

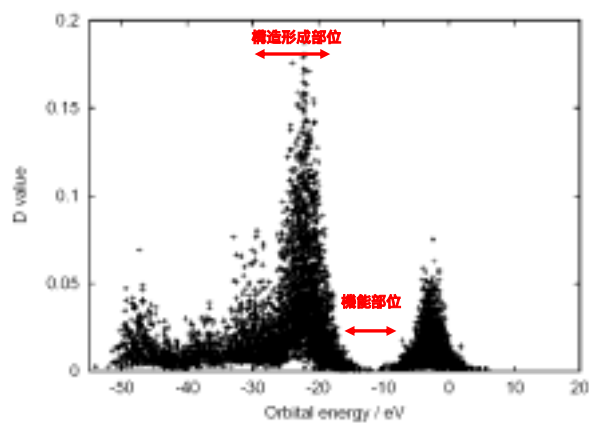
量子化学計算による蛋白質の in silico 機能予測法の探索

(東工大バイオセンター¹、セレストア²) 福島健太郎¹、和田光人²、櫻井実¹

【緒言】ポストシーケンスの時代の大きな目標は、同定された遺伝子の表現型である蛋白質の機能を解明することである。蛋白質の構造決定はX線放射技術の進歩や核磁気共鳴を利用した構造解析法の発展によってほぼ完全に自動化され、大規模かつ網羅的な構造決定が可能となった。構造ゲノムプロジェクトの大きな進展に伴い、決定された蛋白質構造が飛躍的に増加する一方、構造から機能を大規模かつ網羅的に同定する有力な実験手法は確立されておらず、機能が未知である蛋白質が数多く存在している。蛋白質の重要な機能の一つは分子認識や触媒反応など化学的機能であり、これらは高次構造により一義的に決定されていると考えられる。従って、蛋白質の機能予測は高次構造に基づく第一原理計算により可能であるはずである。本研究の目的は、量子化学計算に基づいて、構造から機能を in silico 予測する方法論を探索することである。

【方法】研究対象の蛋白質は構造と機能が既知である酵素から次に述べる方針で 112 種類を選択した。すなわち、1) IUPAC による 6 つの酵素分類の各類からランダムに選択、2) 各類間の選択酵素数の比率を PDB に登録されている全酵素についての対応する比率に等しくなるようにする、3) 反応基質と反応機構に関して冗長性が含まれないようにする。選択した構造には SCOP で同定されている 66 種類の fold が含まれ、高い配列相同性 (40%以上) を持つ構造のペアは存在していない。ついで取得した構造に水素を付加し、それらの位置のみを最適化した。分子内部に存在する His 残基のプロトン化状態と、回転異性体が複数存在する一部の Asn 及び Gln 側鎖の配向は、周辺残基との水素結合ネットワークを最適化するように決定した。このように構築した構造について全原子量子化学計算 (MOZYME 法、AM1 ハミルトニアン) を実行し、その際に水和の効果は COSMO 法による連続体近似によって考慮した。

【結果および考察】分子軌道の広がりを表わすパラメータを軌道エネルギーに対してプロットしたところ、蛋白質の分子軌道はエネルギー準位と空間分布の特徴に従っておよそ 2 つに分類できることが判明した。一つは空間的に狭い領域に局在化した軌道群で、エネルギー的にはフロンティア軌道周辺に集中して存在する。もう一つは蛋白質分子の広い領域をカバーするように広がった軌道群で、エネルギー的にはフロンティア軌道からやや離れたところに存在する。この結果より、前者は主として蛋白質の反応性に関与し、後者は蛋白質の構造安定性に寄与するものと予測した。つまり、機能 (部位) 予測という立場からは、前者の軌道群 (以下フロンティア軌道群と呼ぶ) を解析すればよいと判断した。



D value の定義

$$\varphi_i = \sum_j C_j \chi_j$$

$$d_i = \sum_{m \in a} C_m^2$$

$$D = \frac{1}{N \sum_{i=1}^N d_i^2}$$

φ_i

 i 番目の分子軌道

C_j

 j 基底 χ_j の係数

選出した 112 種類の酵素には全部で 416 の活性部位が同定されているが、これらとフロンティア軌道群の局在場所は高い確率で一致することが判明した。Table 1 は、フロンティア軌道群に含める軌道の閾値 ($\Delta\varepsilon$) ごとに、その区間内に存在する軌道の局在場所が活性部位と一致した回数 (確率) をカウントしたものである。例えば、 $\Delta\varepsilon = \pm 30$ とした場合、活性部位に局在化したとカウントされた軌道の本数は 235 であった。言い換えると、対象とした全活性部位中約 56% ($=235/416$) の部位にフロンティア軌道周辺の軌道が割り当てられていた。 $\Delta\varepsilon = \pm 5$ とした場合でも、その確率は 21% あり有意である。

Table 1. フロンティア軌道群が活性部位に見出される確率

$\Delta\varepsilon^a$	active sites ^{b)}				enzymes ^{c)}	
	in water ($\varepsilon=78.4$)		in vacuo			
<i>frontier</i>	28	6.7%	8	1.9%	27	24.1%
± 5	89	21.2%	31	7.4%	62	55.4%
± 10	136	32.5%	53	12.7%	89	79.5%
± 30	235	56.1%	107	25.5%	108	96.4%
± 50	293	68.9%	155	37.0%	112	100.0%

(a) : HOMO・LUMO に準位が近接する軌道の本数 (予測法の閾値:) (b) : 軌道が局在化した活性部位の個数と割合を示す。(c) : 軌道が活性部位に局在化した酵素の個数と割合を示す(水中)。(計 112 構造、416 部位)

一方、同一の構造を用いて真空条件下で分子軌道を評価したところ、フロンティア軌道の局在場所と活性部位の一致度は大きく低下した。これは、真空中ではエネルギー的に HOMO、LUMO 付近に存在する軌道は、分子表面に存在する解離性残基に局在するケースが多いためである。水和は、これらの軌道を HOMO、LUMO から遠ざけることにより、相対的に活性部位の化学反応性を増大させる役割をされると考えられる。したがって、活性部位予測のためには水和効果を考慮することが必須である。