

Title	生体分子相互作用の電子論的・博物学的研究
Author(s)	山﨑, 秀樹
Citation	サイバーメディアHPCジャーナル. 2013, 3, p. 33-36
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70468
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

# 生体分子相互作用の電子論的・博物学的研究

山崎 秀樹 大阪大学 蛋白質研究所

## 1.はじめに

生体分子の分子認識機構の解明は生命現象を理解する ために欠かせない。生体高分子の3次元立体構造はX線 結晶解析やNMR構造解析により明らかにされ、World-wide Protein data bank に蓄積され誰でも無償で利用するこ とができる [1]。これら大量の生体電子情報データの博物 学がバイオインフォマティックス (BI) である。BI の研 究から生体高分子の分子認識には、構造ひずみや静電ス トレスや局所的な極性の相補性などが重要であることが 分かった [2]。分子認識機構の予測は一般には簡単ではな い。例えば新規薬剤開発で重要なタンパク質 - 小分子の ドッキング計算において、実験における結合の強さを理 論的に再現することは完全には難しい [3]。この際重要な のは結合の強さを表現する関数 (スコア関数) である。

スコア関数はあるデータセットについて実験値を再現す るように作られたもの、物理化学的特徴をもとに定式化 されたもの、既存データベースの統計情報に基づくもの など様々なものが提案されており一定の成果を挙げてい る。しかし作成するスコア関数がフィッティングするデ ータセットのサイズや多様性、実験値の精度などに依存 してしまうことが考えられる。量子化学計算は分子間相 互作用エネルギーの実験値を高精度に再現できることに 加え、計算の際に初期値として実験値を必要としない。 本研究では量子化学計算を用いて生体高分子のモデルに おける分子認識機構やスコア関数の改良について検討し たのでその結果を報告する。

## 2.分子内・分子間相互作用の電子論理的解析 2-1.量子化学計算による相互作用解析

高精度な量子化学計算による相互作用エネルギー (Ecp) は実験値を定量的に再現することができる。Ecp は 複合体の全エネルギー ( $E_{complex}$ ) と各単量体の全エネルギ ー ( $E_{monomer}$ ) の総和との差として定義される(①)。

#### $Ecp = E_{complex} - (E_{monomer1} + E_{monomer2})$ (1)

この方法では基底関数重なり誤差を回避するための Counterpoise (CP) 法 [4] などの補正や大きな基底関数を 用いる必要がある。また生体系のような多数の溶質、溶 媒の複雑な相互作用を解析するには多くの単量体のユニ ットを定義する必要があり、その数の増加に伴って計算 コストも増大する。この問題に対して我々は Ecp と QTAIM 解析 [5] (後述2-2)の特徴量がよく相関する ことから QTAIM 解析による相互作用エネルギーの利用 を提案した [6]。

#### 2-2.QTAIM法による相互作用解析(Eed)

Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM) 解析は 電子密度から原子や化学結合が定義でき、化学結合は Bond critical point (BCP) や Ring critical point (RCP) と呼ば れる原子間の電子密度の微分の極値などで表現される。 これまでに様々な分子において BCP の特徴量が共有結合 や水素結合などの化学結合の強さとよく相関することが 報告されている。この方法の利点は、Ecp の場合での凝縮 系で必要となる多数の繰り返し計算や CP 補正がいらな いことで、QTAIM 解析では一度の量子化学計算で相互作 用の強さを算出することができる。また分子間相互作用 だけでなく分子内相互作用の強さも見積もることができ





図2 BPS(a)、APBS(b)の分子間相互作用の物理的起源



図3

AH の NH-O 間、CH-O 間、N-O 間結合距離と、BCP 電子密度 の総和の相関

#### 2-3.LMO-EDA法による相互作用解析

量子化学計算による相互作用の見積もりはEnergy decomposition analyses (EDA) で行うことができる。 Localized Molecular Orbital を用いる EDA を LMO-EDA [7] と表記する。この方法では全相互作用 エネルギー (Eeda) は静電 (ES)、交換と反発 (EXCH)、分極 (POL)、分散 (DISP) 相互作用エネル ギーの和として定義され、全相互作用の物理的起源 が考察できる。加えて各エネルギー項を用いること で力場の作成や改良がスムーズに行える利点がある。 また LMO-EDA 法では共有結合で結合している部分 構造間の相互作用エネルギーも計算できる。例えば α ヘリックス内部の水素結合相互作用の解析(3 – 1)では、共有結合があるため Ecp では見積もれない が、LMO-EDA 法では見積もることができタンパク 質内部構造の安定性の議論やタンパク質内部の周辺 環境に依存した力場作成に有効であると考えられる。

