

3G11

非調和性を考慮した第1原理分子振動状態理論の開発と応用

(理研・杉田理論分子科学) ○八木清

Anharmonic vibrational structure calculations from the first principles

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

1. 序：振動分光法は分子の制御機構を原子分子レベルの精度で明らかにできる有力な解析法であるが、観測されたスペクトルが複雑で解釈が困難な場合がある。スペクトルを理解するため、調和近似に基づく理論計算が多く用いられている。しかし、調和近似には限界がある。まず、定量的には振動数に3-5%の誤差があり、また、定性的に破綻する場合もある。調和近似では倍音・結合音への吸収やフェルミ共鳴による振動バンドの分裂は起こらないため、調和計算と実験のスペクトルが見た目に全く異なる場合がある。我々は、調和近似を超え、非調和性を露わに考慮する振動状態計算法を開発した。量子化学計算により非調和ポテンシャルを生成する Multiresolution 法、振動 Schrödinger 方程式を解く振動擬縮退摂動法 (Vibrational Quasi-Degenerate Perturbation Theory: VQDPT), 複雑分子の構造揺らぎを考慮する Weight average 法を提案した。これらの方法は Molecular Science 誌の award account にてレビューした[1]。ここでは、開発した方法を用いた最新のアプリケーションを発表する。

2. プロトン化水クラスター $[H^+(H_2O)_4]$ への応用：水溶液中のプロトンは、ヒドロニウムイオン (H_3O^+) を中心とする Eigen 型と、2つの水分子が1つのプロトンを共有する $H_2O \cdots H^+ \cdots OH_2$ を中心とする Zundel 型で存在すると考えられ、両者はいわゆる Grotthuss 機構によるプロトン移動の中間体として強い関心が持たれている。Headrick ら[2]は $H^+(H_2O)_n$ の $n=2-11$ の一連のクラスターに対し振動スペクトルを観測し、プロトンの運動に起因する強いシグナルが、Zundel 型の 1000 cm^{-1} 付近から Eigen 型の 2600 cm^{-1} 付近まで、極めて広範囲にわたって現れることを明らかにした。観測された

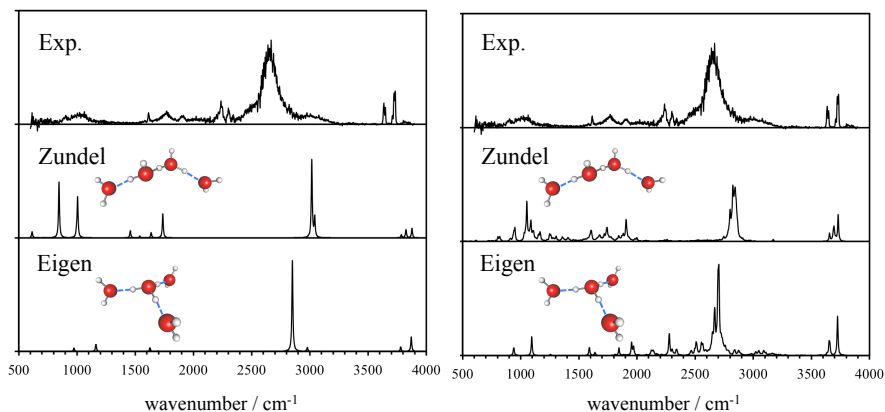


図1. $H^+(H_2O)_4$ の Zundel 型と Eigen 型クラスターに対する振動状態計算と実験によるスペクトルの比較. 左: 調和近似. 右: VQDPT2 計算.

$H^+(H_2O)_4$ は Eigen 型クラスター $[H_3O(H_2O)_3]^+$ とされ、長くそう信じられてきた。最近、Agmon ら[3]は、*ab initio* 分子動力学 (MD) 計算から、Eigen 型クラスターでは低波数側の特徴を説明できず、実験スペクトルには Zundel 型クラスター $[H_5O_2(H_2O)_2]^+$ が混ざっていることを提案した。我々はこの仮定を確かめるべく、両クラスターに対し、より高精度な量子化学計算を実行し、図 1 の結果を得た。詳細は当日議論する。

3. 生体分子への応用：最近、理研・杉田グループで開発している MD 計算プログラム GENESIS に QM/MM 計算の機能を追加し、それと連動し非調和ポテンシャルを生成するプログラムを実装した。タンパク質の機能に関わる部分に対し、実験・計算の両面から振動解析を実行することで、生体機能のメカニズムを原子・分子レベルで理解することが可能になる。この方法を光受容型プロトンポンプ・バクテリオロドプシン (bR) へ応用した。bR は光吸収によりレチナールが *trans-cis* 異性化反応を起こし、その刺激により細胞膜内部から外へプロトンを運び出す膜タンパク質である。その機能の鍵となるのは、レチナールのシッフ塩と 3 つの内部水の近傍に構成されている水素結合ネットワークである (図 2)。この部分に対する振動解析を実行した。

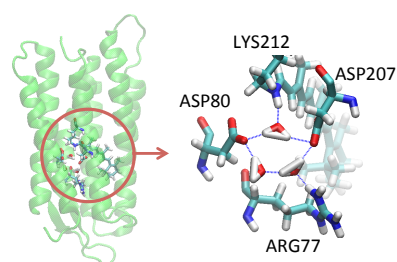


図 2. bR の内部水が作る水素結合ネットワーク。

4. 高分子材料と水の相互作用解明：高分子材料は、水との相互作用を利用することで、特殊な機能を持つことが多い。例えば、海水を淡水化する逆浸透膜では、イオン排除率と水の透過率を同時に高くする必要があり、ナノオーダーの分子設計がなされている。逆浸透膜の骨格は芳香族系ポリアミドである。アミド基と水の相互作用を原子・分子レベルで明らかにするため、振動解析は大変有用である。高分子・水に対する振動スペクトルを計算するため、我々は *weight average* 法を開発した。この方法ではまず MD シミュレーションを実行し、アミド基や水分子周辺の主要な構造 (クラスター) を取り出し、そのクラスターに対する振動スペクトルを計算し、重み平均を取ることで全スペクトルを計算する (図 3)。この方法を同じポリアミドである Nylon-6 へ応用し、加湿過程に伴う差スペクトルの変化を計算した。

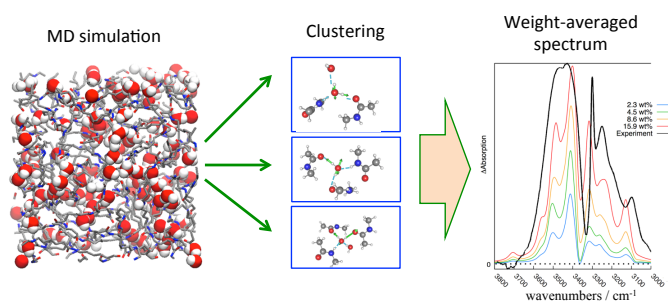


図 3. Weight average 法の計算スキームの概略。

[1] 八木清, Mol. Sci. in press. [2] J. M. Headrick et al, Science **308**, 1765 (2005). [3] W. Kulig and N. Agmon, J. Phys. Chem. B **118**, 278-286 (2014).

