

## 蛋白質中酵素反応経路の自由エネルギー補正

(京都大学) ○河津 励、Marcus Lundberg, Oscar Chung, 諸熊奎治

化学反応を理解するために量子化学計算を用いた反応経路の導出は強力な手段である。反応経路沿いの相対的なエネルギー差が反応速度の指標として重要な意味を持つ。生体内では多くの化学反応が蛋白質内の酵素によって触媒されるが、その反応経路は蛋白質の作る力場に依存する。Lundberg らは ONIOM 法を用いて蛋白質力場寄与を取り込み、抗生物質の重要な生成過程を触媒する非ヘム鉄蛋白質である Isopenicillin N Synthase (IPNS) の酵素反応経路の導出を行っている。本研究では絶対零度相当の蛋白質の寄与が与えられているその ONIOM の結果に、さらに蛋白質や溶媒の有限温度における蛋白質力場および自由エネルギーの反応経路の力場に対する寄与を追加するための計算を行った。

Lundberg らが ONIOM 法(DFTB/MM)を用いて構造最適化した IPNS の 1st Transition State (TS) とその Preceding Intermediate State (PS)の構造及び電子状態を基に古典分子動力学シミュレーションと Free Energy Perturbation (FEP)計算を以下のように行った。このとき反応中心の構造とは PS と TS の状態の最適化構造を用いた固定二重構造とし、電荷分布は上記の計算で得られた電子状態から導出された ESP 電荷を用いた二重力場とした。それ以外の部分では通常の分子動力学計算を行った。その上で反応中心と外部蛋白質及び溶媒との非結合相互作用を段階的に PS から TS に変化させていくことにより、FEP 計算を行った。このとき Hamiltonian は次のように書かれる。

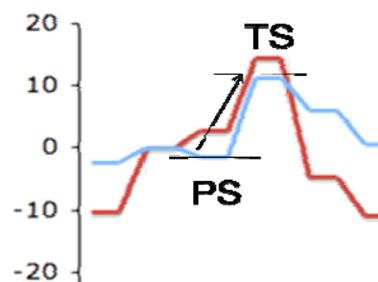


Fig.1: Energy diagram of PS and TS. ONIOM (low barrier) and Active-site model (high barrier). (Lundberg et al. unpublished).

$$H = H_0 + (1 - \lambda)H_{PS} + \lambda H_{TS}$$

ここで $H_0$ は外部蛋白質及び溶媒のHamiltonianであり、 $H_{RS}$ と $H_{PS}$ はそれぞれRSとTS状態にあるときの蛋白質及び溶媒と反応中心との非結合相互作用、 $\lambda$ は0から1まで変化する仮定の反応座標である。このとき、FEP法を用いるとPSとTSの自由エネルギー差は次のように書かれる。

$$\Delta G = -k_B T \sum_i \ln \langle \exp \left( \beta (\lambda_i - \lambda_{i+1}) (H_{PS}(\lambda_i) - H_{TS}(\lambda_i)) \right) \rangle$$

$k_B$ はBoltzmann 定数、 $T$ は温度、 $\beta$ は $k_B T$ の逆数である。ここで仮定反応座標の $\lambda$ を

使う利点は複数の座標や電荷の変化を一度に行うことが容易であることである。この特徴はすでに高レベルの量子化学計算で同定されたような 2 状態間の自由エネルギー差を量る際には適当であると考えられる。一方で欠点は反応中心全体の運動を固定しているから蛋白質の運動が抑制されることと、反応経路が自然と基本的に無関係であることである。これらの欠点を補うためには、反応中心外にはごく小さな変化を与えるような二状態系を対象にする時にのみ適用すべきと考えられる。今回適用した IPNS の RS と TS の間の変化では反応中心を大きく取ることによって第二の欠点については、その外部に与える変化がその中央部の電荷分布の変化からくるもののみで限定されるために解消されている。第一の欠点については十分多くのサンプリングを行うことである程度解消されると思われる。

これらの方法を用いた FEP 計算では絶対零度の系で計算産された非結合相互作用の寄与よりも少し高い自由エネルギーが得られている。反応障壁の高さは直接反応速度やそのダイナミクスに関わるものであるため、このような数 kcal/mol の違いが大きな違いを生み出すことがある。古典分子動力学で得られた自由エネルギー計算自体は近似レベルの高いものでありあまり定性的な議論以外はできないが、高いレベルの量子化学計算の補助として用いることにより、結果としてより高度な定量的議論を可能にすると期待できる。