

〈総 説〉

生体分子における パスサーチおよびパスサンプリングについて

藤崎 弘士

Path Search and Path Sampling Problems for Biomolecules

Hiroshi FUJISAKI

(2011 年 1 月 12 日受理)

1. イントロダクション

見知らぬ土地で駅からある建物まで歩いて行きたいとしよう。地図を広げ、もしくは Google マップを立ち上げ、出発地(駅)と到着地(建物)を確認する。その 2 点の間の距離がそんなに短くなければ、経路(パス)は少なくとも数通りはあるはずである。では、その中でわれわれはどの経路を選ぶか？これがパスサーチ(経路探索)もしくはパスサンプリング(経路抽出)の問題である¹。

われわれは大抵は、距離が最短になるパスを選ぶだろう。これは歩く速度が一定だと仮定して、最短の時間で行けるパスを選ぶということであり、最短時間経路 (minimum time path) と呼ぶことができる。しかし、地図の上で距離が最短の経路だからと言って、道の高低や高架橋を渡らなければいけないことなどを考慮すると、必ずしも最短の時間で行けるとは限らない。つまり、パスによっては行きにくいパスと行きやすいパスが存在する。パスサーチとはそれらを総合的に判断して、一番いいパスを探すということである。

面白いことに、自然界もこの原理を採用している。例えば、光はある地点 A から別の地点 B に行く際に、その到達時間が最小になるような経路を選んで進む。これをフェルマーの原理と言う。実際、光だけに限らず、古典力学に支配される物体は、経路に沿った作用と呼ばれる量が最小になるように動く。これは最小作用の原理と呼ばれる。この最小作用の原理から、

¹パスサーチとパスサンプリングの違いについては以下で明らかになるが、ここではともに適当な経路を見つけることだと思ってもらえばよい。パスサンプリングの正確な意味に関しては、4 節参照。

古典力学の基礎方程式であるニュートン方程式²

$$\frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} = \frac{\mathbf{F}}{m} \quad (1)$$

を導くことができるので、最小作用の原理が基本的であるということもできる。

現在の科学者の間のコンセンサスとして、この古典力学は原子や分子の運動を支配しているので³、それはタンパク質などの生体分子に始まって、細胞、臓器、人体、脳、地球、宇宙、すなわち、森羅万物の運動を記述できていると考えられている。そこで、ニュートン方程式をできるだけ大きな系に対して適用し、それを数値的に解くことによって、生命現象を理解しようとする流れが現在生まれている。しかし、系が大きいために⁴、非常に大型かつ高速の計算機が必要になる。世界各国でスーパーコンピュータの開発が進んでいるが、その一つの応用例として、生体分子のシミュレーションが掲げられることが多い。つまり、これはチャレンジングな課題であるということである。

その際、上のニュートン方程式を初期値問題として解くことがほとんどである。つまり、式(1)を時間に関して離散化して、以下のような形にする⁵。

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) \simeq \mathbf{r}(t) + \frac{1}{m}\mathbf{p}(t)\Delta t, \quad (2)$$

$$\mathbf{p}(t + \Delta t) \simeq \mathbf{p}(t) + \mathbf{F}(\{\mathbf{r}(t)\})\Delta t \quad (3)$$

(ここで $\mathbf{p} = m(d\mathbf{r}/dt)$ は運動量と呼ばれる量である。) これは Δt が「小さい」ときに成り立つ近似であり、厳密には正しくない。どのくらい小さくすればいいかというと、生体分子などを扱う場合は、 $\Delta t = 10^{-15}\text{s}$ (1 フェムト秒) 程度である。ある初期状態 ($\mathbf{r}(0), \mathbf{p}(0)$) を決め、力を計算してこの式に代入すると、 Δt 秒後の状態(位置と運動量)が分かる。それを初期状態として、次に $2\Delta t$ 秒後の状態が分かる…という具合に、この計算を何回も繰り返すことで(Δt で離散化された) どんな時間での現象も計算できる。これがニュートンの方程式の標準的な数値解法であり、分子動力学 (molecular dynamics = MD) と呼ばれる。この手法を用いることで、原理的にはどのような系に対しても未来の(もしくは過去の)状態の予測ができる。

²物理を専門としない読者のための注：この式の左辺は加速度と呼ばれ、位置 $\mathbf{r} = (x, y, z)$ を時間で2回微分したものである。それは物体の動きやすさを表す。右辺は、力 ($\mathbf{F} = (F_x, F_y, F_z)$) を質量 (m) と呼ばれる量で割ったものである。この等式(ニュートンの方程式)は実験事実であり、物体の運動がそんなに速くなければ非常にいい精度で成り立つ。また、ここでは一つの物体の運動を考えているが、多くの物体が相互作用で結びついているときでも、これと同様の式が成り立つ。

³本稿では、量子効果は無視する。ただし、量子効果まで取り込んだ試みは既に始まっている。

⁴現在は 10^6 原子ほどの巨大分子の計算が可能になってきている。ちなみに、1 個の細胞の原子数は 10^{17} ほど、1 人の人間の原子数は 10^{27} ほどであり、桁違いに原子数が多い。そのような状況では、1 個 1 個の原子の運動方程式を解くのではなく、統計力学、流体力学のような異なる階層の方程式とニュートン方程式を連立させて解く、マルチスケールな解法を取らねばならない。

⁵これはオイラーの解法と呼ばれる、もっともシンプルな解法である。もっと複雑だが、精度のいい方法に関しては、例えば文献¹⁾などを参照。

しかし、興味がある生体現象は 10^{-3} s (1ms) か、それ以上の時間スケールでおこる場合もあり、しかも、いくつもの巨大タンパク質が絡むような現象ではその計算は絶望的に難しくなる⁶。そこでいかにニュートン方程式を高速かつ正確に解くかということが基本的な問題として認識されており、世界中の研究者たちが鎬を削っている。ソフト、ハード、アルゴリズムそれぞれの面で、ここ数十年で格段の進歩があったが、まだまだ大きい生体分子の長時間ダイナミクスを楽に計算できるという段階ではない。

生体分子が機能するときは、ある状態 A から別の状態 B にゆっくりと遷移していくことが多い。これは初期状態を A として、ニュートンの方程式を上のように数値的に解くことで計算(予測)できるはずであるが、それは難しい。そこで、A と B が与えられたときに、それらをつなぐようなパスを(なんとかして)探すという戦略を考えることができる。これが、パスサーチ、もしくはパスサンプリングの基本的な考え方であり、本稿の主題である。

