

# 1P093

## タンパク質機能の分子シミュレーション：基質認識と酵素反応を例として

(産業技術総合研究所 ナノシステム研究部門) ○石田豊和

### はじめに

近年の計算機の飛躍的な性能向上と、理論計算手法の新たな展開に伴って、理論/計算化学研究の対象とする現象は飛躍的に拡大した。特に近年、量子化学計算と古典分子力場計算を組合わせた Quantum Mechanical / Molecular Mechanical (QM/MM) 法が実用的な計算手法として広く普及した結果、タンパク質立体構造を露に考慮した生体分子反応の理論計算は、理論/計算化学研究領域において最も重要な研究課題の一つとなっている。申請者はこれまで、大規模かつ高精度な複合シミュレーション技術の研究開発を基礎として、タンパク質機能の基本原理を理論計算から解明する為の一連の研究を行なって来た。本ポスター発表においては、近年の主な研究成果の一例として、糖タンパク質の糖鎖認識機構と変異型酵素の反応活性変化の計算事例を紹介したい。

### 計算手法

*ab initio* QM/MM 計算、分子動力学計算ともに、計算に必要なプログラムはこれまで独自に開発を行なって来たコードを利用している。そして両研究課題において重要な物理量である自由エネルギー変化であるが、QM/MM 計算と分子動力学計算を組み合わせる近似的なハイブリッド計算手法で自由エネルギー変化を評価する手順をとっている。古典分子動力学計算におけるポテンシャル関数、および QM/MM 電子状態計算での MM 部分には AMBER(parm. 96) を使用している。

### 計算事例 1：糖タンパク質の糖鎖認識機構の分子モデリング<sup>1</sup>

糖鎖を特異的に認識して結合するタンパク質はレクチンと総称される。糖鎖-レクチンの相互作用は生体内での分子認識プロセスの鍵となる基本的な分子間相互作用であるが、分子レベルで見た場合の分子認識の詳細な理解はあまり進んでいない。主な原因として、1) 高分解能の X 線結晶構造に基づいたタンパク質-糖鎖複合体の情報量が絶対的に不足 (仮にあっても解像度が低い) している事、2) 糖鎖のとりうる多様な配座を実験的に同定する事が困難である事、これらの結果として、3) 結晶構造、NMR による構造解析を比較した場合、結合サイト上での糖鎖構造にしばし構造的に大きな揺らぎが観測される、などが列挙される。そこで今回、古典分子動力学計算から量子化学計算を組合せた階層的なモデリング手法を提案し、特にセレクチン-シアリルルイス X 糖鎖複合体に応用することで、糖鎖認識機構の分子レベルの情報を抽出する事を目的とした一連の大規模計算を実行した。

今回提案する理論モデルでは、「溶液中でタンパク質が基質である糖鎖を結合した状態を自由エネルギー空間上での安定構造間の状態遷移」だととらえ、自由エネルギー空間上で糖鎖の構造をマップする事を試みる。この場合の自由エネルギー面は、(1) 糖鎖の溶媒和自由エネルギーと

(2) 糖鎖の配座の内部エネルギーの2つの情報を反応座標に選択した2次元エネルギー面であり、分子動力学計算と *ab initio* QM/MM 計算を組合せたハイブリッド計算で算出される。そしてこの縮訳された情報をもとに糖鎖の配向 (Bioactive conformation) と、アミノ酸残基の糖鎖認識部位 (Binding epitopes) を議論した。また理論計算で予測される結合構造の妥当性を評価するため、NMR の化学シフトを実験値と比較して検討した。計算モデルは種々の実験結果を良く再現しており、本手法の妥当性が確認されるとともに、従来殆ど計算されてこなかった糖鎖複合体への更なる適用可能性が示された。

## 計算事例2：酵素反応におけるタンパク質変異の影響：変異型酵素の反応解析<sup>2</sup>

酵素反応における基本的な概念として「遷移状態の相対的な安定化」が一般的に認知されている。理論計算の対象として酵素反応を解析する場合の最大の関心は、「タンパク質環境の何が反応遷移状態を安定化するのか？」と言う点に集約される。この基本的かつ重要な問題を明らかにするため、Chorismate Mutase というシンプルな反応系を取り上げて、QM/MM 計算による反応自由エネルギー変化と、フラグメント分子軌道法ベースの近似全系量子計算によるタンパク質電子状態計算を組合せた系統的な解析手段を提案し、酵素反応機構のより定量的な理解に向けた研究を行なった。

構造解析の実験から反応機構を予測する場合、基質ではなく遷移状態アナログとの複合体構造を詳細に解析して反応機構を議論する事が一般的に行なわれる。そこで今回、反応基質と遷移状態アナログ複合体の2者の計算を実行することによって両者の電子論的な違いを比較して、実際の反応過程におけるタンパク質環境の触媒作用を検討した。次に活性中心のアミノ酸残基を系統的に置換した変異体酵素の反応自由エネルギー変化を天然型酵素のプロファイルと詳細に比較する事で、酵素触媒の基本原則を明らかにする事を試みた。ここではアミノ酸変異の効果を1) 電子状態の変化が反応に及ぼす影響と2) タンパク質ダイナミクスが反応に及ぼす影響、の2点から考察する事を行った。変異導入に伴う電子状態の影響は、アミノ酸置換の局所的な部位に限定され、タンパク質全体に及ぶ分極効果は特に見られない。これは天然型酵素の反応中心の静電環境が最適にデザインされている事を示唆している。これとは対照的に、アミノ酸残基ペアの相関運動から反応過程におけるタンパク質全体の構造変化を解析すると、変異導入に伴う局所的構造変化はタンパク質全体に渡るダイナミクスに影響を与えうる事が認められた。

## References

1. Toyokazu Ishida, "Computational Modeling of Carbohydrate-Recognition Process in E-Selectin Complex: Structural Mapping of Sialyl Lewis X onto Ab Initio QM/MM Free Energy Surface", *J. Phys. Chem. (B)*, **2010**, 114, 3950-3964. (Cover Art Article)
2. Toyokazu Ishida, "Effects of Point Mutation on Enzymatic Activity: Correlation between Protein Electronic Structure and Motion in Chorismate Mutase Reaction", *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 7104-7118.