## 3.結果

本研究では α ヘリックス、β シートや光合成反応 中心スペシャルペア(SP)の分子内・分子間相互作 用を量子化学計算により詳細に解析を行った。

## 3-1.モデルペプチドの相互作用

水素結合相互作用 (HBI) は分子認識などの多く の生体反応過程で重要である。タンパク質の基本構 造である α ヘリックス (AH) やパラレル、アンチパ ラレルβシート(PBS, APBS)の分子内・分子間相互 作用に関する Ecp, Eed, Eeda の結果について報告す る。AH はペプチド結合を 2-12 個、PBS、APBS で は 2-16 個まで増やしたモデルを作成し DFT-M06-2X/6-31+G(d)レベルで構造最適化を行っ た。PBS, APBS では、Ecp と分子間 BCP の電子密度 の総和 ( $\Sigma^{inter}\rho_b$ ) は  $R^2$ がそれぞれ 0.95, 0.98 (図1)、 AH では AH と AH を伸長したモデルの全エネルギ ーの差と  $\Sigma^{intra}\rho_b$ の  $R^2$ が 0.99 となりどれもよく相関 した。また RCP の電子密度の総和 ( $\Sigma^{inter}\rho_r$ ) を用いる ことでさらによい相関も得た(図1)。面白いことに PBS はペプチド結合が増加すると Ecp は直線的に変 化するのに対して APBS では階段状に変化した。こ の変化をLMO-EDA解析により調べたのが図2であ る。ペプチド結合が増えると PBS では静電相互作用 などの各物理的成分の割合はほぼ一定であるのに対 して、APBS では各成分の割合がペプチド結合数の 偶奇で異なりジグザグになることが分かった。そし てその起源は主に静電相互作用と交換相互作用によ ることが見てとれた。同様に AH についての LMO-EDA 解析により、分子内水素結合相互作用は ペプチド結合部分のみの局所的な構造だけでなく、 その周囲のペプチド結合にも依存して結合の強さが

変わることが示唆された。AHのNH-O、CH-O、N-O 結合距離と BCP の電子密度の相関をそれぞれ示し たのが図3である。一部当てはまりの悪い点がある ものの、どのタイプの結合でも構造と QTAIM 特徴 量の相関は高かった。このことから QTAIM 解析は 分子内・分子間相互作用の強さの考察に使用でき、 力場開発への応用も考えられる。

## 3-2. 光合成反応中心 SP の相互作用

光合成反応中心 (RC) と呼ばれる膜タンパク質中 で起こる電荷分離過程は生命にとって必須の過程で ある。さまざまな実験解析の結果からこの過程の分 子メカニズムが明らかになりつつある。X 線結晶解 析から RC の 3 次元構造について、 膜貫通部位は 5 回膜貫通ヘリックスをもつ2つのサブユニット(L, M)からなり、その中に SP などの色素が擬 2 回対 称に配置されていることが明らかになっている[8]。 この色素群の対称的な配置にもかかわらず、電荷分 離は SP を電子供与体として、L 側の色素群のみで 起こる。この非対称で高効率な電子移動のメカニズ ムについては従来から多くの研究が成され、非対称 性の起源に関してタンパク質が作る「場」について 解析が行われてきた。その中で我々は、Rhodobacter sphaeroides (Rbs.) RC の SP<sup>+</sup> のスピン密度の非対 称性の起源についてタンパク質が制御しているメチ ルエステル基とフィチル基の配向の LM 差であるこ と、蛋白質場の極性によりその効果が強調されてい ることを報告した [9]。また、BI の手法を用いるこ とでこの特徴が一部の例外を除きその他の生物種の RC でも共通していることを見出した [9]。このよう に RC による色素の分子認識は精密に制御されてい ると考えられる。しかしその原子レベルでの認識機 構は完全には理解されていない。そこで本研究では *Rbs*.由来 SP に加え、光合成細菌の *Blastchloris viridi*  $s \Leftrightarrow Thermochromatium tepidum, ~ ~ U ~ Thotosystem$ 