本稿の構成は以下の通り：2 節で、絶対零度でのパスサーチの問題、つまり最小エネルギー経路を求める問題について述べる。そのアルゴリズムとして、固有反応座標法、Self-penalty walk 法、Nudged-elastic band 法、絶対零度のストリング法、共役ピーク改良法について説明する。3 節では、前節のパスサーチを有限温度のものに拡張したアルゴリズムについて議論する。その方法論を用いることで、自由エネルギー曲面における最小エネルギー経路を求めることができる。4 節では、もっとも一般的なパスサンプリングのアルゴリズムについて紹介する。これは大きくは、分子動力学の軌道をそのまま使う方法論と、作用に基づく方法論に分けられる。パスサンプリングはパスサーチの方法と異なり、時間発展(因果律)の情報がある程度取り込むことができ、また一本のパスだけでなく、多数のパスをまとめて考えることができるという利点がある。最後に 5 節でまとめと展望について述べる。より専門的なレビューとしては、文献³⁾⁻⁶⁾を参照。

2. 絶対零度でのパスサーチ——最小エネルギー経路

さて、数十原子程度の大きさの分子の構造変化の場合、分子のある配置 A から別の配置 B への構造変化を計算する手法として標準的なものは、福井謙一⁷⁾による固有反応座標 (Intrinsic Reaction Coordinate = IRC) 法である^{7),8)}。IRC の手順は以下の通りである。まず、A と B をつなぐ遷移状態 (Transition State = TS)⁸⁾を見つける。その後、以下の方程式を遷移状態を初期状態として解く。

$$\frac{d\mathbf{r}(s)}{ds} = -\frac{\nabla V(\mathbf{r})}{|\nabla V(\mathbf{r})|} \quad (4)$$

⁶ただし、2010 年にアメリカの David Shaw Research という民間の研究所において、Anton という超高速の計算機が登場し、50 残基ほどのタンパク質に対して、1 ミリ秒の計算が可能になった²⁾。この「事件」は MD 業界にとって衝撃であった。

⁷1981 年ノーベル化学賞受賞。

⁸ポテンシャル面の鞍点のこと。

ここで、 $\mathbf{r}$ は質量で重みをつけた座標 (mass-weighted coordinates) であり、 s はパスの長さを表す。この式の右辺はポテンシャル関数 $V(\mathbf{r})$ の負の導関数(つまり、力)に比例する。計算の途中でポテンシャル関数(エネルギー)の値をモニタしておき、それが極小になったら計算を止める。この手順を遷移状態から 2 回、別方向に実行することで、1 本の IRC が求められる。

この方法は確かに小さな分子に対しては働き、それは最小エネルギー経路 (minimum energy path = MEP) になっている場合が多い。MEP とは、その方向に進むと、エネルギーが極小になっているようなパスのことであり、状態間を結ぶパスとしてはもっとも基本的な概念である。しかし、IRC を生体分子に関してそのまま適用することは難しい。まず、遷移状態を見つけるのが大きな分子の場合、非常に難しくなる。また生体分子などではエネルギー曲面が多次元であり、非常に凸凹しているので、遷移状態の数が多くなり、それを逐一探すわけにもいかない。さらに、有限温度の場合は、多くのパスが出てくることが予想されるので、それを IRC の方法論だけを使って 1 本 1 本求めようとするには限界がある⁹。

IRC の特徴は、微分方程式で書かれているということであり、それが上のいくつかの問題を生んでいる。微分方程式を使うということは、局所的な観点からパスサーチを行うということになるが、それを大域的な観点から行うべきではないか、という戦略が考えられる。以下で紹介するのはそういったパスサーチの方法であり、それらはパスに依存する量を最小化することで MEP を求めようとするものが多い。

2.1. Self-penalty walk 法

自己ペナルティ・ウォーク (SPW) 法は、Czermanski と Elber によって導入された MEP を求めるための手法である¹⁰。SPW は現在使われることは少ないが、パスサーチのアルゴリズムとして、基本的な概念を含んでいるので、ここである程度説明しよう。

この方法はパスに依存する以下の量(線積分)を最小化することで MEP が求められると考える:¹¹⁾

$$S_V = \frac{1}{L} \int_{\mathbf{r}_A}^{\mathbf{r}_B} V(\mathbf{r}) d\mathbf{l}(\mathbf{r}) \quad (5)$$

ここで $V(\mathbf{r})$ はパスを求めたいポテンシャル面であり、 $\mathbf{r}$ は分子の位置(配置)である。数値的に計算する際には、以下のような離散化されたターゲット関数を用いる。

$$\begin{aligned} S_{\text{SPW}} &= S_V + S_C + S_R \\ &= \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M V(\mathbf{r}_i) + \gamma \sum_{i=1}^{M-1} (d_{i,i+1} - \langle d \rangle)^2 + \rho \sum_{i,j} \exp \left\{ - \left(\frac{d_{ij}}{\lambda \langle d \rangle} \right)^2 \right\}. \end{aligned} \quad (6)$$

ここで S_V は線積分 (5) を離散化したものである。以下、連続的な経路を離散的に表した $\mathbf{r}_i$ のことをビーズと呼ぶ。 i はビーズのインデックスであり、その値はビーズの総数を M として、 $1 \sim M$ である。 S_C はビーズ間の距離をほぼ $\langle d \rangle$ にするための拘束力、 S_R は各ビーズが

⁹ただし、IRC を改善していくという方向性の研究も盛んになされており、少数自由度の化学反応を扱う上では重要である。たとえば、文献⁹⁾ 参照。

お互いを避けるようにするための反発力を表している。この関数を最適化するために、いろんな最適化のアルゴリズム¹⁰を使うことができる。ある適当な初期の経路¹¹から最適化をしていき、ターゲット関数が(ユーザーの定める)閾値以下になったところで計算をストップする。Czerminski と Elber は最初に小さなペプチドの構造変化の計算にこれを用いた¹⁰。そのすぐ後に、この手法を用いて、大峰と田中は水中での水素結合ネットワークの切り替えを調べた¹²。また、この手法で Elber と共同研究者たちは生体分子の酵素反応の初期経路を作った¹³。

このように SPW は有用だが、いくつかの欠点がある。まず、付加的な拘束条件 (S_C, S_R で表される) をかけているので、MEP に収束するかどうか明らかではない。また、この拘束条件に入っているパラメータをどのように適正に選ぶかも定かではなく、経験的に決めるしかない。そこで、もっとパラメータによらないパスサーチの方法があれば望ましい。以下で紹介する nudged-elastic band 法とストリング法はまさにそのような方法である。

