

(阪大院基礎工) 高橋英明*、大野 創、岡地理佳、岸 亮平、中野雅由

1. はじめに 多粒子からなる系の化学反応の経路を支配するのは、その過程にもなう自由エネルギー変化である。化学反応の理論的記述には量子化学的方法が必須であり、多粒子の量子化学計算は一般に多くの計算コストを必要とする。また、自由エネルギーは通常の統計平均とは異なり、計算することが困難な統計量である。従って、凝縮系の化学過程の自由エネルギー変化を算出することは、分子科学における最も重要かつ困難な課題の一つである。我々は、実空間グリッドを基底とするQM/MM分子動力学法[1]と新規な溶液の理論(エネルギー表示の理論[2])をカップルさせることによって、溶液をはじめとする凝縮系の化学過程に伴う自由エネルギー変化を効率良く正確に計算する方法を開発した(QM/MM-ER法[3])。この方法では、エネルギー表示の理論の恩恵によって、量子化学的に扱う溶質の電子波動関数の空間的広がりやその揺らぎを考慮することが可能である。我々は、QM/MM-ER法を拡張することによって、タンパク質中の様々な化学反応の自由エネルギーを計算する方法論を確立しようとしている。

本研究では、生体中で酸化還元に関わる補酵素FAD(Flavin Adenine Dinucleotide)の活性部位(イソアロキサジン環)について、それが水中に存在する場合について一電子還元に伴う自由エネルギー変化をQM/MM-ER法によって計算した。還元の自由エネルギーの計算において、イソアロキサジン環に付加する余剰電子1個を溶質とする新規な方法を採用した。得られた結果を、別の方法で得られた結果と比較することによって、この方法の妥当性を検証した。また、イソアロキサジン環がアポタンパク質cholesterol oxidase(PDB code: 1b4v)に結合している場合についても同様の計算を行い、タンパク質の機能について考察する。

2. 理論と計算方法 エネルギー表示の理論では、溶質-溶媒間の相互作用エネルギー ε の分布関数を基本変数として溶質の溶媒和自由エネルギー $\Delta\mu$ を記述する。溶質と溶媒間の相互作用ポテンシャルが2体的であるとすると、 $\Delta\mu$ は正確に、

$$\Delta\mu = -k_B T \int d\varepsilon \left[(\rho(\varepsilon) - \rho_0(\varepsilon)) + \beta \omega(\varepsilon) \rho(\varepsilon) - \beta \left(\int_0^1 d\lambda \omega(\varepsilon; \lambda) \right) (\rho(\varepsilon) - \rho_0(\varepsilon)) \right] \quad (1)$$

と表せる。ここで、 $\rho(\varepsilon)$ 、 $\rho_0(\varepsilon)$ はそれぞれ溶液系、参照系のエネルギー分布関数で、 β は $k_B T$ の逆数である。溶質-溶媒間の平均力ポテンシャルの間接項 $\omega(\varepsilon)$ のカップリングパラメータ λ に関する積分には、PYおよびHNC近似を用いる。

イソアロキサジン環が水に溶媒和されている系について、余剰電子1個を溶質とする方法によって、還元に伴う自由エネルギー変化 $\Delta\mu_{\text{red}}$ を計算する。このアプローチでは、溶媒水分子のみならず、QM分子として扱われるイソアロキサジン環も溶媒と見なされるので、余剰電子とイソアロキサジン環との相互作用エネルギー v_{QM} を定義する必要がある。我々は、

$$v_{\text{QM}} = \langle \psi_{N+1} | H_0^{\text{QM}} | \psi_{N+1} \rangle - \langle \psi_N | H_0^{\text{QM}} | \psi_N \rangle \quad (2)$$