II (PSII), PSIのSPについて分子間相互作用の博物
学的研究を行った。PSIIではX線構造の解像度が2.
9、1.9Åのもの、量子化学計算により構造最適化したモデル (opt) [10] について計算を行った。

図4(a)、(b) に *Rbs*.RC 由来 SP とそれを構成するバ クテリオクロロフィル(BChla)の構造をそれぞれ



図4 Rbs.RC 由来の SP の X 線構造(a)と BChla の化学構造(b)





示した。BChla は中心にマグネシウムを持ちヒスチ デン(His) が配位している(図 1 (a))。また BChla は 様々な側鎖を持つ。His と側鎖の分子間相互作用へ の影響を図5に示す。この結果から SP の相互作用 に重要な共通の特徴として、環Aの側鎖(アセチル 基やビニル基)や非極性基の効果が見てとれる。His の影響について詳しく調べるために、Rbs. RC の多 数のX線構造(複数グループから発表された異なる 実験条件による)の中から解像度のよいものなど22 構造を検討した。その結果、His によって Ecp はー 1.0~3.2 kcal/mol 変化し、構造に依存することが分か った。次に Ecp と QTAIM 解析の特徴量の相関を調 べたのが図6である [6]。*R<sup>2</sup> が* 0.97(MP2), 0.99 (DFT-M06-2X)とよく相関していることがわかる。こ のことから Ecp は QTAIM 解析の特徴量で代替可能 であると考えられる。



図6 相互作用エネルギー と QTAIM 特徴量 (inter  $\rho_b$ )の相関

#### 4.まとめ

生体分子の分子認識機構の解明は、生命現象の理 解だけでなく薬剤開発などの産業応用でも重要であ る。本研究では量子化学計算により分子間相互作用 の強さを表現する方法を提案し精査した。従来よく 用いられる Ecp が QTAIM 解析による Ecd とよく相 関することが SP と AH、 PBS、APBS モデルで示さ れた。従って計算コストを抑えて精度よく結合強さ を予測することが可能と考えられる。PBS と APBS の結合強さはペプチド結合が増えると、それぞれ直 線的、階段状に変化し LMO-EDA 解析によりその起 源が主に静電相互作用や交換相互作用によることが 分かった。また様々なタイプの結合長と QTAIM 特 徴量はよく相関することが分かった。様々な生物種 由来 SP の相互作用の共通の特徴として、環 A の側 鎖とその他非極性基の効果が示唆された。

#### 5.謝辞

本研究は大阪大学蛋白質研究所の中村春木教授と の共同研究により進められました。本稿で紹介した 計算は、大阪大学サイバーメディアセンターの計算 資源(SX-8R, PCC)を主に利用して行ったもので す。最後に、本寄稿の執筆を依頼してくださいまし た大阪大学サイバーメディアセンター広報委員会に 感謝致します。

### 6.参考文献

(1) H. Berman, K. Henrick, H. Nakamura, J.L.

Markley, Nucl. Acids Res., 35, D301-303, (2007)

- (2) K. Kinoshita, H. Nakamura Curr. Opin. Struct. Biol., 13, 396-400, (2003)
- (3) G.L. Warrant et al., J. Med. Chem., 49, 5912-5931, (2004)
- (4) S.F. Boys, F. Bernardi, Mol. Phys., 19, 553, (1970)
- (5) R.F.W. Bader, Atoms in Molecules: A Quantum Theory, Oxford University Press, Oxford, UK, 1990
- (6) H. Yamasaki, H. Nakamura, Chem. Phys. Lett. 536, 129-135, (2012)
- (7) P. Su, H. Li, J. Chem. Phys., 131, 014102, (2009)
- (8) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, H. Michel, Nature, 318, 618-624, (1985)
- (9) H. Yamasaki, Y. Takano, H. Nakamura, J. Phys. Chem. B, 112, 13923-13933, (2008)
- (10) S.O.N. Lii Phys Chem Chem Phys, 13, 16022-16027, (2011)