

生理活性分子の水溶液中における構造の理論予測

(広島大院理・広島大 QuLiS) 相田 美砂子

A theoretical study on conformations and hydration structures of biologically active natural products

(Graduate School of Science and Center for Quantum Life Sciences, Hiroshima University)

Misako AIDA

生物は高度に複雑な系である。多種多様の分子が、生物が機能するために必要な特異的相互作用が存在するサブシステムを構築し、さらに多数のサブシステムが特異的に集合して、階層構造を内包する生物体を構築している。サブシステム間に情報を伝達する仕組みを担う分子も存在している。生物はあまりに複雑なために、たとえ単細胞生物であってもその機能全体を量子化学によりシミュレートすることは、未だ、できない。しかし、量子化学は、その機能や特異性を引き起こす原因を分子レベルで明らかにすることができる。それにより、たとえば、ある役割を担っている分子やその標的蛋白質の予測や、その分子の活性を制御するためにどうすればよいのか、を提示することも可能となる。

生体に対して特異的な作用を及ぼし、ある生物が機能するうえで必要な役割を果たす天然物リガンドは、生理活性分子とよばれる。生理活性分子は、その生体の機能を制御する鍵として働く。生理活性分子が生体に対して特異的な作用を及ぼすパターンには次の2種類ある。

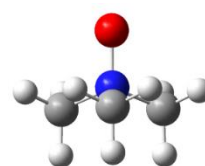
[1] 特別な「鍵穴」(つまり、標的蛋白質)は存在しないが、その「鍵」そのものが、他の分子にはないその分子特有の影響を、回りに与える。それが特異的な作用となり、必要な機能発現につながっていく。

[2] 生理活性分子がその標的蛋白質と相互作用をすることにより「鍵」としての役割を果たす。これは、「鍵と鍵穴」の関係によくとえられる。その標的蛋白質には「鍵」によって何らかの変化が生じ、さらに他の蛋白質等へ影響を及ぼしていき、必要な機能発現につながっていく。

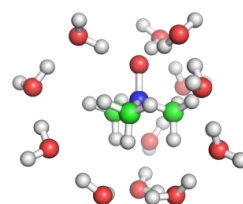
量子化学の手法および計算機能力の向上により、中程度の大きさの分子ならば、孤立状態の分子の構造やそのエネルギー、また振動モードや振動エネルギー、NMR 化学シフト等を理論的に予測することは可能となっている。しかし、生理活性分子が、孤立状態で存在していることはありえず、多くの場合は、水溶液中に存在している。そこで、生理活性分子が「鍵」としての役割を果たす仕組みを明らかにすることを目的として、水溶液中における生理活性分子の構造や水和構造を予測する。

[1] 「鍵」が単独で機能する場合

海洋生物は、浸透圧を調節するために細胞内液の中に浸透圧調整物質(オスモライト)を保持している。オスモライトがどのような機構でその役割を果たしているのかについてはまだ不明な点が多い。そこで、オスモライトとしてよく知られている TMAO (trimethylamine N-oxide) (右図)を取り上げ、この分子の電子構造および水和構造を明らかにする。



TMAO は C_{3v} の対称性をもつ分子である。メチル基の回転障壁は 5.2kcal/mol (MP2/6-31G*) であり、メチル基の回転は制限されていると予想できる。TMAO の構造が水和によってどのように変わるのか、また TMAO がまわりの水分子にどのような影響を与えるのか、について、非経験的分子軌道法と分子力場法を組み合わせた計算を進めた。その結果、TMAO の幾何学的構造は水和によってほとんど変化しないが、非常に特徴的な水和構造 (右図: 水分子 12 個がクラスターを形成し、TMAO を取り囲むように直接水和) が形成されることを見出した。TMAO の周りを、水素結合の矢印の向きが一方向である、3 本の水素結合ネットワークが取り囲んでいる。

