが、ベシクル形成過程における膜の安定性の違いの原因となっていると予想される。球状の安定なベシクルを形成させるように分子をデザインする際には、膜の曲げ弾性を小さくすることによるエネルギー的利得を得るために分子間相互作用が小さいものを選ぶことが望ましいが、それと同時に大きな座屈強度を得るためにある程度大きな分子間相互作用が必要である。これらをみたく適切な相互作用の大きさの範囲は分子の分岐構造に強く依存しており、それゆえ、適切な相互作用を実現する分子をデザインするには2本鎖の方が1本鎖よりも容易であるという知見が得られた。

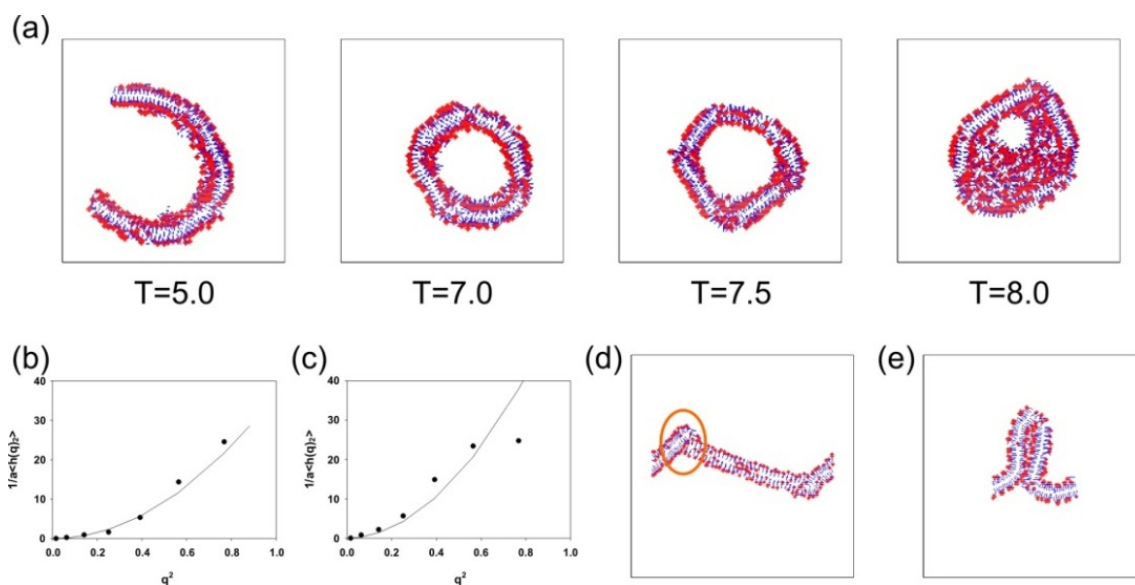


図 14. (a)は、2本鎖分子からなる2分子膜の構造形成を示した。(b)及び(c)は1本鎖分子及び2本鎖分子の2分子膜における膜の揺らぎであり、2本鎖分子の弾性率が大きいことがわかる。(d)及び(e)は、構造安定性を調べたものであり、1本鎖分子系(d)では比較的low歪み領域から座屈を起こしやすいが、2本鎖分子系(e)では、大きな変形に対しても座屈は見られない。

#### k) リポソームの付着と融合の研究[19]

リポソームの付着や融合に対する安定性の自由エネルギー解析を行い、リポソームが一度閉じた構造を完成させると融合への高いエネルギー障壁を示すことが判明した。融合を観測することはシミュレーションの時間的に困難であり、その代わりにリポソーム間の付着自由エネルギーの測定を行った。その結果、図 15 に示すように脂質種によってリポソームの付着性が著しく変わることが判明し、負の自発曲率を持つ脂質のリポソームは付着を強く示すことが示唆され

た。また、リポソームの変形自由エネルギーを見積もることにも成功し、異種脂質の混合により、変形に対する自由エネルギー的な安定性が高くなることが判明した。DMPC 間は斥力だけであり付着しないが、DOPE 間は引力部分もあり、付着する。このように目的に応じてどの脂質分子を選択すれば良いかを分子シミュレーションから設計できるようになった。

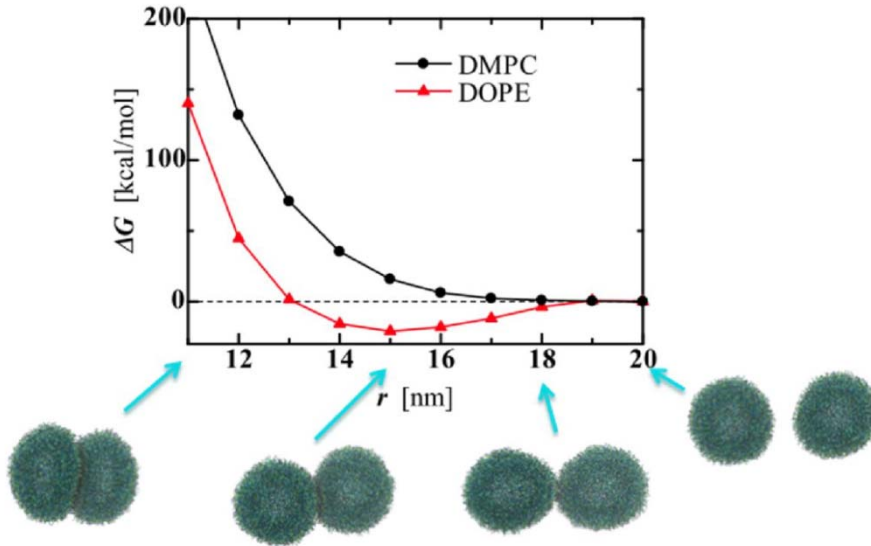


図 15. 脂質分子種の違いによるリポソーム間付着特性の変化(左図). 負の自発曲率を持つホスファチジルエタノールアミン脂質分子(DOPE)からなるリポソーム(付着), ホスファチジルコリン脂質分子(DMPC)からなるリポソーム(反発).

#### 1) リポソームの形成過程[37]

リポソームの安定性はそのサイズによって大きく異なる. 図 16 に示すように脂質自己集合体の希薄溶液中におけるモルフォロジー変化から, 集合体はそのサイズに依存しディスク状構造体のバイセルから小胞体のリポソームに構造転移する. これを粗視化分子シミュレーションによって観測した. それ以外の構造は安定構造として現れず, サイズを徐々に大きくすることによりリポソームがより安定構造として選ばれた.

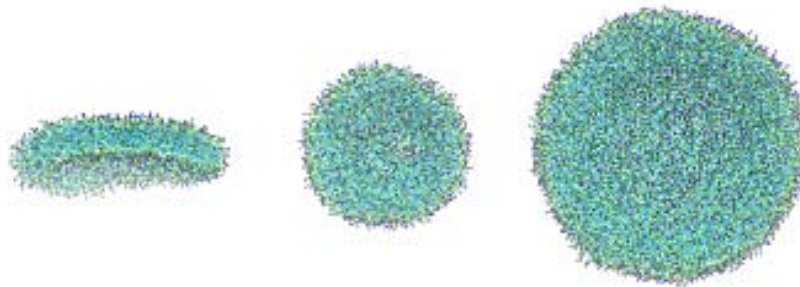


図 16. 脂質分子集合体のサイズによる形状変化: 左から1000分子(バイセル), 1512分子, 5000分子(リポソーム)

これを連続体理論(Fromherz の理論)と比較するために自由エネルギー計算を行った. Fromherz の理論では, 膜の曲げ弾性エネルギーと脂質膜の縁における線張力のエネルギーのバランスによって, この脂質凝集体のモルフォロジー変化を現象論的にうまく説明する. また, リポソームを作る最小サイズの脂質凝集体では, リポソーム及びバイセルの両構造がどちらも安定であることが予測され, これも  $1 \mu s$  の粗視化分子シミュレーションで確かめられた. そこで, これらの構造間の自由エネルギーバリアを実際に計算することによって, 連続体理論がどの程度リポソームの安定性について定量性を示すのかを比較検討した. 図 17 に示すように, リポソ



ムとバイセルが安定構造を示す DMPC 分子 1512 分子からなる集合体を選び、リポソームからバイセル構造へと外場によって転移させるときの自由エネルギーを計算した。これは熱力学的積分法を応用した計算手法であり、外場として脂質の疎水鎖にのみ働く円錐型の反発壁ポテンシャルを導入し、リポソームを徐々に開口し、バイセル構造へと転移される操作に対する系の応答(平均力ポテンシャル)を計算し、自由エネルギーを評価するものである。

一方で同手法を外場ポテンシャルの形状をシリンダーに変更し、平面膜に適用することで、膜の線張力もかなり精密に求められることが判明した。また、Fromherz 理論で用いられる膜の弾性係数(曲げ弾性係数, ガウス弾性係数)の計算も個別に行った。曲げ弾性係数は膜面のスペクトル解析から求め、またガウス弾性係数は膜を横切るストレスプロファイルの 2 次モーメントとして計算される。これらを実際に粗視化分子動力学シミュレーションから求めることにより、Fromherz 理論との比較を可能とした。その結果、リポソームからバイセルへの転移の自由エネルギー障壁は、Fromherz 理論から予測されるよりもずっと低くなることが示された。これは Fromherz 理論では膜を厚みゼロの弾性シートとして近似しており、膜の内部構造の緩和を考慮していないためと考えられる。1512 分子の脂質凝集体では、リポソーム構造において、内膜に 512 分子、外膜に 1000 分子程度の脂質分子分布となっており、これがバイセルでは同程度の脂質が二重膜に再分配される。脂質膜では flip-flop 運動はほとんど起こらないが、脂質膜の縁において内膜と外膜はつながっており、脂質分子の膜間移動が可能である。閉じたリポソームから開口し、一度、再分配に十分なサイズのポアが形成されると、膜内のストレスの緩和のため、脂質分子の移動が起こり、これにより自由エネルギー障壁を下げ、この影響は、小さなリポソームでは決して無視できる大きさでは無いことが分かった。

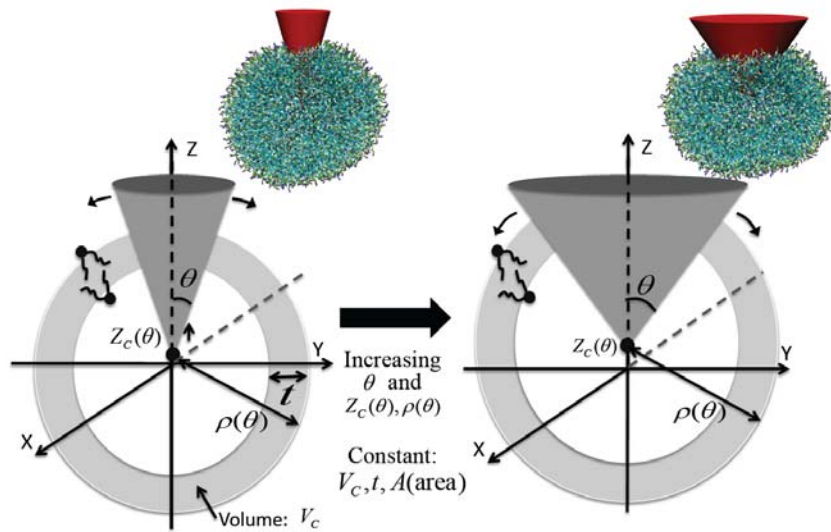


図 17. 熱力学的積分法による自由エネルギー計算のための円錐型外場によるリポソームの開口操作。

図 18 には実際の自由エネルギーの膜開口部の周辺長に対してプロットを示した。平面膜の自由エネルギー(白抜き)は直線的に上昇し、そのスロープは線張力を与える。理論曲線を 2 本与えているが、これはガウス曲率を求める際の局所ストレスの定義に任意性があるためである。しかし、いずれにせよ、理論曲線はリポソーム(vesicle; 黒丸)の曲線から大きく逸脱し、粗視化 MD から得られた自由エネルギー障壁は理論予測よりもかなり低くなる。このようなずれは、特に小さなリポソームで顕在化する。連続体理論は  $10 \mu\text{m}$  程度の Giant vesicle では良い近似となっていると考えられる。ここで扱っているリポソームサイズは直径約  $18\text{nm}$  と DDS で扱うリポソームよりも小さい。しかし DDS でターゲットとなる  $100\text{nm}$  のリポソームにおいて、膜内部の緩和を無視することが良い近似であるとは考えられず、このサイズを扱うためにはさらなる大規模系の粗視化 MD を行うか、連続体モデルの修正を試みる必要があると考えられる。

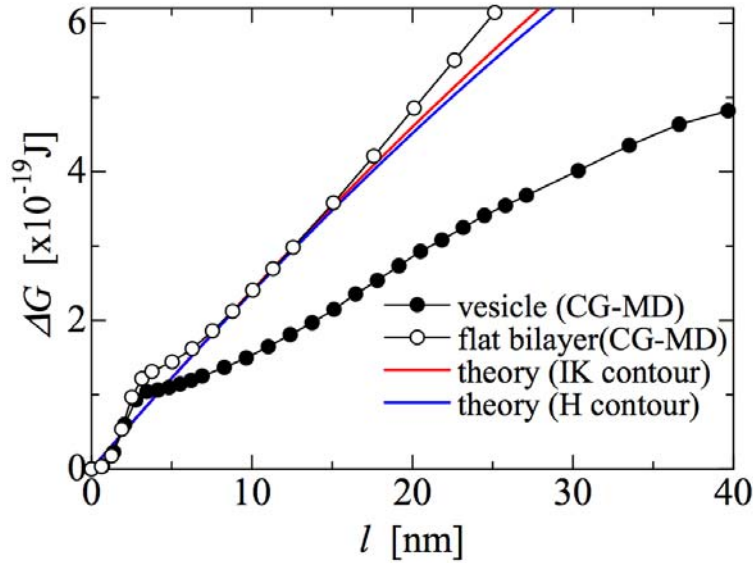


図 18. 自由エネルギーの比較:リポソームからバイセルへの転移における自由エネルギー

m) リポソームの局所圧力解析法の開発[34]

リポソーム-バイセルの形状転移を記述する上で必要なパラメータである弾性係数を局所圧力と関係付ける理論的な定式化を行った. さらに, リポソームの局所圧力を分子動力学法から計算する手法を開発した. これにより分子構造の異なる脂質分子膜の巨視的な弾性係数の計算が可能になった. これらの弾性係数を連続体モデルに結合することでマルチスケールシミュレーションの実現が可能になった.

巨視的弾性論においてリポソームは厚さゼロの流体膜とみなされるため以下のような Helfrich の自由エネルギーで記述できる.

$$f = \kappa(H - H_0)^2 + \bar{\kappa}K \quad (4)$$

ここで  $f$  は単位面積あたりの自由エネルギー,  $H$ ,  $K$  は平均曲率とガウス曲率である. それゆえ脂質膜の物性は  $\kappa$ : 曲げ弾性率,  $\bar{\kappa}$ : サドル弾性率,  $H_0$ : 自発曲率の三つのパラメータで表現される. この弾性自由エネルギーは(膜の厚さ)/(曲率半径) $\rightarrow 0$  という漸近系で定義されているため, ナノサイズのリポソームのように膜の厚さと曲率半径が同程度の系では, 厚さに関する補正として上述の物性値にサイズ依存性が現れ, 形状選択に関する安定性に影響を及ぼすことが予想される. 我々はこのサイズ依存性を調べるため, 曲がった膜を横断する方向に関する圧力分布からリポソームの弾性係数を計算する理論を構築した. 巨視的弾性論にあらわれる平均局率, ガウス曲率は厚さ無限小の曲面で定義される量であり, 曲面を定義する位置を変化させることにより値が変化する. そのため, 膜の厚さが有限である分子レベルの記述では, 曲率を定義する面の選択に任意性が生じる. そこで, 我々は, 膜の横断方向に関する圧力分布のモーメントから曲率を定義する面を一意に選択する理論を構築した. この方法により, リポソームの圧力分布の面積変化に対する応答係数の2次と0次のモーメントを用いて曲率を定義する面(中立面)を決定することができることを示した. さらに, 圧力分布の0次と1次のモーメントを用いて, 自発曲率と曲げ弾性率の積  $\kappa H_0$ , および, サドル弾性率  $\bar{\kappa}$  の二つの量を書き表せることも示した. 以上の理論を組み合わせることで弾性理論で表現されるリポソームの物性値を分子モデルから計算する方法を構築することに成功した.

さらに, 分子動力学計算から球状界面の動径方向に関する圧力分布を計算する方法を開発した. 局所圧力を有限の厚さを持つ殻で解析的に空間平均を実行することにより, 既存の3次元座標変数をもつ実装よりも数値的な安定性と精度を著しく向上することに成功した. 我々の実装は有機分子・生体高分子を記述する多くの汎用分子力場(AMBER, CHARMM, OPLS など)に適用可能である. 我々はそれらの力場を Irving-Kirkwood の積分路の方向ベクトルと力

のなす角に応じて二つのタイプに分類し実装上見通しの良い表現を得ることに成功した. この方法は多くの生体高分子系に適用可能であり, リポソームだけでなく, 非リポソームの DDS キャリアとして重要視されている高分子ミセル系にも応用可能である. 本方法を粗視化力場[4]を用いて(i)ヘキサン溶媒中の水の液滴, (ii)水溶媒中の C12E8 からなるミセル, (iii)水溶媒中の DMPC (図19)からなるリポソームの三つの系に適用し, 高精度の圧力分布(図 20)を得ることに成功した.

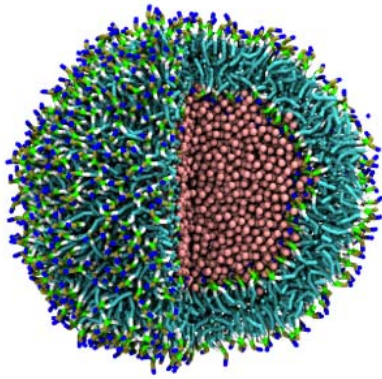


図19. 水溶液中のDMPCリポソーム

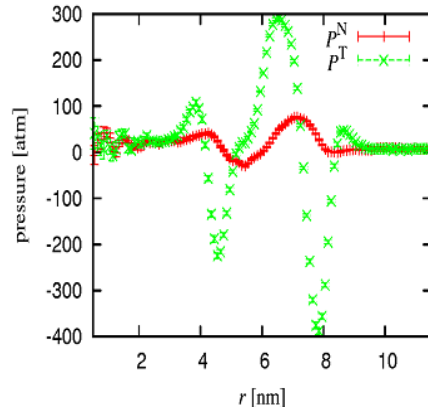


図20. 水溶液中のDMPCリポソームの圧力分布  
 $p^N$ :圧力の接線成分,  $p^T$ :圧力の法線成分

n) 流動場下におけるリポソーム構造と安定性[16]

散逸粒子動力学シミュレーションを用いてモデル脂質膜のラメラ構造へのせん断流動場が与える影響について調べた. 自己組織化されたラメラ構造の系にせん断を加えた場合, そのせん断が弱い場合には, ラメラの法線方向は必ず方向に垂直な任意の方向を向き, 方向は初期条件に依存して選ばれる. せん断率を増加させるとラメラの法線方向は, 初期条件によらず渦度方向を向くというヒステリシス現象を起こすことがわかった. このヒステリシスは法線方向だけでなくせん断応力でも観測された(図 21). 同様のシミュレーションをリポソーム系についても行い, リポソームの変形が比較的弱いせん断流でも引き起こされることを見出した. 血管中を運動するリポソームに生じる回転, 変形, 血管壁への吸着, 変形による膜透過性の変化や破裂による漏れなどの現象を記述し解析するために, 散逸分子動力学法を用いたモデル化を行った. 現在, これらの運動状態の変化や構造の変化を記述する理論の構築を試みている. 図 22 は流動条件下でのリポソームに見られる速度勾配に沿った伸張変形である. 現在, シアで生じた伸張によるリポソームの透過性の変化を解析している.

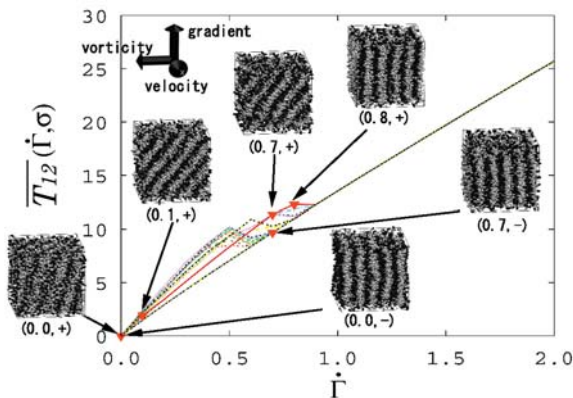


図 21. せん断応力とせん断率の関係. せん断は左右方向に速度を持ち, 上下方向に勾配を持つように与えられている.

