

# Reweighting による QM/MM 自由エネルギー法の開発と

## 酵素反応への応用

(京大院・理) ○小杉貴洋, 林重彦

【序】 溶液中や酵素中における化学反応を理解する上で周りの環境の熱揺らぎは非常に重要であると考えられており、周りの環境の熱揺らぎを取り入れたさまざまな自由エネルギー計算法が開発されてきた。ところが、これまでの方法では周りの環境の統計平均を計算するためにサンプリングを繰り返す必要があり、計算コストがかかる蛋白質のような巨大で異方的な系への適用は困難であった。我々はこれまでの平均場自由エネルギー計算<sup>1</sup>を基に、蛋白質のような巨大で異方的な系へ適用できる QM/MM 自由エネルギー法の開発を行った。そして、蛋白質の熱揺らぎが蛋白質中の化学反応に大きな影響を及ぼすと考えられる好冷性酵素にこれを適用し、熱揺らぎの役割の重要性を調べた。

【計算方法】 平均場 QM/MM 自由エネルギー計算では MM 領域の平均場の中での最適な電子状態と構造を求めるために、MM 領域からの外場や力の平均値が必要となる。これを MD 計算によるサンプリングにより求めるのだが、この平均値は QM 領域の電子状態や構造に依存するので何度もサンプリングを繰り返すこととなる。小さくて等方的な系では平衡化が速く計算コストがそれほどかからないので長時間のサンプルを何度もとることもできるが、蛋白質のような平衡化が遅く計算コストがかかる系においては大きな問題になる。そこで、Weitao Yang らにより提案された分布の reweighting<sup>2</sup>を平均場自由エネルギー計算に導入した。彼らは、電子状態の変化に伴う分布の変化を無視し構造変化に伴う reweighting のみを行ったが、我々は SCF の際に電子状態の変化に対しても reweighting を行うことにより、常に最適な分布の中で計算を行えるようにした。つまり、以下のように MD 計算からサンプリングされた分布を reweighting していくことにより、十分なサンプリングを一度行うだけで平均場自由エネルギー面上での SCF 計算と構造最適化を行えるようにした。

$$\rho^{MM}(\mathbf{d}, \mathbf{r}; \mathbf{R}) = \frac{\exp\left[-\beta\left\{H^{QM-MM}(\mathbf{d}, \mathbf{r}; \mathbf{R}) - H^{QM-MM}(\mathbf{d}_0, \mathbf{r}_0; \mathbf{R})\right\}\right]}{\left\langle \exp\left[-\beta\left\{H^{QM-MM}(\mathbf{d}, \mathbf{r}; \mathbf{R}) - H^{QM-MM}(\mathbf{d}_0, \mathbf{r}_0; \mathbf{R})\right\}\right] \right\rangle_0} \times \rho^{MM}(\mathbf{d}_0, \mathbf{r}_0; \mathbf{R})$$

さらに、蛋白質の QM/MM 法でこれまで一般的であったクラスター系での計算ではなく、長距離静電相互作用には Ewald 法を導入した。これらにより、QM/MM 計

算とサンプリングのための MD 計算が完全に分離され、速くて精度の良い MD 計算用のアプリケーションソフトをそのまま使用することが可能となった。

これを、蛋白質の揺らぎの影響が大きいと考えられている好冷性酵素の酵素内化学反応に適用した。酵素はそれぞれその機能を果たすのに最適な温度を持つことが知られており、このような酵素における温度依存性の分子機構は酵素の熱安定性、つまり変性温度の違いにより説明が行われてきた。ところが、これでは低温では好冷性酵素が中温性酵素より高い活性をもつことや酵素の変性温度と活性が落ち始める温度に大きな違いがあることが説明できない。そのため、近年では様々な実験事実をもとにこの温度依存性の分子機構には酵素の熱揺らぎが大きく関わっていると考えられるようになってきた。そこで、特にその関わりが顕著に表れ、比較が容易であると考えられる至適温度の異なる二種類の $\alpha$ -amylase に reweighting による QM/MM 自由エネルギー計算を適用した。

【結果】まず、この計算に必要となる MD 計算の時間を少しずつ長くしていくことによって、シミュレーション時間に対する自由エネルギー計算の収束性の評価を行った。その結果、数 ns 程度のシミュレーションを行えばよいことが分かった。この時、QM 部分にかかる電場のヒストグラムを見ることにより reweighting が適切に行われていることも確かめた。

次に、free energy 面上での構造最適化を行い、これを通常のクラスター系でのハイブリッド QM/MM 法により構造最適化したものと比較した。Free energy 面上では周りの MM 領域が揺らいでいるため、従来の QM/MM 法での構造に比べて QM 領域において原子間距離が全体的に広がった。

さらに、平均場近似の平均力の数値微分により自由エネルギー面上での Hessian 計算を行った。これにより、従来のハイブリッド QM/MM 法で計算していたのと同じように transition state を求めた。そして、reactant と transition state の電子状態と構造を得た。この二つの構造を、free energy perturbation でつなぐことにより、酵素内化学反応における自由エネルギー障壁を求めた。すると、従来の QM/MM 法に比べ、今回の方法で蛋白質の揺らぎを取り入れたことによりその自由エネルギー障壁が顕著に変化した。

これらの結果の詳細については当日発表する。

#### 【謝辞】

本研究は文部科学省の京都大学グローバル COE プログラム「物質化学の新基盤構築の次世代育成国際拠点」(No.B-024)より助成を受けました。この場を借りてお礼申し上げます。

#### 【参考文献】

[1] T. Yamamoto, *J. Chem. Phys.* **129**, 244104 (2008)

[2] H. Hu, Z. Lu, J. M. Parks, S. K. Burger and W. Yang, *J. Chem. Phys.* **128**, 034105 (2008)