2.2. Nudged-elastic band 法

Nudged-elastic band (NEB) 法¹⁴ では SPW と同様、2 つのビーズ間の相互作用を人為的に導入する。全体のターゲット関数は

$$S_{\text{NEB}} = \frac{k}{2} \sum_{i=1}^{M-1} |\mathbf{r}_{i+1} - \mathbf{r}_i|^2 + \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M V(\mathbf{r}_i) \quad (7)$$

と仮定される。ここで第 2 項は SPW の S_V であるが、第 1 項は SPW の S_C とは異なり、単純に隣り合うビーズ間にバネの力が働くと考える¹²。これを最適化するのでなく、NEB では以下の「力」を使って各ビーズを動かす:

$$\mathbf{F}_i^{\text{NEB}} = (\mathbf{F}_i^V)_\perp + (\mathbf{F}_i^S)_\parallel \quad (8)$$

ここで

$$(\mathbf{F}_i^V)_\perp = \mathbf{F}_i^V - (\mathbf{F}_i^V \cdot \boldsymbol{\tau}_\parallel) \boldsymbol{\tau}_\parallel \quad (9)$$

$$(\mathbf{F}_i^S)_\parallel = (\mathbf{F}_i^S \cdot \boldsymbol{\tau}_\parallel) \boldsymbol{\tau}_\parallel \quad (10)$$

である。 $\mathbf{F}^V$ はポテンシャル $V(\mathbf{r})$ から計算される「実際の」力であり、 $\mathbf{F}^S$ は人為的なビーズ間の相互作用から来る、virtual な力である。 $\boldsymbol{\tau}_\parallel (\boldsymbol{\tau}_\perp)$ はわれわれが計算するパスに平行な(垂

¹⁰最急降下法 (steepest descent)、共役勾配法 (conjugate gradient)、焼き鈍し法 (simulated annealing) など。

¹¹最小エネルギー経路を求める際には、どのように初期経路を取るかということが常に問題になる。というのも、最終的に得られる経路が初期経路の情報に依ってしまう場合があるからである。この問題を避けるために、以下の節で紹介する有限温度のパスサーチやパスサンプリングが編み出されている。

¹²これは高分子物理でのガウス鎖モデルに対応する。

直な)方向の単位ベクトルである。この方法のポイントは、実際の力に関しては、パスの垂直成分 ($\mathbf{F}_i^V$)_⊥ しか用いないということである。その一方で、バネによる力に関しては、パスの平行成分 ($\mathbf{F}_i^S$)_∥ しか用いない。そうしないと、得られるパスは正しいパスではなく、ショートカットするようなパスになってしまい、遷移状態やポテンシャル・バリアの高さを正しく求めることができない。

この方法は非常に速く MEP に収束することが知られており、また一つしかパラメータを持たず(バネ定数の k)、最終結果は k に依らない。NEB は主に固体物理(表面物理)の分野で応用されている¹⁵⁾ が、生体分子への応用も盛んである。Mathews と Case はこの方法を使って、DNA の標準的でない CG ペアの構造変化を計算した¹⁶⁾。Arora と Brooks は比較的大きなタンパク質 (adenylate kinase¹⁷⁾ と dihydrofolate reductase¹⁸⁾) の構造変化を調べるためにこの手法を用いた¹³⁾。

2.3. 絶対零度のストリング法

Vanden-Ejinden と共同研究者によって提唱されたストリング法 (string method)¹⁹⁾ は NEB に非常によく似た方法である。ここでは改良された(簡略化された)最近の絶対零度におけるストリング法について紹介する²⁰⁾。ストリング法は以下の式から出発する。

$$\frac{d\mathbf{r}_i}{ds} = -\nabla V(\mathbf{r}) \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_i} + \text{拘束条件} \quad (11)$$

ここで拘束条件の部分以外は最適化の方法である最急降下法と同じである(この式に入ってくる s は時間ではないことに注意)が、拘束のかけ方がこの手法の本質的なところである。よく使われるのは、ビーズ間の距離が一定になるような拘束である(他の拘束に関しては、文献²¹⁾を参照): つまり、式 (11) の拘束条件を除いた部分を使って、ビーズを微小に動かした後に、 $|\mathbf{r}_{i+1} - \mathbf{r}_i|$ が一定になるように $\mathbf{r}_i$ をシフトさせる(ただし、端点は除く)。この拘束は、ビーズ間に相互作用を入れてしまう SPW や NEB と物理的には似たものであるが、ポイントはパラメータを入れる必要がないということである¹⁴⁾。さらに、端点のビーズは拘束を感じずに自由に動かすことができる(ただし、ポテンシャルによる力は感じる)。そのために、ストリング法の計算では前もって 2 つのポテンシャルの極小の状態 (A と B) を求めておく必要がない¹⁵⁾。

¹³⁾彼らは NEB で反応経路を求めた後、それに沿った自由エネルギー面を計算している。しかし、NEB で求めたパスはあくまで絶対零度でのパスであり、有限温度でそれがどれくらい意味をもつか、という問いは残っている。

¹⁴⁾ただし、シフトをうまくやらないと、それが非物理的な配置を生んで、計算がストップしてしまう可能性はある。

¹⁵⁾ただし、この方法をそのまま電子状態計算で使うと、途中のビーズがエネルギー的に非常に大きく、SCF 計算が収束しない場合が出てくる。そのときには growing string 法と呼ばれる方法が使われる²¹⁾。また、式 (11) は基本的に最急降下法なので、収束はそんなに速くはない。そこで、もっと高速な最適化の手法を使うことも考えられる²²⁾。

2.4. 共役ピーク改良法 (conjugate-peak refinement)

共役ピーク改良法 (conjugate-peak refinement) は Fischer らによって考え出された方法で、NEB やストリング法とは原理が異なる²³⁾。パス全体を最初から考えるのではなく、まず 2 つの極小に置いたビーズからスタートし、その間にビーズを一つずつ加えていく。その際に、共役勾配法 (conjugate gradient algorithm) を使って、ビーズの位置を最適化することからこの名がついた。この手法は多くの複雑な反応に応用されている：Ras p21 の構造スイッチ²⁴⁾、ハロロドプシン塩素ポンプにおける分子バルブ機構²⁵⁾、ミオシン分子モーターにおける構造変化 (リカバリーストローク)²⁶⁾ などである。