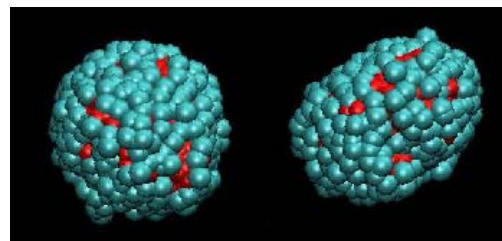


図 22. リポソームのスナップショット.  
 左図はシアなし, 右図はシアあり. シアは図の左右方向に与えられている.

o) 自己集合化膜の形成過程[15]

鎖状分子の基板界面への自己集合化膜形成過程を、粗視化分子動力学法で調べた。界面における分子の構造形成過程は、一般的には界面への分子吸着と表面での拡散で説明されるが、本研究では、長い鎖状分子系に着目し、鎖状分子の剛直性や分子鎖長などの分子特性が表面での配向秩序形成ダイナミクスに及ぼす影響に着目してシミュレーションを実行した。鎖状分子の秩序形成については、界面への分子吸着率と、吸着分子の分子配向率の2種類を用いて解析した。界面への鎖状分子の吸着プロセスの解析結果は、指数が0.4~0.5程度のべき乗則にしたがう時間発展をしており、拡散律速に基づく吸着挙動を示しているが、指数値は若干小さな値を示した。一方、配向領域の時間発展は、指数関数の和として表わされ、その時間発展挙動及び吸着分子の表面での分散状態から、島状成長、パッキング成長、成長阻害の3通りに分類することができ、成長様式は膜の作成温度と鎖状分子の剛直性で決定される。パッキング成長においては、図 23 に示すように、鎖状態分子は界面状に分散しながら表面密度の増大による自由体積の減少により秩序化していくが、鎖状分子は徐々に立ち上がり構造を形成するのではなく、最終平衡値に近い立ち上がり角度を持った分子領域が徐々に増えていくことにより系全体が秩序化していることが分かった。また、鎖状分子の鎖長と秩序化ダイナミクスの相関についても調べ、半剛直性な鎖状分子においては、分子鎖が長くなると、表面への吸着速度は若干遅くなるが、配向領域の成長は早くなってくることを示された。このように、配向膜の形成過程の制御における鎖状分子の性質の影響を調べることで、表面・界面における配向膜設計のための基本指針を解明した。

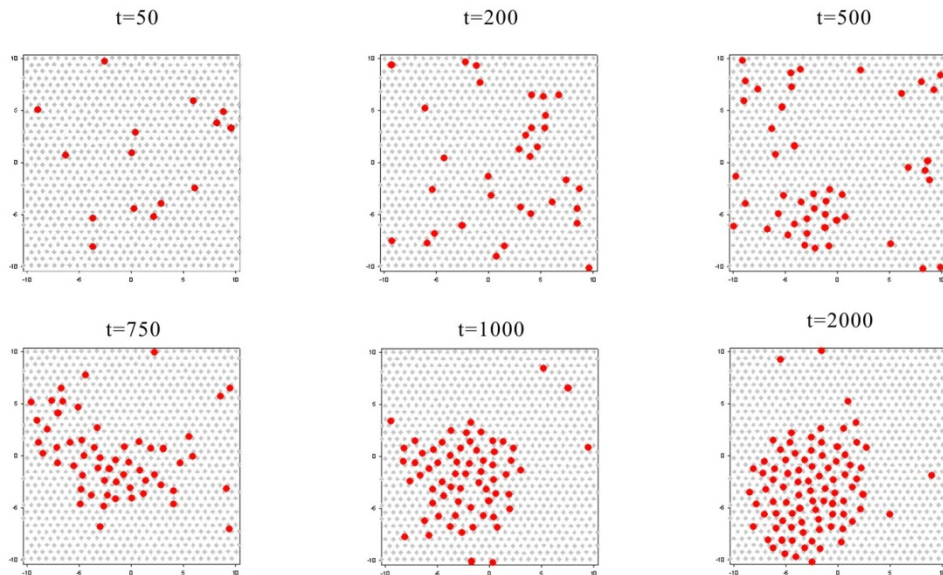


図 23. 島状成長領域における鎖状分子の分子鎖先端吸着位置の時間変化の様子

(2)研究成果の今後期待される効果

リポソームが重要な生体関連物質であることを反映して、そのシミュレーション研究は、最近、増加している。多くの研究では、リポソームが大規模系であるため、粗視化モデルが利用されている。その粗視化モデルのパラメータは、現象論的に決められたものであり、脂質分子の特性や構造を正確に反映していない。これに対し、本研究では、脂質分子間や脂質分子と水分子間の相互作用エネルギーを非経験的分子軌道法計算から決定し、その結果を原子レベルのポテンシャル関数にマッピングする。さらに、原子レベルのポテンシャル関数を利用した分子動力学シミュレーションを行い、粗視化分子モデルを構築した。このように本研究のポテンシャル関数の決定法は、電子レベル、原子レベル、分子レベルの相互作用を階層的に求めるため、脂質分子の特性と構造を正確に反映できるという特徴を持つ。このような方法で決定された粗視化分子モデルのポテンシャル関数を用いて初めて、脂質二重膜やリポソームの形成プロセスへの分子特性や分子構造の影響や、形成されるリポソームのサイズなどを正確に評価するこ

とができる。本研究で開発した粗視化モデルの構築法は、リポソーム型 DDS ナノ粒子の設計のみならず、高分子ミセル型 DDS の設計やコロイド粒子など様々な対象に利用することができる汎用的方法である。

また、本プロジェクトで開発した分子シミュレーションからリポソームや高分子ミセルの弾性定数を計算する方法論は、連続体力学で必要なマクロな物性値を与える具体的な分子種を予測することができる。この方法論の開発により、我々が目標に掲げた DDS におけるマルチスケールシミュレーションが可能になった。まだ、方法論ができあがった段階であるが、今後の DDS の研究を革新できる可能性を持つ。異なるサイズ、分子種、濃度比のリポソームの物性値を予測して最も適した組み合わせをこのマルチスケールシミュレーションから提案できる可能性が近い将来高まった。この他にも、細胞膜におけるエンドサイトーシスのメカニズムの解明にも役立つことが期待される。

以上のように、本研究で開発した分子シミュレーション技術は、種々の脂質分子やコレステロール・糖などの混合系や、ポリマソームなどの系におけるベシクル構造の安定性を評価し、混合系における物性向上のための基本指針を見出すことを可能にした。これにより、材料開発における条件スクリーニング手法を確立でき、材料開発期間の短縮という波及効果をもたらすと期待できる。

#### 4. 2 糖鎖とレクチンの分子間相互作用解析の研究開発(「産総研」グループ, 「京大」グループ)

##### (1) 研究実施内容及び成果

###### ① 研究のねらい

糖鎖を特異的に認識して結合する糖タンパク質はレクチンと総称され、多様な糖鎖と各種レクチン間の相互作用が生体中の細胞表面での分子認識プロセスにおいて本質的に重要である事が知られている。特に白血球の血管外浸潤は、体内の炎症部位における生体防御機構において本質的に重要なプロセスであるが、ここでも糖タンパク質セレクトインが白血球と血管内皮細胞との細胞接着に重要な役割を果たすことが良く知られている。このため白血球の血管外浸潤の生理学的現象の分子論的メカニズムの解明は、セレクトインタンパク質の糖鎖認識機構を明確にする重要性のみならず、リポソームと糖鎖からなる能動的標的指向性 DDS の開発には不可欠の課題であるが、現状では主として実験技術の限界(糖鎖のとりうる複雑な配座の多様性を同定する事が困難であり、また高分解能の結晶構造に基づいたタンパク質-糖鎖複合体の情報不足している等)により、レクチンの糖鎖認識機構の分子論的知見は殆ど得られてない。そこで、我々グループはこの現状を克服するため、典型的な糖タンパク質として動物レクチンの一種セレクトインを対象として取り上げて、糖タンパク質-糖鎖複合体の階層的なモデリング手法を提案し、糖鎖認識機構の分子レベルの情報を引出す事を目標とした一連の研究を展開する。また、タンパク質-糖鎖複合体の分子間相互作用は、インフルエンザウイルスの感染を支配しているので、最近その大流行が懸念されている鳥インフルエンザウイルスの人への感染機構について研究を行う。これらの研究に必要な不可欠な量子化学計算をベースとしたモデリング技術の確立を目指して、その中核となる FMO 法のさらなる高速化、高精度化、機能拡張を行う。

###### ② 研究実施方法

上記の研究のねらいを実現するために、第一ステップとして、a) フラグメント分子軌道(FMO)法の拡張機能の開発を行った。第二ステップとして、b)糖と芳香環の分子間相互作用の解析、c)糖分子と水分子の分子間相互作用の解析、d) 糖鎖とレクチンの分子認識機構の研究、e) インフルエンザ HA とシアロ糖鎖受容体の結合親和性予測の研究を行い、糖鎖とレクチンの分子間相互作用の解析技術を開発した。

###### ③ 研究成果

###### a) フラグメント分子軌道(FMO)法の拡張機能の開発[2, 11, 12, 13, 25]

構造が未知のタンパク質-リガンド複合体の構造を計算予測するため、高速構造計算法とし

て Frozen Domain FMO 法 (FMO/FD 法) を開発した (図 24). この方法は, リガンドと直接相互作用するタンパク質の一部分とリガンド含む部分系のみを, タンパク質の他の部位や溶媒が及ぼす静電ポテンシャル環境を考慮して構造最適化するもので, 得られた構造は満足できる精度を持つことを示した.

タンパク質とリガンドの結合エネルギーを評価するためには溶媒効果を考慮することが不可欠である. 電子状態計算で標準的に用いられる連続誘電体モデル (polarizable continuum model; PCM) と FMO 法を融合した FMO/PCM 法を高速化し, インフルエンザウィルスタンパク質と糖鎖複合体 (約 2 万 5 千原子系) の水和エネルギーを含めた結合エネルギーの計算を可能にした. さらに, より高精度な溶媒モデルとして, あからさまに水分子を考慮できる Day らによって提案された Effective Fragment Potentila (EFP) と FMO 法を融合した FMO/EFP 法を開発した. この方法では系の全エネルギー  $E_{\text{FMO/EFP}}$  は, FMO のエネルギー  $E_{\text{FMO}}$ , FMO 領域と EFP 領域のフラグメント間相互作用エネルギー  $E_{\text{FMO-EFP}}$  と EFP 領域内のフラグメント間の相互作用エネルギー  $E_{\text{EFP-EFP}}$  (通常の EFP 法と同じ) の和で書かれる.

$$E_{\text{FMO/EFP}} = E_{\text{FMO}} + E_{\text{FMO-EFP}} + E_{\text{EFP-EFP}} \quad (5)$$

あわせて, 本方法のエネルギー勾配を開発し, 小タンパク質の水和構造 (図 25) の計算を行って精度を検証し, NMR の実験構造と良く一致することを示した.

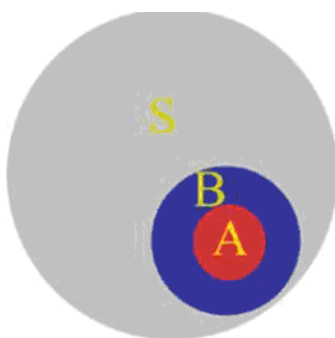


図 24. FMO/FD 法の模式図. A は構造最適化の対象領域, B はバッファー領域で構造は固定し, A の構造変化に応じて電子分布のみ変化する領域, S は構造も電子分布も固定する領域を示す.

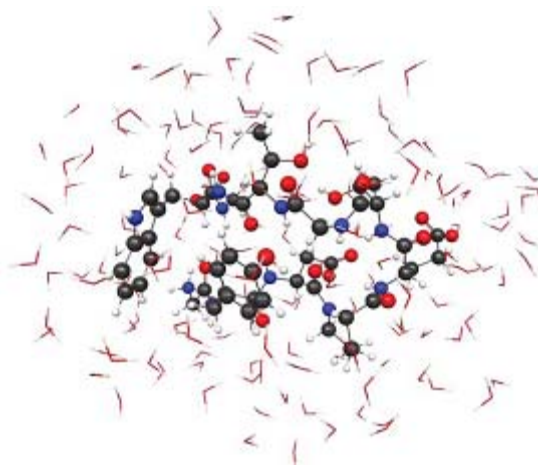


図 25. FMO/EFP 法による水和タンパク質 (chignolin) の構造計算

FMO 法で構造最適化や MD 計算を行う際に必要となるエネルギー勾配計算の精度を向上させるために, 完全解析微分を開発した. また, 時間依存密度汎関数法 (TDDFT) の微分, 連続誘電体モデル (PCM) の微分, 結合の切断から生じる射影演算子の微分, 結晶系における FMO 法の微分, 環境影響を表す静電場の微分を開発しプログラムに実装した. さらに, FMO 法の計算結果を用いて分子全体に広がった分子軌道を求める FMO/FX 法やラジカル系を計算するため開殻波動関数に基づいた FMO 法の開発, FMO 法による NMR (核磁気共鳴) 化学シフトの計算精度を実験値との差が 1ppm 以内まで向上させる改良を行った.

#### b) 糖と芳香環の分子間相互作用の解析 [7, 10, 31, 32]

タンパク質による糖の認識は糖タンパク質によるレクチンの認識など生体内のさまざまな分子認識において重要な役割を果たしている. 糖がタンパク質と相互作用する際に糖の水酸基はタンパク質のアミド結合や側鎖の極性基と水素結合している. 一方, 糖の疎水面はタンパク質の側鎖の芳香環と接触していることが多い. このため糖の疎水面の C-H 結合と芳香環の間に CH/ $\pi$  相互作用が存在し, 糖の認識に寄与していると考えられてきた. しかし, 糖の疎水面と芳香環の相互作用の詳細 (相互作用の大きさ, 引力の原因, 方向依存性など) は十分に解

明されていなかった。一方、小分子の CH/ $\pi$  相互作用の解析からは、CH/ $\pi$  相互作用を定量的に解析するには CCSD(T) レベルの電子相関の補正と、十分に大きな基底関数系を使うことが必要と報告されている。これまでに DFT 法や MP2 法を用いた糖の疎水面と芳香環の相互作用の解析はいくつか報告されているが、CCSD(T) 法による糖と芳香環の相互作用の精密解析はこれまでにほとんど報告されていなかった。そこで、糖の疎水面とフェニルアラニン、チロシン、トリプトファン芳香環の相互作用のモデルとしてフコースとベンゼン、フェノール、インドールからなるクラスターの安定構造を計算し、basis set limit での CCSD(T) レベルの相互作用エネルギーの計算を行った。そして、芳香環の種類による相互作用の大きさの変化や、静電力、分散力の引力への寄与を計算し、糖の疎水面と芳香環の間の相互作用の詳細を解析した。

構造最適化から得られたフコースとベンゼン、フェノール、インドールからなるクラスターの安定構造とこれらの安定構造が生成する際の安定化エネルギーの計算値を図 26 に示す。計算されたフコースとベンゼン、フェノールからなるクラスターの安定化エネルギーはそれぞれ -4.5、-4.9 kcal/mol であった。これらの相互作用エネルギーは水の二量体の水素結合のエネルギー(約 -5 kcal/mol)に近く、かなり大きな相互作用の働いていることが分かる。一方、フコース-インドールクラスターの安定化エネルギー(-6.5 kcal/mol)はベンゼン、フェノールの場合よりもさらに大きい。

フコースと3種の芳香環からなるクラスターの安定化の主な原因はいずれの場合も分散力であるが、静電力も安定化には寄与している。ベンゼン、フェノールよりもインドールの方がフコースとの相互作用が大きいのは、分散力の大きいことが原因である。フコースとベンゼン、フェノール、インドールからなるクラスターの安定構造での分散力の寄与はそれぞれ -6.0、-6.5、-8.8 kcal/mol と計算された。一方、静電力の寄与は -1.1、-1.1、-1.4 kcal/mol と計算された。3種の芳香環では静電力の寄与はほぼ同じであるが、インドールではベンゼン、フェノールの場合よりも分散力がかなり大きい。

フコースの C-H 結合と芳香環の接触した安定構造は芳香環の水素結合の構造と良く似ている。しかし、相互作用の性質は水素結合とは全く異なっている。通常の水素結合では引力の大部分が静電力であるが、フコースの疎水面と芳香環の相互作用では引力の大部分は分散力であり、静電力の寄与は小さい。方向依存性の大きな静電力の寄与が大きいので、通常の水素結合は非常に強い方向依存性を持つ。一方、フコースの疎水面と芳香環の間の引力は大部分が分散力なので相互作用の方向依存性が小さい。方向依存性が小さいために、フコースとベンゼン、フェノール、インドールからなるクラスターの構造最適化では、エネルギー差の小さな多くの局所安定構造が見つかった。

芳香環の違いが糖の疎水面との相互作用に与える影響を定量的な議論が可能となる CCSD(T) レベルの高精度 ab initio 分子軌道法で糖と芳香環の相互作用を解析した例はこれまでにほとんどなかった。また、静電力、分散力の寄与の定量的な解析もこれまでに報告されていなかった。本研究により糖の疎水面と芳香環の間に働く引力への大きさや相互作用の性質(引力の要因)を明らかにするとともに、糖の違いが芳香環との相互作用にどのような影響を与えるかを始めて明らかにした。

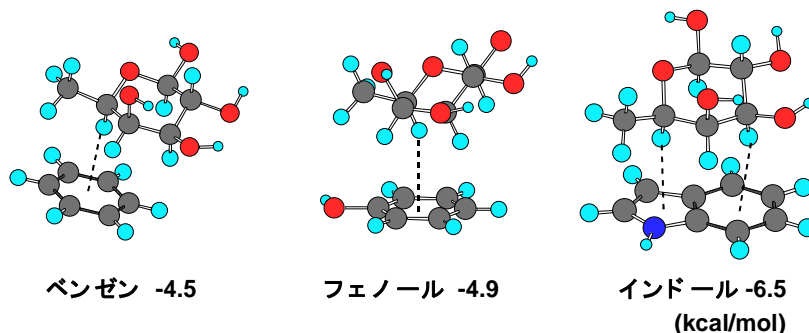


図 26. フコース-ベンゼン, フコース-フェノール, フコース-インドールクラスターの安定構造と相互作用エネルギー

c) 糖分子と水分子の分子間相互作用の解析[33]

水中では糖の疎水面は溶媒の水分子と相互作用しており、糖の疎水面とタンパク質の芳香環が相互作用する際には糖の脱溶媒和が必要となる。このため糖の疎水面と水の相互作用の強さは糖の水和エネルギーに影響を与え、タンパク質による糖の認識にも大きな影響を与える。しかし、糖の疎水面と水の相互作用の強さはこれまで十分に解明されていなかった。電子吸引性の置換基によって活性化した C-H 結合(例えばエーテル酸素の結合したメチル基, メチレン基の C-H 結合)は CH/O 相互作用により通常の C-H 結合よりも強く酸素原子と相互作用することが知られている。同様に糖の C-H 結合も酸素原子により活性化され, CH/O 相互作用によって強く水の酸素原子と相互作用すると思われる。だが糖の C-H 結合の CH/O 相互作用の詳細はこれまで未解明であった。そこで、フコースの疎水面と水の相互作用を高精度の *ab initio* 分子軌道法で計算し, 相互作用の強さを解析した。また, シクロヘキサンと水の相互作用と比較することで, 糖の酸素原子が CH/O 相互作用に与える影響について検討した。さらに, 糖の CH/O 相互作用への静電力, 分散力の寄与についても検討した。

フコースの疎水面と水分子の相互作用を解析した結果, 水の酸素原子がフコースの一つの C-H 結合と接触する構造よりも図 27 のように酸素原子が三つの C-H 結合と接触する構造の方が安定なことが分かった。フコースの疎水面と水の相互作用エネルギーは約  $-2.5$  kcal/mol と計算されており, かなり強い引力が働いている。一方, シクロヘキサンと水の相互作用エネルギーは半分以下の  $-1.1$  kcal/mol と計算された。フコースの CH/O 相互作用はシクロヘキサンの場合よりもかなり大きい。これは水と相互作用しているフコースの C-H 結合の炭素原子に酸素原子が結合していることで, C-H 結合が活性化している(水素の極性が強くなる)ことが原因と考えられる。

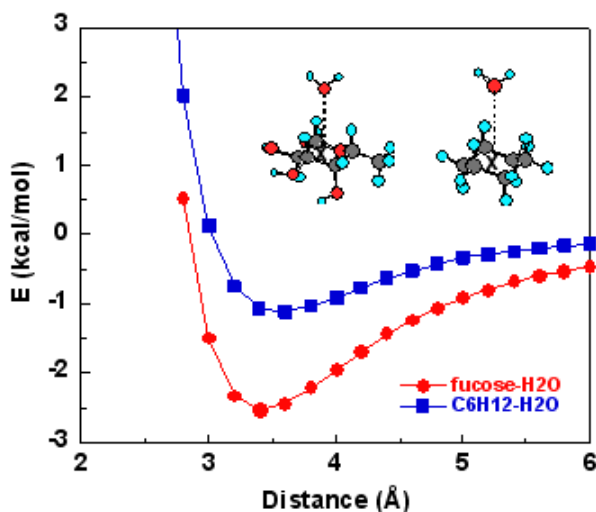


図 27. MP2/aug-cc-pVTZ レベルで計算したフコース-水系およびシクロヘキサン-水系の相互作用エネルギー

フコースと水, シクロヘキサンと水の引力への静電力の寄与はそれぞれ  $-1.5$ ,  $-0.1$  kcal/mol であった。一方, 分散力の引力への寄与はそれぞれ  $-1.5$ ,  $-1.3$  kcal/mol と計算された。フコースでは静電力と分散力の引力への寄与はほぼ等しい。一方, シクロヘキサンでは静電力の寄与は極めて小さく, 引力の大部分が分散力である。フコースでは C-H 結合の炭素原子に結合した酸素原子により C-H 結合の水素が活性化することで静電力が大きくなり, このためシクロヘキサンよりも CH/O 相互作用が大きくなっていることが分かる。水と糖の疎水面の CH/O 相互作用は糖の脱溶媒和エネルギーとも関連し, タンパク質による糖の分子認識にも大きな影響を与えている。しかし, 実験的な手法による定量的な解析は難しく, また高精度 *ab initio* 分子軌道法による解析もこれまで報告されていなかった。本研究では糖の CH/O 相互作用が飽和炭化水素の場合よりもかなり強いことと, 糖の酸素原子により C-H 結合が活性化されて静電力が大きくなることで糖の CH/O 相互作用が大きい原因であることを明らかにした。



これらの結果は糖の脱溶媒和のエネルギーの評価の基礎となるものであり、糖の分子認識のシミュレーションを精密化する際にも重要なものである。

d) 糖鎖とレクチンの分子認識機構の研究[5, 17, 30]