フラグメント分子軌道法による蛋白質とリガンドの相互作用解析

(産総研・CD-FMat) ○ Fedorov Dmitri

Analysis of protein–ligand interactions with the fragment molecular orbital method

(CD-FMat, AIST) ○ Fedorov Dmitri

【序】

フラグメント分子軌道法(FMO) [1, 2]では、巨大分子がフラグメントに分割され、フラグメントとその多量体の計算から全系のエネルギー、解析勾配、解析二次微分等を得られる。FMO法では全系の物性のみならず、系の部分的寄与も算出する。その部分的寄与は、多体展開から得られる。一体的物性は、全系中のフラグメント電子状態の物性であり、例えば、フラグメントの内部エネルギー、水和エネルギー、電荷を含む多極子モメント等がある。二体的物性として、フラグメント間の相互作用エネルギーや、電荷移動等がある。今までFMO法は蛋白質とリガンドの相互作用計算に使われる際、殆どの場合、複合体中の相互作用は議論されて来た。しかし、蛋白質とリガンドの結合を鑑みるとせば、複合体の電子状態を、それぞれの蛋白質とリガンドの結合していない自由状態と比ぶべきである。FMO法を用い、結合状態と自由状態を比べ、結合を解析した。

【方法】

結合エネルギー $\Delta\tilde{E}$ は複合体(AB)と自由状態の蛋白質(A)とリガンド(B)のエネルギーの差である。

$$\Delta\tilde{E} = E^{AB} - \tilde{E}^A - \tilde{E}^B = \Delta E + \Delta\tilde{E}^{\text{def},A} + \Delta\tilde{E}^{\text{def},B}$$

ここで $\Delta\tilde{E}^{\text{def},A}$ ($\Delta\tilde{E}^{\text{def},B}$) は A(B)の変形エネルギー(deformation)であり、複合体中の構造のエネルギーと、自由状態(tilde で表す)の最適化された構造のエネルギーの差である。

構造変形以外の結合エネルギー ΔE は、複合体の儘の構造で計算した結合エネルギーである。

$$\Delta E = \Delta E'_A + \Delta E'_B + \Delta E_{AB}^{\text{int}} = \sum_{I \in A, B} \Delta E_I^{\text{bind}}$$

ここで、 $\Delta E'_A$ ($\Delta E'_B$) は A(B)不安定分極エネルギーに相当するお互いの影響で A(B)の内部エネルギーの変化である。 $\Delta E_{AB}^{\text{int}}$ は A と B の相互作用エネルギーである。

$$\Delta E_{I,A}^{\text{bind}} = \Delta E_{I,A}^{\text{part}} + \sum_{J \in B} \Delta E_{IJ}^{\text{int}}$$

$\Delta E_{I,A}^{\text{bind}}$ は I 残基の結合エネルギーの寄与である。

$$\Delta E_{I,A}^{\text{part}} = \Delta E_I'' + \Delta\Delta E_I^{\text{solv}} + 1/2 \sum_{(J \neq I) \in A} \Delta\Delta E_{IJ}^{\text{int}}$$

I 残基の部分エネルギー $\Delta E_{I,A}^{\text{part}}$ は、内部エネルギー ($\Delta E_I''$)、水和エネルギー $\Delta\Delta E_I^{\text{solv}}$ (脱水効果の

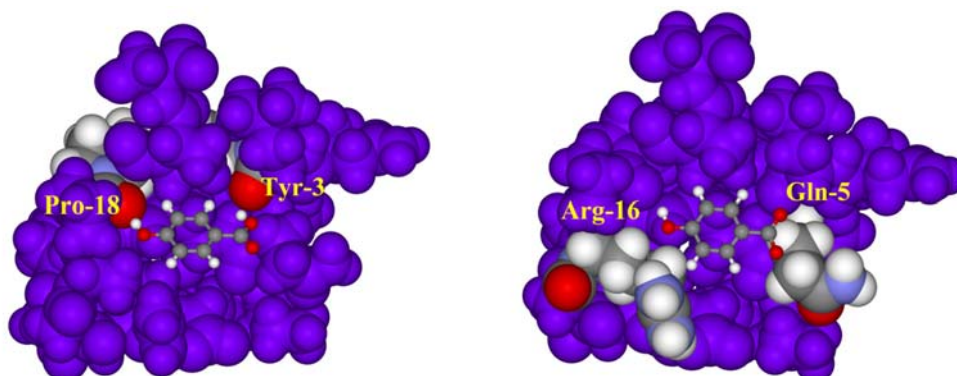
寄与)と A 内 (蛋白質内) の相互作用エネルギー($\Delta\Delta E_{IJ}^{\text{int}}$)の変化から成る。ここで出て来た部分寄

与を用いた解析法を部分的解析法(subsystem analysis, SA)と呼ぶ[3]。PIEDA との連携も可能で、

$\Delta\Delta E_{IJ}^{\text{int}}$ を PIEDA[4]の成分(静電、交換反撥、電荷移動、分散力)に分ける事が出来る。

【結果】

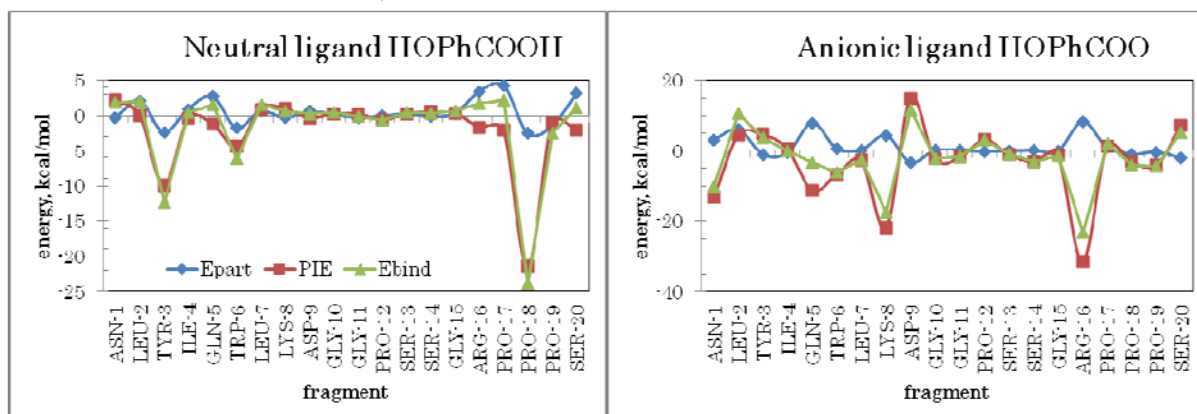
Trp-cage (1L2Y)とリガンド(*p*-phenolic acidのHOPhCOOH,とHOPhCOO⁻)の結合を解析した。計算法として、RHF-D/PCM/6-31G*を用いた。構造も同様な方法で最適化した。



Trp-cage と HOPhCOOH との複合体構造

Trp-cage と HOPhCOO⁻との複合体構造

残基 *I* とリガンド *L* に対して、相互作用エネルギー(ΔE_{IL}^{int} , PIE)、部分エネルギーの変化($\Delta E_{I,A}^{part}$, Epart)と結合エネルギー($\Delta E_{I,A}^{bind}$, Ebind)を計算した。



結果の纏め

- 脱水効果が大きい(リガンドは 16.8 と 33.5 kcal/mol と蛋白質は 10.7 and 11.8 kcal/mol)。
- 中性リガンドは結合に伴う異性体の為、変形エネルギーは大きい (5.2 kcal/mol)。
- 負電荷のリガンドは大きく蛋白質の電子状態を不安定化させた (11.4 kcal/mol)。
- -39.6 と -66.9 kcal/mol の相互作用は脱水効果と相殺し、-8.0 と -9.5 kcal/mol の結合エネルギーになる。

その他に、(ALA)₁₀の典型的異性体の安定性の比較した。

【結論】

FMO/SA は当然、蛋白質とリガンドに限らず、様々な結合過程に応用出来る。開発した FMO/SA を GAMESS-US に入れて、これからより現実的結合解析に役立つと期待している。

参照

- [1] S.Tanaka, Y.Mochizuki, Y.Komeiji, Y.Okiyama, K.Fukuzawa, Phys.Chem.Chem.Phys.16 (2014)10310.
- [2] <http://staff.aist.go.jp/d.g.fedorov/fmo/main.html>
- [3] D. G. Fedorov, K. Kitaura, J. Phys. Chem. A 120 (2016) 2218.
- [4] D. G. Fedorov, K. Kitaura, J. Phys. Chem. A 116 (2012) 704.

3G14

FMO 法と DFTB 法と PCM 法の組み合わせ (FMO-DFTB/PCM)
(京大・福井センター¹、産総研・CD-FMat²) 西本佳央¹、フェドロフドミトリ²

The Fragment Molecular Orbital Method Combined with Density-Functional Tight-Binding and the Polarizable Continuum Model

(FIFC, Kyoto University¹ and CD-FMat, AIST²) Yoshio Nishimoto¹, Fedorov G. Dmitri²

Most biochemical processes occur in solution, and an appropriate treatment of solvent effects in simulations is essential. In this study,¹ the energy and its analytic gradient are formulated for the fragment molecular orbital (FMO) method² combined with the density-functional tight-binding (DFTB)³ and the polarizable continuum model (PCM).