3. 有限温度でのパスサーチ——最小自由エネルギー経路

最小エネルギー経路 (MEP) が有限温度でのタンパク質の機能を「ある程度」明らかにできることは確かである²⁴⁾⁻²⁶⁾。理論的には摩擦の大きい極限で有限温度でも MEP を使うことは正当化されるが、一般的な状況では正しくない。この節では、有限温度のパスを計算するための方法について述べる。大部分の方法論は最小自由エネルギー経路 (minimum free energy path = MFEP) を計算するためのものである。ここで、自由エネルギーとはある座標 z_α に対して、それが実現される確率を $P(\{z_\alpha\})$ とすると、

$$F(\{z_\alpha\}) = -k_B T \log P(\{z_\alpha\}) \quad (12)$$

で定義される関数 $F(\{z_\alpha\})$ のことである。生体分子において自由エネルギーを求めることは非常に重要であるが、実際の計算は難しい。その難しさの原因は大きく分けて 2 つある：1 つ目は、反応を記述するための「適当な」座標をどのようにとればよいかという問題 (反応座標の問題) であり、2 つ目は、多次元の自由エネルギー曲面をどのように特徴づければいいのかという問題 (自由エネルギーランドスケープの問題) である²⁷⁾。最小自由エネルギー経路を求めるということはこの 2 つ目の問題に関係しており、反応に関わるランドスケープの情報を効率よく引き出すことができる。また、後述の粗視化された変数に対するストリング法は、この 1 つ目の問題に対しても「ある程度」の解答を与えることができる。

3.1. 最大フラックス法 (MaxFlux)

パスに有限温度の効果を含めるために、Huo と Straub は 2.1 節の SPW¹⁰⁾ を拡張して、最大フラックス法を提案した²⁸⁾。彼らは SPW のターゲット関数 S_{SPW} において、線積分 S_V を以下の積分 (を離散化したもの) S_{MF} に置き換えた。

$$S_{\text{MF}} = \frac{1}{M} \sum_{i=1}^M \exp\{\beta V(\mathbf{r}_i)\} \quad (13)$$

ここで $\beta = 1/(k_B T)$ は温度の逆数 (をボルツマン定数で割ったもの) である。この汎関数は Berkowitz, Morgan, McCammon と Northrup によって導かれており²⁹⁾、この汎関数を最小化する操作の物理的な意味は、二つのベイスンをつなぐ平均時間を最小にする、もしくは流速

(90)

を最大にする (MaxFlux) ということである。Straub と共同研究者はこの方法を使って、アラニンペプチド³⁰⁾ や β アミロイド (アルツハイマー病と関係するペプチド)³¹⁾ の構造変化を調べた。

Crehuet と Field は NEB 法と MaxFlux 法を組み合わせ、以下のアルゴリズムを得た。³²⁾

$$(\mathbf{F}_i^{\text{MF}})_\perp = (\mathbf{F}_i^V)_\perp - \frac{\kappa_i}{\beta} \boldsymbol{\tau}_\perp \quad (14)$$

ここで κ_i は i 番目のビーズの曲率であり、 $\boldsymbol{\tau}_\perp$ はパスに垂直な方向を表す。彼らのアルゴリズムでは、最小エネルギー経路と有限温度の経路をどのようにつなげればよいかが明らかである。つまり、温度(と曲率の積)に比例する右辺第 2 項の分だけ経路が曲げられると考えればよい。

3.2. 有限温度でのストリング法

Vanden-Eijnden と共同研究者は絶対零度のストリング法を有限温度に拡張した³³⁾。その際に、以下の摩擦が強い極限のランジェバン方程式を各ビーズに対して仮定した。

$$\frac{d\mathbf{r}_i}{ds} = -\nabla V(\mathbf{r}) \Big|_{\mathbf{r}=\mathbf{r}_i} + \boldsymbol{\eta}(s) + \text{拘束条件} \quad (15)$$

ここで $\boldsymbol{\eta}(s)$ は白色ガウス雑音であり、 $\langle \eta_\alpha(s) \eta_\beta(s') \rangle = 2k_B T \delta_{\alpha\beta} \delta(s-s')$ という関係を満たす。 $\langle * \rangle$ は統計平均を表す。 $\delta(x)$ は Dirac のデルタ関数である。また、最終的な一本の代表的なパスは、パスのアンサンブルに対して統計平均として計算する。拘束条件は大抵、絶対零度の場合と同じで、ビーズ間の距離が等しくなるようにする。この手法を用いることで、2 つのベイスンをつなぐ反応チューブの計算、それに沿った自由エネルギーの計算、反応レートの計算などを行うことができる^{33),34)}。ただし、このアルゴリズムをそのまま生体分子に適用しようとしても、扱う自由度が多すぎてパス空間を十分にサンプリングできない場合が多い。そこで粗視化された変数と有限温度のストリング法を組み合わせる、マルチスケールのアプローチが考え出された。それを以下で紹介する。

3.3. 粗視化変数に対するストリング法

粗視化された変数に対するストリング法(もしくは on-the-fly ストリング法)は最小自由エネルギー経路を求めるための非常に強力な方法である^{35),36)}。これは有限温度のストリング法から派生した方法であり、粗視化変数 $\theta_\alpha(x)$ をアルゴリズムの中に導入する。その粗視化変数(複数あっても構わない)は興味のある反応を特徴づけるものであると仮定する。この手法を使って、その粗視化変数に対する自由エネルギー空間での最小エネルギー経路を求めることができる。

この方法を実装するためには、まず粗視化された変数(もしくは集団座標) $\theta_\alpha(x)$ が z_α ($\alpha = 1, \dots, m$) の周りで拘束されている 2 つの MD を走らせる。ここで m は粗視化された変数の数である。その情報を使って、 z_α 自体を動かす運動方程式を立てることができる。それ

は実際、ストリング法に似ており、 z_α が自由エネルギー曲面を感じて動くことを示すことができる。このアルゴリズムを実行することで、 z_α は MFEP 付近に近づくことになり、その結果、MFEP 付近の軌道がサンプルされることになる。よって、自由エネルギー障壁や反応レートを計算することが可能となる。