糖鎖-レクチンの分子認識機構を明らかにするため、白血球の毛管浸潤過程で重要な役割を果たす E セレクチン-シアリルルイス X 糖鎖複合体を取り上げ、糖鎖結合状態の分子モデリング技術を開発した。分子動力学計算と ab initio QM/MM 計算を組合せた大規模計算を実行し、図 28 に示すように、溶媒和と糖鎖の配座変化を表す縮約した2次元エネルギー面上に糖鎖構造を射影し、現実的な分子モデルに基づいた糖鎖結合構造を予測した。この方法で得られた自由エネルギー面上での集団構造に対して QM/MM 計算から NMR スペクトルの計算と帰属を行い、糖鎖結合状態の詳細な同定に初めて成功した。これらの結果、糖鎖とレクチンの分子認識機構について次のような重要な知見が得られた。1) 糖鎖結合構造は単一の固い糖鎖配座で記述されるのではなく、複数の揺らいだ集団構造の平均として見るのが重要である、2) 糖鎖結合サイトで強い相互作用を持つのはフコースとカルシウムイオン結合領域に限られる、3) 糖鎖の結合状態は、糖鎖分子の構造変化の自由度と糖鎖と環境(溶媒とレクチン)との相互作用の大きさによって決まる。

この方法の開発により、多くの自由度を持つため解析が困難だった糖鎖とレクチンの結合状態の構造解析が可能になった。

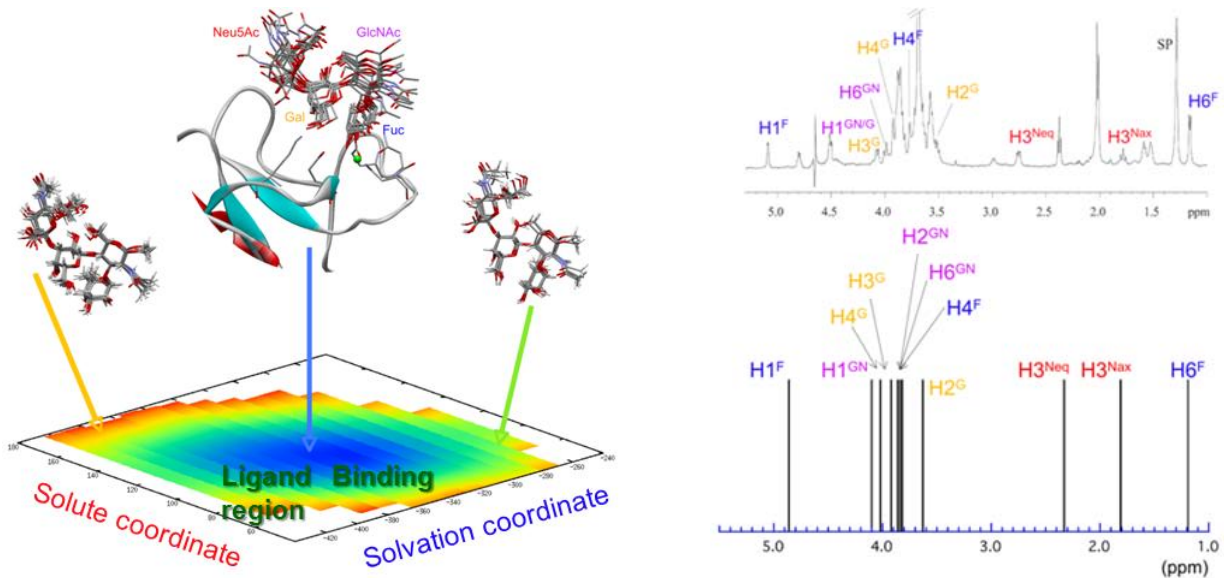


図 28. 溶媒和と糖鎖の配座変化を表す縮約した2次元エネルギー面上に糖鎖構造の射影(左図)とNMR スペクトルの実験値(右上図)と計算値(右下図)の比較

e) インフルエンザ HA とシアロ糖鎖受容体の結合親和性予測[26, 27]

10~40 年周期で世界的に流行するインフルエンザは、A 型インフルエンザウイルスが引き起こす。本ウイルスの自然宿主は水鳥(渡り鳥を含む)であり、水鳥→家禽→ブタ→ヒト→ヒトという宿主領域の変遷を経て、ヒト-ヒト間で容易に感染拡大する新型ウイルスとなる。A 型ウイルスの宿主領域は、ウイルス膜表面にスパイク状に存在する赤血球凝集素(HA, レクチン様糖タンパク質)と、宿主細胞膜の表面に存在するシアロ糖鎖受容体の相互作用に依存する。A 型トリウイルス HA H3 亜型(トリ H3)は、トリ細胞が多く発現する Neu5Ac  $\alpha$ 2-3Gal 糖鎖( $\alpha$ 2-3, 図 29 左)に強く結合する。一方でヒトウイルス HA H3 亜型(ヒト H3)は、Neu5Ac  $\alpha$ 2-6Gal 糖鎖( $\alpha$ 2-6, 図 29 右)に強く結合する。厄介なことに、トリ H3 のアミノ酸残基 Gln226 が Leu に変異すると、その H3 は  $\alpha$ 2-6 に強く結合する。ブタは、両方のシアロ糖鎖受容体を有しているため

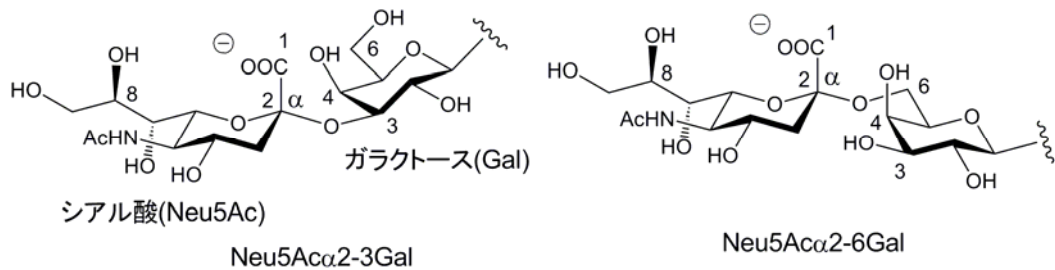


図 29. トリ型シアロ糖鎖(左)とヒト型シアロ糖鎖(右)

に, トリ H3 における点変異 Gln226Leu が起こる場になり得る. H3 のシアロ糖鎖結合性は, 実験によれば, トリ H3(Gln226)→ α 2-3, ヒト H3(Leu226)→ <2-6, トリ H3 Gln226Leu→ α 2-3 < α 2-6 になっている. しかしながらその分子論的機構は不明である. そこで, 本研究では, 分子動力学シミュレーションにより VN1194 H5 及びその変異体 Gln192Arg H5 と, ヒト型 alpha 2-6 糖脂質の複合体モデルをモデリングし, FMO 法で結合親和性を予測した.

強毒性トリ型インフルエンザ VN1194 H5 及びその変異体 Gln192Arg H5 と, ヒト型 α 2-6 糖脂質の複合体モデルを作成し, この複合体モデルを MD 計算で平衡化して安定構造を得た. その結果, 図 30 に示すように α 2-6 糖鎖部分は, 末端シアル酸を中心とした扇状に分布することが分かった. さらに, FMO 法で算出した VN1194 H5 と α 2-6 糖鎖の相互作用エネルギーのモデルサイズ依存性を調べ, 両分子間の結合自由エネルギー(溶質のエントロピー変化を含まない)を FMO-MP2/PCM 法で求めるのに適したモデルサイズを見出すことができた. また, H5 - α 2-6 糖鎖複合体では, 糖鎖から遠く離れたアミノ酸残基は結合自由エネルギーに影響を与えないことも分かった.

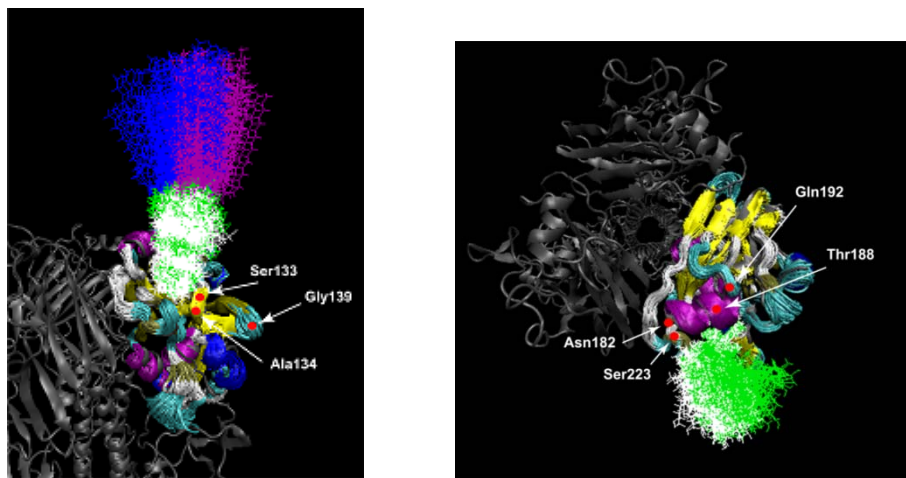


図 30. VN1194 H5 と α 2-6 糖脂質の複合体モデルの安定構造(左図). 白色および緑色の部分は α 2-6 糖鎖. 青色及び紫色の部分は脂質. 右図は α 2-6 糖脂質の上部から見た構造

続いて, HA-シアロ糖鎖相互作用がシアロ糖鎖の homotropic allosteric 効果について, FMO 法を用いて調べた. 赤血球凝集素 HA は, シアロ糖鎖結合ドメイン HA1 と膜融合ドメイン HA2 から成る C3 対称性の 3 量体糖タンパク質である. 各 HA1 ドメイン表面に糖鎖結合サイトが一つ存在する. 従って, 一つの HA に対して三つのシアロ糖鎖が結合できる. HA-シアロ糖鎖相互作用は, シアロ糖鎖の homotropic allosteric 効果(一つ目のシアロ糖鎖が結合することで, 二, 三つ目の結合が促進される)の可否を FMO-MP2/PCM/6-31G(d)レベルのエネルギー計算により調べた.

図 31 に示すように, HA 三量体-シアロ糖鎖複合体を FMO-MP2/PCM/6-31G\*でシングルポイントエネルギー計算した結果, HA 三量体に対する一つ目のシアロ糖鎖結合は, 二つ

目及び三つ目のシアロ糖鎖結合に影響しなかった. すなわち, HA 三量体が有する三つのシアロ糖鎖結合サイトは等価であることを解明した. 本結果は, HA 三量体とシアロ糖鎖の相互作用にアロステリック効果がないことを示しており, 既存の実験結果を説明した.

$\Delta G$  (kcal/mol) -18.9      -18.9      -18.9      -18.9

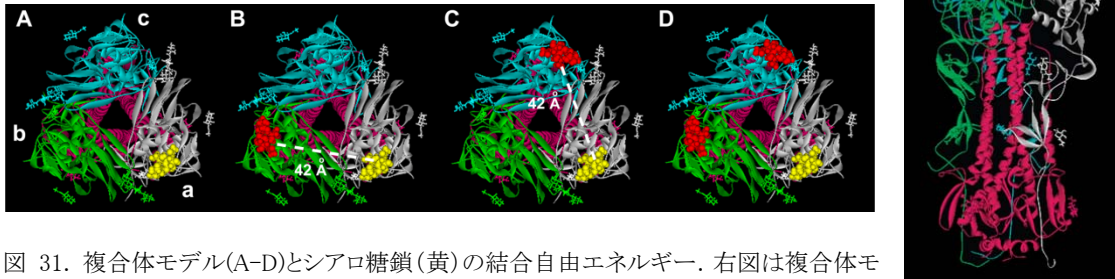


図 31. 複合体モデル(A-D)とシアロ糖鎖(黄)の結合自由エネルギー. 右図は複合体モデルを横から見た構造図. このモデルは約 24000 原子を含む.

タンパク質-リガンド相互作用には, 静的エネルギー補償関係が存在すると考えられている. 図 32 には, その概念図を示した. リガンドは, タンパク質の活性サイトと直接分子間相互作用して, 複合体を安定化する(図 32 の赤点線). 一方で, リガンドと活性サイトの内部エネルギーは, 分子間相互作用による分極によって不安定化する(図 32 の青線部). 活性サイトの内部エネルギー不安定化は, 緩衝領域の内部エネルギー安定化によって一部相殺される(図 32 の赤線部).

本概念及び, これまでの研究成果を踏まえて, 強毒性トリインフルエンザ VN1194 H5 及びその 2点変異体 Gln192Arg Ser223Asn H5 と, ヒト型  $\alpha$  2-6 糖脂質の相互作用(図 33)を FMO-MP2/PCM/6-31G\*で解析した. その結果, VN1194 H5 2点変異体とヒト型  $\alpha$  2-6 糖脂質の結合自由エネルギーは, 野生型 VN1194 H5 のそれよりも約 9 kcal/mol 大きいことが分かった. この原因は分極相互作用であった. この結果は実験結果と定性的に一致した.

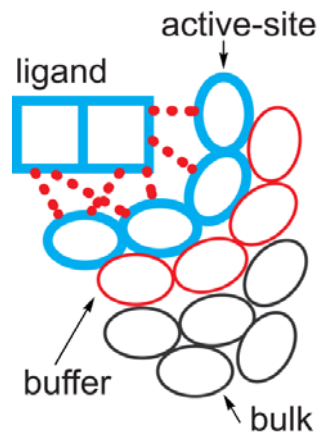


図 32. タンパク質-リガンド相互作用におけるエネルギー補償関係の概念図



図 33. VN1194 H5-ヒト型  $\alpha$  2-6 糖脂質複合体

## (2)研究成果の今後期待される効果

数百から数千原子からなる糖鎖-レクチン系の分子間相互作用解析を実行するためのプラットフォームとして, FMO 法の機能追加を行った. 本プロジェクトで開発したエネルギー勾配計算の精度を上げるための環境影響を表す静電場の微分法は, 大規模系の構造最適化や第一原理分子動力学シミュレーションを行う際に必要不可欠である. また, 溶媒効果を高精度に扱うこ

とができる有効ポテンシャル EFP(Effective Fragment Potential)を FMO 法に組み込み、多体分極を含む FMO/EFP のエネルギー計算を可能にした。これらの方法は、糖鎖とレクチンの系だけでなく、あらゆる大規模分子系に適用できる汎用的方法であり、今後広く利用されることが期待できる。また、溶媒中のタンパク質や糖鎖などの大規模分子系を高精度で計算できるようにしたことは、この分野の研究開発に革新をもたらすと期待できる。

タンパク質分子と糖鎖の分子間相互作用に関する研究は、糖鎖分子の自由度が大きいこと、Ab initio MO 法を用いた研究の対象にならなかった。そこで、本研究では、タンパク質分子と糖鎖の分子間相互作用を重要部位に分割して研究することにした。タンパク質が糖を認識する際には糖の疎水面とタンパク質の側鎖の芳香環が接していることが多く、糖の疎水面と芳香環の相互作用が糖の認識において重要な役割を果たしていると考えられてきた。しかし、糖の疎水面と芳香環の相互作用の詳細は明らかではなかった。本研究により、芳香環の種類による相互作用の大きさの違いや、静電力、分散力の引力への寄与の大きさが明らかになった。これらの結果はタンパク質による糖の認識を理解する際の基本的な情報であるとともに、糖の認識機構の精密な分子動力学シミュレーションを実行する際に必要となるものであり、本研究の成果により糖の分子認識の研究が加速され、糖鎖を用いた DDS の研究がさらに発展するものと期待される。同様に、水と糖の疎水面の CH/O 相互作用は糖の脱溶媒和エネルギーとも関連しており、タンパク質による糖の分子認識にも大きな影響を与えている。糖の CH/O 相互作用を定量的に解析し、引力への静電力、分散力の寄与を明らかにしたことは、糖の分子認識過程の理解を深めることに役立つだけでなく、糖の分子認識過程のシミュレーションの精密化にも寄与する。これらの成果により、今後の DDS の研究やさまざまな糖の認識に係る研究が進展することが期待される。

レクチン-糖鎖の分子認識機構の解析は、多くの自由度を持つため解析が困難だった。本プロジェクトで開発した解析方法(分子動力学計算と ab initio QM/MM 計算を組合せた大規模計算を実行し、溶媒和と糖鎖の配座変化を表す縮約した2次元エネルギー面上に糖鎖構造を射影し、現実的な分子モデルに基づいた糖鎖結合構造を予測)は、レクチン-糖鎖の分子認識機構の解析にブレークスルーをもたらした。本論文は、J. Phys. Chem. B の表紙を飾り、注目を集めた。この解析方法により、NMR スペクトルの帰属が可能になり、糖鎖結合状態の詳細な同定に初めて成功した。この解析方法は、レクチン-糖鎖の分子認識機構の解明に限らず、自由度が大きく解析が困難な系に広く適用できると期待される。

鳥インフルエンザウイルスの感染に関しては多くの実験データがある一方で、その分子論的解明は手つかずのままであった。本研究では、本プロジェクトで開発した FMO/PCM 法と MM レベルの基準振動解析の組み合わせた方法を用いて、H3 のシアロ2糖に対する結合親和性の大小関係を定性的に説明することに成功した。これらの成果は、鳥インフルエンザウイルスの感染機構の解明に向けた第一歩であると評価できる。また、VN1194 H5-ヒト型  $\alpha$ 2-6 糖脂質複合体の原子数は約 25000 という通常の Ab initio MO 法では不可能規模の系であり、FMO 法で初めて可能になった計算である。FMO 法は並列化に適したアルゴリズムであるので、京コンピュータの能力を最大限に発揮できると期待できる。京コンピュータで本方法を用いて、人類にとって極めて危険である鳥インフルエンザウイルスの感染機構の解明が進み、さらに薬剤開発を促進できると期待できる。

#### 4.3 DDS ナノ粒子の血管内における流動解析の研究開発(「農工大」グループ)

##### (1) 研究実施内容及び成果

###### ① 研究のねらい

薬物を特定の患部にのみ運搬し、作用させることは、薬効を飛躍的に高める上でも、また副作用を少なくする上でも、極めて重要であり、薬剤を内包し運搬するキャリアー(薬物運搬体)の研究開発が進められている。このような薬剤運搬システム(DDS)はナノスケールからミリスケールに及ぶマルチスケール・マルチフィジックス問題であり、農工大グループは薬剤分子を内包する DDS ナノ粒子を血液の流れを利用して患部にまで壊さずに効率良く輸送するシステムの開発を分担している。

## ② 研究実施方法

本プロジェクト農工大グループの実施計画では、(i) まず初めの1年を掛けてこの計画を有効に進めるための研究現状の調査、解決すべき課題の絞り込みやグループ内の関係のあり方などについての検討、(ii) 2年目からシミュレーションそのものの開発と信頼性チェックのための予備計算、シミュレータ組み込み方策の検討、(iii) 3年目から本格的な大規模計算の実施とシミュレータ統合に向けてのプログラムやデータ形式の改良、およびシミュレータの有効性の検証と有効性向上のための改善、などのステップで研究開発を進めた。

## ③ 研究成果

血液はその55%は血漿という液体成分であるが、他に赤血球、白血球、血小板などの固形成分から構成されている。赤血球は直径約 $8\mu\text{m}$ 、厚さ約 $2\mu\text{m}$ の双凹円板状であり、固形成分の99%以上を占めている。血管は大動脈から動脈、細動脈、毛細血管へと分岐をしながら末端の細胞組織に必要な酸素や栄養物を輸送し、逆に、細静脈、静脈、大静脈に合流し心臓に至る。大動脈部の管径は数cm、流速は数 $10\text{cm/s}$ のオーダー、動脈では管径は $1\sim 0.1\text{mm}$ 、流速は $1\sim 0.1\text{mm/s}$ のオーダーで、これらはいずれも脈動流である。これに対して毛細血管では管径は数 $\mu\text{m}$ で赤血球と同程度、流速は数 $\text{mm/s}$ のオーダーではほぼ定常流になっている。白血球は通常の状態では固形成分の0.2%以下と数は少ないが、赤血球の数倍の大きさの丸い形状をしていて、毛細血管中を大変形しながら移動する。細胞組織に異変が生じると、血管内皮細胞上に特異なレクチンが現れ、それを感知した白血球が患部付近の血管壁に近づき細胞壁の間隙から組織内に侵入すると言われている。我々のプロジェクトでは、必要な薬剤をこの白血球の機能を模倣した粒子に封入し、患部まで輸送する方策を探っている。

過去の研究を踏まえ、DDS粒子としては大きさが100ナノメートル程度、脂質二重膜で囲まれたリポソームが適当と考えられている。しかしながら、現状での知識は限られており、投入されたリポソームが(1)患部に至るまで破壊されずに輸送され、(2)患部を認識し、(3)その近傍の血管内皮細胞間隙を透過するだけの変形能をもち、(4)患部に到達後、そこで膜が破れて薬剤を放出するために必要な条件が何であるかが手探り状態である。前述(2)の課題は本グループのG1、G2で進められており、ここではそれ以外の項目に着目する。まず、(1)についてであるが、実際の血液では、血漿中に高濃度で赤血球や白血球が存在する中に、さらにリポソームを加えることになるので、これらすべての粒子の相互作用を無視することはできないはずである。しかし、一般によく知られているように、変形し得る物体は管の中を流れると管の中心軸付近に集まる傾向(集軸効果)が現れる。また、血管壁付近では、粒子が半径以上には近づけないという幾何学的な効果(排除体積効果)も生じる。血管壁に沿っての配列はもちろん変形能によりやや緩和されるものの、血管壁近傍には血球の数密度が小さく、おもに血漿成分からなる領域(プラズマ層)が形成される。血球よりも1桁以上小さなリポソームであれば、血管壁付近の粒子濃度の低い領域に押し出されると考えられる。リポソームそのものはごく微量であることを想定しているので、流体力学的に見れば、単一のリポソームが血管壁近傍のずれ流れの中をほぼ単独で輸送されるという描像が成り立つ。また、患部付近では血管内皮細胞の間隙を通して血液が組織内に流れていくための圧力差のような何らかの仕掛けが予想される。他方、細胞レベルに関する解剖学的な文献調査により、血管内皮細胞に存在する糖鎖分子の林立した特異な構造(glycocalyx: 糖衣構造)と異常増殖細胞の近傍での細胞間隙拡大が明らかになってきた。さらに、生体組織内の細胞間隙が不均一な場合には、それを反映した血流路が形成される「血管新生」の問題もDDS粒子の輸送に有効に使える可能性がある。そこで、これらの課題に対して以下の三つのサブテーマのもとに、流体力学的な解析を行った。いくつかの異なるアプローチを試みたが、いずれの場合も流体運動に伴うレイノルズ数は充分小さいので、ストークス近似に基づいたDDS粒子の輸送過程のシミュレーションの方法を開発した。