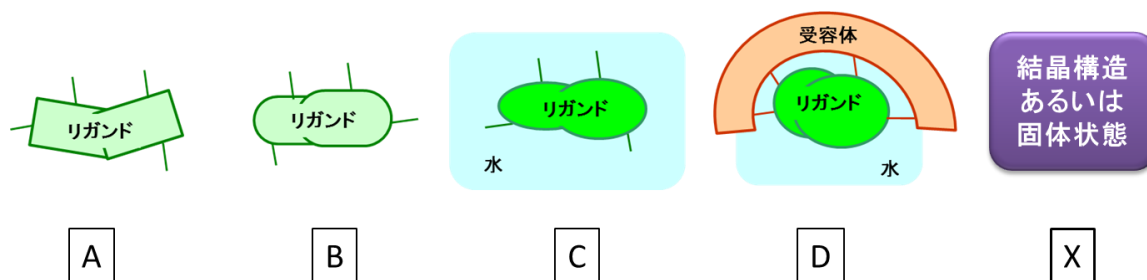


この水素結合ネットワークにより、TMAO と 3 本の水素結合ネットワークの間には強い相互作用が生じ、見かけ上、TMAO の双極子モーメントが倍程度大きくなる。これは、水溶液中の TMAO の双極子モーメントは他の溶媒の場合に比べると異常に大きい、という実測の結果を説明する。さらに、TMAO に直接水和する水分子の外側の多くの水分子も、特異な配向を示している。これらの結果は、生理活性分子の作用機序に関して新たな視点を提示するものである。

[2] 「鍵と鍵穴」で機能する場合

鍵と鍵穴という言葉から生じるイメージとは異なり、お互いに適合するために柔軟に構造を変化しうる、柔らかい鍵と柔らかい鍵穴である。しかも、なおかつ、特異的に相互作用がおこる。

分子が孤立状態において、ある安定構造 (下図 A) にあるときは、非経験的分子軌道法の適用により、かなり高精度で分子の性質を明らかにすることができる。しかし、温度によりさまざまな構造をとりうることができ (下図 B)、さらに、水分子による影響で構造がさらに変化 (下図 C) し、かつ、多くの構造が混在する可能性がある。さらに、受容体との特異的結合に際して、生理活性分子と受容体の両方の構造が変化する。実験的に天然物リガンドと受容体の複合状態における構造情報が得られるのは、下図の X に相当する場合であることが多い。これが、生体内における状態 (下図 D) と同じ構造であるかどうかについての確証は、ない。水溶液中における生理活性分子の構造 (下図 C) を予測することも、受容体との結合構造 (下図 D) を予測することも、単純なことではない。



環境により構造が変化しやすい分子として、単糖 (ヘキソピラノース) をとりあげ、水溶液中の構造 (上図 C に相当する) を求める。単糖には、分子内水素結合のパターンにより、孤立状態においてもさまざまな安定構造がある。溶媒水分子をあらわに考慮に入れた QM/MM-MD 計算を実行することにより、水溶液において存在しうる構造を抽出した。

生理活性分子には、周囲に強い影響をあたえるものも、また、周囲から強い影響を与えられるものもある。生理活性分子の機能を明らかにするためには、周囲の分子をあらわに計算に含み、さまざまな可能性を考慮に入れることができる計算の実行が必須である。

3E13

構造ゆらぎを考慮した振動状態理論の開発と生体分子系への応用

(理研・杉田理論分子科学) ○八木清, 杉田有治

Vibrational Structure Theory Accounting for Fluctuation of Molecular Structure

(RIKEN, Theoretical Molecular Science Lab.) ○Kiyoshi Yagi and Yuji Sugita

[序] 生体分子の機能を分子論的に理解することは重要な課題である。振動分光法は分子間相互作用を鋭敏に観測できる手法である。しかし、生体分子のスペクトルは複雑で、振動バンドを正しく解釈するのは容易でない。本研究では、生体分子の振動状態を計算する新しい理論と計算手法を開発する。

生体分子の大きな特徴の 1 つは熱運動等によって誘起される構造ゆらぎである。ゆらぎは比較的遅いゆっくりとした運動であるから、振動分光でプローブする速い分子振動とは実効的に分離できると考える。言い換えると、ある構造 A に対する振動スペクトル $I_A(\omega)$ が決まるものとする。この時、全スペクトルは $I_A(\omega)$ のアンサンブル平均で与えられる、

$$I(\omega) = \langle I_A(\omega) \rangle_A = \sum_A w_A I_A(\omega), \quad (1)$$

ここで w_A は構造 A に対する重みである。本研究では重みを古典分子動力学 (MD) 計算、スペクトルを量子化学計算により求めるハイブリッド法を提案する。

[方法] 式(1)を実際に計算する上で、構造 A の集合を入力パラメータとして与える必要がある。多くの振動モードは部分構造の振動運動に帰属される。そこで、計算対象とする振動モードを限定し、それに対応する (部分) 分子が取りうる basin を A の集合としてリストする。例えば、水素結合のパターンや部分構造のコンフォマーなどの環境の違いにより生じる構造などである。MD 計算で得られた古典トラジェクトリーを解析し、A 集合とその重みを計算する。

