

GENESISへのQM/MM法の実装と酵素反応の反応経路探索

理研・¹杉田理論分子科学, ²AICS, ³iTHES, ⁴QBiC

○八木清¹, 杉田有治^{1,2,3,4}

Implementation of a QM/MM method in GENESIS and a reaction path search of enzymatic reactions

○Kiyoshi Yagi¹, Yuji Sugita^{1,2,3,4}

¹Theoretical Molecular Science Lab., ²AICS, ³iTHES, ⁴QBiC, RIKEN, Japan

【Abstract】 QM/MM method is implemented into GENESIS/atdyn, which is a molecular dynamics (MD) simulation program developed by our group. The current version supports CHARMM force field for the MM, and Gaussian, Molpro, and Q-Chem for the QM program. Link atom approach is used to set a QM and MM boundary at a covalent bond. Efficient minimization algorithms, a reaction path search based on the string method, and the free-energy perturbation method are also implemented for studying enzymatic reactions. In these schemes, an approximate QM/MM treatment based on atomic charges derived from the electrostatic potential is used whenever feasible (i.e., when the QM atoms are held fixed). The method is applied to chorismate mutase, which catalyzes a Claisen rearrangement reaction from chorismate to prephenate. The present method has successfully yielded the minimum energy path and the free-energy barrier as 13.3 kcal mol⁻¹ at the B3LYP-D3/6-31G* level, which agrees with experiment (15.4 kcal mol⁻¹).

【序】 酵素反応は、常温・常圧のマイルドな条件にも関わらず、目的の反応を高い選択性と収率で実現させており、その分子機構を理解することは極めて重要である。本研究では、反応系を量子化学計算 (QM) で、タンパク質環境を分子力場 (MM) で扱うハイブリッド QM/MM 法を当グループで開発しているプログラム GENESIS[1]に実装した。さらに、QM/MM 法に基づき、反応経路を探索する方法を開発し、酵素反応へ応用する。

【方法】 以下に示す一連の方法を GENESIS/atdyn へ実装した。

- a) Electrostatic embedding による QM/MM 法. MM として CHARMM 力場に対応した. QM とのインターフェースは、インプットの作成, QM 実行スクリプトのシステムコール, アウトプットから必要な情報を取り出す, という手順で行われる. QM プログラムは、現状で Gaussian, Q-Chem, Molpro に対応しているが、拡張性の高い仕様になっている. また、QM と MM 領域が化学結合をまたぐリンクアトムを実装した.
- b) 効率的な構造最適化. L-BFGS-B アルゴリズム[2]を用いた構造最適化を実装した. 座標系はカーテシアン座標を用いた. 全原子を QM/MM 計算で最適化する方法に加え、QM 領域と MM 領域の最適化ループを分割する micro-iteration 法[3]を実装した. micro-iteration 法では、QM 領域の最適化には正確な QM/MM 計算を用いるが、MM 領域は、QM 原子座標での静電ポテンシャルへフィットした ESP 電荷を用いて、QM/MM 間のクーロン相互作用を近似的に計算することで、効率よく最適化できる.
- c) 最小エネルギー経路. String 法[4]に基づき、反応物と生成物をつなぐ最小エネルギー経路を求めるプログラムを実装した. この方法では以下の手順で経路を求める：
 1. 経路を定義する原子を選ぶ. 以下、これを MEP 原子と呼ぶ.
(* QM 領域は MEP 原子に含まれる.)
 2. 反応物と生成物をつなぐ初期経路を作成し、複数のイメージで分割表現する.

3. 各イメージにおいて、MEP 原子を固定し、環境の原子を最適化した後、MEP 原子を力のかかる方向へ動かす。
4. 各イメージが等間隔になるように並べ直す。
5. 経路長とエネルギー変化が閾値を満たすまで、3へ戻る。

String 法は、経路の接線方向を指定する必要がないため、数値的に安定であり、また実装が簡単である。ステップ 3 の環境原子の最適化は、QM 原子を ESP 電荷で表すことで、効率的に計算できる。

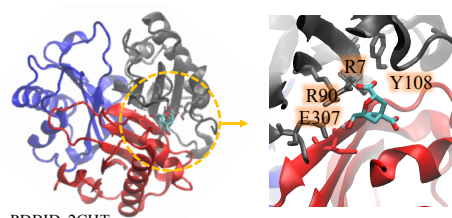
d) 自由エネルギー計算. 得られた経路に沿った自由エネルギーを free-energy perturbation (FEP) 法[5]により求める。FEP 法では自由エネルギー差は以下の式で表される

$$\Delta F(\mathbf{R}_{\text{QM}}^{(N)}) = \sum_{n=1}^N \Delta E_{\text{QM}}^{(n)} - \frac{1}{\beta} \sum_{n=1}^N \ln \left\langle \exp(-\beta \Delta E_{\text{QM/MM}}^{(n)}) \right\rangle_{\text{MM}} \quad (1)$$