The total energy in FMO2/PCM method is

$$E^{\text{FMO/PCM}} = \sum_I^N E_I'' + \sum_{I>J}^N (E_I'' - E_I' - E_J'') + \sum_{I>J}^N \Delta E_{IJ}^V + G^{\text{cdr}} + G,$$

where N is the number of fragments, and is the internal solute energy of fragment X . The fourth term is the non-electrostatic term computed as a sum of the cavitation, dispersion, and repulsion free energies. The fifth term is the electrostatic solute-solvent interaction energy,

$$G = \frac{1}{2} \mathbf{V}^T \bar{\mathbf{q}},$$

where $\bar{\mathbf{q}}$ is apparent surface charges (ASCs) and they are obtained by

$$\bar{\mathbf{q}} = \mathbf{C}^{-1} \mathbf{V},$$

where \mathbf{C} is a square matrix that depends on the tessera positions and the choice of a PCM model, and \mathbf{V} is the electrostatic potential on tesserae.

The analytic gradient of FMO-DFTB/PCM^{<1>} is obtained by differentiating the above total energy expression:

$$\frac{\partial E}{\partial a} = E^a + G^a + \frac{\partial G^{\text{cdr}}}{\partial a} + \bar{R}^a,$$

where the first and second terms are the integral derivative contributions of E and G , and the last term represents the sum of orbital response contributions from E and G , and they are obtained by solving the self-consistent Z -vector equation.⁴ The method outlined here, FMO-DFTB/PCM, was implemented in a development version of GAMESS-US.

The accuracy of FMO-DFTB/PCM is demonstrated in comparison with unfragmented

calculations and numerical gradients. The instability in the description of proteins (PDB: 1UAO) using density functional theory (DFT) and DFTB is analyzed for both unfragmented and FMO methods. In the gas phase, GGA functionals could not reach SCF convergence because of small gap between occupied and virtual orbitals. Adding solvent effects considerably increases the gap between occupied and virtual orbitals and stabilizes convergence.

The cause of the instability is shown to be charged residues from an analysis using the FMO approach. The structure of molecular orbital levels in monomer calculations highlights the problem of, what we call, charge transfer states in dimers. Consider two highest occupied orbitals in fragments *I* and *J* (Fig. 1A), which happen to have the HOMO in *J* above the LUMO in *I*. This electronic structure represents a “negative gap” in FMO. When the initial set

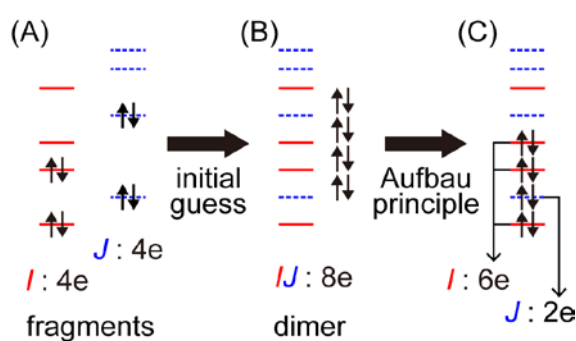


Fig 1 Origin of the problem of charge transfer states in dimers. (A) Orbital energies in monomers *I* (red solid lines) and *J* (blue dashed lines). (B) Initial levels in dimer *IJ*. (C) Population of initial levels in dimer *IJ*.

of dimer orbitals is constructed by taking occupied monomer orbitals (Fig. 1B), according to the Aufbau principle in the dimer the HOMO of *J* is unoccupied, and instead, the LUMO of *I* is occupied. This means that two electrons are transferred from *J* to *I* (Fig. 1C). This problem is particularly severe in the gas phase when long-range functionals are not used.

The pair interaction energies calculated using FMO-DFT and FMO-DFTB in solution are shown to be correlate, whereas the latter method is 4840 times faster than the former for a protein consisting of 1961 atoms. The structures of five proteins (containing up to 3578 atoms (PDB: 2CGA)) optimized using FMO-DFTB/PCM agree reasonably well with experiment. A single point energy + gradient evaluation for the 2CGA protein took 195 seconds on a single PC (six cores).

References

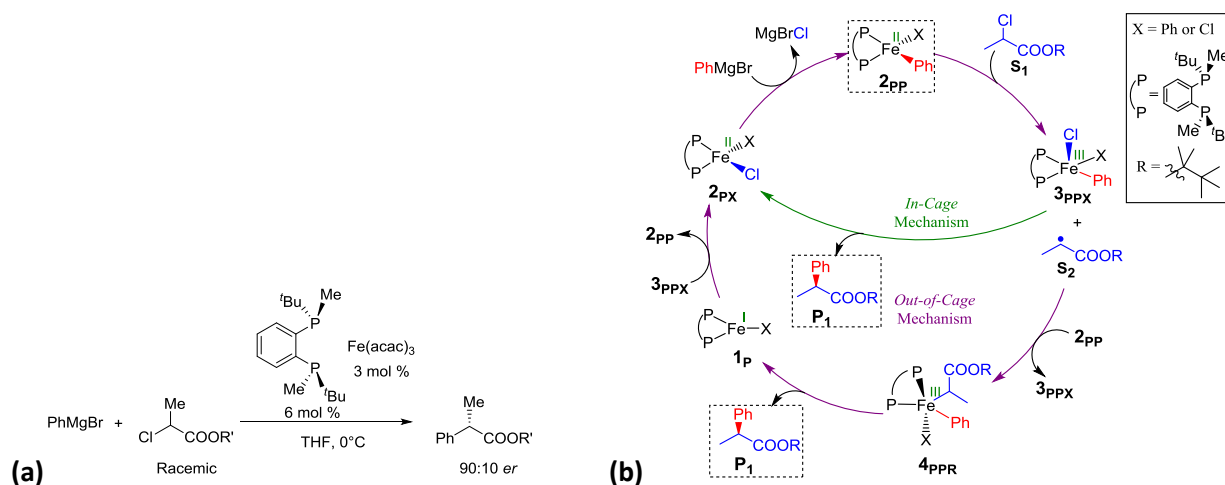
- 1 Y. Nishimoto and D. G. Fedorov, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, Accepted (DOI: 10.1039/C6CP02186G).
- 2 K. Kitaura, E. Ikeo, T. Asada, T. Nakano and M. Uebayasi, *Chem. Phys. Lett.* 1999, **313**, 701-706.
- 3 M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elsner, M. Haugk, T. Frauenheim, S. Suhai and G. Seifert, *Phys. Rev. B*, 1998, **58**, 7260–7268.
- 4 T. Nagata, K. Brorsen, D. G. Fedorov, K. Kitaura and M. S. Gordon, *J. Chem. Phys.*, 2011, **134**, 124115.

Computational Insights on the Mechanism and the Origin of Enantioselectivity in Fe-catalyzed Cross-Coupling Reaction

(FIFC, Kyoto University^[1], Grad. School. of Eng., Kyoto University^[2])

○Akhilesh kumar Sharma^[1], W. M. C. Sameera^[1], Masaharu Nakamura^[2], Keiji Morokuma^[1]

Introduction: The development of methods for generation of chiral compounds is of great significance due to its pharmaceutical importance. Transition metals are used in homogenous catalysis for a variety of transformations, including cross-coupling reactions and formation of asymmetric compounds. The developments of new methods involving non-toxic and readily available metals for coupling reactions are increasing nowadays, Fe is very important in this regard.¹ The mechanistic understanding of Fe-catalyzed reactions is important for further development in this field. Recently, M. Nakamura and coworkers have reported the first Fe-catalyzed enantioselective cross-coupling reaction (Scheme 1a).² They proposed that the reaction proceed through an *out-of-cage* mechanism (Scheme 1b). On the basis of radical probe studies a radical pathway was proposed. The mechanism of the reaction is not established, and there is no clear understanding of the origin of enantioselectivity.