によって、 v_{QM} を導入した。式(2)において、 H_0^{QM} はQM系すなわちイソアロキサジン環の孤立状態でのハミルトニアンである。また、 ψ_{N+1} 、および ψ_N は、それぞれ、ある与えられた水溶媒の配置における、還元、および酸化状態のイソアロキサジン環の基底状態の波動関数である。これに対して、余剰電子と*i*番目の水分子間の相互作用ポテンシャル v_{MM}^i は、

$$v_{\text{MM}}^i = \sum_m q_m \int d\mathbf{r} \frac{n_{\text{exs}}(\mathbf{r})}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_m^i|} \quad (3)$$

と表すことが出来る。式(3)において、 $n_{\text{exs}}(\mathbf{r})$ は余剰電子の電子密度であり、 q_m および \mathbf{r}_m^i は、それぞれ、水分子の*m*番目の相互作用点の電荷と座標である。QM/MMシミュレーションを行うことによって、式(2)及び(3)のエネルギー座標について溶液系及び参照系の分布関数 $\rho(\epsilon)$ 、 $\rho_0(\epsilon)$ を構成する。これらの分布関数を式(1)に代入することによって、還元自由エネルギー $\Delta\mu_{\text{red}}$ に対するQM系及びMM系からの寄与、 $\Delta\mu_{\text{QM}}$ 及び $\Delta\mu_{\text{MM}}$ を計算する。 $\Delta\mu_{\text{red}}$ は、これらの和として与えられる。上記の方法に対して、還元の自由エネルギー $\Delta\mu_{\text{red}}$ は、イソアロキサジン環全体を溶質と見て、その還元、酸化状態についてそれらの溶媒和自由エネルギーを計算することによっても計算可能である。これら2つの方法で得られた $\Delta\mu_{\text{red}}$ を比較し、式(2)、(3)を用いる新規な方法の妥当性を検証する。アポタンパクに埋め込まれたイソアロキサジン環についても同様の計算を行う。

QM系の電子状態は、実空間グリッドを基底とするKohn-Shamの密度汎関数法により決定し、電子の交換相関汎関数にはBLYPを用いた。水溶液中の計算において、溶媒は、球殻に内包された676個のTIP3Pの水分子によって構成した(タンパク質では8869個)。これらの分子の運動の時間発展はCharmmを力場とする分子動力学計算によって計算した。

3. 結果と考察 気相中のイソアロキサジン環の1電子還元に伴うエネルギー変化は、UBLYP/aug-cc-pVDZのレベルで、 -45.7 kcal/molと計算された。水溶液中の還元の自由エネルギーは、余剰電子1個を溶質と見なす方法では、 $\Delta\mu_{\text{red}} = -80.1$ kcal/molと得られた。また、QM系及びMM系の $\Delta\mu_{\text{red}}$ への寄与は、それぞれ $\Delta\mu_{\text{QM}} = -39.5$ kcal/mol、及び $\Delta\mu_{\text{MM}} = -40.6$ kcal/molである[4]。これに対して、QM分子全体を溶質と見る方法では、 $\Delta\mu_{\text{red}} = -81.0$ kcal/molと計算された。このように、2つの異なる方法によって得られた $\Delta\mu_{\text{red}}$ の値は良好に一致しており、余剰電子1個を溶質と見なす方法の妥当性が実証された。また、イソアロキサジン環がアポタンパク質中に存在する場合について同様の計算を行うと、 $\Delta\mu_{\text{red}} = -163.1$ kcal/molと得られた。タンパク質における還元の自由エネルギーの顕著な減少は、主にタンパク質の荷電性の側鎖によって余剰電子が安定化されることに起因する。

Reference

1. H. Takahashi, H. Hori et al, J. Comp. Chem. **22**, 1252 (2001).
2. N. Matubayasi and M. Nakahara, J. Chem. Phys. **113**, 6070 (2000).
3. H. Takahashi, N. Matubayasi et al, J. Chem. Phys. **121**, 3989 (2004).
4. 分子構造総合討論会 2006、4E07では、 $\Delta\mu_{\text{MM}} = -30.1$ kcal/molと計算された。今回の計算結果との差は、昨年の計算においてイソアロキサジン環の余剰電子の密度をSOMOの電子密度によって近似したことによる。