### a) DDS粒子と血管内皮細胞上の糖衣の相互作用[38]

近年、血管内皮細胞上に存在する糖鎖分子層(糖衣構造)の重要性が明らかになってきているが、その役割についての知見や定量的なデータは極めて乏しい状態にある。そこで、本研

究課題の一つとして、DDS 粒子と糖鎖の流体力学的相互作用を、その形状や配置および変形能を考慮して計算し、粒子の細胞間隙透過に及ぼすこれらの構造の効果を検証することとした。図 34(a) (b)はその概念図である。

血管内皮をビーズの平面配列で近似し、その一部に空隙を設ける。これが内皮細胞間隙に相当する。血管内皮細胞の上に林立している糖鎖を表現するために、各細胞にはさらに小さなビーズを紐状に並べたものを設置し、また DDS 粒子も一つのビーズで代表する。これらのビーズはいずれも分子の集団を粗視化したものであり、それらの相対的な大きさは解剖学的なデータの比に合わせてある。したがって、個々のビーズが血管内皮細胞の一つ一つに対応しているとみなすことも可能であるし、また、細胞表面を単純な球面で近似することが問題となるのであれば、より小さなビーズの集合体として細胞の形状を表現することもできる。ここでは、細胞の形状やその変形能が DDS の運動に与える影響を調べる前に、まず糖衣構造の影響を評価することを目的として細胞の扱いは単純化した。糖鎖の変形能を記述するために、糖分子に相当するビーズをつなげて変形する糖鎖構造を表現している。糖鎖の下端は内皮細胞に固定されているが、そこを基点として回転や変形が可能である。以上のモデルに基づいて、DDS 粒子、糖鎖、内皮細胞の相互作用を流体力学的に計算し(この計算にはビーズモデルと呼ばれる方法を採用)、DDS 粒子の透過過程を解析した。

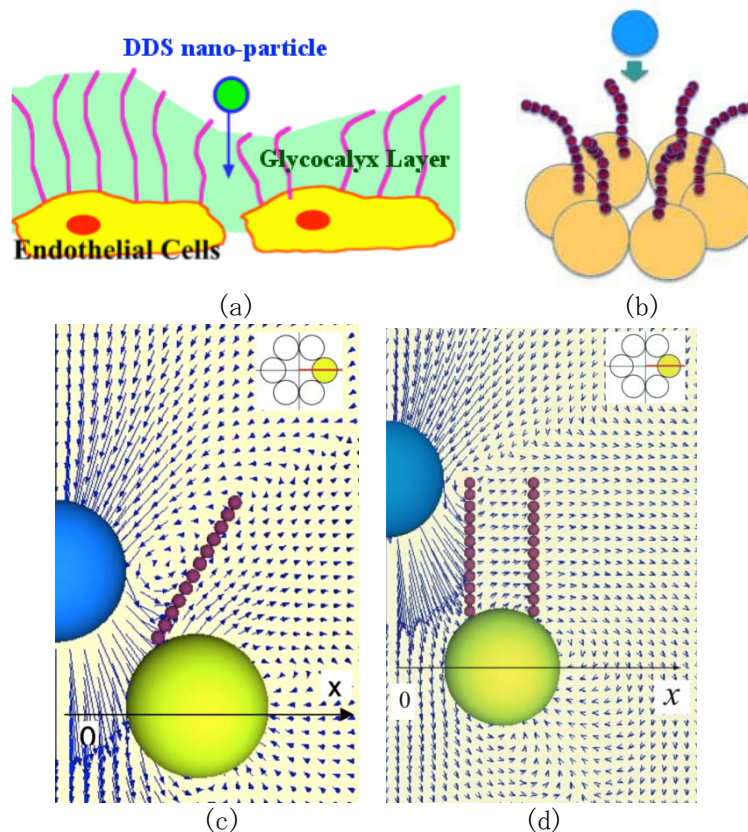


図 34. DDS 粒子と糖鎖の相互作用。(a) 糖鎖をもつ血管内皮細胞間隙を通過する DDS 粒子、および (b) そのビーズモデルによる近似。(c) DDS 粒子と内皮細胞を含む断面(上部挿入図の赤い線で示した断面)内の速度分布。(d) 2列の糖鎖の効果。

図 34(c)は DDS 粒子が間隙に接近したときの流れの様子である。血管内皮細胞を表現するビーズは平面上の三角格子点に多数配置するものの、もっとも影響の大きなものは間隙に隣接する6個のビーズであり(図 34(b)), また、図 34(c)では DDS 粒子が中心軸上を移動しているので、対称性を考慮して一つの断面内での速度分布を示している。DDS 粒子前方の流れは細胞間隙を通過しているが、その側方では傾いた糖鎖との間に循環的な流れ(渦流れ)が発生している。図 34(d)は一つの内皮細胞に2列の糖鎖を配置したものであるが、流れは間隙に近い

側の糖鎖でブロックされ、その外側には大きな影響を及ぼしていないことが伺える。壁面上に並べた剛体や弾性体の棒の列で糖衣を表現し、それを実効的な透水係数をもつ多孔性媒質で連続体近似した例はこれまでもみられたが、DDS 粒子が個々の糖鎖や血管内皮細胞と相互作用しながら細胞の間隙を透過する例を解析したものはここで示されたものが初めてである。

b) リポソームの血管内輸送と血管内壁間隙の透過[3, 28, 41, 42]

ここでは糖鎖の存在は無視し、分枝を伴った管内流れの中での DDS 粒子(液滴あるいはベシクル)の変形能がその挙動に与える影響についての数値シミュレーションを試みた。平面壁の近傍の主流としてずれ流れを仮定し、2次元、あるいは3次元の分枝部には圧力差を与えて吸い込み流れを作っている。背景流れを特徴づけるものは、流体の粘性率  $\mu$ 、主流でのずれ流れの割合  $\gamma'$ 、分枝部分の幅(2次元流れでは間隙の幅、3次元流れでは直径)  $2w$ と分枝部分の圧力勾配  $p_y$ である。また、DDS 粒子として液滴を選んだ場合には、その大きさ  $d$ (半径  $a$ )、内部液体の粘性率  $\mu'$ 、表面張力  $\sigma$ 、および初期位置(血管壁面からの距離  $l$ )などが粒子の挙動を特徴づける。図 35(a)はその一例で、ずれ流れの中を壁に沿って進んで来た液滴が、分枝に吸い込まれていく様子を示している。計算は境界要素法(Boundary Element Method; BEM と略記)で行った。図 35(b)は2次元計算の例である。吸い込み圧力が充分大きい場合に、液滴が大変形しながら細胞間隙(分枝部分)に吸い込まれていく様子が伺える。

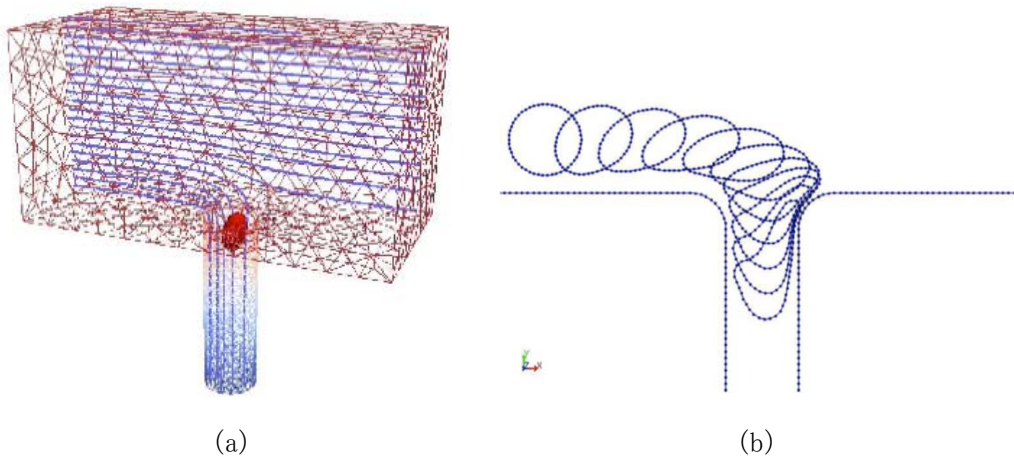


図 35. (a) ずれ流れと吸い込み流れの中での液滴の移動の一例(3次元). 図中の青い線は流線を、また赤く塗りつぶした粒子は液滴を表す。(b) 2次元のシミュレーション. 液滴の変形と分枝への吸い込み. 分枝の幅と液滴の比  $w/a = 1$ , 液滴の粘性率比  $\mu'/\mu = 10$ , 液滴の初期位置は血管内壁から  $l/a = 1.5$ . 無次元表面張力  $\sigma^* \equiv \sigma / (\mu \gamma' a) = 0.1$ , 無次元吸い込み圧力  $p^* \equiv p_y a / (\mu \gamma') = 2$ .

粒子の軌道は2次元、3次元とも定性的に酷似している。そこで、分枝への輸送について液滴の表面張力と吸い込みの強さ依存性を、2次元計算の例で示す(図 36)。これは、分枝の幅と液滴の比  $w^* \equiv w/a = 1$ 、液滴の粘性率比  $\lambda^* \equiv \mu'/\mu = 10$ 、液滴の初期位置は血管内壁から  $l^* \equiv l/a = 1.5$  としたときの一例である。また、 $\sigma^* = \sigma / (\mu \gamma' a)$ 、 $p^* = p_y a / (\mu \gamma')$  によりそれぞれ無次元表面張力、無次元圧力勾配を定義している。液滴の変形の様子は表面張力や粘性率比などの違いによる差はあるものの、同じ幾何学的条件の下での分枝への輸送に関しては圧力勾配が支配的であることが伺える。さらに詳しく粒子が分枝部に吸い込まれる判定条件を探ったところ、 $\alpha^* \equiv w^{(D+2)} p_y / (\mu \gamma' l^{(D+1)})$  がある臨界値  $\alpha_c^*$  を超えると液滴は分枝に吸い込まれることが認められた。ただし、 $D=2, 3$  は次元を表す。大雑把な言い方をすれば、 $\alpha^*$  はずれ流れにより分枝部を通過する速度に対する分枝部に向かうポアズイユ流れの速度の大きさの比である。これが圧力勾配に比例し、ずれ流れの大きさに反比例するというのはもちろんであるが、分枝部の幅の 4 乗(2次元の場合)あるいは 5 乗(3次元の場合)に比例することは著しい特徴で、

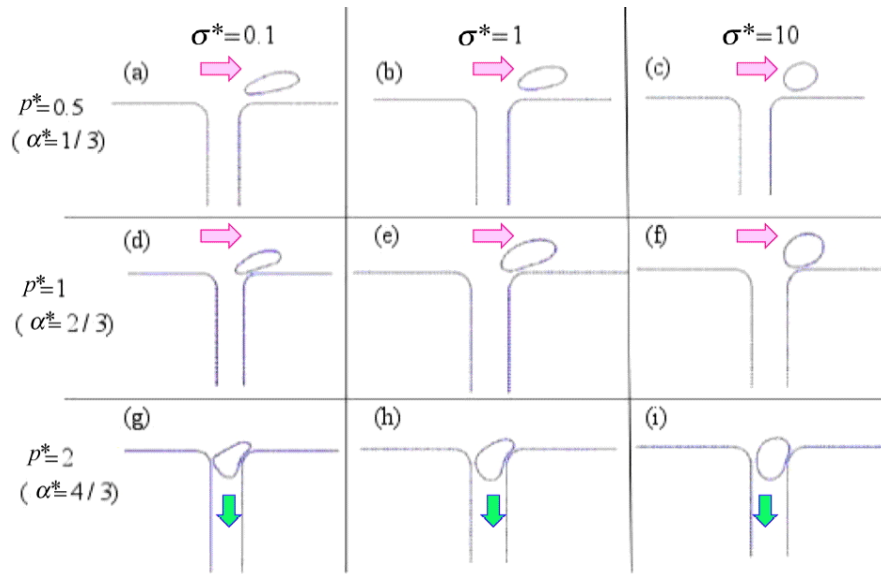


図 36. 吸い込みによる分枝への液滴の輸送. 分枝の幅と液滴の比  $w/a=1$ , 液滴の粘性率比  $\mu'/\mu=10$ , 液滴の初期位置は血管内壁から  $l/a=1.5$ .

病変部位で急速に細胞が成長した時に細胞の大きさとそれらの間隙の増加が DDS 粒子の通過を高めるといふ、いわゆる EPR 効果(Enhanced Permeation and Retention effect) を定量的に説明するものとなっている。また、血管壁からの距離の3乗(2次元の場合)あるいは4乗(3次元の場合)に反比例して間隙を通過しやすくなるという効果は、病変部位に接近した白血球が血管内壁に近づくほど、目的とする細胞間隙に侵入しやすくなる過程を説明しうるものと考えられる。臨界値  $\alpha^*$  は液滴の表面張力や液滴内外の流体の粘性の比にあまり依存しない。これまで、分岐した管内の流れのみを計算した例や、直管内流れの中での剛体球の輸送や液滴の変形と輸送を計算した例は数多く知られている。しかし、本 DDS シミュレータで想定されるような、壁に平行な主流によって搬送された液滴が、壁の一部に存在している狭い間隙から吸い込まれるという状況をシミュレートした例はほとんど知られていない。とくに、液滴がその大きさと同程度の間隙を通過するときどのような変形をし、また、間隙の幅の増加によって液滴の透過性がどのように増加するかを明らかにしたことは注目に値する。

これらのシミュレーションプログラムは OCTA のユーザインターフェイス GOURMET 上で動作し、OCTA-BBS に公開予定である。

#### c) 細胞集合体の中での血管新生[14, 29]

固定された血管内皮細胞間隙の透過だけでなく、細胞集合体の間隙の不均一性が流路を成長させたり血液流を変化させたりする場合に、DDS ナノ粒子をどのように搬送するかも重要な課題の一つである。とくに、癌などの急速に増殖する細胞近傍や腫瘍細胞では間隙の再配置や流入する血流の増加によって自己形成する流路を利用し、また、肝硬変などの類洞構造変化により血流障害が生じた部位に自発的に流路を形成させて、DDS ナノ粒子を搬送することができれば薬効の向上が期待される(図 37(a)の概念図)。このサブテーマでは、こうした流路形成の可能性をシミュレーションと実験により検証した。流体力学的には、透水係数が一様に分布していない多孔性媒質の中での流れを計算し、流れの集中と応力の局所的増加の繰り返しにより、媒質の構造が破壊される過程を逐次シミュレートしたものである。たとえば、図 37(b)は細胞組織内を流れる血液が、二つの異常増殖細胞の相互作用により単独の場合に比して集中する効果の高まっている様子を示している。図 37(c)は流れの集中によって媒質の構造破壊が生じ、二つの疎な領域(「空洞」と略記)が融合するとともにこの新たに生じた空洞がさらに流れを集中させ、より大きな空洞領域に発展する様子を示したものである。さらに、透水係数の高い領域が多数分布し、それらが長距離にわたり連結すると、流路形成に至ると考えられ、その



ための条件が調べられた。図 37(d)はその一例で、初期に存在している空洞の大きさ、分布、全体に掛かる圧力勾配などにより、空洞同士の連結が進んでいく様子を示している。このような生体内での構造破壊と流れの非線形相互作用を扱った研究はこれまでほとんど知られていない。これらのことは生理学的な血管が形成される血管新生(Angiogenesis)より以前に、血流障害のある領域の近傍に人為的に空洞領域を作り、自発的なバイパス形成を誘導して DDS 粒子を搬送するといった新たな治療方法の可能性を示唆している。

以上のように急速に増殖する細胞近傍での間隙の粗大化と血流の増加、腫瘍細胞に流入する血液の流路形成(微細血流路形成)およびそれを利用した DDS リポソーム輸送はまだ臨床等の実績がなく、本研究はその可能性をシミュレーションにより明らかにしたものである。現在は、これらを3次元領域の計算や組織の変形を取込む方法の開発に向け、また本プロジェクト内の他のグループとの密な連携をはかりながら、さらに実用に耐え得るシステムに拡張する方向で研究開発を進めている。当初計画にほぼ沿ってプロジェクト研究が進められて来たと考えられる。

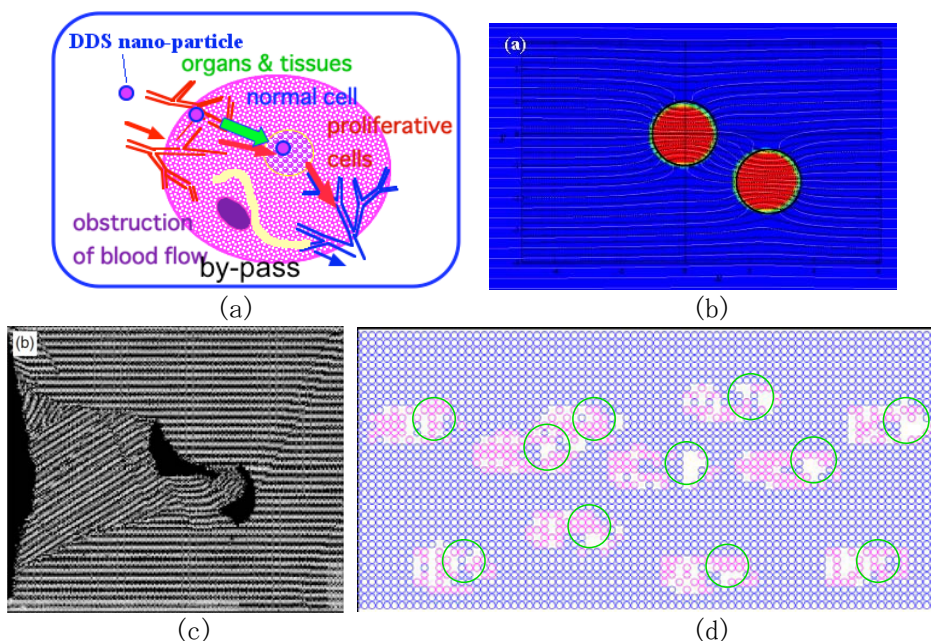


図 37. 異常増殖細胞領域への血液流入増加や血流障害部位でのバイパス形成。(a)概念図。(b)二つの空洞の相互作用。(c)空洞の合併と微細血流路形成。(d)細胞間隙の連結による新たな流路形成と DDS 粒子の輸送。青色の小さな円は固定された粒子。緑色の円は初期の空洞。ピンク色の小さな円は流動化した粒子で、これと白抜き部分がつながり長距離に渡って連結した流路に成長する。

## (2)研究成果の今後期待される効果

これまでのところ、ある種の病変に対して糖鎖が血管内皮細胞から離脱したり、数密度を変化させたりする事例は報告されているが、それがどのような役割を果たしているかについては医学・生理学的にも未知である。われわれの研究により、糖鎖の幾何学的な配置や変形能などの違いが、DDS 粒子の内皮細胞間隙透過に与える影響を評価する路が開けたので、今後はこの成果を医学・生理学分野にフィードバックし、より定量的な臨床データを得ることが期待される。さらに、こうした定量的なデータが集積されてくれば、やがては糖鎖の制御によって DDS 粒子の搬送精度を向上させることも期待される。

本プロジェクトでは、糖衣構造の有無と平行して、DDS 粒子の変形能や血管内皮細胞間隙の大きさが DDS 粒子の細胞間隙透過に与える影響も計算した。とくに細胞間隙の4乗(2次元の場合)あるいは5乗(3次元の場合)に比例して DDS 粒子の透過性が増すという知見はこれまで

で定性的に知られていた EPR 効果(Enhanced Permeation and Retention effect)を定量的に裏付けたものであり、今後の薬剤搬送技術全般に決定的に重要な効果を与えるものと期待される。

一般に、細胞組織内への DDS 粒子の輸送については、細胞表面に付着した物質が細胞表面の陥没によりその内部に取り込まれる、いわゆるエンドサイトーシスがよく知られているが、そこに至るまでの細胞組織内の DDS 粒子搬送の方策として、細胞間隙を一定方向に連れ、誘導用の水路を形成することができれば搬送効率を著しく高める効果が期待できる。ここでは癌細胞や腫瘍部への血流自然増加を応用する方法や、血流障害部位に積極的に流路を形成する方法などの可能性を示したが、いずれの場合にも、患部に向かう流路を利用した効率のよい DDS ナノ粒子注入技術として今後の応用が期待される。

#### 4. 4 DDS シミュレータのシステム開発(「産総研グループ」,「農工大」グループ)

##### (1)研究実施内容及び成果

##### ① 研究のねらい

DDS の実験研究者も簡便に利用できるような各グループが開発するシミュレータを統合し、DDS シミュレータとしてパッケージ化する。また、本シミュレータを次世代スパコンへ展開する。

##### ② 研究実施方法

研究代表者らが H15 年度より開発してきた統合ナノシミュレーションシステム(INSS)に本研究で開発したシミュレータ及び解析ソフトウェアを組み込み、DDS 専用の GUI とモデリングシステムを構築し、DDS シミュレーションシステムを開発した。