Scheme 1. (a) Fe-catalyzed enantioselective cross-coupling reaction. (b) The proposed *in-cage* and *out-of-cage* mechanisms (nomenclature given in scheme for X = Ph).

Methods: The AFIR method as implemented in GRRM program is used to explore potential energy surface of the reaction. The DFT methods are used for calculation using Gaussian 09 program. The optimization of stationary points and computation of energies are done at PCM_{THF}/B3LYP-D3BJ/SDD(Fe,Br);6-31+G**(O, P, Cl, Mg);6-31G*(C,H) level of theory.

Results and Discussion: We studied the thermodynamics of generation of proposed active Fe(II) species from reagents. We found that the energy of Fe(I) and Fe(II) species differ only by a small amount (2.7 kcal/mol). Among the different possible species, it is found that for Fe(I) (**1_P**), Fe(II) (**2_{PP}**) and Fe(III) (**3_{PPX}**, **4_{PPR}**), the lowest energy spin states are quartet, quintet, and quartet respectively.

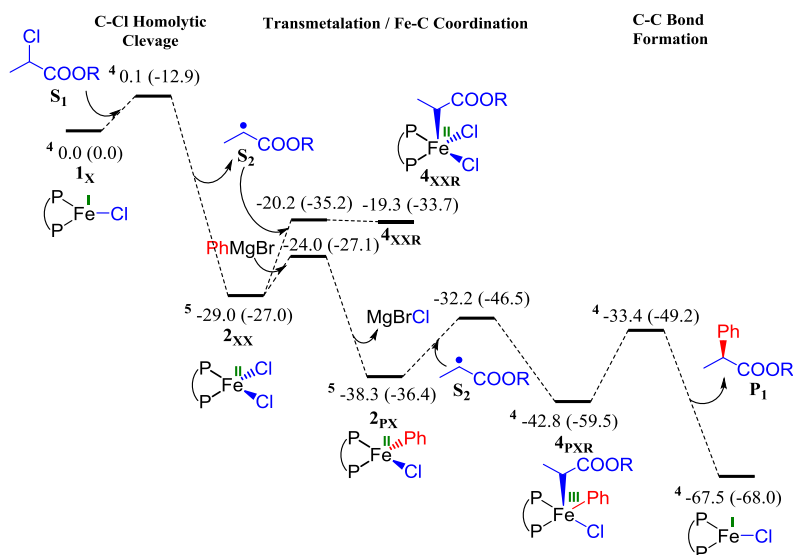
The reaction starting from lowest energy Fe(II) species [Fe(PP*)Ph₂] (**2_{PP}**) is less likely, as the activation barrier for biphenyl formation is less from the corresponding Fe(III) species (**3_{PPX}** and **4_{PPR}**) in comparison to forward reaction through the *in-cage* or *out-of-cage* mechanisms (Scheme 1b). It is in agreement with the experimental finding which requires slow addition of Grignard reagent. The C-C coupling from **3_{PPX}** is found to have higher activation barrier than coupling from **2_{PP}** (Scheme 1b). Hence, the reaction through *in-cage* mechanism is less likely in comparison to *out-of-cage* mechanism. The activation barrier for C-Cl activation through other lower energy Fe(II) species, [Fe(PP*)PhCl] is high (24.0 kcal/mol). Hence, the reaction through Fe(II) species is less probable. As the reaction involves Fe(I), Fe(II) and Fe(III) species, we also considered C-Cl activation from Fe(I) and Fe(III) species. Interestingly, the activation barrier for the C-Cl activation by Fe(I) is very low.

The most probable mechanism, according to our calculation, is given in Scheme 2. The active species for C-Cl activation is Fe(I), not Fe(II) as proposed in the literature. Activation barrier for the transmetalation is low and it converts **2_{XX}** to lower energy intermediate **2_{PX}**. Lower concentration of Grignard reagent diminishes the possibility of further conversion of **2_{PX}** to **2_{PP}** via transmetalation.

The C-C coupling occurs through Fe(II) intermediate (**2_{PX}**) as proposed by M. Nakamura and coworkers. It occurs by the inner sphere mechanism. Both Fe-C bond formation and C-C bond formation step could be enantioselectivity determining. We found that C-C bond formation is enantioselectivity determining.

References

- (1) I. Bauer, H.-J. Knölker *Chem. Rev.* **2015**, 115, 3170.
- (2) M. Jin, L. Adak, M. Nakamura *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 7128.



Scheme 2. The Free energy profile for preferable mechanism based on computational results in Fe-catalyzed coupling reaction.

モリブデンの鉍物への吸着構造に基づく同位体分別の解析

(東京大院・理¹、広島大院・理²、海洋研究開発機構³)○田中 雅人¹、有賀 大輔²、柏原 輝彦³、高橋 嘉夫¹

Isotope fractionation analysis based on adsorption structure for molybdenum on Fe/Mn-(oxyhydr)oxides

(The Univ. of Tokyo¹, Hiroshima Univ.², JAMSTEC³)○ Masato Tanaka¹, Daisuke Ariga², Teruhiko Kashiwabara³, Yoshio Takahashi¹

【はじめに】

6 族元素であるクロム、モリブデンおよびタングステンは酸化還元状態に敏感であり、多くの安定同位体を持つことから古環境を知る上で重要な微量元素である。特にモリブデンは鉍物や酸化還元状態によって様々な同位体分別を示し、過去の大気や海洋の環境を知るための指標として注目されている[1]。モリブデン酸はマンガン酸化物への吸着に伴い、1.89‰程度の大きな同位体分別を生じることが報告されており[2]、この同位体分別は、X線吸収端微細構造(XAFS)法を用いた解析から吸着時の対称性の変化(4面体構造から8面体構造への変化)により生じることが示唆されている[3]。このように吸着構造と同位体分別は密接に関係していることが示唆されているが、十分に理解されてはいない。そこで、本研究では、密度汎関数法(DFT)による量子化学計算とXAFS法で得られた吸着構造を組み合わせ、6族元素であるモリブデンの鉍物への吸着に伴う同位体分別に関する詳細な理解を試みた。

【方法】

モリブデン酸の水溶液および鉄水酸化物やマンガン酸化物への吸着構造[内圏錯体および外圏錯体(4面体・8面体)]モデルを作成し、構造最適化および基準振動解析を行った。得られた振動数を用いて、水溶液-鉍物表面間の同位体分別を求めた。

同位体元素 X を含む二つの化学種 AX、BX 間の同位体交換反応 $AX' + BX \rightleftharpoons AX + BX'$ における平衡定数(K)は以下の様になる。

$$K = \alpha = \frac{[AX][BX']}{[AX'][BX]} = \frac{[AX]/[AX']}{[BX]/[BX']} = \frac{\left(\frac{s}{s'}f\right)_{AX}}{\left(\frac{s}{s'}f\right)_{BX}} \quad (1)$$

ここでプライム(')は軽い同位体を表す。Biegleisen and Mayer [4]の換算分配関数比の式(2)によって各化学種の係数を算出する。

$$\frac{s}{s'}f = \prod_i \frac{u_i \exp(-u_i/2)/(1-\exp(-u_i))}{u_i' \exp(-u_i'/2)/(1-\exp(-u_i'))} \quad (2)$$

ここで $u_i = \frac{h\nu_i}{kT}$ であり、 ν_i は量子化学計算から得られる振動数、 k はボルツマン係数、 h はプランク定数、 T は温度である。

$$\ln[\alpha_{AX-BX}] = \ln\left(\frac{s}{s'}f\right)_{AX} - \ln\left(\frac{s}{s'}f\right)_{BX} \quad (3)$$

$$\Delta_{AX-BX} \approx 1000 \ln[\alpha_{AX-BX}] \quad (4)$$

本研究では、AX および BX は水溶液中および鉱物表面へ吸着したモリブデン酸である。

DFT 計算には Gaussian 09 を用いた。密度汎関数は B3LYP を用いて、基底関数は H および O 原子には 6-311+G(2df,p)、Mo 原子には LANL2DZ を用いた。

