

課題名 (タイトル) :

海綿骨リモデリングシミュレーション

利用者氏名 : ○ 安達 泰治
亀尾 佳貴所属 : 社会知創成事業 イノベーション推進センター V CADシステム研究プログラム
細胞シミュレーションチーム

1. 本課題の研究の背景、目的

海綿骨のリモデリング過程において、骨基質中に埋め込まれた骨細胞は、周囲の力学環境を感知するメカノセンサーとしての役割を担っている。分子スケールにおいて、アクチンフィラメントが、このメカノセンシング機構の構成要素として役割を果たしていることが知られている。したがって、アクチンフィラメントの力学特性を理解することは重要であり、特に、フィラメントの引張剛性、曲げ剛性、および、ねじれ剛性は、フィラメントの基礎的な変形を理解する上で必要不可欠な性質であると考えられる。

そこで本研究では、アクチンフィラメントの引張、および、ねじれ剛性に着目する。分子動力学 (Molecular dynamics: MD) 法を適用し、分子構造の動的なふるまいに基づいて、引張、ねじれ剛性を評価する。

2. 具体的な利用内容、計算方法

2. 1 シミュレーションモデル

本シミュレーションに用いたアクチンフィラメント構造は、Protein Data Bank に登録されている 1 MVW データを用いた。まず、同構造から、Fig. 1 に示す、G アクチン 14 個から構成されるアクチンフィラメントを取り出した。アクチンフィラメントは、およそ 13 個の G アクチンで半周期構造をなす二重らせん構造を形成し、本構造はその半周期長さに相当する。次に、本アクチンフィラメント構造に対して、フィラメント構造の中心軸を z 軸とする座標系を定義した。さらに、細胞質中における分子構造を再現するため、アクチンフィラメント構造周囲の直方体領域 (x 軸方向 117 \AA , y 軸方向 118 \AA , z 軸方向 473 \AA) に水分子を配置した。また、系全体の電荷を中性に保つため、 Na^+ , Cl^- イオンをあわせて 30 mM 配置し、初期のシミュレーションモデルとした。

2. 2 分子動力学シミュレーション

前節で構築したシミュレーションモデルに対して、

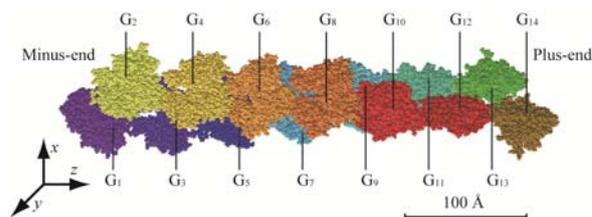


Fig. 1 Actin filament model consisting of 14 actin subunits.

MD 計算を行う。ここでは、汎用分子動力学計算ソフト、NAMD2.6 (Univ. of Illinois) を適用した。初期構造のひずみを除去するため、 12.0 ns 間の平衡化シミュレーションを行った。平衡化シミュレーションは、境界条件を全方向周期境界とし、温度 310 K , 圧力 1.0 atm の NPT アンサンブルを用いた。時間刻み幅は、 2 fs/step とした。原子間相互ポテンシャルは、共有結合、クーロン、および分子間力 (Lennard-Jones) ポテンシャルを合わせて使用した。ここで、クーロン力は PME 法を、分子間力に対してはカットオフ法を用いて計算した。平衡化されたモデルに対して、同条件の下 25.0 ns 間の平衡状態シミュレーションを行った。

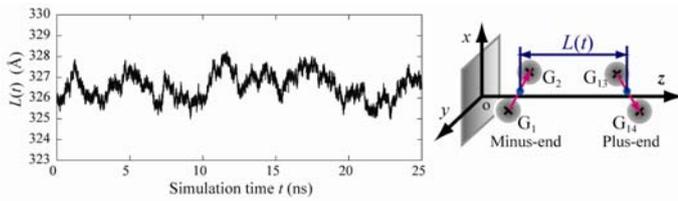
3. 結果

3. 1 フィラメント長さ $L(t)$

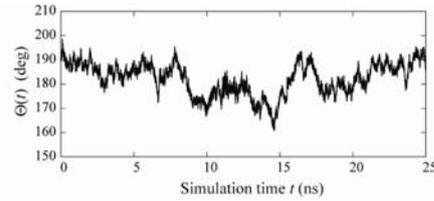
Fig. 2(a) に示すように、フィラメント長さ $L(t)$ を、フィラメントのマイナス端のアクチン 2 分子 (G_1, G_2) の重心位置と、プラス端のアクチン 2 分子 (G_{13}, G_{14}) の重心位置の z 軸方向距離と定義する。平衡状態におけるフィラメント長さ $L(t)$ の時間変化を同図左に示す。Fig. 2(a) より、分子構造の熱振動にともない、フィラメント長さが変動の様子が確認された。 25 ns 間の平衡状態におけるフィラメントの長さの平均は、 326.6 \AA であった。