##### ③ 研究成果

シミュレータの開発を効率良く進めるためには、他のシミュレータやプログラムツールとの I/O インターフェースに依存しないで独立であることが必要である。このことを実現するために、図 38 に示すようなシステム構成図を持つ DDS シミュレーションシステムを開発した。本システムは、GUI システムと統合データ形式システムからなるソフトウェアツール、データコンバータ、シミュレータ、モデリングシステム、ナノ可視化システムから構成される。これらの各システムは、以下に示す 3 種類のソフトウェアからなる。B), C)のオープンソースソフトウェアの URL と概要を表 1 に示した。

- A) 本プロジェクトで開発したソフトウェア(GIU システム, 統合データ形式システム, データコンバータシステム) <http://rics1.hpcc.jp/inss> から公開。
- B) 本プロジェクト参加者が開発者であり、本プロジェクト開始以前から存在し、本プロジェクトでもその機能が追加されたソフトウェア(FMO-Gamess, MPdyn)
- C) 本プロジェクトで利用したオープンソースソフトウェア(PackMOL, AutoDock, PyMOL, RasMol, MayaVi, gnuplot)

表 1. 本システムで利用したオープンソースソフトウェア

プログラム名称	URL	機能概要
FMO-Gamess	<a href="http://www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html">http://www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html</a>	フラグメント分子軌道法
MPdyn	<a href="http://staff.aist.go.jp/w.shinoda/MPdyn/index.html">http://staff.aist.go.jp/w.shinoda/MPdyn/index.html</a>	分子シミュレーションパッケージ
PackMOL	<a href="http://www.ime.unicamp.br/~martinez/packmol/">http://www.ime.unicamp.br/~martinez/packmol/</a>	分子パッキングプログラム
AutoDock	<a href="http://autodock.scripps.edu/">http://autodock.scripps.edu/</a>	ドッキング計算プログラム
PyMOL	<a href="http://pymol.sourceforge.net/">http://pymol.sourceforge.net/</a>	分子系可視化プログラム
RasMOL	<a href="http://openrasmol.org/">http://openrasmol.org/</a>	分子系可視化プログラム
MayaVi	<a href="http://mayavi.sourceforge.net/">http://mayavi.sourceforge.net/</a>	有限要素系可視化プログラム
gnuplot	<a href="http://www.gnuplot.info/">http://www.gnuplot.info/</a>	汎用プロッタープログラム

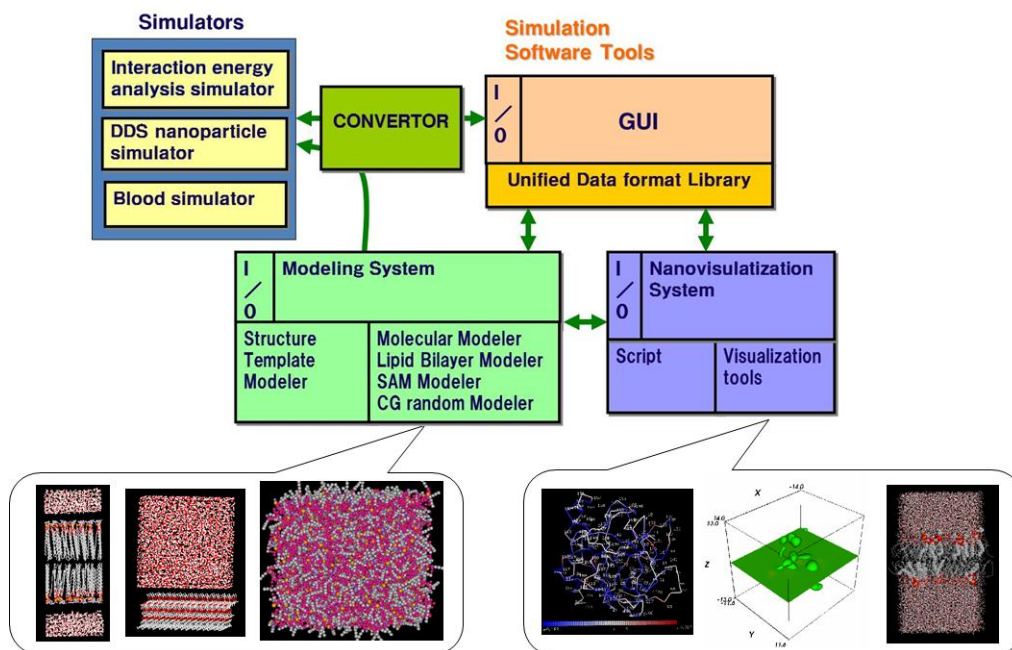


図 38. DDS シミュレーションシステムのシステム構成図

データコンバータシステムと統合データ形式システムは本システムで重要な役割を持つ。本システムは、各シミュレータの入出力データを統合データ形式のデータに変換するコンバータを半自動で生成する機能を持つので、シミュレータの改良発展に伴う入出力データの修正を容易に反映できる。また、統合データ形式の定義文を編集するエディタを備えているので、新しいシミュレータや高性能なオープンソースのモデリングソフト・可視化ソフトの統合データ形式定義文を容易に作成できるなどの特徴を持つ。従って、モデリングシステムに、新たな分子モデルを追加することも、ナノ可視化システムに、脂質膜や蛋白質、糖鎖分子などの新たな可視化ソフトを追加することも、容易にカスタマイズすることができる。

### GUI システム

GUI システムは、入力データ編集機能、シミュレーションの実行制御機能、ジョブ実行状況のモニタリング機能を持つ。図 39 には、FMO-Gamess 入力画面を示した。この入力画面は、統合データ形式から自動生成されるので、新規のシミュレータの追加も容易に行える。このような入力画面は、他に、MPdyn について開発した。

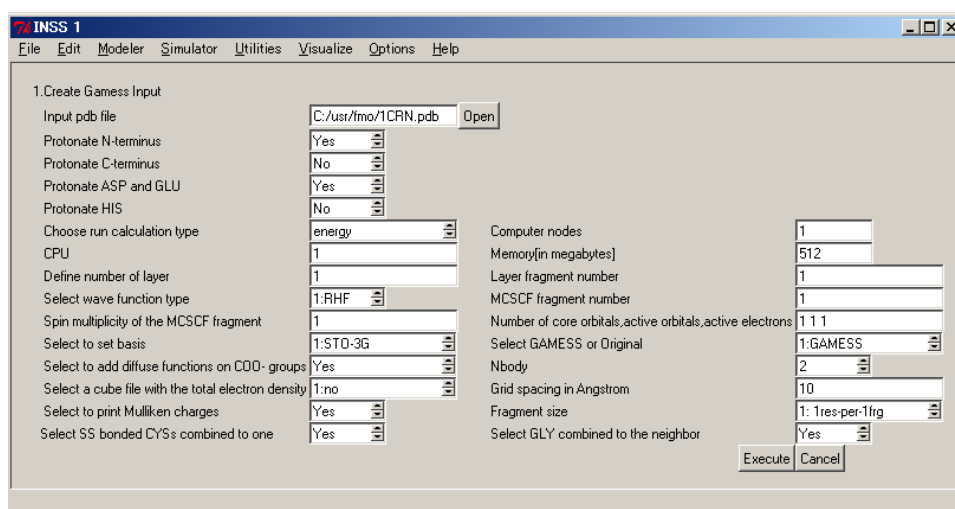


図 39. FMO-Gamess 入力画面

### 統合データ形式

このデータ形式は、(1)データの定義部とデータ列の部分が明確に分離されている、(2)各データにはシミュレータ開発者がその内容を容易に認識できるような名称をつけられる、(3)各データには単位が付けられ異なる単位間では自動的変換できる、(4)複数の言語(FORTRAN, C, C++)に対応できる、という特徴を持っているため、各シミュレータ間のデータ交換を容易にし、シミュレータ連携を柔軟に行うことができる。

### データコンバータシステム

データコンバータは、入力コンバータと出力コンバータからなっている。入力コンバータは、統合データ形式で記述されたデータを、各シミュレータが独自に設定している形式の入力フォーマットに変換するソフトウェアであり、出力コンバータは、ナノ可視化システムの可視化ツールがシミュレーション結果を可視化できるようにシミュレータの出力する計算結果データを統合データ形式として取り扱える形式に変換するソフトウェアである。

### シミュレータ

シミュレータとして、本プロジェクト開始以前から開発され、また、本プロジェクトでその一部の機能を開発した FMO-Gamess(開発者:「京大グループ」北浦和夫と「産総研グループ」Dmitri FEDOROV)と MPdyn(開発者:「産総研グループ」篠田渉)を GUI から利用できる。プロジェクトで開発した成果は、それぞれのシミュレータに反映され、表 1 に示した URL から公開予定である。

- A) 分子間相互作用解析シミュレータ : FMO-Gamess
- B) DDS ナノ粒子設計シミュレータ : MPdyn

また、次世代パソコンの利用を念頭に、分子動力学法と分子軌道法の並列計算法の技術調査と改良を行った。産総研グループと京大グループで開発を進めている FMO 法と分子シミュレーションは並列コンピュータ上で開発を進め、高い並列化率を実現した。また、次世代スパコンへの展開を容易に実現するため、効率的なアルゴリズムの調査を行った。さらに、マルチスケールシミュレーションを実施しえるように準備を進めた。

なお、流体力学シミュレーションプログラムは OCTA のユーザインターフェイス GOURMET 上で開発した。本システムと OCTA は共通のデータ形式を用いているので、相互乗入れが可能である。

### モデリングシステム

複雑な分子系を利用者が容易にモデリングするために下記の七つのモデラを開発した。この中で、(a)Ligand モデラは AutoDock を、(b)Protein モデラ、(c)Liquid モデラ、(d)Membrane モデラ、(e)SAM モデラは PackMOL を利用して原子座標の発生を行っている。その他は、本プロジェクトの成果のプログラムを用いて原子座標の発生を行っている。

- (a) Ligand モデラ(タンパク質と糖鎖の複合体作成)
- (b) Protein モデラ(タンパク質複合体モデル作成)
- (c) Liquid モデラ(2 成分液体モデル作成)
- (d) Membrane モデラ(脂質二重膜モデル作成)
- (e) SAM モデラ(自己集合化膜モデル作成)
- (f) CG\_Random モデラ(粗視化モデル作成)
- (g) MembraneLipid(DB)モデラ(脂質膜(DB)モデル作成)

図 40 には、Membrane モデラ入力画面を示した。

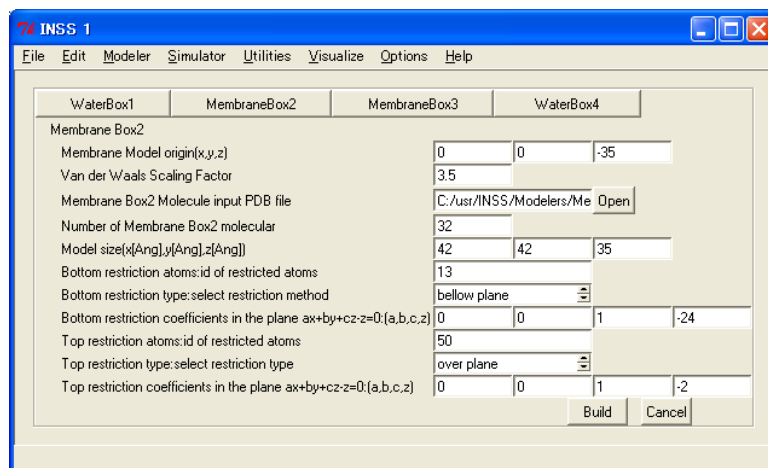


図 40. Membrane モデラ入力画面

図 41 には, Membrane モデラと SAM モデラで作成した分子膜の可視化結果を示した.

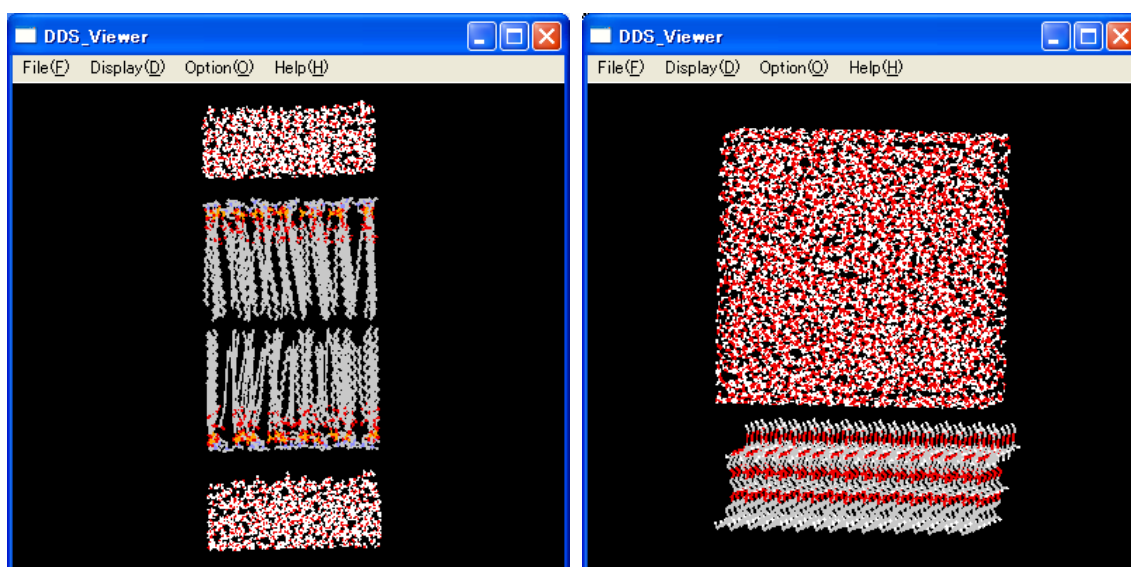


図 41. DDS Viewer による Membrane モデラと SAM モデラの可視化結果

図 42 には CG\_random モデラの入力画面と DDS Viewer による可視化結果を示した。

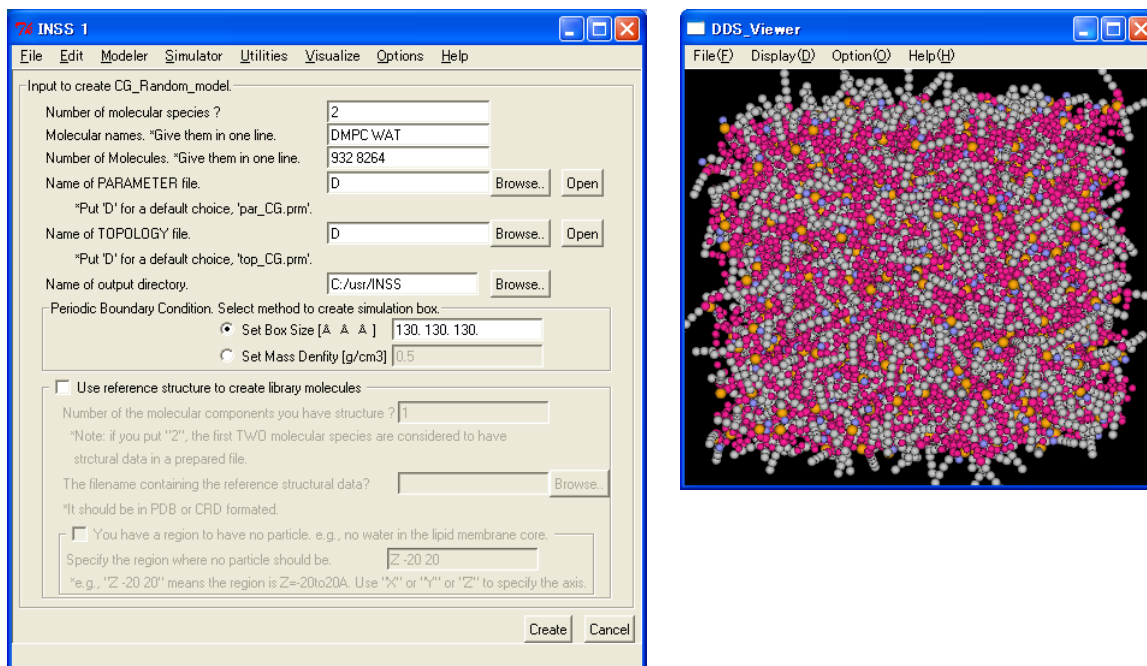


図 42. CG\_random モデラの入力画面と DDS Viewer による可視化結果

### ナノ可視化システム

シミュレーションの結果として生じる大量のデータを利用者に理解しやすい形で表現し、計算結果の正当性・妥当性の直感的理解を助けるデータの可視化は、シミュレータをより利用し易くするために重要な要素である。1nm から 100nm にわたる電子から原子・分子レベルまでの異なる階層のシミュレータからの出力をそれぞれの階層に最適な方法で表現するナノ可視化システムを開発した。本プロジェクトでは、簡易的な分子可視化ソフトウェア:DDS-Viewer を開発したが、高品質な可視化については効率化と費用削減のためにオープンソースの可視化ソフトを利用した。オープンソースの可視化ソフトとして、原子系可視化ソフトの PyMol, 有限要素メッシュ系可視化ソフトの MayaVi を選定し、GUI システムからこれらのソフトを呼び出し、シミュレータの入力データと出力データを可視化している。

PyMOL は、PDB, MOL, XYZ など分子構造の代表的データ形式に対し、ライン表示、球表示、棒表示、重なり球面表示、ドット表示、主鎖骨格表示、アミノ酸残基表示を組み合わせる 3D 表示し、移動、回転、ズームングをスムーズに行うことの出来るオープンソースのソフトウェアである。PyMOL は、複数の描画の重ね合わせ、データ属性(原子のポテンシャルエネルギー、運動エネルギー、配位数、電荷など)による表示色の変更、描画対象の一部のみをフォーカス描画したり、異なる表示形式に変更したりする機能が、本システムでは、簡単な GUI から呼び出せるようになっている。また、PyMOL には、Python でプログラミングしたコードを簡単に取り込む機能がある。この機能を利用して、FMO-Gamess の計算結果であるフラグメントが持つ電荷と分子構造を表示する機能を開発した。これを図 43 に示した。他には、RasMol を GUI から利用できるようにした。

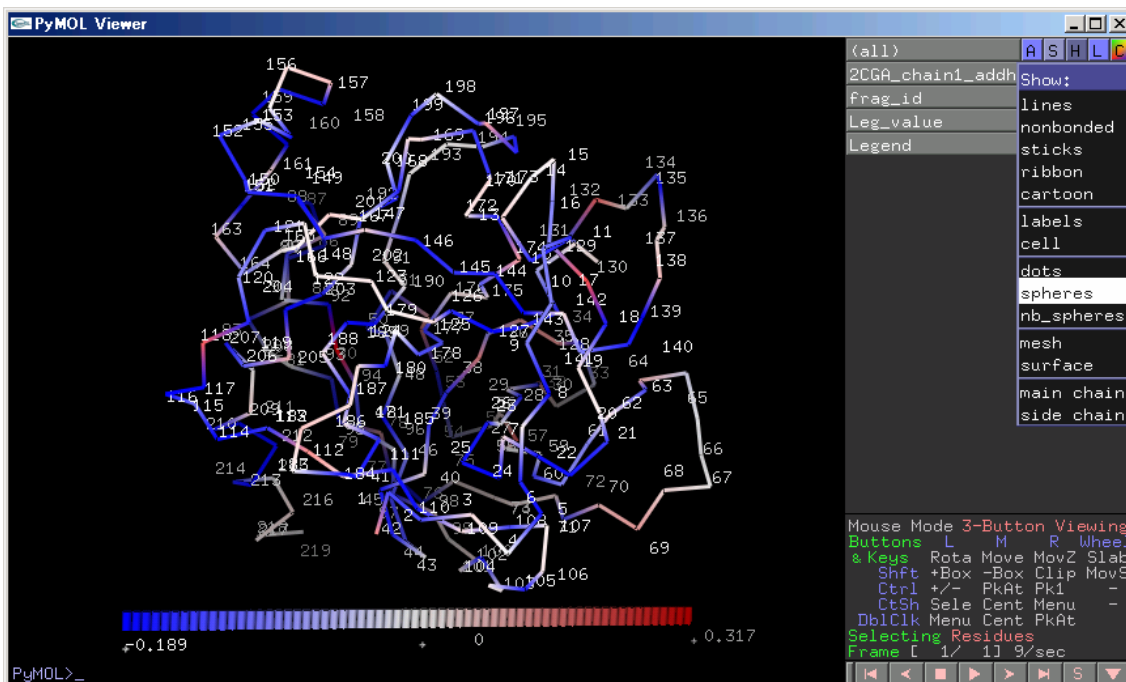


図 43. FMO-Gamess 計算結果であるフラグメントの電荷分布と分子構造の表示

MayaVi は、有限要素メッシュ系の電子密度分布、温度、圧力分布、変位、流速ベクトル、密度分布、歪エネルギー、応力分布などに対し、3D 表示、複数の描画の重ね合わせ、等値面表示、ボリュームレンダリング、任意断面における等高面表示した上で視点移動、回転などをスムーズに行えるオープンソースのソフトウェアである。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

本プロジェクトで開発した DDS シミュレーションシステムは、まだ、使い勝手は十分に洗練されていない、プロトタイプに位置づけられるソフトウェアである。オープンソースをエンドユーザーにも簡単に使えるようにする機能を持つので、今後の投資によっては、広く利用されるソフトウェアになる可能性がある。

