



Title	生体分子相互作用の電子論的・博物学的研究
Author(s)	山崎, 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 (E_{cp}) は実験値を定量的に再現することができる。 E_{cp} 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)。

$$E_{cp} = E_{complex} - (E_{monomer1} + E_{monomer2}) \quad ①$$

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 E_{cp} 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 (E_{ed})

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、 E_{cp} 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補正がいらないうことで、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

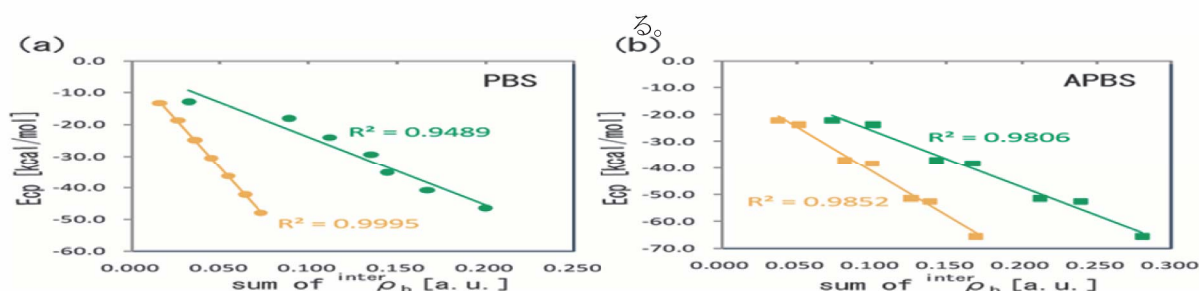


図1 PBS(a)、APBS (b)の E_{cp} と QTAIM 特徴量(BCP(緑)、RCP(黄))の相関

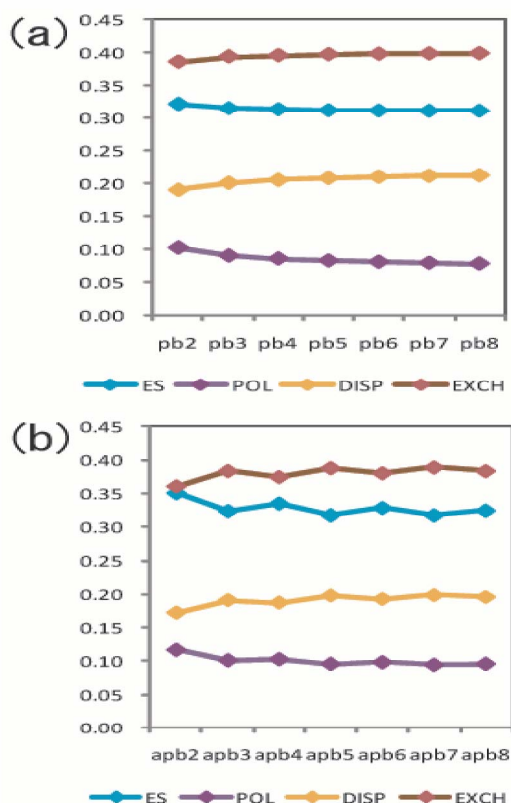


図2 BPS(a)、APBS(b)の分子間相互作用の物理的起源

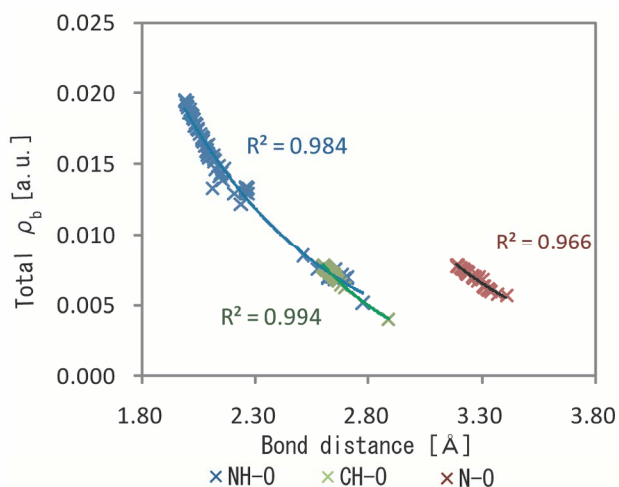


図3 AHのNH-O間、CH-O間、N-O間結合距離と、BCP電子密度の総和の相関

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 ($\Sigma^{\text{inter}} \rho_b$) 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 $\Sigma^{\text{intra}} \rho_b$ 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 ($\Sigma^{\text{inter}} \rho_r$) を用いることでさらにより相関も得た (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^+ 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 *Blastochloris viridis* や *Thermochromatium tepidum*、そして Photosystem 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、1.9 Å 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

