

1Pa029 ハイブリッド型第一原理分子動力学 シミュレーションによる生体内酵素反応の研究

(阪大基工) 堀 拓実、高橋英明*、由良孝之、新田友茂

1. 緒言

Human Immunodeficiency Virus type-1 Aspartyl Protease (HIV-1PR) は、エイズ治療における主要なターゲットの一つである。HIV-1PRは加水分解によりペプチド結合を解裂する酵素であり、HIV-1ウイルスを構成する分子を供給する。この反応を阻害するのがプロテアーゼ阻害剤 (Inhibitor) であるが、耐薬性の HIV-1PR の突然変異は、酵素の活性点以外の部分 (媒質) で起こることが知られている。これは酵素反応に媒質が大きな影響を及ぼしていることを示唆している。

このように、酵素反応においては、媒質と活性点との静電的な相互作用や媒質の構造の熱的ゆらぎが反応を決定的に支配している可能性があり、これらの媒質の役割について研究することは重要である。反応機構を理論的に研究するためには量子化学的な手法が必須であるが、計算コストによる制約から、既往の研究においては活性点近傍の少数の原子のみをモデル系として行った量子化学計算がほとんどである。

そこで、本研究ではQM/MM (Quantum Mechanical / Molecular Mechanical) 法を HIV-1PR 内で起こるペプチドの加水分解反応に適用し、その反応機構と媒質の影響を研究する。QM/MM法では、反応に関与する部分のみを量子化学的に取り扱い、残りの部分を経験的なポテンシャル関数を用いて表現する。QM/MM法を用いることで、少ない計算コストで精度の良いシミュレーションが可能になる。我々は、これまでに超臨界水中の反応に対してQM/MM法を適用し、その反応機構及び溶媒効果を明らかにしてきた[1, 2]。QM/MM法を酵素反応に応用することで、媒質の影響を考慮したシミュレーションが可能になり、酵素の触媒機構に対して新たな知見が得られる筈である。

2. 計算手法

QM/MM 法では、全系のエネルギーを次式のように表現する。

$$E_{\text{Tot}} = E_{\text{QM}} + E_{\text{MM}} + E_{\text{QM/MM}}$$

E_{QM} , E_{MM} , $E_{\text{QM/MM}}$ はそれぞれQM系, MM系, QM/MM相互作用エネルギーを表す。ここで、 $E_{\text{QM/MM}}$ は、以下のように結合相互作用 E_{bonded} と非結合相互作用 $E_{\text{nonbonded}}$ で構成される。

$$E_{\text{QM/MM}} = E_{\text{bonded}} + E_{\text{nonbonded}}$$

E_{bonded} 及び $E_{\text{nonbonded}}$ の各項は次のように表現できる。

$$E_{\text{bonded}} = E_{\text{b}} + E_{\text{angle}} + E_{\text{dihedral}}$$

$$E_{\text{nonbonded}} = E_{\text{electrostatic}} + E_{\text{vdw}}$$

E_{bonded} において、右辺の各項はそれぞれQM/MM境界の結合、結合角及び二面角のポテンシャルエネルギーを示している。本研究では、 E_{bonded} を SPLAM (Scaled Position Link Atom Method) [3]を用いて計算した。また、 $E_{\text{nonbonded}}$ はQM分子と古典的分子との静電相互作用及び van der Waals 相互作用の和で表される。

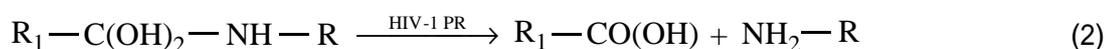
QM系の電子状態計算はKohn-Shamの密度汎関数法により行った。Kohn-Sham法では次式の軌道方程式を用いて電子状態を決定する。

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v(\mathbf{r}) + v_H(\mathbf{r}) + v_{xc}(\mathbf{r}) + v_{pc}(\mathbf{r}) \right] \psi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \psi_i(\mathbf{r})$$