## § 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件, 国際(欧文)誌 42 件)

- 1) T. Morishita and M. Mikami, "Enhanced sampling via strong coupling to a heat bath: Relationship between Tsallis and multicanonical algorithms", *J. Chem. Phys.* 127, 034104 (2007).
- 2) D. Fedorov, K. Ishimura, T. Ishida, K. Kitaura, P. Peter, S. Nagase, "On the accuracy of the three-body fragment molecular orbital method (FMO) applied to Moller-Plesset perturbation theory", *J. Comput. Chem.* 28, 1476 (2007).
- 3) M. Makino, L. Arai and M. Doi "Shear Migration of Chiral Particle in Parallel-disk" *J. Phys. Soc. Jpn.* 77, 0644041-4 (2008). (DOI: 10.1143/JPSJ.77.064404).
- 4) H. Saito, W. Shinoda, and M. Mikami, "Enhanced Hydrophobicity of Fluorinated Lipid Bilayer: A Molecular Dynamics Study", *J. Phys. Chem. B.* 112, 11305-11309(2008).
- 5) T. Ishida, "Probing protein environment in an enzymatic process: all-electron quantum chemical analysis combined with ab initio quantum mechanical/molecular mechanical modeling of Chorismate Mutase", *J. Chem.*

- Phys. 129, 125105 (14 pages) (2008). [This paper was selected in "Virtual Journal of Biological Physics Research" 16 (7) 2008.]
- 6) K. Shinoda, W. Shinoda, and M. Mikami, "Efficient free energy calculation of water across lipid membranes", *J. Comput. Chem.* 29, 1912 (2008).
  - 7) S. Tsuzuki, K. Honda, A. Fujii, T. Uchimaru, M. Mikami, "CH/ $\pi$  interactions in methane clusters with polycyclic aromatic hydrocarbons", *Phys. Chem. Chem. Phys.* 10, 2860 (2008).
  - 8) H. Saito, W. Shinoda, and M. Mikami, "Fluorination Effects on Structure and Dynamics of Phospholipid Bilayer: A Molecular Dynamics Study", *Chem. Phys. Lett.* 468, 260 (2009).
  - 9) O. Sano, "General solution of the Stokes equation in terms of harmonic functions", *Theoretical Methods for Micro Scale Viscous Flows*, eds. F. Feuillebois and A. Sellier (Research Signpost, Trivandrum, 2009) 37-59. (ISBN: 978-81-7895-400-4)
  - 10) S. Tsuzuki, T. Uchimaru, M. Mikami, "Magnitude and Nature of Carbohydrate-Aromatic Interactions: Ab Initio Calculations of Fucose-Benzene Complex." *J. Phys. Chem. B* 113 (16) 5617-5621 (2009). [ DOI: 10.1021/jp8093726]
  - 11) T. Sawada, D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Structural and Interaction Analysis of Helical Heparin Oligosaccharides with the Fragment Molecular Orbital Method." *Int. J. Quantum Chem.* 109, (9) 2033-2045 (2009). [ DOI: 10.1002/qua.22051]
  - 12) T. Nagata, D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Derivatives of the Approximated Electrostatic Potentials in the Fragment Molecular Orbital Method." *Chem. Phys. Lett.* 475 124-131 (2009). [DOI: 10.1016/j.cplett. 2009.05.004]
  - 13) T. Nagata, D. G. Fedorov, K. Kitaura, M. S. Gordon, "A Combined Effective Fragment Potential - Fragment Molecular Orbital Method. I. The Energy Expression and Initial Applications." *J. Chem. Phys.* 131 024101 (2009). [DOI: 10.1063/1.3156313]
  - 14) S. Koizumi, Y. Shirahashi, and O. Sano, "Critical Velocity on the Collapse of a Cavity Region in a Granular Material and Its Size Dependence", *J. Phys. Soc. Jpn.* 78(8), 084404, 2009. [DOI: 10.1143/JPSJ.78.084404]
  - 15) T. Miura and M. Mikami, "Molecular dynamics study of the effects of chain properties on the order formation dynamics of self-assembled monolayers of long-chain molecules" *Phys. Rev. E.* 81, 021801(11pages) (2010). [DOI: 10.1103/PhysRevE.81.021801]
  - 16) T. Nakamura, W. Shinoda and M. Mikami "The shear hysteresis in lamellar structure of surfactant-water binary system" *Chem. Phys.* 367, 20-26 (2010). [doi:10.1016/j.chemphys.2009.10.009]
  - 17) T. Ishida, "Computational Modeling of Carbohydrate-Recognition Process in E-Selectin Complex: Structural Mapping of Sialyl Lewis X onto Ab Initio QM/MM Free Energy Surface." *J. Phys. Chem. B* 114, 3950-3964 (2010). [DOI: 10.1021/jp905872t]
  - 18) T. Morishita, "From Nose-Hoover chain to Nose-Hoover network: Design of non-Hamiltonian equations of motion for molecular-dynamics with multiple thermostats", *Mol. Phys.* 108 1337-1347 (2010). (DOI: 10.1080/00268971003689923)
  - 19) W. Shinoda, R. DeVane, M. L. Klein, "Zwitterionic lipid assemblies: Molecular dynamics studies of monolayers, bilayers, and vesicles using a new coarse grain force field" *J. Phys. Chem. B* 114, 6836-6849 (2010). (DOI: 10.1021/jp9107206)
  - 20) R. DeVane, M. L. Klein, C. C. Chiu, S. O. Nielsen, W. Shinoda, P. B. Moore, "Coarse-Grained Potential Models for Phenyl-Based Molecules: I.



- Parametrization Using Experimental Data" *J. Phys. Chem. B* 114, 6386-6393 (2010). (DOI: 10.1021/jp9117369)
- 21) C. C. Chiu, R. DeVane, M. L. Klein, W. Shinoda, P. B. Moore, S. O. Nielsen, "Coars -Grained Potential Models for Phenyl-Based Molecules: II. Application to Fullerenes" *J. Phys. Chem. B* 114, 6394-6400 (2010). (DOI:10.1021/jp9117375)
  - 22) X. He, W. Shinoda, R. DeVane, M. L. Klein, "Exploring the utility of coarse-grained water models for computational studies of interfacial systems" *Mol. Phys.* 108 2007-2020 (2010). (DOI: 10.1080/00268976.2010.503197)
  - 23) R. DeVane, A. Jusufi, W. Shinoda, C. C. Chiu, S. O. Nielsen, "Parameterization and application of a coarse grained forcefield for benzene/fullerene interactions with lipids" *J. Phys. Chem. B* 114 16364-16372 (2010). (DOI: 10.1021/jp1070264)
  - 24) A. Jusufi, R. H. DeVane, W. Shinoda and M. L. Klein, "Nanoscale carbon particles and the stability of lipid bilayers", *Soft Matter*, 7, 1139-1146 (2011). (DOI: 10.1039/C0SM00963F)
  - 25) T. Nagata, Dmitri G. Fedorov, T. Sawada, K. Kitaura, Mark S. Gordon, "A combined effective fragment potential - fragment molecular orbital method. II. Analytic gradient and application to the geometry optimization of solvated tetraglycine and chignolin." *J. Chem. Phys.* , 134, 034110 (2011). (doi:10.1063/1.3568010)
  - 26) T. Sawada, D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Binding of influenza A virus hemagglutinin to sialoside receptor is not controlled by the homotropic allosteric effect." *J. Phys. Chem. B*, 114 (47) 15700–15705 (2010). ( DOI: 10.1021/jp1068895)
  - 27) T. Sawada, D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Role of the key mutation in the selective binding of avian and human influenza hemagglutinin to sialosides revealed by quantum-mechanical calculations." *J. Am. Chem. Soc.* 132, (47) 16862–16872 (2010). (DOI: 10.1021/ja105051e)
  - 28) Y. Oguro, M. Makino, and O. Sano, "Passage of a Small Air Bubble through a Circular Pore across the Plate of Finite Thickness", *J. Phys. Soc. Jpn.* 79, 084402\_1-7 (2010). (DOI: 10.1143/JPSJ.79.084402)
  - 29) O. Sano, "Flow-induced waterway in a heterogeneous granular material", *Computer Physics Communications*, 182, 1870-1874 (2011). (DOI: 10.1016/j.cpc.2010.12.001)
  - 30) T. Ishida, "Effects of Point Mutation on Enzymatic Activity: Correlation between Protein Electronic Structure and Motion in Chorismate Mutase Reaction", *J. Am. Chem. Soc.* 132, 7104-7118 (2010). (DOI: 10.1021/ja100744h)
  - 31) A. Fujii, H. Hayashi, J. W. Park, T. Kazama, N. Mikami, S. Tsuzuki, "Experimental and theoretical determination of the accurate CH/O interaction energies in the benzene-alkane clusters: Correlation between interaction energy and polarizability", *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 14131-14141 (2011).
  - 32) S. Tsuzuki, T. Uchimaru, M. Mikami, "Magnitude and Nature of Carbohydrate–Aromatic Interactions in Fucose–Phenol and Fucose–Indole Complexes: CCSD (T) Level Interaction Energy Calculations", *J. Phys. Chem. A*, 115, 11256-11262 (2011).
  - 33) S. Tsuzuki, T. Uchimaru, M. Mikami, "Magnitude of CH/O Interactions between Carbohydrate and Water", *Theor. Chem. Acc.* **in press**. (DOI: 10.1007/s00214-012-1192-0).
  - 34) T. Nakamura, W. Shinoda and T. Ikeshoji, "Pressure Profile in Spherical Coordinate: Numerical Method and Applications for Molecular Systems" *J. Chem. Phys.* 135, 094106 (2011).
  - 35) H. Saito, T. Mizukami, S. Kawamoto, T. Miyakawa, M. Iwayama, M. Takasu, H. Nagao, "Molecular Dynamics Studies of Lipid Bilayer with Gramicidin A: Effects

- of Gramicidin on Membrane Structure and Hydrophobic Match”, Int. J. Quantum Chem. **in press**.
- 36) W. Shinoda, R. DeVane, M. L. Klein, “Coarse-grained force field for ionic surfactants”, *Soft Matter*, 7, 6178 (2011). (DOI: 10.1039/C1SM05173C)
  - 37) W. Shinoda, T. Nakamura, S. O. Nielsen, “Free energy analysis of vesicle-to-bicelle transformation.” *Soft Matter*, 7, 9012-9020 (2011). (DOI: 10.1039/C1SM05404J).
  - 38) K.Asayama, M.Makino, S.Itoh & O.Sano, “Passage of a small sphere through a cleft of endothelia with pivoted glycocalyx.” *J. Phys. Soc. Jpn.* **81** (2012) 014401\_1-7 (DOI: 10.1143/JPSJ.81.014401)
  - 39) H. Saito, W. Shinoda, “Cholesterol Effect on Water Permeability Through DPPC and PSM Lipid Bilayers: A Molecular Dynamics Study.” *J. Phys. Chem. B*, 115, 15241-15250 (2011).
  - 40) W. Shinoda, R. DeVane, M. L. Klein, “Computer Simulation Studies of Self-Assembling Macromolecules”, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **in press**. (DOI 10.1016/j.sbi.2012.01.011).
  - 41) M.Makino & O.Sano, “Motion of Droplets under Shear Flow with Suction.” *Fluid Dyn. Res.*, **in press**.
  - 42) M.Makino & O.Sano, “Computation of Dynamics of Soft Particles using Front-Tracking Method.” **accepted** for publication in *J. Phys. Conf. Ser.*
- (2)その他の著作物(総説, 書籍など)
- 1) 三上益弘, “分子膜のマルチスケールシミュレーション”, *トライボロジスト*, 52(7), 507-512(2007).
  - 2) 三上益弘, “分子シミュレーションによる分子膜の構造と動的性質”, *CICSJ Bulletin*, 24, 167-172(2007).
  - 3) 三上益弘, “脂質二重膜における水分子の透過自由エネルギー計算”, *アンサンブル*, 10, 8-11(2008).
  - 4) 佐野 理, “連続体物理”, 朝倉物理学選書5, 朝倉書店 (2008) pp.126 [ISBN 978-4-54-13760-6 C 3342]
  - 5) S. Tsuzuki, A. Fujii, “Nature and physical origin of CH/ $\pi$  interaction: Significant difference from conventional hydrogen bonds”, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10**, 2584 (2008).
  - 6) 三浦俊明, “ナドメインにおける結晶化過程のシミュレーション”, 「精密高分子の基礎と実用化技術」, 中浜精一監修, シーエムシー出版, (2008年11月) p148 [ISBN978-4-7813-0043-6]
  - 7) 三上益弘, 「分子シミュレーションにおける相互作用エネルギー関数の課題と動向」, *アンサンブル*, 11(3), 2-7(2009).
  - 8) 三上益弘, “分子集合の基礎 – 分子間相互作用と分子シミュレーション –”, 「自己組織化ハンドブック」, pp.74-80, 国武豊喜監修, エヌ・ティー・エス, 2009年11月.
  - 9) 都築誠二「All-atom 力場の問題点と今後の高精度シミュレーション」, *アンサンブル*, 11(3) 13-17 (2009).
  - 10) 齋藤大明(金沢大, 産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「合成脂質膜の分子シミュレーション-フッ素化脂質」, *アンサンブル*, 11(4), 22-25(2009).
  - 11) 篠田 渉, “粗視化分子モデリング 1:リン脂質モデル”, *アンサンブル*, 12(3), 26 (2010)
  - 12) 篠田 渉, “粗視化分子モデリング 2:脂質膜・ベシクル”, *アンサンブル*, 12(4), 12 (2010).
  - 13) 篠田 渉, “粗視化モデルによる両親媒性分子の自己組織化構造解析”, *生物物理*, 50, 232 (2010).
  - 14) 三上益弘, “材料・デバイス統合型シミュレーションシステム開発向けの課題”,

pp.123-142,「産業界におけるコンピュータシミュレーションの活用」, スーパーコンピューティング技術産業応用協議会編, アドバンスソフト, 2010年5月.

- 15) 浅山景子, 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, 「糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙を透過するリポソームの運動」, 京都大学数理解析研究所講究録, 1724, 81-91 (2011).
- 16) 篠田 渉, “脂質膜・リポソームの分子シミュレーションー粗視化分子モデリングによる研究ー”, 膜(MEMBRANE), 36(1), 31-37 (2011).
- 17) 篠田 渉, “オープンソースコードを用いた粗視化分子動力学シミュレーションの取り組み”, CMD Newsletter, 46, 25 (2011).
- 18) 篠田 渉, “粗視化分子モデリング 3:固液界面”, アンサンブル, 13(3), 125 (2011).
- 19) 三上益弘, “DDS における放出制御・製剤設計シミュレーション”, 「ドラッグデリバリーシステムの新展開Ⅱー核酸医薬・抗体医薬・ワクチン医療を支える DDS 技術ー」, シーエムシー出版, 2012年3月.
- 20) S. Tsuzuki, “CH/ $\pi$  interactions”, Annual Report of Royal Society of Chemistry Section C, in press. (DOI: 10.1039/C2PC90003C).

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 28件, 国際会議 21件)

国内学会

- 1) 三上益弘(産総研,CREST), 「分子シミュレーションによる分子膜の構造と機能ー脂質二重膜・自己集合化膜・高分子電解質膜から DDS ー」名古屋大学理学研究科セミナー, 名古屋大学, 2007年1月11日
- 2) 三上益弘(産総研,CREST), 「分子膜のマルチスケールシミュレーションー脂質二重膜・自己集合化膜から DDS へー」第7回分子シミュレーションのトライボロジーへの応用研究会, 東京海洋大学, 2007年3月16日
- 3) 佐野理(農工大, CREST), 「流れにより誘起される粒状体の流動化と流路形成」, CREST研究集会「ナノ・メゾ・マイクロ流動現象における計算科学」, 名古屋工業大学, 2007年12月14日
- 4) 三上益弘(産総研,CREST), 「マルチスケールシミュレーションによる DDS への挑戦」, 第52回産総研ランチョン・セミナー, つくば, 2007年10月30日
- 5) 北浦和夫(京大院・薬,CREST), 「フラグメント分子軌道法による蛋白質とリガンドの結合エネルギー計算」, CBI学会, 広島, 2007年10月5日
- 6) 都築誠二(産総研,CREST), “ab initio 分子軌道法計算による分子間相互作用の精密解析:CH/ $\pi$ ,  $\pi/\pi$  相互作用などの解析”, 京都大学化学研究所セミナー, 宇治, 2007年7月9日
- 7) 北浦和夫(京大院・薬, CREST), 「フラグメント分子軌道法/連続誘電体モデルによる水溶液中の蛋白質とリガンドの相互作用解析」, 日本薬学会, 京都, 2007年6月29日
- 8) 佐野理(農工大, CREST), 「粒子描像と連続体描像のクロスオーバー」, CAMM フォーラム, 虎ノ門パストラル, 2007年4月6日
- 9) 石田豊和(産総研,CREST), 「セレクトイン-糖鎖複合体の構造解析:複合シミュレーションによるアプローチ」日本化学会第2回関東支部大会(2008), Session7:「多糖・糖鎖の計算科学によるアプローチとその検証」, 群馬大学桐生キャンパス, 2008年09月19日
- 10) 三上益弘(産総研,CREST), 「分子シミュレーションによる分子膜の構造と動的性質の解析」日本学術振興会第142委員会, 東京, 2008年7月
- 11) 三上益弘(産総研,CREST), 「分子シミュレーションによる分子膜の構造と機能ー脂質二重膜から DDS へ」名古屋大学大学院情報科学研究科物質情報論講座セミナー, 名古屋, 2008年7月
- 12) 都築誠二(産総研,CREST), 「ab initio 分子軌道法計算による分子間相互作用の精密解析:CH/ $\pi$ ,  $\pi/\pi$  相互作用等の弱い相互作用からイオン液体まで」, 九州大学, 化学・材料研究セミナー, 福岡, 2008年3月22日

- 13) 都築誠二(産総研,CREST),「集合体物性におよぼすフッ素効果-分子間相互作用の計算科学的考察」,ミニシンポジウム「フッ素が絡んだ分子集合の化学」,つくば,2008年3月18日
- 14) 三上益弘(産総研,CREST),「材料・デバイス統合型シミュレーションシステム開発向けの課題 - ナノワイヤトランジスタと DDS を例に-」第8回スーパーコンピューティング・セミナー,スーパーコンピューティング技術産業応用協議会,東京,2008年3月13日
- 15) 三上益弘,“分子シミュレーションによる脂質分子膜の構造と機能の解析”,次世代スパコン「ナノ統合拠点」連続研究会「膜・ミセル(ソフト複雑系の科学)」,京都,2009年2月.
- 16) 三上益弘,“マルチスケール DDS シミュレータの研究開発”,次世代スパコン「ナノ統合拠点」連続研究会「DDS ナノキャリアー」,東京,2009年1月.
- 17) 三上益弘(産総研,CREST),“DDS シミュレータの研究開発 -ソフトマター系のマルチスケールシミュレーション-,つくばソフトマター研究会,つくば,2010年2月22日
- 18) 篠田 渉(産総研,CREST),“ベンケルの分子動力学:全原子モデルに基づく粗視化分子シミュレーション”,日本物理学会第65回年次大会,岡山,2010年3月20日
- 19) 篠田 渉(産総研,CREST),“粗視化分子シミュレーションによる膜のモルフォロジー解析”,次世代ナノ統合シミュレーションソフトウェアの研究開発 連続研究会 燃料電池 No.4,岡崎,2010年3月2日
- 20) 石田豊和(産総研,CREST),「複合モデリング計算によるタンパク質機能の理論解析:タンパク質分解酵素を例として」,第82回日本生化学会大会(企画シンポジウム:計算科学と実験科学の融合から見えてきた生体分子の機能),神戸ポートアイランド,2009年10月22日
- 21) 石田豊和(産総研,CREST),「タンパク質機能の分子シミュレーション:基質認識と酵素反応」,シンポジウム13:生命現象への大規模計算化学の挑戦,日本化学会 第4回関東支部大会(2010),筑波大学,8月31日
- 22) 都築誠二(産総研,CREST)「高精度分子軌道法計算による芳香族分子の分子間相互作用の解析」筑波大学学際物質科学研究センター第13回機能性分子シンポジウム,つくば,2010年11月5日
- 23) 篠田 渉(産総研,CREST),リポソーム形成のメカニズム:分子シミュレーションによるアプローチ,膜シンポジウム2010,京都,2010年11月19日
- 24) 石田豊和(産総研,CREST)「タンパク質機能の分子シミュレーション:基質認識と酵素反応」,若い世代の特別講演会,日本化学会 第91回春季年会(2011),神奈川大学,3月28日
- 25) 三上益弘,“コンピュータシミュレーション-自然現象の解明と製品設計への応用-”,茨城工業高等専門学校 科学講演会,2011年6月29日
- 26) 三上益弘,“コンピュータシミュレーション-銀河から分子まで-”,茗溪学園高等学校 科学講演会,2012年1月14日
- 27) 都築誠二,“ab initio 分子軌道法による分子間相互作用の解析:ハロゲン結合、イオン液体の相互作用”,筑波大学数理物質科学研究科講演会、つくば、2012年2月28日
- 28) 三上益弘,“コマルチスケールシミュレーションを目指して -DDS・ナノトランジスタ・コンピュータ-”,金沢大学理学談話会,2012年3月2日

#### 国際学会

- 1) K. Kitaura (Kyoto University, CREST), “Fragment MO-based correlation methods for large molecules”, International Symposium of Local Correlation Methods: From Molecules to Crystals, Dresden, September 2007.
- 2) K. Kitaura (Kyoto University, CREST), “Fragment MO-based 2nd order Møller-Plesett perturbation theory for large molecules”, The 2nd Japan-Czech-Slovakia Joint Symposium for heoretical/Computational Chemistry, Kyoto, December, 2007.