構造 A に対し、量子化学計算により振動スペクトルを計算する。得られる振動数と強度から、スペクトルを以下のように構築する、

$$I_A(\omega) = \sum_v^{\text{mode}} I_v^A \Gamma(\nu - \nu_v^A), \quad (2)$$

ただし、 ν_v^A と I_v^A はモード ν の振動数とスペクトル強度、 Γ はスペクトル形状を表す Lorentz 関数である、

$$\Gamma(\nu - \nu_v^A) = \frac{2}{\pi} \left[\frac{\gamma}{4(\nu - \nu_v^A)^2 + \gamma^2} \right]. \quad (3)$$

[応用計算] スフィンゴミエリン (SM) 二重膜のアミドバンドを計算した。SM は

head と tail group をつなぐ中間部位にアミド骨格と OH 基を持ち、これらが水素結合した SM クラスタがラフト生成に関わっていると考えられる。最近、理研の城田と小林[1]は SM リポソームのラマンスペクトルを取得し、SM クラスタに起因すると思われる強いバンドを 1645 cm^{-1} に観測した。しかし、過去の文献では、この領域に弱いバンドしか観測されておらず、観測されたラマンバンドの帰属は困難であった。そこで、このバンドの帰属を明らかにするため、SM 二重膜に対する MD 計算と振動解析を実行した。

まず、圧力 1 atm, 温度 23°C と 50°C で、温度・圧力一定の MD 計算を 100 ns 実行した。得られた古典トラジェクトリーを解析し、アミド基の水素結合ネットワークと脂質分子のコンフォーマーに基づき、構造と重みを計算した。得られた SM クラスタに対し、量子化学計算 B3LYP/6-31++G(d,p) によりラマンスペクトルを計算した。スペ

クトルのピーク位置は調和振動数に非調和補正のファクターを掛けた。得られたスペクトルの重み平均を取ることで、全スペクトルを計算した。

図 1 に得られた SM 二重膜の構造を示す。SM 二重膜は 23°C ではゲル相、 50°C では液晶相となる。液晶相はゲル相よりも膜内部に多くの水分子を含むことが分かった。また、膜内部の水分子がアミド基同士の水素結合が妨げるため、液晶相では、アミド基はほとんど単独で存在することが分かった。図 2 に液晶相とゲル相のスペクトルを比較する。ゲル相の方がアミド基の 2 量体が増えることを反映し、赤線で示す 2 量体のアミド I バンドが低波数側に広がっている。ゲル相の計算結果は実験結果とよく一致し 1645 cm^{-1} のピークを帰属することが出来た。

[結論と展望] MD 計算と量子化学計算を組み合わせ、重み平均により振動スペクトルを求める方法を提案した。今後、効率のよいサンプリング法や非調和性を露わに考慮した計算法を用いることで、より高精度な計算が可能である。遅い運動の時間発展を考慮することで、生体分子の大きな構造変化と機能の関係を明らかにしたい。

[1] K. Shiota et al., “Detection of Sphingomyelin Nanoclusters by Raman Spectroscopy”, in preparation.

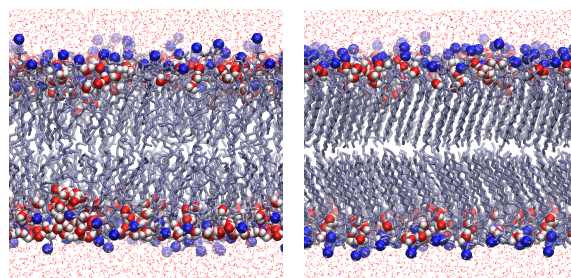


図 1. MD 計算で得られた SM 二重膜の構造。温度が 50°C (左) と 23°C (右) ではそれぞれ液晶相、ゲル相となる。コリンの窒素 (青) の平均位置より内側に入っている水分子がハイライトされている。