ここで $E_{\text{QM}}^{(n)}$ と $E_{\text{QM/MM}}^{(n)}$ はイメージ n における QM 内部エネルギーと QM, MM 間のクーロンと van der Waals 相互作用で、 $\Delta E_{\text{QM}}^{(n)} = E_{\text{QM}}^{(n)} - E_{\text{QM}}^{(n-1)}$ と $\Delta E_{\text{QM/MM}}^{(n)} = E_{\text{QM/MM}}^{(n)} - E_{\text{QM/MM}}^{(n-1)}$ である。式(1)の右辺第 2 項の $\langle \dots \rangle_{\text{MM}}$ は MM 構造に対するアンサンブル平均である。この計算も QM 原子を ESP 電荷で表すことで、効率よく MD 計算とサンプリングを実行できる。

【結果・考察】 開発した方法を Chorismate Mutase (CM) へ応用した (Fig. 1)。CM は chorismate から prephenate へのクライゼン転位反応を触媒する酵素である。リガンド分子 (chorismate/prephenate) を QM 領域とし、QM には B3LYP-D3/6-31G* を、MM には CHARMM22 を用いた。反応物と生成物を求めた後、それらをカーテシアン座標で線形に繋いだ経路を初期経路とし、16 点のイメージに分割し、最小エネルギー経路を求めた。結果を Fig. 2 に示す。初期経路は極めて大きなエネルギー障壁を持つが、100 回目の iteration には概形が得られる。426 回目で全イメージの変化が $0.01 \text{ kcal mol}^{-1}$ 以内へ収束した。CO と CC 距離の 2 次元プロット [Fig. 2 (c)] から最小エネルギー経路が得られていることが分かった。

得られた経路に沿って、FEP 法により自由エネルギー計算を実施した。平衡化 MD を 5 ps の後、300 K の NVT 計算を 20 ps 実施した。サンプリングを、200 fs 置きに、100 点取ることで、エネルギーが $0.1 \text{ kcal mol}^{-1}$ 以内で収束した。自由エネルギー障壁は $13.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ と得られ、実験 ($15.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) と良い一致を示した。



PDBID: 2CHT

Fig. 1. The crystal structure of chorismate mutase (CM)

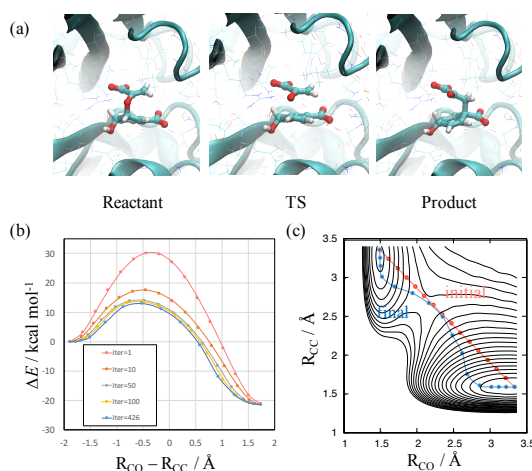


Fig. 2. (a) The structure of reactant (chorismate), transition state, and product (prephenate). (b) The variation of the potential energy profile with respect to the iteration of the string method. (c) The projection of initial and final reaction path on a section of R_{CO} and R_{CC} .

【参考文献】

- [1] J. Jung et al., WIREs Comput. Mol. Sci. **5**, 310 (2015); <http://www.aics.riken.jp/labs/cbrt/>.
- [2] R. H. Byrd et al., SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing **16**, 1190 (1995). <http://users.iems.northwestern.edu/~nocedal/lbfgsb.html>.
- [3] J. Kästner, S. Thiel, H. M. Senn, P. Sherwood, and W. Thiel, J. Chem. Theory Comput. **3**, 1064 (2007).
- [4] W. E, W. Ren, and E. Vanden-Eijnden, J. Chem. Phys. **126**, 164103 (2007).
- [5] Y. Zhang, H. Liu, and W. Yang, J. Chem. Phys. **112**, 3483 (2000).