- 3) K. Kitaura (Kyoto University, JST-CREST) “Quantum Chemical Calculations of Protein-Ligand Interactions with the Fragment Molecular Orbital Method”, WATOC Congress 2008, September 2008, Sydney, Australia.
- 4) Kazuo Kitaura (Kyoto Univ.,CREST) “Binding Free Energy Calculations of Protein-Ligand Complexes using Fragment Molecular Orbital Method Combined with Continuum Solvent Model”, 238th ACS National Meeting, August 2009, Washington DC, USA.
- 5) W. Shinoda (AIST, CREST), Coarse-grained molecular dynamics study of lipid membranes, The second French-Japanese Workshop on Computational Methods in Chemistry 2009, Nishinomiya, November, 2009.
- 6) Toyokazu Ishida(AIST, CREST), “Probing Protein Environment in Enzymatic Process based on Hybrid Computational Modeling:Case Study of Chorismate Mutase Catalysis”, BIT's 2nd Annual Protein and Peptide Conference (PepCon 2009), Seoul, South Korea, April, 2009.
- 7) Toshihiko Sawada (AIST, CREST) “Fragment Molecular Orbital Method: Application to Influenza Viral HA-sialoside Interaction”, BIT's 1st Annual International Conference of Medicchem-2010, Beijing, China, May 18-20, 2010.
- 8) Wataru Shinoda (AIST, CREST), "Molecular Dynamics Study of Liposomes: A Coarse-Grained Molecular Modeling Approach", The 2nd Annual World Bio-Soft Forum (Bio-Soft 2010), Dalian, China, June, 2010.
- 9) O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), “Flow-Induced Waterway in a Heterogeneous Granular Material”, Conf. Comp. Phys., Trondheim, Norway, June 23, 2010.
- 10) Wataru Shinoda, “Molecular Dynamics Study of Liposomes with a New Coarse-Grained Molecular Model”, ISSP international workshop on Soft Matter Physics, Kashiwa, August, 2010.
- 11) Wataru Shinoda (AIST, CREST), “Molecular dynamics study of liposomes with a new coarse-grained molecular model” The CG Royal Society Kavli Scientific Meeting, Newport Pagnell, UK, September, 2010.
- 12) Wataru Shinoda (AIST, CREST), R. DeVane, M. L. Klein, “Organization of surfactants and lipids at interfaces” Pacificchem 2010, Waikiki, December, 2010.
- 13) Kazuo Kitaura (Kyoto University, CREST) “Geometry optimization of protein-ligand complexes using the fragment molecular orbital method combined with molecular mechanics”, The Pacificchem 2010, Honolulu, USA, Dec.16, 2010.
- 14) O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), “Mesoscopic Physics between Particulate System and Continuum” The 55th Cong. Indian Soc. Theor. Appl. Mech., Hamirpur, India, Dec. 20, 2010.
- 15) T. Ishida(AIST, CREST), “Computer Simulation of Protein Function: Molecular Recognition and Enzymatic Catalysis, Effects of Point Mutation on Catalytic Activity of Chorismate Mutase”, NRI AIST – NINT (National Institute for Nanotechnology) Joint Workshop 2010, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, Nov. 25, 2010.
- 16) K. Kitaura(Kyoto University, CREST), “Recent Development of the Fragment Molecular Orbital Method”, The 241th ACS National Meeting, Anaheim, USA, March 27, 2011.
- 17) O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), “Motion of Droplets under Shear Flow with Suction”, Intern. Sym. Microparticles in Stokes Flows, Warsaw, Poland, Aug. 22, 2011.
- 18) Wataru Shinoda (AIST, CREST), “Molecular Simulation of Liposomal Membranes”, The 2nd international symposium on "Multi-scale Simulations of Biological and Soft Materials", Sep 10, 2011.

- 19) Kazuo Kitaura (Kyoto University, CREST), "The Fragment Molecular Orbital Method and Massively Parallel Computations", International Conference on Computational Science, ICCS2011, Singapore, June 1, 2011.
- 20) Kazuo Kitaura (Kyoto University, CREST), "Large Scale Computations with the Fragment Molecular Orbital Method", Fukui International Symposium for Theoretical and Computational Chemistry", Kyoto, Sep. 1, 2011.
- 21) Wataru Shinoda (AIST), "Molecular Dynamics Study of Self-Assembly of Amphiphiles", International Workshop: Mathematical approach to emerging topics in Material Science 2012, March 20, 2012.

② 口頭発表 (国内会議 31 件, 国際会議 10 件)

国内学会

- 1) 佐野理(農工大, CREST), 永田裕作(農工大, CREST), 「粘性流による粒状体中の空洞の崩壊とDDS (Drug Delivery System) への応用」, 京都大学数理解析研究所共同研究会「複雑流体の数理解とシミュレーション」, 京都大学, 2006 年 11 月 16 日
- 2) 佐野理(農工大, CREST), 永田裕作(農工大, CREST), 「粘性流による粒状体中の水路網形成とDDS への応用」, 日本物理学会, 鹿児島大, 2007 年 3 月 20 日.
- 3) 齋藤大明(産総研, CREST), 篠田 渉(産総研, CREST), 三上 益弘(産総研, CREST), 「含フッ素脂質二重膜の構造と自由エネルギー解析」, 第 1 回分子科学討論会, 仙台, 2007 年 9 月 17 日
- 4) 永田裕作(農工大, CREST), 佐野理(農工大, CREST), 「DDSのための毛細血管流れの数値シミュレーションモデル」, 日本物理学会, 北大, 2007 年 9 月 21 日
- 5) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST) 「散逸分子動力学法によるシア条件化の膜のヒステリシス現象」, 日本物理学会, 北大, 2007 年 9 月 22 日
- 6) 石田豊和(産総研, CREST), 「複合モデリングによる糖-タンパク質糖鎖複合体の解析」, 分子研若手研究会「理論分子科学のフロンティアを探る」, 岡崎, 2008 年 1 月 16 日
- 7) 都築誠二(産総研, CREST), 内丸忠文(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「ab initio 分子軌道法計算による糖と芳香族分子の相互作用の精密解析」, 日本化学会第 2 回関東支部大会(2008), Session7:「多糖・糖鎖の計算科学によるアプローチとその検証」, 群馬大学桐生キャンパス, 2008 年 9 月 19 日
- 8) 浅山景子, 伊藤聡(東芝, CREST), 佐野理(農工大, CREST)「糖鎖のある血管内皮細胞間隙を通過するリポソームの解析」, 日本物理学会, 岩手大, 2008 年 9 月 20 日.
- 9) 三浦俊明(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「自己組織化膜の構造形成ダイナミクスにおける鎖長依存性の分子動力学シミュレーション」, 日本物理学会 2008 年秋季大会, 盛岡, 2008 年 9 月 21 日
- 10) 石田豊和(産総研, CREST), 「糖タンパク質セレクトインの糖鎖認識機構」, 第 2 回分子科学討論会, 福岡国際会議場, 2008 年 9 月 26 日
- 11) 篠田 渉, 脂質分子の粗視化分子モデリング, 第62回コロイドおよび界面化学討論会, 岡山, 2009 年 9 月 17 日
- 12) 浅山景子(農工大), 伊藤 聡, 佐野 理, 「リポソームの糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙透過過程:数値流体力学的研究 II」, 日本物理学会, 熊本大, 2009 年 9 月 26 日
- 13) 三浦俊明, 三上益弘, 脂質分子のリポソーム形成ダイナミクスにおける分子構造効果の子動力学シミュレーション, 日本物理学会 2009 年秋季大会, 熊本, 2009 年 9 月 25 日
- 14) 都築誠二(産総研, CREST), 内丸忠文(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「フコースと芳香族分子の分子間相互作用:ab initio 分子軌道法による解析」, 第 20 回基礎有機化学討論会, 群馬大学桐生キャンパス, 2009 年 9 月 28 日
- 15) 篠田 渉, 脂質分子の自己集合構造:分子論によるメソ構造予測への挑戦, 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋, 2009 年 11 月 30 日

- 16) 浅山景子, 伊藤聡, 佐野理, 「糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙のリポソーム通過過程: 数値流体力学的研究Ⅲ」, 日本物理学会, 岡山大, 2010年3月22日
- 17) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田 涉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「粒子モデルによるベシクルの弾性定数の計算手法(II)」, 日本物理学会第65回年次大会, 岡山大学, 2010年3月20日
- 18) 浅山景子, 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙のリポソーム透過過程: 数値流体力学的研究Ⅳ”, 日本物理学会, 大阪, 2010年9月25日.
- 19) 浅山景子, 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙を透過するリポソームの運動”, 京都大学数理解析研究所「複雑流体の数理解析と数値解析」研究集会, 京都, 2010年9月28日.
- 20) 篠田 涉, C. C. Chiu, S. O. Nielsen, R. DeVane, M. L. Klein, “脂質膜とカーボン材料の相互作用: 分子動力学シミュレーションによる研究”, 第24回分子シミュレーション討論会, 福井, 2010年11月26日
- 21) 中村壮伸, 篠田涉, “リポソーム・ミセルの圧力プロファイルの計算方法”, 第24回分子シミュレーション討論会, 福井県民ホール, 2010年11月26日
- 22) 中村壮伸, 篠田涉, “球対称系での圧力分布の計算方法の実装とリポソームの物性”, 日本物理学会第66回年次大会, 新潟大学, 2011年3月28日
- 23) 中村壮伸, 篠田涉, “球対称な分子自己集合系の局所圧力の計算方法: 生体分子系への拡張と適用”, 日本物理学会, 富山大学, 2011年9月21日
- 24) 中村壮伸, 篠田涉, “圧力分布解析によるリポソームの物性評価: 分子論から弾性論への橋渡し”, 日本物理学会, 富山大学, 2011年9月22日
- 25) 篠田 涉, 中村壮伸, S. O. Nielsen, “リポソームの安定性: ベシクルバイセル転移の自由エネルギー解析”, 第63回コロイドおよび界面化学討論会, 京都, 2011年9月7日
- 26) 浅山景子(農工大), 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙のリポソーム透過過程: 数値流体力学的研究Ⅴ”, 日本物理学会, 新潟, 2011年3月25日.
- 27) 浅山景子(農工大), 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “DDS ナノ粒子の糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙透過過程”, 日本流体力学会, 東京, 2011年9月7日.
- 28) 浅山景子(農工大), 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙のリポソーム透過過程: 数値流体力学的研究Ⅵ”, 日本物理学会, 富山, 2011年9月23日.
- 29) 都築誠二, 内丸忠文, “弱い分子間相互作用の方向依存性: ab initio 計算による水素結合、CH/π 相互作用、ハロゲン結合の比較”, 第20回有機結晶シンポジウム, 富山, 2011年10月20日
- 30) 浅山景子(農工大), 牧野真人, 伊藤聡, 佐野理, “糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙のリポソーム透過過程: 数値流体力学的研究Ⅶ”, 日本物理学会, 関西学院大, 2012年3月27日.
- 31) 中村壮伸, 篠田涉, “圧力分布解析によるリポソームの物性評価: 分子論から弾性論への橋渡しⅡ”, 日本物理学会第67回年次大会, 関西学院大学, 2012年3月26日

#### 国際学会

- 1) O. Sano, (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), "Viscous Flow past Two Spherical Cavities in a Porous Media: Application to Drug Delivery System", The 22nd Int. Cong. Theor. Appl. Mech., Adelaide Australia, August 2008.
- 2) M. Mikami, (AIST, RICS, CREST), “DDS Project Overview”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 3) O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), "Flow through granular cells with an application to angiogenesis", MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 4) T. Ishida (AIST, RICS, CREST), “Theoretical Modeling of Ligand Recognition Process in Selectin Complex”, International Conference on Multi-scale

- Simulations of Biological and Soft Materials (MSBSM2008), Tokyo, June 2008.
- 5) W. Shinoda (AIST, RICS, CREST), "Coarse-Grained Molecular Simulation of Self-Assembly of Lipids and Surfactants", MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
  - 6) K. Kitaura (Kyoto University, JST-CREST) "Electronic structure calculations of proteins using the fragment molecular orbital method", TSRC workshop on Many-Body Interactions: From Quantum Mechanics to Force Fields, July 2008, Telluride USA.
  - 7) T. Ishida, "Computational Modeling of Carbohydrate Recognition Process in Selectin Complexes", Computational Science Workshop 2008 (CSW2008), Tsukuba, December, 2008.
  - 8) Wataru Shinoda (AIST, CREST), C. C. Chiu, S. O. Nielsen, R. DeVane, M. L. Klein, "Molecular Dynamics Study of Membrane Deformation - Effect of Lipid Composition and Additives", 21st IUPAC International Conference on Chemical Thermodynamics, Tsukuba, August, 2010.
  - 9) Wataru Shinoda (AIST, CREST), C. C. Chiu, S. O. Nielsen, R. DeVane, P. B. Moore, M. L. Klein, "Effect of C60 on Structure and Dynamics of Liposome: Coarse-Grained Molecular Dynamics Study", 21st IUPAC International Conference on Chemical Thermodynamics, Makuhari, September, 2010.
  - 10) T. Ishida (AIST, CREST), "Computational modeling of carbohydrate-recognition process in E-selectin complex", Pacificchem 2010: Session in "Carbohydrate Recognition in Health and Disease", Honolulu Convention Center, Hawaii, USA, Dec. 16, 2010.

③ ポスター発表 (国内会議 47 件, 国際会議 31 件)

国内学会

- 1) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質－糖鎖認識機構の分子モデリング」, 第1回分子科学討論会 2007, 仙台, 2007 年 09 月 19 日
- 2) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質－糖鎖認識機構の分子モデリング」, 第 21 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 2007 年 11 月 26 日
- 3) 齋藤大明(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「分子動力学法によるコレステロール/スフィンゴ脂質二重膜の構造」, 第 21 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 2007 年 11 月 27 日
- 4) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「散逸分子動力学法によるシア条件下の膜のヒステリシス」, 第 21 回分子シミュレーション討論会, 金沢, 2007 年 11 月 27 日
- 5) 石田豊和(産総研, CREST), 「糖タンパク質セレクチンの糖鎖認識機構について」, スーパーコンピュータワークショップ 2008, 岡崎, 2008 年 02 月 18 日
- 6) 齋藤大明(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「スフィンゴ脂質二重層膜へのコレステロール効果」, スーパーコンピュータワークショップ 2008, 岡崎, 2008 年 2 月 18 日
- 7) 新井玲央, 牧野真人(農工大, CREST), 土井正男, 「カイラル粒子のせん断流における運動」, 日本レオロジー学会 2008 年通常総会および第 35 年会, 東京, 2008 年 5 月 14 日
- 8) 澤田敏彦(産総研, CREST), 石田豊和(産総研, CREST), Dmitri G. Fedorov(産総研, CREST), 内丸忠文(産総研, CREST), 北浦和夫(京大院, 薬, CREST), ポスター発表「インフルエンザウイルス HA のシアロ糖鎖結合親和性解明に向けた理論研究」, 第 2 回分子科学討論会, 福岡国際会議場, 2008 年 9 月 25 日
- 9) 三浦俊明(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「脂質分子のベシクル形成ダイナミクスの粗視化分子動力学シミュレーション」, 第 57 回高分子討論会, 大阪, 2008 年 9 月 25 日
- 10) 齋藤大明(金沢大, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), ポスター発表「分子動力学法によるスフィンゴ脂質/コレステロール混合二重膜の構造とダイ



- ナミクス」, 第 2 回分子科学討論会, 福岡国際会議場, 2008 年 9 月 25 日
- 11) 齋藤大明(金沢大, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), ポスター発表「コレステロールを含んだ脂質二重膜の構造と分子透過性」, 第 22 回分子シミュレーション討論会, 岡山大学, 2008 年 11 月 18 日
  - 12) 石田豊和(産総研, CREST), ポスター発表「糖タンパク質-糖鎖複合体の階層的分子モデリング」, 第 22 回分子シミュレーション討論会, 岡山大学創立 50 周年記念会館, 2008 年 11 月 18 日
  - 13) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「散逸分子動力学法によるシア条件下の膜のヒステリシス2」, 第 22 回分子シミュレーション討論会, 岡山, 2008 年 11 月 18 日
  - 14) 三浦俊明(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「脂質分子のベシクル形成ダイナミクスの粗視化シミュレーション」, 日本物理学会第 64 回年次大会, 東京, 2009 年 3 月 30 日
  - 15) 石田豊和(産総研, CREST), 「階層的計算手法を用いたセレクトインの糖鎖認識機構の解析」, 第 9 回日本蛋白質科学会年会, 熊本全日空ホテルニュースカイ, 2009 年 5 月 22 日
  - 16) 石田豊和(産総研, CREST), 「糖タンパク質の糖鎖認識機構の分子モデリング」, 第 12 回理論化学討論会, 東京大学本郷キャンパス 武田先端知ビル 武田ホール, 2009 年 5 月 29 日
  - 17) 澤田敏彦(産総研, CREST), D. G. Fedorov(産総研, CREST), 北浦和夫(京大院, 薬, CREST), 「FMO/PCM 法で算出したインフルエンザ HA とシアロ糖鎖の結合自由エネルギー」, 第 29 回日本糖質学会年会, 岐阜, 飛騨・世界文化生活センター, 2009 年 9 月 9 日
  - 18) 澤田敏彦(産総研, CREST), D. G. Fedorov(産総研, CREST), 北浦和夫(京大院, 薬, CREST), 「FMO/PCM 法で計算したインフルエンザ HA とシアロ糖鎖の結合自由エネルギー」, 第 3 回分子科学討論会, 名古屋大学, 2009 年 9 月 21 日
  - 19) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「粒子モデルを用いたベシクルの弾性定数を計算するための理論」, 第 62 回コロイドおよび界面化学討論会, 岡山理科大学, 2009 年 9 月 19 日
  - 20) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「粒子モデルによるベシクルの弾性定数の計算手法」, 日本物理学会 2009 年秋季大会, 熊本大学, 2009 年 9 月 26 日
  - 21) 小黒由美子(農工大), 佐野理, 「DDS ナノ粒子の内皮細胞間隙透過」, 日本物理学会, 熊本大, 2009 年 9 月 28 日
  - 22) 浅山景子(農工大), 伊藤聡, 佐野理, 「リポソームの糖鎖層を持つ血管内皮細胞間隙透過過程: 数値流体力学的研究 II」, 日本物理学会, 熊本大, 2009 年 9 月 26 日
  - 23) 高岩大輔(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「糖脂質膜の分子動力学シミュレーション」, 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋, 2009 年 11 月 30 日
  - 24) 齋藤大明(金沢大, 産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「脂質二重膜内におけるコレステロールの構造と相互作用」, 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋, 2009 年 11 月 30 日
  - 25) 三浦俊明, 三上益弘, 分子鎖構造の異なる系におけるリポソーム形成ダイナミクスの分子動力学シミュレーション, 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋, 2009 年 11 月 30 日
  - 26) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「粒子モデルによる膜の弾性定数の計算手法」, 第 23 回分子シミュレーション討論会, 名古屋, 2009 年 11 月 30 日
  - 27) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質機能の分子シミュレーション: 基質認識と酵素反応」, 計算科学シンポジウム 2009, 秋葉原UDX, 2009 年 12 月 7 日
  - 28) 澤田敏彦(産総研, CREST), Dmitri G. Fedorov(産総研, CREST), 北浦和夫(京大院,

- 葉, CREST), 「MD とフラグメント MO 法によるインフルエンザ赤血球凝集素(HA)とシアロ糖鎖の相互作用解析」, 計算科学シンポジウム 2009, 秋葉原, 2009 年 12 月 7 日
- 29) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質機能の分子シミュレーション: 基質認識と酵素反応」, 第 4 回ナノバイオデバイス・ワークショップ, つくば, 2010 年 1 月 15 日
  - 30) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質機能の分子シミュレーション: 基質認識と酵素反応」, 平成 21 年度 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会, つくば, 2010 年 2 月 4 日
  - 31) 三上益弘(産総研, CREST), 「DDS シミュレータの研究開発」, 平成 21 年度 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会, 産総研つくば本部, 2010 年 2 月 4 日
  - 32) 石田豊和(産総研, CREST), 「糖タンパク質の糖鎖認識機構の分子モデリング」, 第 90 日本化学会春季年会, 近畿大学 本部キャンパス, 2010 年 3 月 26-29 日
  - 33) 篠田渉(産総研, CREST), R. DeVane(Temple U.), M.L.Klein(Temple U.), 「粗視化分子モデリングによるベシクル形成シミュレーション」, 平成 21 年度 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会, 産総研つくば本部, 2010 年 2 月 4 日
  - 34) 澤田敏彦, Fedorov Dmitri(産総研, CREST), 北浦和夫(京都大, 産総研, CREST), 「インフルエンザ HA-シアロ糖鎖相互作用の研究」, 第 13 回理論化学討論会, 北海道大学, 2010 年 5 月 23-25 日
  - 35) 三浦俊明, 三上益弘, 二分子膜のベシクル形成ダイナミクスにおける分子構造効果の粗視化分子動力学シミュレーション, 第 59 回高分子学会年次大会, 横浜, 2010 年 5 月 26 日
  - 36) 高岩大輔, 篠田渉, 三上益弘, “脂質分子膜の分子動力学シミュレーション”, 第 48 回日本生物物理学会年会, 東北大学川内キャンパス, 2010 年 9 月 20-22 日
  - 37) 三浦俊明, 三上益弘, ”リポソーム形成過程の粗視化分子動力学シミュレーション”, 日本物理学会 2010 年秋季大会, 大阪, 2010 年 9 月 26 日
  - 38) 高岩大輔(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「糖脂質分子膜の分子動力学シミュレーション」, 第 24 回分子シミュレーション討論会, 福井県民ホール, 2010 年 11 月 24 日
  - 39) 石田豊和, “Effects of Point Mutation on Enzymatic Activity: Correlation between Protein Electronic Structure and Motion in Chorismate Mutase Reaction”, BMB2010(第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 神戸ポートアイランド, 2010 年 12 月 7 日
  - 40) 高岩大輔(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「糖脂質分子膜の分子動力学シミュレーション」, 平成 22 年度 産総研・産技連 LS-BT 合同研究発表会, 産総研つくばセンター共用講堂, 2011 年 2 月 1 日
  - 41) 中村壮伸(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 「分子モデルから連続体記述へのマッピング: 脂質膜・リポソームへの応用」, 物性研・CMSI・次世代ナノ情報 合同研究会「計算物質科学の課題と展望」, 2011 年 1 月 5 日
  - 42) 石田豊和(産総研, CREST), 「タンパク質機能の分子シミュレーション: 基質認識と酵素反応」, 次世代ナノ統合シミュレーションソフトウェアの研究開発, 第 5 回公開シンポジウム(2011), 甲南大学ポートアイランドキャンパス, 2011 年 2 月 23 日
  - 43) 三浦俊明, 三上益弘, 自己組織化膜の構造形成過程における高分子-界面相互作用の効果, 日本物理学会第 66 回年次大会, 新潟, 2011 年 3 月 26 日
  - 44) 高岩大輔(産総研, CREST), 篠田渉(産総研, CREST), 三上益弘(産総研, CREST), 「Molecular Dynamics Study on Effects of Concentrations of GM1 ganglioside on physical properties of the phospholipid membranes」, 第 49 回日本生物物理学会年会, 兵庫県立大学姫路書写キャンパス, 2011 年 9 月 16-18 日
  - 45) 中村壮伸, 篠田渉, “球対称な分子自己集合系の局所圧力の計算手法と生体分子系への適用”, 第一回ソフトマター研究会, キャンパスプラザ京都, 2011 年 8 月 4 日
  - 46) 中村壮伸, 篠田渉, “球対称な系の圧力分布計算における積分路の選択”, 日本物理学