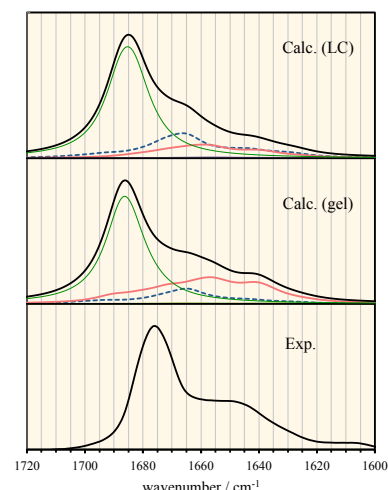


図 2. SM 二重膜のラマンスペクトル。液晶相 (上) とゲル相 (中) の計算スペクトル。緑線は CC 伸縮振動、赤線と青線は、単量体と二量体のアミド I バンド。(下) 実験スペクトル。

プロトン化シクロプロパンにおけるメチル基回転の量子効果による抑制

(分子研¹,横浜市大・生命ナノ²)○河津 励^{1,2},立川 仁典²

A decrease of a methyl rotation in the protonated cyclopropane caused by the nuclear quantum effect

(IMS¹, Yokohama City Univ.²) ○Tsutomu Kawatsu^{1,2}, Masanori Tachikawa²

【序】シクロプロパンは正三角形の骨格を持った分子であるが、プロトンが吸着することによりその対称性が崩れ、エチレンにメチル基がついたような三角形の準安定構造へ移行する(Fig.1)。この分子に構造最適化及びメチル基回転に関する遷移状態計算を適用すると、このメチル基の回転がメチル基に結合する二つの炭素との距離の伸縮とカップルしていることがわかる。また、この遷移状態に対するポテンシャル障壁は 0.07kcal/mol とかなり低く、有限温度においては自由な回転運動が可能であるように見える(Fig.2 参照)。実際、通常の分子動力学シミュレーションを行うと、比較的低温でも頻繁な回転が見いだされる。しかしながら、原子核の量子効果を取り入れようと経路積分分子動力学法による構造解析を行ったところ、前述の分子動力学法の結果と比較して、この回転が抑制されていることが見いだされた。

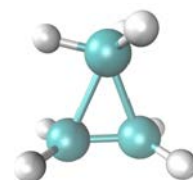


Fig.1. プロトン化シクロプロパンの準安定構造。

【計算】個々の経路積分シミュレーションではプロトン化シクロプロパンの準安定構造である、三角形構造を初期構造とし、対応する温度の初期速度をランダムに与えたうえで、時間間隔 1fs/step で 5,000 ステップの平衡化シミュレーションを行ったのち、45,000 ステップのサンプリングを行った。温度制御には能勢フーバー鎖を用いている。同様に通常の分子動力学シミュレーションで、10,000 ステップの平衡化ののち、90,000 ステップのサンプリングを行った。この三角形構造は準安定構造であるが、三角形の開いた安定構造への遷移障壁はきわめて大きいため[1]、今回行ったシミュレーションの範囲では遷移は起こらない。経路積分分子動力学法、および通常の分子動力学法の計算にはこれまでも

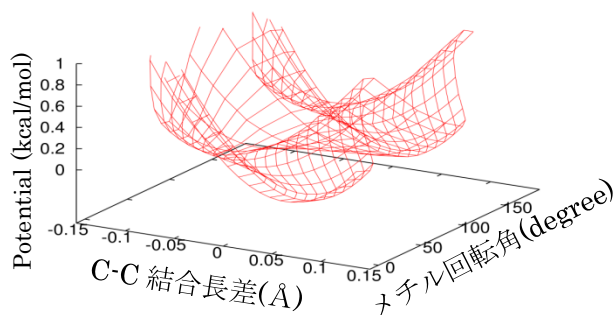


Fig.2. プロトン化シクロプロパンのメチル回転角と C-C 結合長差に関するポテンシャル形状。

我々の研究室で使われてきたハウスコードを用いている[2]。シミュレーションで用いる原子間ポテンシャルの計算には GAMESS を用いており、計算レベルは MP2/6-311G(2d,p)である。75K、150K、300K、600K の各温度における計算を行っており、経路積分分子動力学法による虚時間方向へのビーズ展開数はそれぞれ、64、32、16、16 個とした。これらの計算ではビーズ展開数と同じプロセス数を用いた MPI 並列計算を行いつつ、各プロセス毎に GAMESS の計算を 4 core のソケット並列で行った。また、本研究で得られた経路積分分子動力学法によるシミュレーション結果の特異性を考察するため、Gaussian09 を用いて、前述のシミュレーションと同レベルの計算手法による基準振動解析および非調和振動解析を行っている。