3. 2 引張剛性 $K_{\text{ext}}(t)$

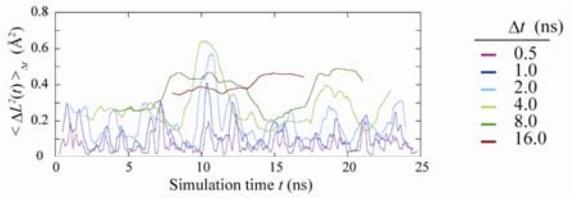
フィラメントの平均二乗伸び $\langle \Delta L^2(t) \rangle$ と $1 \mu\text{m}$ 長さあたりの引張剛性 $K_{\text{ext}}(t)$ は、エネルギー等分配則により、



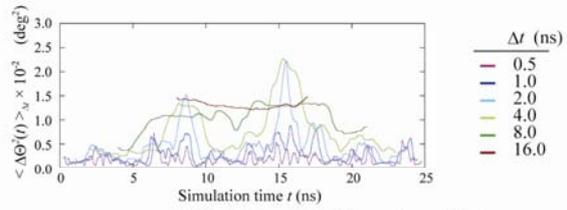
(a) Filament length $L(t)$



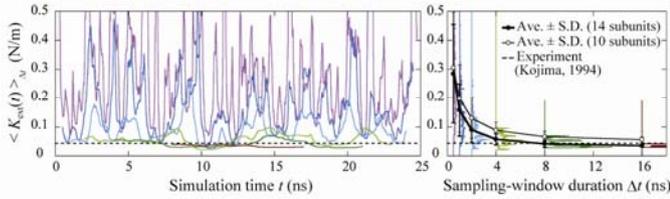
(a) Twist angle $\Theta(t)$



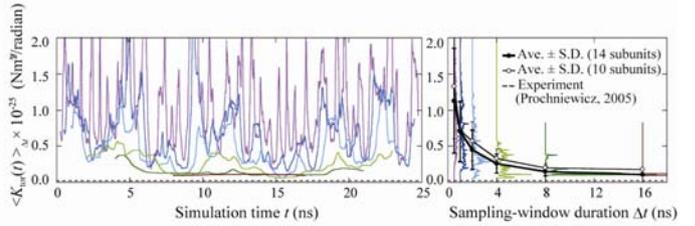
(b) Variance of filament length $\langle \Delta L^2(t) \rangle_{\Delta t}$



(b) Variance of twist angle $\langle \Theta^2(t) \rangle_{\Delta t}$



(c) Extensional stiffness $\langle K_{ext}(t) \rangle_{\Delta t}$



(c) Torsional stiffness $\langle K_{tor}(t) \rangle_{\Delta t}$

Fig. 2 Evaluation of extensional stiffness $\langle K_{ext}(t) \rangle_{\Delta t}$

Fig. 3 Evaluation of torsional stiffness $\langle K_{tor}(t) \rangle_{\Delta t}$

$$K_{ext}(t) = \frac{k_B T \langle L(t) \rangle_{\Delta t}}{\langle \Delta L^2(t) \rangle_{\Delta t}} \cdot \frac{1 \mu\text{m}}{\langle L(t) \rangle_{\Delta t}} \quad (1)$$

と関係付けられる．ここで、 k_B はボルツマン数、 T は温度、 $\langle \rangle_{\Delta t}$ は、時刻 t における $(t - \Delta t/2 < t < t + \Delta t/2)$ の時間平均を表す．本研究では、時間幅 $\Delta t = 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0$ 、および、 16.0 [ns]を用いた．

フィラメント長さの熱揺らぎに基づいて、エネルギー等分配則式(1)に従い、 $1 \mu\text{m}$ 長さあたりの引張剛性 $K_{ext}(t)$ を評価した．時刻 t におけるフィラメントの平均二乗伸び $\langle \Delta L^2(t) \rangle$ 、および、引張剛性 $K_{ext}(t)$ の時間変化を Fig. 2 (b)、および、(c) に示す．フィラメント構造の変化に対応して、剛性値も時間変化することが確認された．Fig. 2(c) 右に、各時間幅 Δt に対して、引張剛性 $K_{ext}(t)$ をヒストグラム表示し、各時間幅 Δt に対する剛性の平均値をプロットした．同図より、時間幅 Δt の増大にともない、引張剛性が減少し、ある値に収束することが示唆された．また、収束した値は、実験値と近い値を示した．