この方法はアラニンペプチド^{35),36)} でまず有効性が試され、次にタンパク質の粗視化モデルの構造変化³⁷⁾ や粗視化されたポリマーの疎水的な崩壊³⁸⁾ に適用された。現実的なタンパク質への応用としては、Roux らは類似の方法を用いて、Src キナーゼのループ領域を粗視化領域にとった計算を行った³⁹⁾。松永らは Arora と Brooks¹⁷⁾ によって調べられた adenylate kinase の構造変化をこの手法でより詳細に調べた。その際に、粗視化された変数としては、20 個の主成分 (principal components) を使い、リガンドの揺らぎまで考慮に入れた計算を行って、妥当な自由エネルギー面を得ることができた。また、リガンドが入り込むときの遷移状態の様子を特徴づけることもできた⁴⁰⁾。

4. パスサンプリング

自由エネルギーを計算することは生体反応を理解する上では非常に重要であり、化学反応まで含めた議論もなされている⁴¹⁾。しかし、常に問題として残るのは、そこに動的な要素が含まれるのか否かということである。Warshel によって強調されるように、酵素反応であれば、動的な効果が関与することは少ない。しかし、それがすべてではないし、理論的な興味もある。また、未解明の現象の多い、非平衡の反応であればあからさまに動的な効果は重要になるはずである。少数自由度の化学反応に関しては、力学系の道具を用いた理解が可能であり、最近さまざまな進展があった^{42),43)}。しかし、それをそのまま生体分子の反応に持ち込むのは難しく、またそれが最も適切なアプローチかどうか定かでない。

また、生体分子の反応は有限温度(室温)で起こっており、その際にはパスが一つでなく複数あることも十分考えられる。よって、一つのパスだけに重点を置くことは危険であり、パスのアンサンブルを考えるアプローチのほうがより適切であろう。そのようなアプローチの一つとして、Chandler と共同研究者によって考え出された遷移経路サンプリング (Transition path sampling = TPS) は非常に有力な方法である^{44),45)}。また、50 年代の Onsager と Machlup の仕事もパスに適正な重みを与えるアルゴリズムであると考えられる^{46),47)}。以下ではこれらの動的なパスをサンプルする手法について紹介し、われわれの最近の仕事⁴⁸⁾ についても触れる。

4.1. 遷移経路サンプリング (Transition Path Sampling)

遷移経路サンプリング (TPS) は非平衡のパス分布を求めるための非常に強力な方法である。TPS の基本的な考え方は、パス $x(t)$ には統計的な重み(確率密度) $P[x(t)]$ が付随していると考えることである。離散化された時間 $t_i (i = 1, \dots, M)$ を使ってパスを離散化し、それを $x_1 = x(t_1), x_2 = x(t_2), \dots, x_M = x(t_M)$ と表すと、パスの重みは多次元の確

率分布関数 $P(x_1, x_2, \dots, x_M)$ になる。パスに重みをつけるということと、分子などの配置 $\{x_i\} = (x_1, x_2, \dots, x_N)$ に対して重みを考える平衡統計力学¹⁶は形式的に非常に似ており、この相似性は後で重要になる。

さて、歴史的には Pratt が最初に(強摩擦下のランジェバンダイナミクスに対して) TPS の概念に気づき⁴⁹⁾、その後 Chandler と共同研究者たちが TPS をより一般的に定式化した。その際に、彼らは shooting と shifting という非常に効率的なモンテカルロ・ムーブも考案している⁴⁴⁾。TPS は現在では広く使われており、多くの化学反応に対する応用例がある^{44), 45)}。生体分子に対する応用としては、CGC DNA オリゴマーの塩基対に関する結合・分離過程⁵⁰⁾、Trp-cage の折りたたみ機構⁵¹⁾、 β ポリメラーゼによる DNA 修復過程⁵²⁾、膜の脂質のフリップフロップ⁵³⁾、酵素反応における動的な効果⁵⁴⁾ などに関する研究がある。

TPS は軌道を計算するために、主に MD と併用されることが多く、これには利点と欠点が伴う。利点としては、既存の(入手が容易な) MD コードを使うことができるので、実装するのが非常に楽になるということがある。その一方、欠点としては、MD で計算可能な軌道しか取り扱うことができない、つまり、稀にかつ速く (rare and fast) 起こる過程に対してしか使うことができないということがある¹⁷⁾。よって、タンパク質の構造変化や折りたたみのような、稀にかつ非常にゆっくり (rare and very slow) と起こる過程に関しては有効ではない。そのような過程に対しては、前節の最小自由エネルギー経路を計算すればよい(十分である)という立場もありうるが、より動的な効果を知りたいという欲求は常に存在する。非常にゆっくり起こる過程に対するパスサンプリングの手法として、「作用 (action)」に基づく方法を最後に紹介する。

4.2. 作用を用いる方法 (Action-based methods)

作用を用いる方法には大きく分けて 2 つある。一つは古典力学の最小作用の原理に基づくもので、ニュートン方程式に従う軌道を計算するものである⁵⁵⁾⁻⁵⁹⁾。標準的な MD のアルゴリズム (例えば、式 (2), (3) はその一つ) と違うのは、初期値問題でなく、境界値問題を解くという形になっているということである。例えば、Elber らは以下の Gauss の作用 (汎関数) をよく用いる：

$$S_G = \int_0^t dt \left(m \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} - \mathbf{F} \right)^2 \quad (17)$$

この汎関数(を離散化したもの)を最小化することで、ニュートン方程式に従う動的な軌道が出てくる。そのときのポイントは、パスの初期状態と終状態を解の中に境界条件として埋め

¹⁶ 物理学を専門としない読者のための注：非常に大きな自由度の系を扱う分野である統計力学の中で、最も確立しているのが平衡状態を扱う統計力学であり、その際、配置 $\{x_i\}$ に対して、以下のような重みを考えることができる。

$$P(\{x_i\}) \propto e^{-\beta E(\{x_i\})} \quad (16)$$

ここで $E(\{x_i\})$ はエネルギーであり、 β は系の温度の逆数(をボルツマン定数で割ったもの)である。

¹⁷ ただし、原子の組み換えを伴う化学反応の多くは、稀にかつ速く起こる過程である。

込めることができるので、かならず構造変化するようなパスが求まるということである。彼らは C ペプチド⁶⁰⁾ やチトクロム c⁶¹⁾ の折りたたみ、酵素反応¹³⁾、mGLuR レセプターのリガンド結合部位の構造変化⁶²⁾ などにその方法を適用した。彼らの方法に関するレビューとしては、文献⁵⁸⁾ を参照。しかし、この方法はパスサーチの方法であり、パスサンプリングの手法ではないこと、また、連続であるはずの経路を離散化したときのエラーがどれくらいのかよく分からないという問題点が存在する。