【結果と考察】

Fig. 3 に経路積分分子動力学法と通常の分子動力学法をそれぞれ用いて計算した 75K におけるプロトン化シクロプロパンの構造分布の様子を示す。横軸はメチル基の回転角を示しており、0 度と 180 度にそれぞれ鏡面対称となる安定構造がある。また、そこから 60 度強ずれた位置

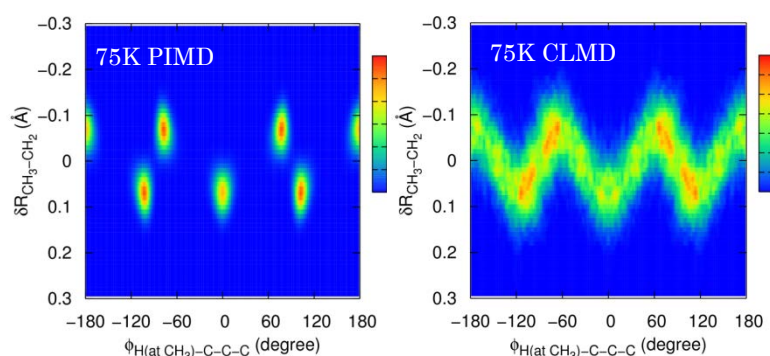


Fig.3. 経路積分分子動力学法(PIMD)と分子動力学法(CLMD)で求めたプロトン化シクロプロパンのメチル回転と C-C 結合差に関する構造分布。

に別の水素が 0 度もしくは 180 度となる安定構造が存在する。一方、縦軸はメチル基回転とカップルする二つの C-C 結合距離の差を表している。原子核の量子効果を考慮した場合、原子核の量子揺らぎの効果により、構造分布は広がることが多い。しかし、このケースでは、むしろ原子核量子効果を考慮した経路積分の結果において、それを無視した分子動力学の結果と比べて、メチル基回転は抑制されており、構造分布はかなり狭くなっている。このような振る舞いは、遷移状態が強い束縛状態を通ることに起因する量子的局在化[3]もしくは逆同位体効果[4]として知られる現象とよく似ており、平衡構造と遷移構造における振動解析を行ったところ、実際に遷移構造におけるゼロ点エネルギーの寄与が平衡構造のそれを上回っていることが確認できた。ただし、この寄与は平衡構造や平衡構造におけるポテンシャル曲率からではなく、分子構造の変形に基づく化学結合の変化などに起因する非調和項により得られていることから、プロトン化シクロプロパンの分子構造に深く関係していることが推察される。

- [1] B. Chiavarino, M.E. Crestoni, A.A. Fokin, and S. Fornarini, *Chem. Eur. J.* 7, 2916 (2001).
- [2] K. Suzuki, M. Shiga, and M. Tachikawa, *J. Chem. Phys.* 129, 144310 (2008).
- [3] H. Kitamura, S. Tsuneyuki, T. Ogitsu, T. Miyake, *Nature* 404, 259 (2000).
- [4] T. Miyake, K. Kusakabe, S. Tsuneyuki, *Surf. Sci.* 363, 403 (1996).

Theoretical study of infrared frequencies of solid phase methyl acetate under interstellar medium conditions

Radhika Narayanan,^{1,2} Kensuke Inomata,^{1,2} Geetha Gopakumar,^{1,2} Bhalamurugan Sivaraman,³ Yasunari Zempo,⁴ and Masahiko Hada^{1,2}

¹Department of Chemistry, Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Metropolitan University, 1-1 Minami-Osawa, Hachioji, Tokyo 192-0397, Japan

²JST, CREST, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

³Space and Atmospheric Sciences Division, Physical Research Laboratory, Ahmedabad, 380009, India

⁴Computer and Information Sciences, Hosei University, 3-7-2 Kajino, Koganei 184-8584, Japan