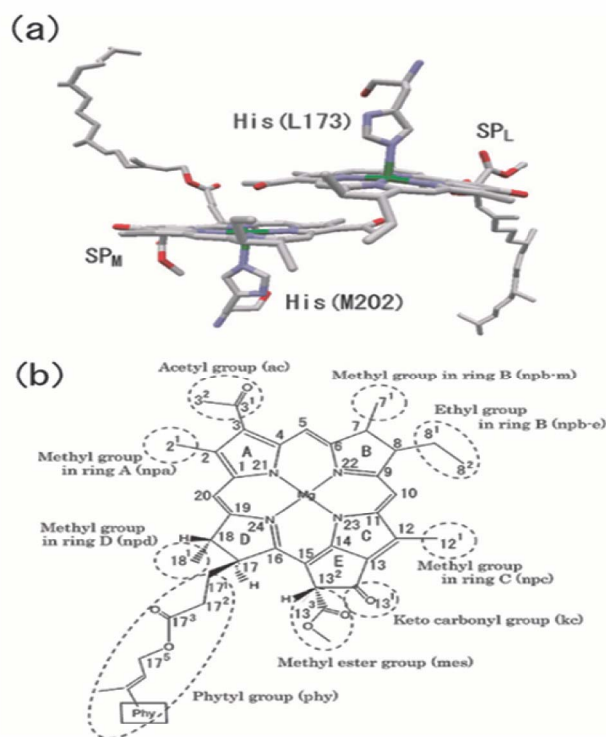


図 4 *Rbs.* RC 由来の SP の X 線構造(a)と BChla の化学構造(b)

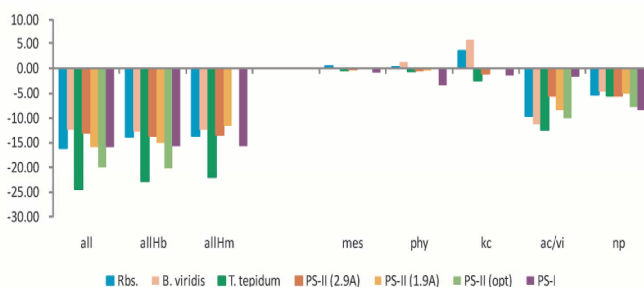


図 5

SP 相互作用の解析 (SPall (側鎖をすべて含むモデル)、SPallHm, SPallHβ (SPall に蛋白質主鎖を含む・含まない His を加えたモデル)、メチルエステル(SPmes)、フィチル(SPphy)、ケト(SPkc)、アセチル/ビニル(SPac/SPvi)、非極性基(SPnp)のみを含むモデル)

示した。BChla は中心にマグネシウムを持ちヒスチジン(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 -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^2 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。

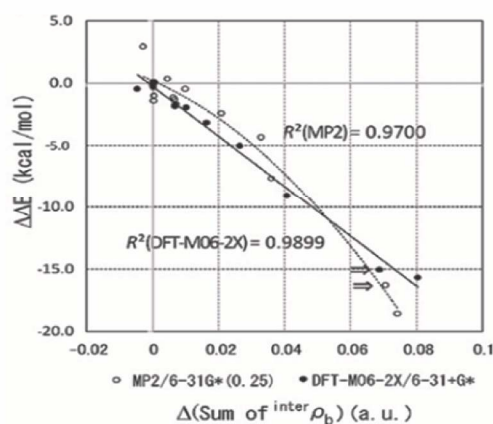


図6 相互作用エネルギー と QTAIM 特徴量 ($\text{inter } \rho_b$) の相関

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 Eed 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)