もう一つの作用に基づく方法は、ランジェバン方程式で書けるような拡散的な経路を扱うものである。簡単のために反応座標が 1 次元であるような系に関して説明する。その座標を x 、摩擦係数を ζ 、温度を T とすると、われわれは生体分子のゆっくりとしたダイナミクスに興味があるので、 x のダイナミクスは以下の強摩擦下のランジェバン方程式でよく近似できる：

$$\dot{x} = \frac{1}{\zeta} F(x) + \sqrt{\frac{2k_B T}{\zeta}} \xi(t) \quad (18)$$

ここで $F(x)$ は系に課される力、 $\xi(t)$ は白色ガウス雑音であり、 $\langle \xi(t) \xi(t') \rangle = \delta(t - t')$ を満たす。この方程式に対する形式解は以下の経路積分の形で与えられる：⁶³⁾⁻⁶⁵⁾

$$P[x(t)] \propto e^{-\beta S[x]} \quad (19)$$

ただし、

$$S_{\text{OM}}[x] = \frac{\zeta}{4} \int_0^t dt \left(\frac{dx}{dt} - \frac{F(x)}{\zeta} \right)^2 \quad (20)$$

ここで、 S_{OM} は Onsager-Machlup 作用 (汎関数)¹⁸⁾ と呼ばれる⁴⁶⁾。これは TPS の別の表現と考えることも可能であり、その確率密度の形は (OM 作用をエネルギーと読み替えれば) 平衡統計力学の正準分布と同じである。そこで、平衡統計力学で使われているさまざまな手法を取り入れることが可能となる。

Eastman, Gronbech-Jensen と Doniach は OM 作用を使って、ペプチドに対してパスサンプリングの計算を初めて行った⁶⁶⁾。Orland と共同研究者は時間ではなく長さを離散化の変数とする定式化を行い、粗視化されたタンパクやアラニンペプチドの構造変化の計算を行った⁶⁷⁾。平衡統計力学の手法をパスサンプリングに持ち込んだ研究として、Zuckerman と Woolf⁶⁸⁾ は OM 作用を使って、経路の動的なインポートランス・サンプリングを考案し、また、Andricioaei らは OM 作用を使った再サンプリングを行った⁶⁹⁾。

われわれは OM 作用とレプリカ交換法を組み合わせることを試みた⁴⁸⁾。レプリカ交換法とは、配置空間 (configuration space) をサンプリングするための非常に強力な方法であり、生体分子に対しては、Hansmann, Sugita, Okamoto によって初めて導入されたものである^{70), 71)}。OM 作用を用いて、パス空間のサンプリングを行いたいわけだが、入り組んだ空間であれば、最初に用意した状態にパスがトラップされてしまい、効率的なパスサンプリングができない。

¹⁸⁾ これは強摩擦下のランジェバン方程式に関して導かれたが、これらの条件を緩めることも可能であり、Machlup と Onsager によって議論されている⁴⁷⁾。

そこで、OM 法と平衡統計力学の等価性を使って、レプリカ交換法を OM 法によるパスサンプリングに導入する。その結果、より広いパス空間を正しい「重み」でサンプリングすることが可能となる。

ただし、その際には Adib の教育的な議論⁶⁵⁾にあるように、パス空間の測度のとり方に依存して、適正な OM 作用を用いなければならない。測度を $\mathcal{D}x = \lim_{N \rightarrow \infty} \prod_{i=1}^N dx_i$ としたときの適正な OM 作用は

$$S'_{\text{OM}}[x] = \frac{\Delta U}{2} + \frac{\zeta}{4} \int_0^t dt \left[\left(\frac{dx}{dt} \right)^2 + \left(\frac{F(x)}{\zeta} \right)^2 + \frac{2k_B T}{\zeta^2} \frac{dF(x)}{dx} \right] \quad (21)$$

となる¹⁹⁾。ここで、 $F(x) = -\partial U(x)/\partial x$ となるようなポテンシャル関数 $U(x)$ を仮定しており、 $\Delta U = U(x_A) - U(x_B)$ である。 x_A はパスの始点、 x_B はパスの終点である。われわれはこの OM 作用を使ったパスサンプリングを Bolhuis の多数のパスをもつモデルポテンシャル⁷²⁾に適用し、レプリカ交換法を組み合わせることでパスサンプリングの効率がよくなることを示した。その際に、離散化が粗すぎる (Δt が大きすぎる) と、ポテンシャルの曲率が大いところにパスが寄ってきてしまうという現象があることが分かった。これは OM 作用を使った計算で、 Δt を無制限には大きくできないということであり、実際の計算を行う際には注意しなければならない。また、TPS とレプリカ交換法を組み合わせる仕事は既に存在している⁷³⁾ が、ここでは OM 法とレプリカ交換法を組み合わせしており、われわれの興味がよりゆっくりした遷移にあるという点が異なる。

5. まとめと展望

本稿では生体分子に焦点を絞って、経路探索(パスサーチ)と経路抽出(パスサンプリング)の問題について述べ、それを解決するためにここ 20 年ほどでどのようなアルゴリズムが開発されてきたかを概観した。筆者が考えるところでは、パスサーチに関しては nudged elastic band 法、もしくはストリング法、パスサンプリングに関しては遷移経路サンプリング (transition path sampling) と Onsager-Machlup 作用を用いたアルゴリズムが最も有効であろうと考える。ただし、どれも一長一短あり、これらがパスサーチおよびパスサンプリングのベストな方法であると言っているわけではない。そこで、今後どのような方向に研究が発展していくべきかということに関して展望する。

粗視化されたストリング法^{35), 36), 38)} は非常に洗練された方法であり、これから様々な系に応用されていくことと思われる。しかし、Hummer によって指摘されているように³⁸⁾、どのように粗視化変数(反応座標の候補)を選ぶかということが本質的であり、まだ物理的、化学的な直感に頼っている段階である。それを自動化して求めるという戦略⁷⁴⁾もあるが、やはり物理的な基礎がしっかりしている方法が欲しい。たやすくデータマイニングに頼ってしまうのは危険性を伴うので、注意が必要である。