モリブデン酸の鉄水酸化鉱物(フェリハイドライト、ゲーサイトおよびヘマタイト)およびマンガン酸化物(δ - MnO_2)への吸着構造は Kashiwabara et al. [2]のモリブデンの XAFS 解析の結果を参照した。それらの吸着構造を基に各鉱物への吸着による同位体分別の見積もりを行った。

【結果と考察】

XAFS 解析から、モリブデン酸(MoO_4^{2-})は水溶液中では 4 面体構造をしており、鉱物への吸着によって 4 面体および 8 面体構造をとり、その割合は鉱物により異なることが報告されている[2]。DFT 計算により、4 面体構造で吸着した場合は、小さな同位体分別 (0.4‰程度) を示すのに対して、8 面体構造で吸着した場合は、大きな同位体分別 (2.0‰程度) が生じることが分かった。XAFS 解析から得られた鉄水酸化鉱物およびマンガン酸化物への吸着構造における 4 面体 : 8 面体構造の割合を用いて見積もられた各鉱物に対する同位体分別の大きさは実験で報告されている値とよい一致を示した。モリブデン酸のマンガン酸化物への吸着に伴う大きな同位体分別は、吸着に伴う 4 面体から 8 面体への構造変化に起因することが示唆された。

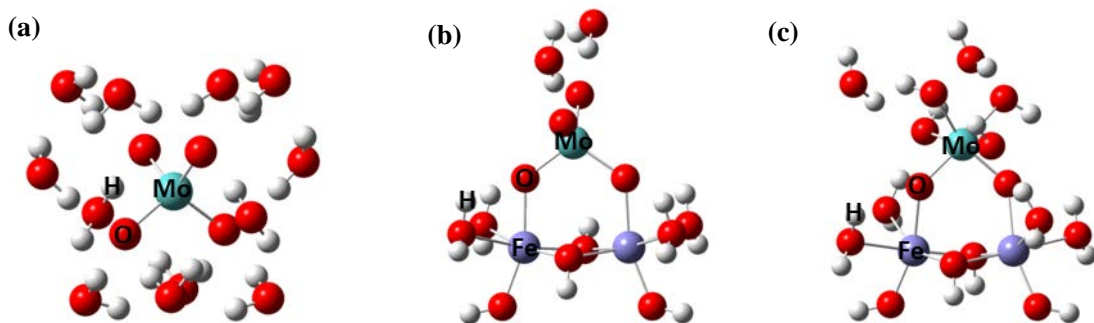


Fig. 1 モリブデン酸の水溶液および鉄水酸化鉱物への吸着モデル。

(a) 水和構造、 (b) 二核-二座配位 (4 面体)、 (c) 二核-二座配位 (8 面体)

【参考文献】

- [1] J. Barling and A.D. Anbar, *Earth Planet. Sci. Lett.*, **217**, 315-329 (2004).
- [2] L. E. Wasylenki, B. A. Rolfe, C. L. Weeks, T. G. Spiro and A. D. Anbar, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **72**, 5997-6005 (2008).
- [3] T. Kashiwabara, Y. Takahashi, M. Tanimizu and A. Usui, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **75**, 5762-5784 (2011).
- [4] J. Bigeleisen and M. G. Mayer, *J. Chem. Phys.* **15**, 261-267 (1947).

3G17

フラグメント分子軌道法による病原性蛋白質と 宿主因子との相互作用解析

(¹ 阪大院薬, ² 阪大微研, ³ 阪大院情報) ○川下理日人^{1,2}、田雨時³、高木達也^{1,2}

Interaction analysis between pathogenic protein and its host factor by Fragment Molecular Orbital method

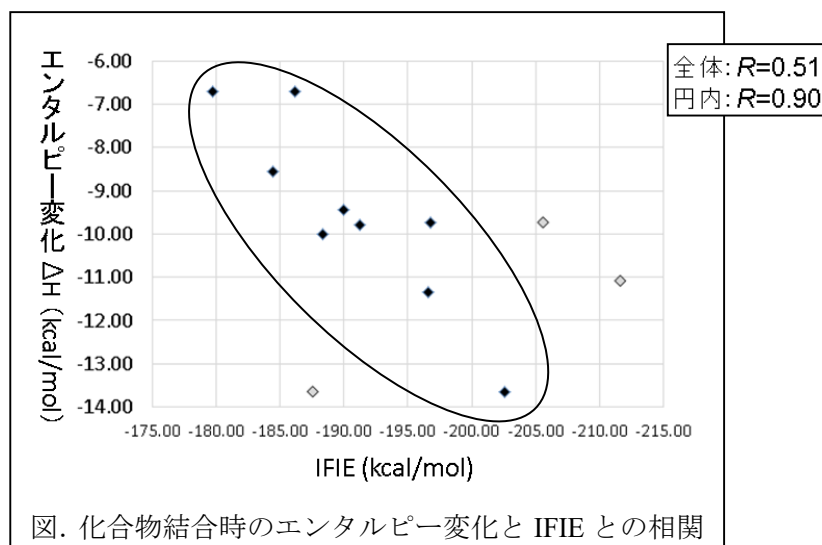
(¹ Pharm. Sci., Osaka Univ., ²RIMD, Osaka Univ., ³ Inform. Sci., Osaka Univ.)
○Norihiro Kawashita^{1,2}, Yu-Shi Tian³, Tatsuya Takagi^{1,2}

【序】フラグメント分子軌道 (Fragment Molecular Orbital: FMO) 法は分子をアミノ酸残基単位のフラグメントに分割することで、その計算速度を向上させると共に、蛋白質-リガンド間の IFIE (Inter-Fragment Interaction Energy) も計算可能となるため、その創薬研究における有用性が期待されている。¹⁾ しかし、現実的な創薬研究へ利用するためには、活性値をはじめとした創薬研究に重要な実験結果との間にどの程度の相関が得られるかを精査し、その情報を考慮して構造展開などを行う必要がある。

そこで今回の検討では、その一環としてクローン病に関与する接着侵入性大腸菌 (AIEC)²⁾ や尿路病原性大腸菌 (UPEC) の細胞接着因子³⁾ である細胞間接着因子である FimH とマンノース誘導体との共結晶構造 (12 種類) を用いて FMO 計算を行い、蛋白質-リガンド間の IFIE (Inter-Fragment Interaction Energy) とそのエンタルピー変化にどの程度の相関があるかを考察した。FimH は宿主細胞中のマンノースと相互作用することにより細胞接着を進行させるため、マンノース誘導体がこれらによる感染のよい阻害剤となる。^{4,5)} そこで、これら誘導体において良い相関が得られれば、さらに強力な阻害剤の設計につながる情報が得られるものと期待される。

【方法】Wallens らの文献⁴⁾ 中で報告されている FimH とマンノース誘導体との共結晶構造 (12 個) を Protein Data Bank (PDB) から入手し、MOE (CCG 社) を用いて水素付加、電荷付加、一部構造修正を行った。複合体中で一部切断されているジスルフィド結合については全て再形成して計算を行った。さらに本複合体では、蛋白質とリガンドを介して水 1 分子が存在したため、これを含めることとした。以上のように構築した複合体構造を用いて FMO 計算を行った。計算ソフトとして ABINIT-MP6.0+、計算理論および基底関数として MP2/6-31g*、計算資源として理化学研究所計算科学機構の京 (36 ノード) を利用した。計算値との相関を取るための実験値として、Wallens らによるエンタルピー、エントロピー、自由エネルギーの測定結果⁴⁾ を利用した。

【結果・考察】複合体 12 個におけるエンタルピー変化 ΔH と FMO 計算における IFIE 全体としての相関は $R=0.51$ とそれほど高い値ではなかった (図)。しかしながら、図中の円内にある 9 複合体のみで再度相関を計算すると、 $R=0.90$ まで上昇した。



この原因は構造の若干な差による影響と考えたため、計算に用いた構造を RMSD によりクラスタリングしたところ、円外の構造については他と比較して構造のずれが大きく、これにより IFIE の計算に影響することが示唆された。それゆえ、より良い相関を得るためには可能な限り近縁の構造を用いて計算することが重要である。

さらに、本結果とエントロピー—エンタルピー補償則⁶⁾を用いてエンタルピー、エントロピーの予測式を作成し、ここから阻害活性との関連性が深い自由エネルギーの予測を行ったところ、予測値と実測値との誤差を表す RMSE (Root Mean Square Error) が 0.44 という結果を示した。本検討ではモデル構築に利用した複合体が少ないため、今後さらなる検討の余地があるものの、FMO 計算で得られた IFIE による自由エネルギー予測への第一歩に繋がるものと考えている。

<謝辞>

本研究は、「京」産業利用枠「HPCI を活用した FMO 創薬プラットフォームの構築 (課題番号 hp150160)」による『京』を利用した結果であるとともに、FMOdd (FMO drug design consortium) の活動の一環によるものである。

<参考文献>

- 1) Kitaura, *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **312**, 319–324 (1999).
- 2) Smith E. J. *et al.*, *Future Microbiol.*, **10**, 1289–1300, (2013).
- 3) Connell I., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**, 9827–9832, (1996).
- 4) Wallens A., *et al.*, *Biochemistry*, **51**, 4790–4799, (2012).
- 5) Brument S. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **56**, 5395–5406, (2013).
- 6) Leffer J. E., *J. Org. Chem.*, **20**, 1202–1231, (1955).