観測する時間幅 Δt の増大にともない、引張剛性が減少したことは、時間幅 Δt の長さや構造ゆらぎの空間スケールに相関関係があることが原因であると考えられる．つまり、短い時間幅 Δt では、フィラメントの構造ゆらぎの一部が観測されるにすぎないが、一方、十分に長い時間幅 Δt では、フィラメント全体の構造ゆらぎ

を観測することが可能になる．そのため、時間幅 Δt の増大にともない、観測される構造ゆらぎの大きさが増大し、結果、引張剛性が減少することが考えられる．しかし、構造ゆらぎの空間スケールと時間スケールの関係を厳密に解析するためには、より長時間のシミュレーションを実行し、考察する必要がある、今後の課題である．

フィラメントの両端の影響を調べるため、中心の 10 個の G アクチンから構成されるフィラメントの剛性を解析した．これを Fig. 2 (c) に示す．その結果、14 個の G アクチンから構成されるフィラメントに比して引張剛性がわずかに増大することが示唆された．

3. 3 フィラメントねじれ角 $\Theta(t)$

フィラメントのねじれ角 $\Theta(t)$ を、Fig. 3(a) に示すように、フィラメントのマイナス端のアクチン 2 分子 (G_1, G_2) の方向ベクトルと、プラス端のアクチン 2 分子 (G_{13}, G_{14}) の方向ベクトルがなす角と定義する．平衡状態におけるフィラメントのねじれ角 $\Theta(t)$ の時間変化を同図左に示す．フィラメント長さ $L(t)$ と同様に、ねじれ角 $\Theta(t)$ が変動する様子が確認された．

3. 4 ねじれ剛性 $K_{tor}(t)$

フィラメントの平均二乗ねじれ角 $\langle \Delta \Theta^2(t) \rangle$ と単位長さあたりのねじれ剛性 $K_{tor}(t)$ は、

$$K_{tor}(t) = \frac{k_B T \langle L(t) \rangle_{\Delta t}}{\langle \Delta \Theta^2(t) \rangle_{\Delta t}} \quad (2)$$

と関係づけられる。時刻 t におけるフィラメントの平均二乗ねじれ角 $\langle \Delta \theta^2(t) \rangle$, および, ねじれ剛性 $K_{\text{tor}}(t)$ の時間変化を Fig. 3(b), および, (c) に示す。結果として, 引張剛性 $K_{\text{ext}}(t)$ と同様の傾向が見られ, 時間幅 Δt の増大にともない, ねじれ剛性は減少し, 実験値に近い値に収束することが示唆された。

4. まとめ

本研究では, MD シミュレーションを適用し, アクチンフィラメントの引張, ねじれ剛性を評価した。その結果, 観測する時間幅の増大にともない, 引張, ねじれ剛性は減少し, 実験値に近い値に収束することが示唆された。

平成 21 年度 RICC 利用研究成果リスト

【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】

Matsushita, S., Adachi, T., Inoue, Y., Hojo, M., Sokabe, M., Evaluation of extensional and torsional stiffness of single actin filaments by molecular dynamics analysis. *Journal of Biomechanics* 43, 3162-3167, 2010.

【国際会議、学会などでの口頭発表】

Shinji Matsushita, Taiji Adachi, Yasuhiro Inoue, Masaki Hojo and Masahiro Sokabe
“Quantitative evaluation of stiffness of actin filament under different mechanical conditions”
6th World Congress of Biomechanics, Singapore, 2010 年 7 月.

松下 慎二, 安達 泰治, 井上 康博, 北條 正樹, 曾我部 正博
“分子動力学法を用いたアクチンフィラメントの引張・ねじり剛性評価”
日本機械学会 2010 年度年次大会, 名古屋, 2010 年 9 月.

Shinji Matsushita, Yasuhiro Inoue, Masaki Hojo, Masahiro Sokabe and Taiji Adachi
“Tensile Force Suppresses Twisting Motions of Individual Actin Subunits”
日本生物物理学会第 48 回年会, 仙台, 2010 年 9 月.

松下 慎二, 安達 泰治, 井上 康博, 北條 正樹, 曾我部 正博
“張力作用下におけるアクチンフィラメントの分子間相互作用解析”
日本機械学会第 23 回日本計算力学講演会 CMD2010, 北見, 2010 年 9 月.