

3G10

QM/MM RWFE-SCF 法によるタンパク質荷電残基のpKa 値の決定

(京都大学大学院理学研究科) ○長谷川太祐、林重彦

pKa prediction of ionizable residues in proteins

by QM/MM RWFE-SCF method

(Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ.) ○Taisuke Hasegawa, Shigehiko Hayashi

【序】

タンパク質の立体構造や安定性、そしてその機能はタンパク質内部の静電ポテンシャル環境に非常に敏感である。タンパク質内部の静電ポテンシャル環境を決定しうる荷電性アミノ酸残基のプロトン化状態を予測することは、タンパク質の機能発現機構を原子レベルで理解するために重要である。しかしタンパク質に多数存在する荷電性残基のプロトン化状態を実験結果から直接予測することは難しい。理論計算と実験で得られた構造情報からプロトン化状態を予測する、経験的あるいは非経験的な手法は数多く提案されている。これらの手法で予測される pKa 値は、参照するタンパク質の初期構造データに強く依存することが知られており、同じ理論手法でも参照するタンパク質の初期構造によって大きく異なる pKa 値を予測することがある。

タンパク質の動的な構造変化と機能発現のメカニズムをより正確に解明するためには、プロトン化状態の変化に起因するタンパク質の遅い構造緩和を考慮し、荷電残基の pKa 値をタンパク質の初期構造に依存しないように注意深く計算する手法が必要である。我々はタンパク質の長時間構造緩和を再現でき、QM 領域の自由エネルギー最小構造を決定することのできる QM/MM 自由エネルギー最適化法(QM/MM RWFE-SCF 法)を用いていくつかのタンパク質の荷電性残基のプロトン化、脱プロトン化状態を一意的に決定した。計算で得られた 2 状態を摂動パラメータで結び、自由エネルギー摂動法を用いることで荷電性残基の pKa 値を精度良く予測することに成功した。

【方法】

pKa 値予測計算では数 kcal/mol 程度の自由エネルギー精度が必要となる。我々はこれまで QM/MM RWFE-SCF 法で用いられていた RESP 電荷演算子による QM/MM 相互作用を 4 重極までの RESP 多極子演算子へと拡張した。これにより静電相互作用エネルギーをより精度良く予測でき、同時に QM 領域周りの水和構造の記述も RESP 電荷の場合と比較して向上する(図 1)。これまで MD 計算の際に空間に固定していた QM 領域をプロトン化状態の変化に追従した配向変化が可能となるように剛体動力学で記述して取り扱った。QM/MM 計算において QM 領域は密度汎関数法 (M06-2X/6-31++G**) で取り扱い、MD 計算には ff03

Amber 力場を用いた。

【結果と考察】

まず本手法の pKa 値計算精度評価のため、pKa 計算の精度評価によく用いられる Hen Egg White Lysozyme (HEWL) の E35 の pKa 値を予測した。QM/MM RWFE-SCF 法により脱プロトン化、プロトン化状態の 2 状態を一意的に決定し、2 状態間を結んだ自由エネルギー摂動法から pKa \approx 7 を予測した (図 2)。実験値は約 pKa \approx 6.5 であり、実験を良く再現する。

E35 はプロトン化状態において側鎖がタンパク質内部に向き疎水性領域にある。一方、脱プロトン化状態では側鎖の配向が変化して水へと暴露することが示唆された。この 2 状態構造を結ぶ自由エネルギー摂動法の収束には最低でも数マイクロ秒程度の時間が必要であることより、正確な pKa 値の予測には数マイクロ秒長の MD 計算でタンパク質構造の十分な構造緩和を取り入れることが重要であることがわかった。

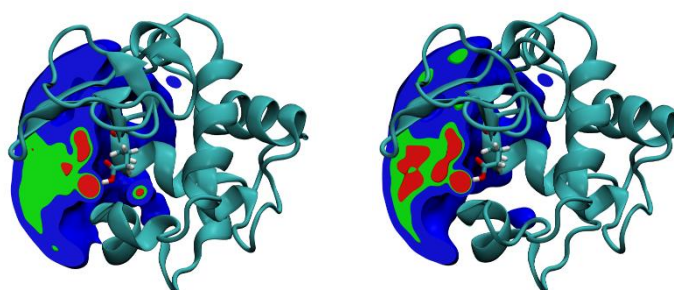


図 1 : HEWL QM 領域 E35 周りの水分子の分布。(左) 点電荷モデル。(右) 多重極子モデル

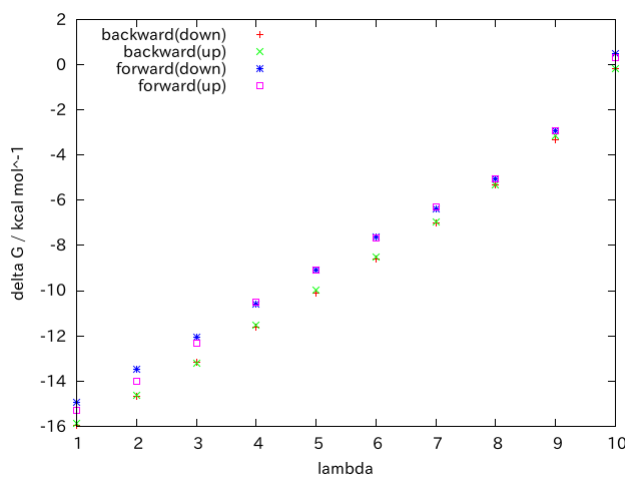


図 2 : HEWL QM 領域 E35 自由エネルギー摂動法による摂動パラメータ λ に沿った脱プロトン化自由エネルギー

【参考文献】

- (1) T. Kosugi and S. Hayashi, *J. Chem. Theory Comput.*, **8**, 322 (2012)