¹⁹⁾これは式 (18) と等価な Fokker-Planck 方程式を経路積分表示で解くことでも得られる⁶³⁾。

現在は生体分子のシミュレーションだけでなく、より上の階層である、細胞レベルとどのように接続するかということが現実的な問題になりつつある⁷⁵⁾。その際には、材料工学などで開発されているマルチスケールのシミュレーション技術をいかに取り入れるかということが重要になる。また、マルチスケールな手法はサンプリングの観点からも重要であり、最近、森次らによって、自由エネルギー面を効率的にサンプルするためのマルチスケールな方法が開発された⁷⁶⁾。その基本的なアイデアは、高速に動くことのできる粗視化された変数に、われわれがその性質を知りたいところの fine な自由度を結合させて、配置空間内を効率的に動かす、ということである。このアイデアは OM 作用を用いたパスサンプリングに容易に取り入れることができる⁷⁷⁾。

酵素反応のより進んだ理解のためにもパスサンプリングは重要であろう。その際には、2重の量子効果を取り入れる必要がある。すなわち、化学反応を記述するポテンシャル面を計算するための量子化学計算と、軽い原子(プロトン)や高振動モードのダイナミクスを記述するための量子ダイナミクス計算である。志賀らはそれを目指した反応経路計算をモデル系に対して行っている⁷⁸⁾。しかし、量子効果を計算することは古典的に計算するのと比べて桁違いに計算負荷がかかるので、より効率的なアルゴリズムの開発やハード面での発展が必要である。特に量子ダイナミクスに関しては多自由度系を(モデルに落とさず)扱えるような確立したアルゴリズムがない⁷⁹⁾。筆者が考えるところでは、ファインマンの経路積分⁸⁰⁾を使ったアルゴリズムが最終的に必要になるのではないと思われる。生体分子内の電子移動経路ということに関しては、Kuki と Wolynes の経路積分を用いた計算⁸¹⁾があるが、これをより動的にした手法の開発が望まれる。

謝辞 ここで紹介した研究の一部は、木寺詔紀教授(横浜市立大学)、志賀基之博士(原子力研究開発機構)、松永康佑博士(理化学研究所)との共同研究の結果である。また、古濱彩子博士(国立環境研究所)、古田忠臣博士(理化学研究所)、渡辺浩准教授(日本医科大学)には原稿を読んでいただき、有用なコメントを頂いた。ここで感謝いたします。

参考文献

- 1) M.P. Allen and D.J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids* (Oxford Univ. Press, Oxford, 1987).
- 2) D.E. Shaw, P. Maragakis, K. Lindorff-Larsen, S. Piana, R.O. Dror, M.P. Eastwood, J.A. Bank, J.M. Jumper, J.K. Salmon, Y. Shan, and W. Wriggers, *Science*, **330** (2010) 341346.
- 3) J.E. Straub, in *Computational Biochemistry and Biophysics*, edited by O. Becker, A. D. MacKerell Jr., B. Roux, and M. Watanabe (Marcel Dekker, New York, 2001).
- 4) R. Elber, *Curr. Opin. Struc. Biol.* **15** (2005) 151.
- 5) A. van der Vaart, *Theor. Chem. Acc.* **116** (2006) 183.
- 6) C. Dellago and P.G. Bolhuis, *Adv. Poly. Sci.* **221** (2008) 167.

- 7) F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd edition (Wiley, New York, 2007).
- 8) K. Fukui, *Acc. Chem. Res.* **14** (1981) 363.
- 9) S. Maeda, K. Ohno, and K. Morokuma, *J. Phys. Chem. A* **113** (2009) 1704.
- 10) R. Czerminski and R. Elber, *Int. J. Quant. Chem.* **24** (1990) 167.
- 11) R. Elber and M. Karplus, *Chem. Phys. Lett.* **139** (1987) 375.
- 12) I. Ohmine and H. Tanaka, *Chem. Rev.* **93** (1993) 2545.
- 13) J.C.M. Uitdehaag, B.A. van der Veen, L. Dijkhuizen, R. Elber, and B.W. Dijkstra, *Proteins* **43** (2001) 327.
- 14) H. Jónsson, G. Mills, K. W. Jacobsen, in *Classical and Quantum Dynamics in Condensed Phase Simulations*, edited by B.J. Berne, G. Ciccotti and D.F. Coker (World Scientific, Singapore, 1998).
- 15) A. Nakano, *Comp. Phys. Commun.* **178** (2008) 280.
- 16) D.H. Mathews and D.A. Case, *J. Mol. Biol.* **357** (2006) 1683.
- 17) K. Arora and C.L. Brooks III, *PNAS* **104** (2007) 18496.
- 18) K. Arora and C.L. Brooks III, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 5642.
- 19) W. E, W. Ren, and E. Vanden-Eijnden, *Phys. Rev. B* **66** (2002) 52301.
- 20) W. E, W. Ren, and E. Vanden-Eijnden, *J. Chem. Phys.* **126** (2007) 164103.
- 21) B. Peters, A. Heyden, A.T. Bell, and A. Chakraborty, *J. Chem. Phys.* **120** (2004) 7877; A. Goodrow, A.T. Bell, and M. Head-Gordon, *J. Chem. Phys.* **130** (2009) 244108.
- 22) S.K. Burger and W. Yang, *J. Chem. Phys.* **124** (2006) 054109.
- 23) S. Fischer and M. Karplus, *Chem. Phys. Lett.* **194** (1992) 252.
- 24) F. Noe, F. Ille, J.C. Smith, and S. Fischer, *Proteins*, **59** (2005) 534.
- 25) A.D. Gruia, A.-N. Bondar, J.C. Smith, and S. Fischer, *Structure* **13** (2005) 617.
- 26) S. Fischer, B. Windshuegel, D. Horak, K.C. Holmes, and J.C. Smith, *PNAS* **102** (2005) 6873.
- 27) A. Altis, M. Otten, P.H. Nguyen, R. Hegger, and G. Stock, *J. Chem. Phys.* **128** (2008) 245102.
- 28) S.H. Huo and J.E. Straub, *J. Chem. Phys.* **107** (1997) 5000.
- 29) M. Berkowitz, J.D. Morgan, J.A. McCammon, and S.H. Northrup, *J. Chem. Phys.* **79** (1983) 5563.
- 30) S. Huo and J. E. Straub, *Proteins* **36** (1999) 249.
- 31) J.E. Straub, J. Guevara, S.H. Huo and J.P. Lee, *Acc. Chem. Res.* **35** (2002) 473.
- 32) R. Crehuet and M.J. Field, *J. Chem. Phys.* **118** (2003) 9563; A. Jiménez and R. Crehuet, *Theor. Chem. Acc.* **118** (2007) 769.
- 33) W. E, W. Ren, and E. Vanden-Eijnden, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 6688.