3G18

FMO 法と PLS 回帰による相互作用解析に基づいた CDK2 阻害剤の 3 次元定量的構造活性相関 (北里大学・薬) ○吉田智喜、広野修一

3D-QSAR of CDK2 inhibitors based on the interaction analyses using PLS regression and FMO calculation (Kitasato Univ. School of Pharmacy) ○Tomoki Yoshida, Shuichi Hirono

【序】 3次元定量的構造活性相関(3D-QSAR)は、リガンドの3次元構造を反映するパラメータと活性間の関係であり、これを統計学的手法によって見出すことでリガンドの活性予測に応用する。フラグメント分子軌道法(FMO)法[1]は、大きな分子系全体を小さなフラグメント単位に分割して量子化学計算を実行し組み合わせることで、大きな分子系全体の量子化学計算を近似的に実行可能とする計算手法である。創薬における FMO 法の大きな魅力は、フラグメント間のペア相互作用エネルギー(PIE) (IFIE とも呼ばれる)の解析[2]によって、薬とタンパク質間の相互作用をフラグメント単位で量子化学的に解析できることであるが、FMO 法で計算された PIE を 3D-QSAR に直接用いた解析手法の報告例はほとんど無い。

本研究では、FMO 法による複合体全体の量子化学計算から得られるリガンド-アミノ酸残基間 PIE を説明変数として用いた PLS 回帰[3]による 3D-QSAR 解析を報告する。PLS 回帰では、元の説明変数から新しい一次独立な変数を重要なものから予測能が最適となる数(目的変数との共分散が最大かつ互いに独立になるという条件の元で)作成し、これらを用いて目的変数の回帰を行う。そのため、説明変数間の相関が高い場合や、目的変数の数よりも説明変数の個数が多い場合に有効な線形回帰分析手法である。阻害定数 K_i が既知の CDK2 タンパク質阻害剤を研究対象とし、本解析手法によって、実験的あるいは経験的パラメータを全く用いずに、物理の基本法則である量子力学に基づいて生物学的活性を定量的に予測可能なモデルを作成できるだけでなく、得られた回帰モデルの解析によって、どのアミノ酸残基との相互作用が CDK2 阻害剤の生物学的活性の改善に重要であるかを見出すことができることを示す。

【方法】 <複合体構造の準備と FMO 法による PIE の計算>

CDK2 タンパク質に対する阻害活性 K_i 値が既知である 16 通りの阻害剤をリガンドとして含む CDK2 タンパク質複合体 X 線構造を計算対象とした(図1)。複合体構造に対して水素原子の付加、欠損残基の補填などの構造の不備を補った後、複合体全体の構造最適化 [OPLS_2005 力場、AGBNP 溶媒モデル使用、使用プログラムは Impact, (Schrödinger, LLC)]を行った。次に、リガンドのみを QM 領域として取り扱った QM/MM 法 [QM: HF/LACVP*, MM: OPLS_2005 力場、使用プログラムは Qsite, (Schrödinger, LLC)]によって、リガンドのみを対象とした構造最適化を行った。得られた複合体構造それぞれに対して、FMO 法による一点計算(計算レベルは FMO2-MP2/PCM[1(2)]/6-31G(d)、1 残基 1 フラグメント、1 リガンド 1 フラグメントに分割)を実行し、リガンドと CDK2 を構成する 296 アミノ酸残基間の PIE を得た [使用プログラムは GAMESS]。

<PIE を説明変数、 pK_i を目的変数とした PLS 回帰> 得られたリガンド-アミノ酸残基間

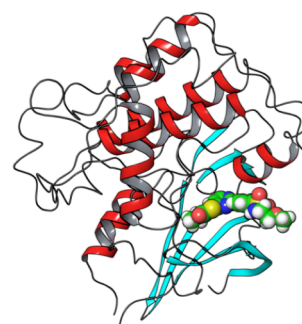


図1 計算対象とした16通りの複合体X線構造の一つ(PDB ID: 2XMY)。

PIE を説明変数 (296 変数) として用い (変数の中心化のみ実行)、目的変数である 16 通りの阻害剤に対する実験的 pK_i ($pK_i = -\log_{10}K_i$) を予測するための PLS 回帰モデルを作成した。PLS 回帰モデルの回帰係数から、阻害活性の改善に重要なリガンド-アミノ酸残基間相互作用を明らかにした。

【結果】 図 2 は FMO 法による一点計算の結果得られたリガンド-アミノ酸残基間 PIE のヒートマップである。ほぼ全てのリガンドは、Phe82~His84 との相互作用による安定化を共通して利用しているこ

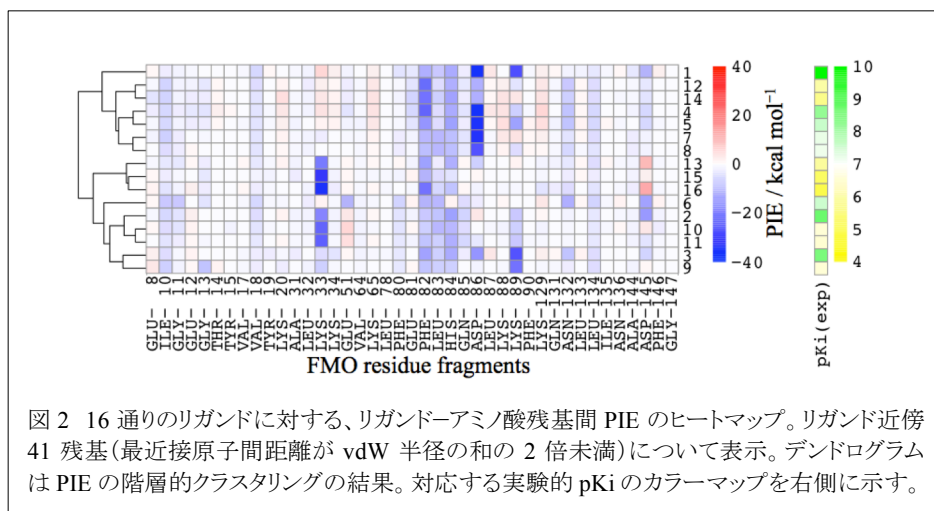


図 2 16 通りのリガンドに対する、リガンド-アミノ酸残基間 PIE のヒートマップ。リガンド近傍 41 残基 (最近接原子間距離が vdW 半径の和の 2 倍未満) について表示。デンドログラムは PIE の階層的クラスタリングの結果。対応する実験的 pK_i のカラーマップを右側に示す。

とがわかる。いくつかのリガンドは、Lys33、Asp86、Lys89、Asp145 との相互作用による安定化を利用していることがわかるが、その安定化の有無と pK_i の大小を単純に結びつける特徴を抽出することは容易ではない。

図 3 に PLS 回帰による予測 pK_i と実験的 pK_i の相関を示す。化合物 {3, 4, 8, 10, 12, 16} を PLS 回帰モデルの予測性能を測るためのテストセットとし、残りの 10 化合物を PLS 回帰モデル作成のためのトレーニングセットとした。テストセットに対する予測性能が最大となる PLS 成分数 2 を用いて PLS 回帰モデルを作成した結果、まずまずの予測性能が得られた ($R^2 = 0.87$)。