- 会, 富山大学, 2011年9月24日
- 47) 齋藤大明, 篠田渉, “コレステロールを含んだ脂質二重膜の水分子透過性”, 第25回分子シミュレーション討論会, 東京, 2011年12月

国際学会

- 1) O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST) and Y. Nagata, “Network formation of water in a granular material due to viscous flow and its application to drug delivery system”, The 23rd IUPAP International Conference on Statistical Physics, Genova, Italy, July 2007.
- 2) W. Shinoda (AIST, CREST), Michael L. Klein (Univ. Pennsylvania) “Surfactant Self-Assembly: Coarse-grained Molecular Dynamics Study”, Conference on Computational Physics 2007, Brussels, September 2007.
- 3) T. Nakamura (AIST, CREST), W. Shinoda and M. Mikami, “The shear hysteresis in the lamellar phase by dissipative particle dynamics”, Conference on Computational Physics 2007, Brussels, Belgium, September 2007.
- 4) H. Saito (AIST, CREST), W. Shinoda, T. Baba, and M. Mikami, “Hydrophobicity and Stability of Fluorinated Lipid Membranes”, Joint Conference of JMLG/EMLG Meeting 2007 and 30th Symposium on Solution Chemistry of Japan, Hakata, November 2007.
- 5) H. Saito (AIST, CREST), W. Shinoda, M. Mikami, “Molecular dynamics simulation of sphingolipid bilayer including cholesterol: a comparative study by means of different potential model”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 6) Seiji Tsuzuki (AIST, CREST), Tadafumi Uchimaru and Masuhiro Mikami, “Interactions between fucose and aromatic molecules: Analysis by high-level ab initio calculations”, International Symposium on Multi-scale Simulations of Biological and Soft Materials (MSBSM2008), Tokyo, June 2008.
- 7) K. Asayama, S. Itoh and O. Sano (Tokyo University of Agriculture and Technology, Toshiba, JST-CREST), “Passage of a liposome through a cleft of endothelium with glycocalyx bush”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 8) M. Makino (Tokyo University of Agriculture and Technology, JST-CREST), “Migration of Chiral Particle under Shear Flow”, MSBSM2008, June 2008, Tokyo.
- 9) T. Sawada (AIST, CREST), “Ab initio FMO studies of influenza viral hemagglutinin-sialoside receptor interaction”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 10) T. Miura (AIST, CREST) and M. Mikami, “Simulation study on order formation dynamics of self-assembled monolayer”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 11) D. G. Fedorov (AIST, CREST) and K. Kitaura, “Large scale quantum-mechanical calculations with FMO”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 12) T. Morishita (AIST, CREST) and M. Mikami, “Generalized coupling to a heat bath for the acceleration of the phase space sampling”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 13) T. Nakamura (AIST, CREST), W. Shinoda, and M. Mikami, “The shear hysteresis in lamellar structure of surfactant-water binary system”, MSBSM2008, Tokyo, June 2008.
- 14) T. Ishida (AIST, CREST), “Hybrid Modeling Study of a Ligand Recognition Process in Selectin-Carbohydrate Complex”, 1st International Conference of The Grand Challenge to Next-Generation Integrated Nanoscience, Tokyo, June 2008.
- 15) T. Nakamura (AIST, CREST), W. Shinoda, and M. Mikami, “The shear hysteresis in lamellar structure of surfactant-water binary system”, Computational Science Workshop 2008, Tsukuba, December 2008.
- 16) T. Miura (AIST, CREST) and M. Mikami, “Molecular dynamics study on the order formation of self-assembled monolayer”, CSW2008, Tsukuba, December

- 2008.
- 17) T. Sawada, D. G. Fedorov and K. Kitaura, "Relative binding free energies of influenza viral hemagglutinin-sialoside receptor complexes calculated by FMO/PCM method" The International conference on Simulations and Dynamics for Nanoscale and Biological Systems, Tokyo, March 2009.
  - 18) K.Asayama (Tokyo University of Agriculture and Technology), S.Itoh and O.Sano, "Permeation of a Liposome through a Cleft of Endothelium with Glycocalyx Bush", Conf. Comp. Phys., Kaohsiung, Taiwan, December 2008.
  - 19) K. Asayama (Tokyo University of Agriculture and Technology), S. Itoh, M. Makino, and O. Sano, "Hydrodynamic interactions on the permeation of a liposome through a cleft of endothelia with glycocalyx bush", Conf. Comp. Phys, Trondheim, Norway, June, 25, 2010.
  - 20) T. Sawada (AIST, CREST), D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Mechanism of selective influenza HA-sialosides binding revealed by ab initio based calculations", The 28th Naito Conference on Glycan Expression and Regulation [I]: Functions and Disease Mechanisms, Shonan, Kanagawa, Japan, July 27-30, 2010.
  - 21) T. Sawada (AIST, CREST), D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Key factors in the selective binding of the avian and human influenza hemagglutinin to sialosides revealed by ab initio based calculations", The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS 2010), Makuhari, Chiba, Japan, August 1-6, 2010.
  - 22) D. Takaiwa (AIST, CREST), W. Shinoda (AIST, CREST), M. Mikami (AIST, CREST), 「Molecular dynamics study of gangliosides embedded in lipid membranes」, ICCT-2010, Tsukuba Science City, Ibaraki, Japan August 1-6, 2010.
  - 23) T. Sawada (AIST, CREST), D. G. Fedorov, K. Kitaura, "Theoretical study of the selective binding of influenza hemagglutinin to sialoside", The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem2010), Honolulu, Hawaii, US, December 15-20, 2010.
  - 24) T. Nakamura (AIST, CREST), W. Shinoda (AIST, CREST), "New method to evaluate the bending modulus for the fluid membrane from the molecular dynamics simulation", Hawaii Kamehameha Halls II and III (Convention Center), December 17, 2010.
  - 25) T. Ishida (AIST, CREST), "Effects of Point Mutation on Protein Functions: Computational Analysis of Chorismate Mutase Catalysis", The 70th Okazaki Conference: Molecular Mechanism of Photosynthetic Energy Conversion, Okazaki, December 3, 2010.
  - 26) T. Nakamura, W. Shinoda, "Implementation of the pressure profile calculation in spherical coordinates", LAMMPS workshop, Albuquerque Univ. NewMexico, August 9,2011
  - 27) T. Nakamura, W. Shinoda, "Theoretical analysis of elastic properties of vesicles by molecular simulation", MSBSM, Kyoto September 11, 2011
  - 28) H. Saito (Kanazawa University, CREST), "Effect of lipid chain on membrane protein: a molecular dynamics study", The 52nd Sanibel Symposium, USA, February 25 - March 1, 2011.
  - 29) H. Saito (Kanazawa University, CREST), "Free energy profile of water across cholesterol containing lipid bilayer", XVIth International Workshop on Quantum Systems in Chemistry and Physics, Kanazawa, September 11-17, 2011.
  - 30) W. Shinoda, T. Nakamura (AIST, CREST), S. O. Nielsen, "Stability of Liposome: Free Energy Analysis of Vesicle-to-Bicelle Transformation", Conference on Computational Physics 2011, November 11, 2011.
  - 31) Hiroaki Saito, Masashi Iwayama, Hiroyuki Takagi, Takeshi Miyakawa, Kazutomo Kawaguchi, Masako Takasu, and Hidemi Nagao, "Molecular

dynamics study of gramicidin A in lipid bilayer: structure and energetics”, The 52nd Sanibel Symposium, USA, February 19-24, 2012.

(4)知財出願

- ①国内出願 (0 件)
- ②海外出願 (0 件)
- ③その他の知的財産権  
なし

(5)受賞・報道等

①受賞

- (1)篠田渉, 分子シミュレーション研究会学術賞, 2008 年 11 月 18 日  
受賞対象研究「両親媒性分子の自己集合構造の分子シミュレーション」
- (2)森下徹也: 第 3 回若手奨励賞(日本物理学会・領域 6)2009 年 3 月  
受賞対象研究「第一原理分子動力学法を用いた“ポリアモルフィズム”の研究」

②マスコミ(新聞・TV等)報道

なし

③その他

なし

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- ・DDS シミュレーションシステムは, [http:// rics1.hpcc.jp/inss](http://rics1.hpcc.jp/inss) から公開中である.
- ・FMO-Gamess(開発者:「京大グループ」北浦和夫と「産総研グループ」Dmitri FEDOROV)は,  
<http://www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html> で公開中である.
- ・MPdyn(開発者:「産総研グループ」篠田渉)は,  
<http://staff.aist.go.jp/w.shinoda/MPDyn/index.html> で公開中である.
- ・リポソームの血管内輸送と血管内壁間隙の透過に関するシミュレーションプログラムは OCTA のユーザインターフェイス GOURMET 上で動作し,  
OCTA-BBS (<http://octa.jp/ChangeInfo.html>) に公開中である.

②社会還元的な展開活動

- ・第 24 回 DDS 学会学術集會に研究成果を出展し, 観客約 30 名を集めた. 2008 年 6 月 29 日-30 日, 東京.

§ 6 研究期間中の主なワークショップ, シンポジウム, アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2007.3.23	第一回 DDS 講演会	産総研	26 名	ドイツのユーリッヒ研究所の野口博司氏に“Relation between dissipative particle dynamics and multi-particle collision dynamics”の講演を依頼し, メソスケールの流体力学計算法についての情報収集を行った.
2007.7.31	第二回 DDS 講演会	産総研	68 名	京都大学大学院薬学研究科教授橋田充先生に「DDS 研究の現状と展望: 薬物動態の解析と制御を基盤として」の講演をしていただき, DDS に関する情報収集を行うと同時に, 三上チームのプロジェクト内容を紹介した.

2007.11.19	第三回 DDS 講演会	産総研	28 名	ノースカロライナ大学教授の Berkowitz 先生に“Phospholipid Membranes What can one learn from detailed computer simulations”の講演をしていただき、脂質分子膜のシミュレーションに関する情報収集を行うと同時に、三上チームのプロジェクト内容を紹介した。
2008.6.18 - 2008.6.20	MSBSM2008 International Symposium on Multi-scale Simulations of Biological and Soft Materials	東京・秋葉原ダイビルコンベンションホール	150 名	生体・ソフト物質シミュレーションの最先端の研究を行っている国内外の第一線の研究者を招聘し(海外 7 名, 国内 4 名), 分子間相互作用の計算法, 物質モデリング法, 粗視化法, 粒子/流体ハイブリッド法, 非平衡シミュレーション法などのマルチスケールシミュレーションの根幹に関わる問題を議論した。口頭発表は 22 件, ポスター発表は 44 件であった。三上チームからは, 4 件の口頭発表と 9 件のポスター発表を行った。なお, 本シンポジウムは山本チームとの共催で実施した。
2008.6.29 - 2008.6.30	第 24 回 DDS 学会学術集会	東京・六本木ヒルズ	30 名	第 24 回 DDS 学会学術集会において, 本プロジェクトの展示を行った。DDS 学会は, その名が示す通り我が国の DDS 研究の中心である。この学術集会で本プロジェクトの研究成果を参加者約 30 名にアピールし, 議論できたことは大きな刺激となった。DDS 研究におけるシミュレーションの役割の大きさを再認識できた。
2009.10.15 - 2009.10.16	産総研 オープンラボ	産総研	60 名 + 10 名	DDS プロジェクトの展示を行い, 企業の研究者約 60 名にプロジェクトの研究内容と成果を説明した。また, ラボツアーで 10 組の研究室訪問者にも約 30 分の時間でプロジェクトの研究内容と成果を紹介した。直接, 企業研究者と議論でき, DDS 研究におけるシミュレーションの必要性について再認識でき, 研究の励みになった。
2011.5.27	第五回 DDS 講演会	産総研	25 名	京都大学薬学研究科の山下准教授に「糖修飾リポソームの体内動態」の講演をして頂いた。また, プロジェクトメンバー 4 名が本プロジェクトの研究内容と成果を紹介した。この後, DDS シミュレータの統合検証研究について討議した。
2006.10.11	高知学芸高等学校見学会での講演	産総研	50 名	産総研に見学に来た高知学芸高等学校 50 名に都築誠二氏が「計算機シミュレーションを使った分子間に働く弱い力の研究」の講演を行った。
2007.10.9	高知学芸高等学校見学会での講演	産総研	50 名	産総研に見学に来た高知学芸高等学校 50 名に都築誠二氏が「計算機シミュレーションを使った分子間に働く弱い力の研究」の講演を行った。
2011.6.29	茨城高等工業専門学校科学講演会での講演	茨城高等工業専門学校	220 名	茨城高専の 3 年生に対して三上益弘が「コンピュータシミュレーション-自然現象解明と製品設計-」の講演を行った。DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し, プロジェクトをアピールした。
2011.7.23	産業技術総合研究所 一般公開の	産総研	40 名	産総研の一般公開で, 高校生から 60 才代までの幅広い聴衆に対して三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を

	科学講演会			行った。DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。
2011.8.11 ～ 2011.8.12	サイエンス キャストینگ 2011 での 講演と高校生 の指導	産総研 つくば国 際会議場	2 名 + 50 名	つくば国際会議場主催のコサイエンスキャストینگ 2011 で高校生 2 名にに対して、三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講義を行った。DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。また、薄膜成長シミュレーションの実習を行い、シミュレーションの実際を体験させた。翌日の高校生の見学実習の発表会で高校生を指導した。
2011.9.30	東京海洋大学 見学会での 講演	産総研	20 名	産総研に見学に来る東京海洋大学の学部学生 20 名に三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を行った。DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。
2011.11.25	土浦第一高等 学校見学会で の講演	産総研	50 名	産総研に見学に来る土浦第一高等学校 50 名に三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を行った。DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。
2012.1.14	茗溪学園 高等学校 科学講演会	茗溪学園 高等学校	240 名	茗溪学園高等学校科学講演会で三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を行った DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。
2012.3.2	金沢大学 理学談話会 での講演	金沢大学	100 名	金沢大学理学談話会で三上益弘が「マルチスケールシミュレーションを目指して」の講演を行った DDS プロジェクトの全体の研究成果について話し、プロジェクトをアピールした。
2012.3.16	常陸大宮高校 出前講義	常陸大宮 高校	28 名	常陸大宮高校出前講義で三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を行った DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。
2012.3.21	甲陵高等学校 出前講義	甲陵高等 学校	22 名	甲陵高等学校出前講義で三上益弘が「コンピュータシミュレーションで探る原子・分子の超微細な世界」の講演を行った DDS プロジェクトの研究成果であるインフルエンザ感染機構などについて話し、プロジェクトをアピールした。

## § 7 結び

本プロジェクトの分子シミュレーショングループに属するメンバーは、分子動力学法の高速解法の開発、拡張アンサンブル法の研究などの手法の開発と、蛋白質などの生体高分子、脂質二重膜、自己集合化膜、高分子電解質膜などの構造と物性の研究、高分子結晶化プロセス、シリコン液体から正二十面体クラスターの形成プロセスなどの研究を行ってきた。また、糖鎖とレクチンの分子間相互作用グループのメンバーは、主として、非経験的分子軌道法の高速高精度計算法の開発や

その有機分子、蛋白質分子の電子状態、反応解析、分子間相互作用の研究を行ってきた。流体解析グループのメンバーは、主に、細胞壁付近で受ける流体力学的な相互作用の解析方法の研究やその応用研究を行ってきた。それぞれの分野では、業績を上げているが、各手法の適用可能な対象が限定されていることに限界を感じ、各種法を組み合わせることで限界を突き破り、新しい方法論を構築するマルチスケール・マルチフィジックス問題を模索していた。そんな折、リポソームを利用した DDS の研究開発を行い、優れた DDS ナノ粒子を発表している産業技術総合研究所・ナノテクノロジー研究部門の山崎登氏と長時間フリーディスカッションする機会を得て、DDS の研究の最前線の現状とそこに横たわるシミュレーションの研究課題を知るに至った。その後、プロジェクト参加メンバーと研究構想を議論し、その研究計画を具体化し、審査を経て採択され研究を開始した。

我々は、DDS の研究課題に取り組むのも、流体シミュレーションも含んだマルチスケールシミュレーションに取り組むのも初めてであった。そのために、DDS の研究課題を具体化し、互いの手法を深く理解するために、隔月おきの全体プロジェクト会議を開くことを決めた。この会議は、2011 年 3 月 11 日の東日本大震災の影響で 1 回、中止せざるを得なかったのを除いて、定期的で開催した。この会議は、プロジェクト全体をまとめる上で非常に重要であった。さらに、プロジェクト参加者の献身的な協力に支えられて研究目標の達成に向けて、プロジェクトを円滑に推進することができた。

マルチスケール・マルチフィジックス問題に真に役立つ方法論は、計算手法を単に接続するだけのものではないことは、研究代表者らがこれまでの経験から学んだ認識であり、具体的なターゲットがあって初めて有用なそして拡張性のある方法論となり得ると考えている。その意味で、リポソームを利用した DDS は、格好のターゲットであり、幸い同じ研究所内に DDS の研究グループや糖鎖の研究センターがあり、DDS に関する最新の実験的研究成果を持つ実験グループと密な議論ができたことや、様々な外部の実験グループ(京都大学薬学研究科、東京大学医科学研究所、中部大学生命健康科学部など)と議論できたことは、プロジェクトを推進する上での非常に役立った。

我々は、「§ 4 研究実施内容及び成果」で、すでに述べたように、DDS シミュレーションに関する多くの研究成果を得ることができた。しかし、「DDS シミュレータの研究開発」は無事終了するが、この終了はスタートであると考えている。

例えば、現在のリポソームを用いた DDS の開発では、リポソーム表面の性質、その表面に結合させる糖鎖とリンカータンパク質を数百種類調べて最適な組み合わせを選び出している。また、糖鎖修飾した能動性標的性 DDS ナノ粒子の各種の組織への標的指向性を制御するには、DDS ナノ粒子表面に結合する糖鎖リガンド分子の構造とともに、組織細胞ごとに、糖鎖分子を数百種調べ、さらに、その表面数密度を最適化するために、多くの実験を繰り返している。DDS シミュレーション技術は、このような問題に対して、研究者・技術者の誰でもが回答を容易に得られるほどに完成されていない。ましては、血管中の DDS ナノ粒子の輸送プロセスについても、DDS ナノ粒子表面上の糖鎖分子の表面数密度と患部への吸収率の関係を明らかにし、疾患ごとの糖鎖表面数密度の最適値を絞り込むなどは、現状では、シミュレーション技術の面でも、計算コストの面でも困難である。

また、将来、テーラーメイド医薬を実現させるためには、個人ごと及び疾患ごとに最適な DDS ナノ粒子を迅速に設計し、合成し、患者に提供する必要がある。そのためには、疾患ごとに異なる DDS ナノ粒子の最適な直径を実現し、患部まで壊れずに輸送される耐性を持つ脂質分子と形成プロセスの設計、疾患部近傍の血管壁にあるレクチンを認識する糖鎖の分子設計、疾患部への吸収率を最大化するための DDS ナノ粒子上の糖鎖分子の表面数密度の設計が重要である。しかし、このような問題に対しても、我々の開発した DDS シミュレーション技術は、迅速に回答を与えことはできない。

以上のように、まだ多くの課題が残っている。時間はかかると思われるが、一つ一つの課題を解決してゆけば、DDS の研究開発を支援できる真に役立つシミュレーション技術になり得ると確信している。また、このシミュレーション技術は DDS に限らず、白血球、抗体などの抗体反応や、再生医療で重要な細胞間の認識の解明にも適用できるよう拡張可能であり、生体システムを研究するための基盤的手法となり得るので、広く協力を求め、その実現にも寄与したいと考えている。



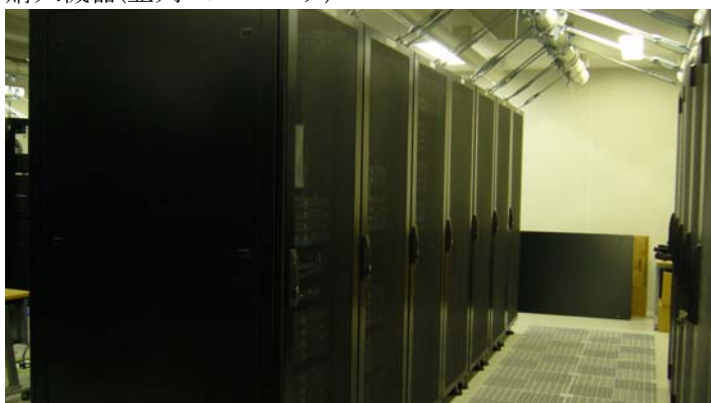
三上チーム メンバー



国際会議(MSBSM2008)の集合写真 2008.6.18-2008.6.20 東京・秋葉原ダイビルコンベンションホール



購入機器(並列コンピュータ)



茨城高等工業専門学校科学講演会での講演