Introduction

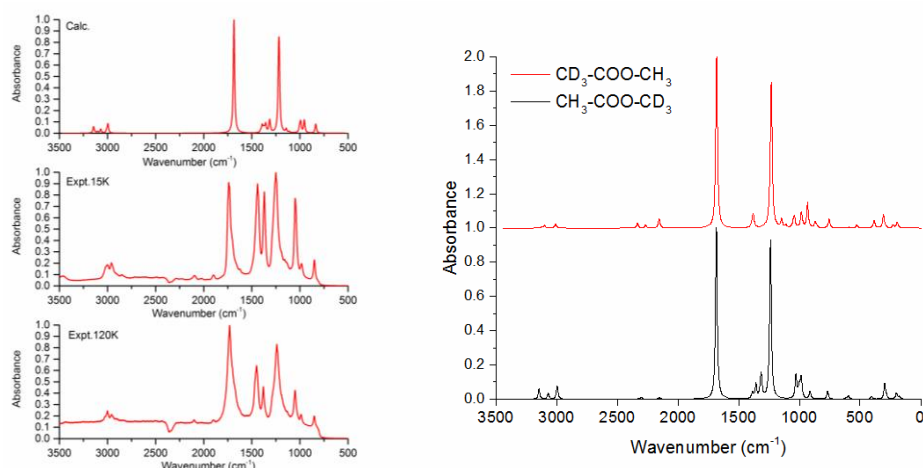
Methyl acetate was identified in the Orion constellation of the interstellar medium (ISM) by Tercero et al. in 2013. Methyl acetate is considered to be formed from the reaction between CH_3O and CH_3CO radicals in the star-forming regions. To investigate further on the possibility of methyl acetate in ISM, Sivaraman et al. carried out vacuum ultraviolet and IR spectroscopic studies of methyl acetate ices in the laboratory under similar conditions. This study shows that methyl acetate forms an amorphous ice at lower temperature, which becomes crystalline between 110 and 120K temperature. These results prompted us to investigate further the structure of the crystalline and amorphous methyl acetate using numerical calculations. Moreover there are no reports available in literature on the experimental IR spectra of the crystalline deuterated methyl acetate in the ISM conditions.

Results and discussion

Here, we present a theoretical study of the structure of crystalline methyl acetate and its isotopologues and compare the calculated infrared (IR) spectra of crystalline and amorphous methyl acetate with the available experimental data. The optimized structure and vibrational properties were calculated using SIESTA software at 0 K. In the optimization process, the Perdew–Burke–Ernzerhof functional and conjugate gradient method were used with double zeta polarization basis functions. After optimization of the periodic structure, the vibrational frequencies and normal modes were calculated within the harmonic approximation. The low frequency modes of the crystalline methyl acetate (below 650 cm^{-1}) are unavailable in the experimental studies. Using the calculated results, we refine the mode assignments of the experimental work on crystalline methyl acetate and determine the low frequency modes (below 650 cm^{-1}). In the calculated IR spectrum, the strongest peak appear at 1685 cm^{-1} ,

which can be assigned to the C=O stretching vibration.

To investigate the accuracy of the pseudopotential and confirm the IR frequencies, we performed molecular calculations using a periodic model of methyl acetate and its isotopologues using SIESTA and compared them with results obtained from Gaussian 09 (all electron method) calculations. Further, we assigned the vibrational modes of crystalline $\text{CD}_3\text{-COO-CH}_3$ and $\text{CH}_3\text{-COO-CD}_3$, for which experimental data are unavailable in the crystalline phase under ISM conditions. The D atoms present in the isotopologues of methyl acetate show the same characteristic types of vibrational modes as the H atoms, which include C–D stretching, bending, and rocking modes. The vibrational frequencies corresponding to these modes shift to lower frequencies compared with the same C–H vibrations because of the larger mass of the D atom. For all of the calculation methods, the IR vibrational modes of molecular and solid phase methyl acetate and its isotopologues were in good agreement with the available experimental data and predict the unavailable values. Thus we could extend our theoretical studies to predict the solid phase IR spectra of molecules in the interstellar medium effectively for which experimental measurements are difficult.



References

1. B. Tercero, I. Kleiner, J. Cernicharo, H. V. L. Nguyen, A. Lopez, G. M. Munoz Caro, *Astrophys. J. Lett.* 770 (2013) L13.
2. B. Sivaraman, B. G. Nair, J.-I. Lo, S. Kundu, D. Davis, V. Prabhudesai, B. N. Raja Sekhar, N. J. Mason, B.-M. Cheng, E. Krishnakumar, *Astrophys. J.* 778 (2013) 157.
3. R. Narayanan, K. Inomata, G. Gopakumar, B. Sivaraman, Y. Zempo, M. Hada, *Spectrochim. Acta Part A*, submitted.