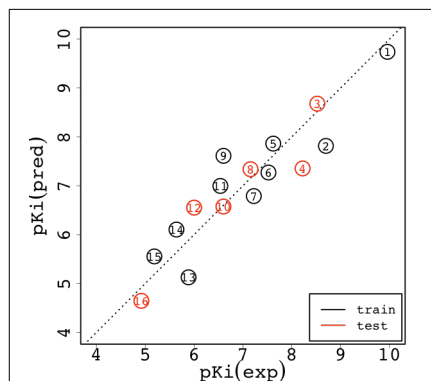


図 3 PLS 回帰による予測 pK_i (pred) と実験的 pK_i (exp) の相関。

図 4 に、作成した PLS 回帰モデルの PLS 回帰係数を示す。CDK2 阻害剤の生物学的活性の改善に重要な阻害剤-アミノ酸残基間相互作用として Lys33、Phe82、Lys89、Asp145 が見出された。Lys89、Asp145 との引力的相互作用は pK_i を増加させるが、Lys33、Phe82 との引力的相互作用は pK_i を減少させると読み取ることができる。共通して同程度の安定性をもつアミノ酸残基 (Leu83、His84) との相互作用は、PLS 回帰係数には現れず、活性の違いには大

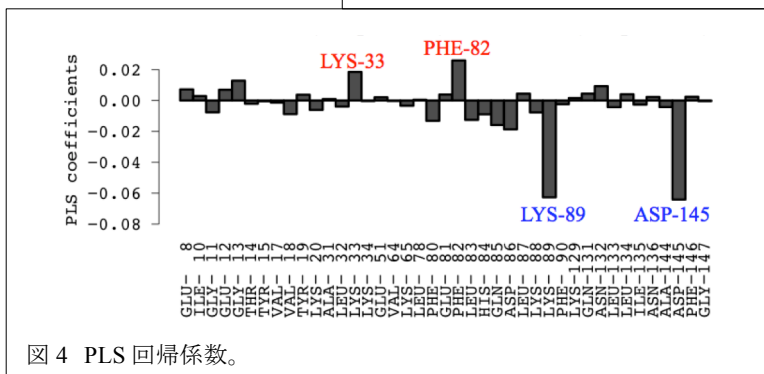


図 4 PLS 回帰係数。

きく寄与しないことがわかる。これら重要な残基との相互作用を最適化することによって、より強力な阻害剤を設計することができると期待される。

【参考文献】

- [1] K. Kitaura, T. Sawai, T. Asada, T. Nakano and M. Uebayashi, *Chem. Phys. Lett.*, **1999**, 312, 319-324.
- [2] D. G. Fedorov and K. Kitaura, *J. Phys. Chem. A*, **2007**, 111, 6904-6914.
- [3] S. Wold, M. Sjöström and L. Eriksson, *Chemom. Intell. Lab. Sys.*, **2001**, 58, 109-130.

Solvent Dipole Ordering の創薬への応用研究

(近畿大学) ○中村真也、木村翔拓、北吉駿、仲西功

Practical research of Solvent Dipole Ordering for Drug Discovery

(Kindai Univ.) ○Shinya Nakamura, Shotaku Kimura, Hayao Kitayoshi, Isao Nakanishi

【序】

生体分子をとりまく溶媒である水分子は、バルク状態では自由に配向しているため、時間平均をとるとその双極子は一定の方向性を持たない。しかし生体分子周辺、特にタンパク質のリガンド結合サイトにおいては、水素結合などの影響により配向が固定され、一定の方向性を持つ現象が知られており、Solvent Dipole Ordering(SDO)と呼ばれている^[1]。この SDO が強い領域は、リガンドの形状をよく再現することが見いだされ^[2]、SDO の形状を擬似分子に置き換えることで、その体積との類似度から化合物スクリーニングを行う SDOVS 法^[3]がすでに開発されている。現状の SDOVS 法では、SDO の強さが一定以上の領域のみが使用されその向きや強弱の情報自体に関しては利用がなされておらず、擬似分子に関しても sp^3 炭素のみで構築されている。本発表では、SDOVS を Protein Kinase CK2(以下 CK2)の阻害剤探索に適用した例^[4]をもとに、タンパク質の構造が与える影響や擬似分子の作成法について検討した結果とさらなる改良点について議論を行う。

【実験】

CK2 とリガンドとの複合体構造を立体構造データベース PDB からダウンロードした。リガンドの違いによる影響を検討するため、ATP アナログ複合体(PDBID: 1JWH)および構造的に小さいニコチン酸との複合体(PDBID: 3WAR)を用いた。各複合体について MOE を用いて Protonate3D により荷電状態を決定後、リガンドを除きアポタンパク質構造を作成した。AMBER を用いて tLEaP により周囲 10\AA に水分子を配置した周期境界条件を設定した。

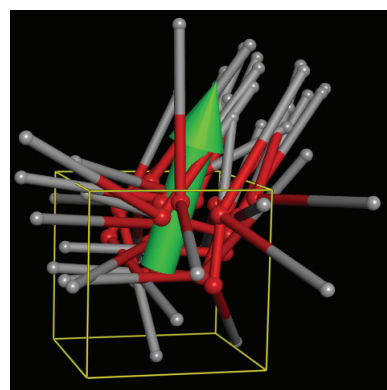


図1. SDO の算出模式図

次に PMEMD により水素原子の位置、水分子の位置の構造最適化を行ったのち、タンパク質構造を固定して水分子のみの分子動力学計算を行った。昇温 100ps 、平衡化 500ps の計算の後、 2ns のサンプリング計算から 400 構造をスナップショット構造として抽出した。この水分子の挙動に対し、in-house のツールによりリガンド結合部位で SDO 解析を行った。なお SDO 解析は、図1の例のように、各辺 1\AA のグリッドに分割した領域に入った全スナップショットの水分子から得た双極子の強度を算出し、水分子1個の双極子の強度に対する相対値をその領域の SDO 値と定義した。

SDO 解析の結果に対して、SDO 値が 0.7 以上となる領域を充てんするような擬似分子を2種の条件で各 100 分子発生させた。一方の条件は従来法として sp^3 炭素のみのもの、もう一方は新規法として、 sp^3 炭素、 sp^2 炭素、 sp 炭素、ベンゼン環を任意の割合で発生するものを検討した。本研究における発生割合は既存 CK2 阻害剤から概算したもので設定した。得られた擬似分子群を用いて、既知 CK2 化合物 32 個(既知阻害剤および SDOVS ヒット化合物)との体積の類似度(Shape Tanimoto: ST)を算出し、ヒット化合物を抽出できるか検討した。

表 1. 各 ST の基準値における既知 CK2 阻害化合物 32 個の検出数

条件	構造	擬似分子	ST>0.6	ST>0.7	ST>0.8
(a)	1JWH	従来法	32	31	12
(b)	3WAR	従来法	32	24	11
(c)	1JWH	新規法	32	32	20

【結果と考察】

CK2 阻害剤の SDOVS 実施時^[4]の条件を再現した条件(a)、タンパク質構造を変更した条件(b)、擬似分子作成法を変更した条件(c)で一定の類似度の基準値を設定し、既知阻害剤を抽出できるか確認したものを表 1 に示す。また、擬似分子による検出例を図 2 に示す。SDOVS 実施時の条件は体積類似度 ST>0.7 を条件に抽出したものであるため再現できたかを確認したところ、32 個中 1 個のみが条件を満たさなかったが、この化合物との類似度が 0.699 であったことから本質的な差ではないと判断した。

構造に 3WAR を用いて解析した(b)では、同基準値 ST>0.7 での検出率が低下していた。これは 3WAR のリガンドが小さく induced-fit により結合サイトの空間が小さくなっていることに起因すると考えられるが、ST>0.6 では全例が検出できていることから、結合サイトの flexibility に応じて基準値を設定する必要があると判断される。