- 34) E. Vanden-Eijnden and M. Venturoli, J. Chem. Phys. **130** (2009) 194103.
- 35) L. Maragliano, A. Fischer, E. Vanden-Eijnden, and G. Ciccotti, J. Chem. Phys. **125** (2006) 024106.
- 36) L. Maragliano and E. Vanden-Eijnden, Chem. Phys. Lett. **446** (2007) 182.
- 37) A.C. Pan, D. Sezer, and B. Roux, J. Phys. Chem. B **112** (2008) 3432.
- 38) T.F. Miller, E. Vanden-Eijnden, and D. Chandler, PNAS **104** (2007) 14559; G. Hummer, PNAS **104** (2007) 14883.
- 39) W. Gan, S. Yang, and B. Roux, Biophys. J. **97** (2009) L8.
- 40) Y. Matsunaga, H. Fujisaki, T. Furuta, K. Moritsugu, T. Terada, and A. Kidera, unpublished.
- 41) S.C.L. Kamerlin, S. Vicatos, A. Dryga, and A. Warshel, Ann. Rev. Phys. Chem. **62** (2011) 41.
- 42) Adv. Chem. Phys. **130** (2005); **145** (2011) の中の論文参照。
- 43) S. Kawai and T. Komatsuzaki, Phys. Chem. Chem. Phys. **12** (2010) 7626.
- 44) C. Dellago, P.G. Bolhuis, and P.L. Geissler, Adv. Chem. Phys. **123** (2002) 1; P.G. Bolhuis, D. Chandler, C. Dellago, and P.L. Geissler, Annu. Rev. Phys. Chem. **53** (2002) 291.
- 45) C. Dellago and P.G. Bolhuis, Top. Curr. Chem. **268** (2007) 291.
- 46) L. Onsager and S. Machlup, Phys. Rev. **91** (1953) 1505.
- 47) S. Machlup and L. Onsager, Phys. Rev. **91** (1953) 1512.
- 48) H. Fujisaki, M. Shiga, and A. Kidera, J. Chem. Phys. **132** (2010) 134101.
- 49) L.R. Pratt, J. Chem. Phys. **85** (1986) 5045.
- 50) M.F. Hagan, A.R. Dinner, D. Chandler, and A.K. Chakraborty, PNAS **100** (2003) 13922.
- 51) J. Juraszek and P.G. Bolhuis, PNAS **103** (2006) 15859.
- 52) R. Radhakrishnan and T. Schlick, PNAS **101** (2004) 5970; J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 13245.
- 53) J. Marti and F.S. Csajka, Phys. Rev. E **69** (2004) 061918.
- 54) S.L. Quaytman and S.D. Schwartz, PNAS **104** (2007) 12253.
- 55) R.E. Gillilan and K.R. Wilson, J. Chem. Phys. **97** (1992) 1757.
- 56) R. Olender and R. Elber, J. Chem. Phys. **105** (1996) 9299.
- 57) D. Passerone and M. Parrinello, Phys. Rev. Lett. **87** (2001) 108302; D. Passerone, M. Ceccarelli, and M. Parrinello, J. Chem. Phys. **118** (2003) 2025.
- 58) R. Elber, A. Ghosh, and A. Cardenas, Acc. Chem. Res. **35** (2002) 396; R. Elber, A. Cardenas, A. Ghosh, and H.A. Stern, Adv. Chem. Phys. **126** (2003) 93.
- 59) D. Bai and R. Elber, J. Chem. Theor. Comput. **6** (2006) 484.
- 60) R. Elber, J. Meller, and R. Olender, J. Phys. Chem. B **103** (1999) 899.
- 61) A.E. Cardenas and R. Elber, Proteins **51** (2003) 145.
- 62) P. Majek, R. Elber, and H. Weinstein, in *Coarse-Graining of Condensed Phase and*

- Biomolecular Systems*, edited by G.A. Voth (CRC Press, New York, 2009).
- 63) F.W. Wiegel, *Introduction to Path-Integral Methods in Physics and Polymer Science* (World Scientific, Singapore, 1986).
 - 64) R.D. Astumian, Am. J. Phys. **74** (2006) 683.
 - 65) A.B. Adib, J. Phys. Chem. B **112** (2008) 5910.
 - 66) P. Eastman, N. Gronbech-Jensen, and S. Doniach, J. Chem. Phys. **114** (2001) 3823.
 - 67) P. Faccioli, M. Sega, F. Pederiva, and H. Orland, Phys. Rev. Lett. **97** (2006) 108101; M. Sega, P. Faccioli, F. Pederiva, G. Garberoglio, and H. Orland, Phys. Rev. Lett. **99** (2007) 118102; E. Autieri, P. Faccioli, M. Sega, F. Pederiva, and H. Orland, J. Chem. Phys. **130** (2009) 064106.
 - 68) D.M. Zuckerman and T.B. Woolf, J. Chem. Phys. **111** (1999) 9475.
 - 69) J. MacFadyen, J. Wereszczynski, and I. Andricioaei, J. Chem. Phys. **128** (2008) 114112.
 - 70) U.H.E. Hansmann, Chem. Phys. Lett. **281** (1997) 140.
 - 71) Y. Sugita and Y. Okamoto, Chem. Phys. Lett. **314** (1999) 141.
 - 72) P.G. Bolhuis, J. Chem. Phys. **129** (2008) 114108.
 - 73) T.J.H. Vlugt and B. Smit, PhysChemComm **2** (2001) 1.
 - 74) A. Ma and A.R. Dinner, J. Phys. Chem. B **109** (2005) 6769.
 - 75) *Cell Mechanics: From single scale-based models to multiscale modeling*, edited by A. Chauviere, L. Preziosi, and C. Verdier (CRC Press, New York, 2010).
 - 76) K. Moritsugu, T. Terada, and A. Kidera, J. Chem. Phys. **133** (2010) 224105.
 - 77) H. Fujisaki, M. Shiga, and A. Kidera, unpublished.
 - 78) M. Shiga and H. Fujisaki, unpublished.
 - 79) 藤崎弘士, 分子シミュレーション研究会会誌アンサンブル, **11** (2009) 25; 国士館大学情報科学センター紀要, (in press).
 - 80) R.P. Feynman and A.R. Hibbs, *Quantum Mechanics and Path Integrals*, Emended by D.F. Styer (Dover, New York, 2010).
 - 81) A. Kuki and P.G. Wolynes, Science **236** (1987) 1647.