左辺括弧内の各項は順に運動エネルギー演算子、原子核 - 電子間ポテンシャル、電子 - 電子間ポテンシャル、交換相関ポテンシャル及びMM系によって生成される静電ポテンシャルを示している。媒質の電子状態に対する静電的な溶媒効果は v_{pc} により反映される。1電子波動関数は実空間グリッドにより表現し、MM系は AMBER95 により記述した。

3. 結果と考察

図1に HIV-1 PR の構造を示す。HIV-1 PR は、99個のアミノ酸から成る二つの分子により構成され、 C_2 対称性を持つ。また、中心付近に1対のアスパラギン酸 (Asp-25(25')) で構成される反応活性点を有している。ペプチドの加水分解は次の二つの反応を経て進行すると考えられている。



反応(1)はOH⁻の炭素への求核付加であり、反応(2)はC-N結合の解裂である。媒質の溶媒効果を検討するため、まず、媒質 (MM系) が無い場合の加水分解反応の活性化エネルギーを計算した。図2にSTQN法 (RHF/3-21G**) によって決定した反応(1)の遷移状態 (TS) の構造を示す。反応(1)は活性点付近に存在する水分子が基質分子のカルボニル炭素 (C₁) に求核攻撃することによって進行する。その際、Asp-25の水素が基質分子に、水分子の水素が Asp-25' に協奏的に移動して、水分子の求核攻撃が触媒される。媒質が無い場合の反応(1)の活性化エネルギーは 17.1 kcal/mol であり、Piana ら[4]による理論計算の値 (20 kcal/mol) と概ね良好に一致した。現在、周囲の媒質の溶媒効果を考慮したQM/MMシミュレーションを実行中である。

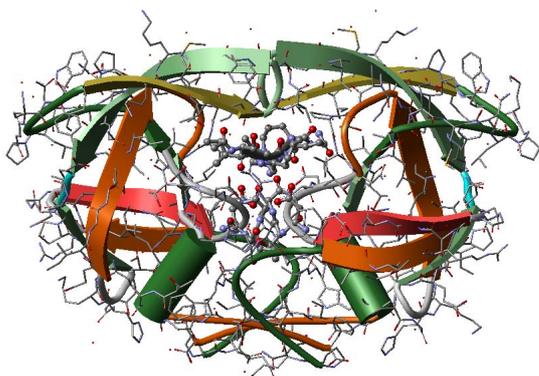


図1 HIV-1 プロテアーゼの構造 (活性点及び基質分子を Ball & Stick モデルで示した。)

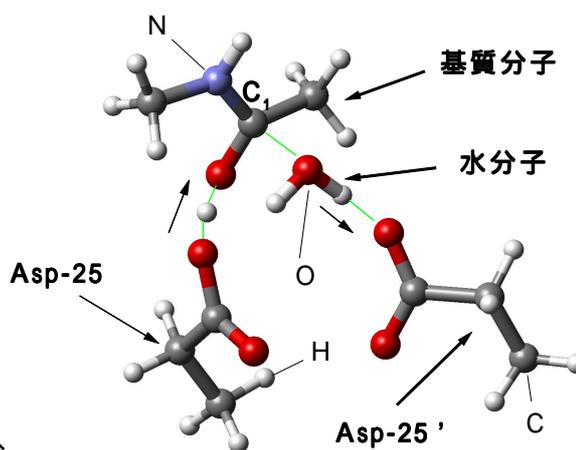


図2 遷移状態の構造 (活性点付近)

【参考文献】

1. H. Takahashi, T. Hori, H. Hashimoto, and T. Nitta, *J. Comput. Chem.*, **22**, 1252 (2001).
2. T. Hori, H. Takahashi, and T. Nitta, *J. Comput. Chem.*, **24**, 209 (2003).
3. M. Eichinger, P. Tavan, J. Hutter, and M. Parrinello, *J. Chem. Phys.*, **110**, 10452 (1999).
4. S. Piana, P. Carloni, and Michele Parrinello, *J. Mol. Biol.*, **319**, 567 (2002).