一方擬似分子作成を変更した(c)では、基準値を ST>0.8 と厳しくしても半数以上が検出できた。これはベンゼン環等の平面性の高い構造が発生できるようになったことで、実際の化合物の形状により近い擬似分子が得られたと考えられ、基準値をより厳しくして効率的に探索が行えることが期待できる。特に本研究で用いたキナーゼの ATP 結合サイトなどの平面性の高いポケットでは効果が高いと考えられる。

先に述べたように、これら擬似分子は SDO 値の高い領域の形状を再現するものであり、SDO の向きや強弱は情報として活用できていない。現在は擬似分子の部分構造を、SDO を再現するようなものに置換あるいは発生するなど、使用する化合物データベースに依存しない DeNovo デザイン的構築法について検討中である。

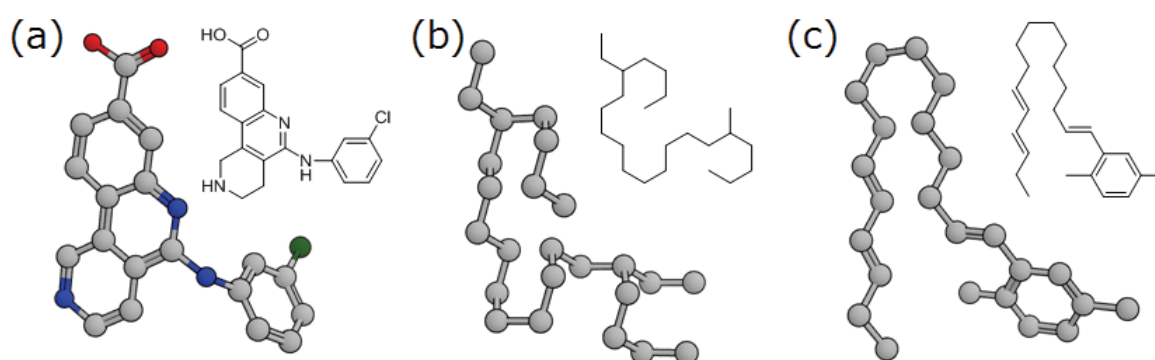


図 2. 擬似分子による検出例 (a) 既存阻害薬 CX-4945、(b)従来法[ST:0.76]、(c)新規法[ST:0.81]

【参考文献】

- [1] Nakasako, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **23**, 1323-1336 (2002).
- [2] Kitaura, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **31**, 791-796 (2010).
- [3] Kitaura, *et. al.*, *J. Comput. Chem.*, **31**, 2714-2722 (2010).
- [4] Nakanishi, *et. al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **96**, 396-404 (2016).

3G20

分子シミュレーションによるタンパク質密度の違いによる凝集

初期過程の変化

(名古屋大学大学院理学研究科) ○榮 慶丈, 岡本 祐幸

Concentration dependency of protein aggregation process by molecular simulation

(Department of Physics, Nagoya University)

○Yoshitake Sakae, Yuko Okamoto

研究の背景

タンパク質の凝集についてその過程や形成機構を解明することは、近年大きな研究対象の1つとなっている。これはタンパク質の凝集の1つとして、その現象が引き起こすとされているいくつかの難病に関連しているためである。これらはアルツハイマー病、透析アミロイドーシス、アミロイドニューロパチー、II型糖尿病などであり、総称としてアミロイドーシス（アミロイド病）と呼ばれる。これらはそれぞれの原因としてタンパク質や、その一部のペプチド同士が集まり、凝集、繊維化することでその病気を発現すると考えられている。例えばアミロイドタンパク質であるアミロイド β はアルツハイマー病の原因物質として知られ、脳に形成される老人斑の主成分であり、40~43個のアミノ酸から成る。アミロイドーシス発症メカニズムの全貌は不明だが、アルツハイマー病では、アミロイド β がアミロイド前駆体タンパク質から生理的代謝によって切り出され、重合し、アミロイド線維となって神経細胞を傷害することが要因であると考えられている。すなわちこのアミロイドの凝集、繊維形成機構を解明することは、アミロイドーシスの対処法や薬剤設計などの医療分野への指針となるであろう。

方法

我々は繊維構造を形成することがすでに知られている2種類のペプチドについて分子シミュレーションをおこなうことで、凝集過程の解析を試みた。1つはKFFEの4残基のアミノ酸配列から成るペプチド、もう1つはアミロイド β の一部（16残基から22残基）であるA β (16-22)である。KFFEについては、陰溶媒モデルによるレプリカ交換分子動力学法によるサンプリングに重きを置いたシミュレーション、A β (16-22)については、水分子を陽に取り入れ、かつ最大100ペプチドを配置した定

温の分子動力学法によるポテンシャルエネルギーの精度を高めたシミュレーションをおこなった。

結果と考察

特に本課題では、凝集過程についてペプチドの密度環境の違いによる比較をおこなった。密度環境の違い、すなわち高密度～低密度でのペプチドのふるまいについて、その分布の違いを調べたところ、高密度環境であるほど、ペプチドの密度揺らぎが大きくなること、及び二次構造（ β シート）形成の頻度が増加することがわかった。これらの結果からペプチドの凝集及び繊維構造形成の前段階と言える核生成が高密度になるほどその頻度が増加することが推察される。この傾向は、実験で示唆されている高密度環境になるほど繊維構造形成が促進される結果を支持するものである[1,2]。

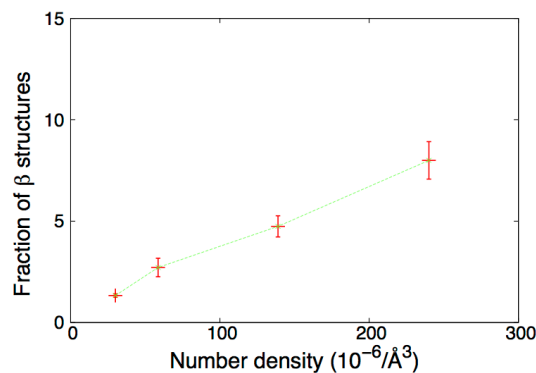


図 1 : KFFE ペプチドの数密度の違いによる β 構造形成率

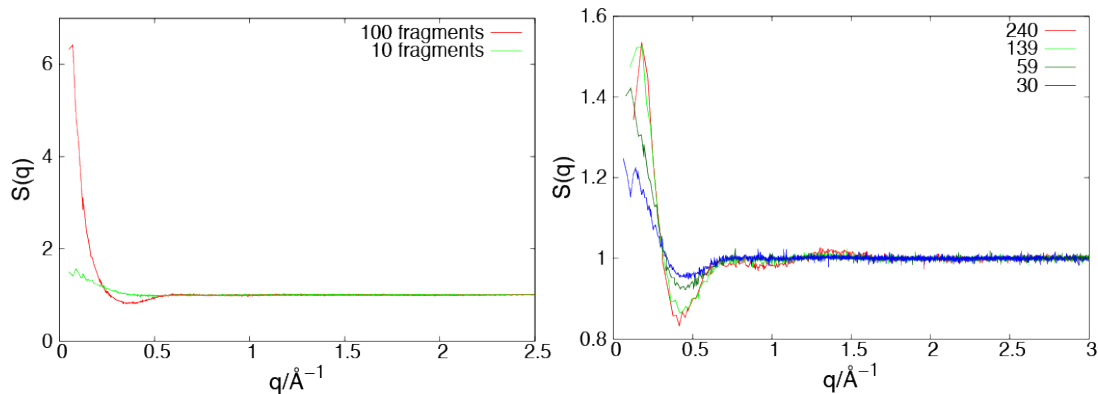


図 2 : 各ペプチドのシミュレーションから得られた構造因子。左は $A\beta$ (16-22)、右は KFFE ペプチド。赤色になるほど高密度を示す。

参考文献

- [1] T. Knowles, M. Vendruscolo, C. Dobson Nat Rev Mol Cell Bio 15, 384–396(2014).
- [2] Y. Yoshimura, Y. Lin, H. Yagi, Y.-H. Lee, H. Kitayama, K. Sakurai, M. So, H. Naiki, and Y. Goto, PNAS, 109, 14446-14451 (2012).