

QM/MM 分子動力学法のシチジンデアミナーゼ によるシチジンの脱アミノ化反応への応用

(広島大院理, 広島大 QuLiS) ○松原世明, 相田美砂子

【序】今日のコンピュータの著しい発達、量子化学計算の普及に大きく貢献してきた。とはいえ、大規模分子の量子化学計算となると、計算時間の制約は、計算化学者の大きな悩みの種である。この問題を解消するための強力な方法論として、量子力学(QM)的手法と分子力学(MM)法を統合した、種々の QM/MM 法が開発されてきた。この手法は、計算化学のさまざまな分野に応用され、フロンティア的な役割を果たしている。1970 年代に最初に QM/MM 法が応用されたのは、酵素であった。しかし、酵素のような生体分子となると、分子全体の熱揺らぎによる動きが、その機能と大きく関わっていることが多い。このような場合、単なる QM/MM 法では、不十分である。そこで、我々は、巨大生体分子を量子化学的に解析することを目的とし、QM/MM 法と分子動力学(MD)法を統合した、新たな方法論の開発を行っている。今回は、我々が新たに開発した、QM/MM-MD 法のシチジンデアミナーゼへの最初の応用例¹⁾を紹介する。

【方法論】QM/MM-MD 法の開発には、QM/MM 法として、現在、幅広く使用されている、ONIOM 法²⁾を採用した。ONIOM 法は、QM 部分と MM 部分に 2 分割する 2-layered ONIOM を用いた。したがって、QM/MM(ONIOM)のエネルギーとグラジエントは、次式で計算される。

$$E_{QM/MM,Real} = E_{QM,Model} + E_{MM,Real} - E_{MM,Model} \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \partial E_{QM/MM,Real} / \partial R_{Real} = & (\partial E_{QM,Model} / \partial R_{Model}) * J(R_{link}, R_{core}, R_{outer}) + \partial E_{MM,Real} / \partial R_{Real} \\ & - (\partial E_{MM,Model} / \partial R_{Model}) * J(R_{link}, R_{core}, R_{outer}) \end{aligned} \quad (2)$$

J は、リンク(cap)原子に加わる力をリンク原子と接続する QM 部分と MM 部分の原子に射影するヤコビアンである。プログラムの開発は、汎用量子化学計算プログラム HONDO-2001 を母体とし、分子力学法と分子動力学法を兼ね備えた TINKER Ver4.2 プログラムを導入して行った。QM/MM(ONIOM)-MD 計算のフローチャートを Fig. 1 に示す。原子の座標の時間発展は、QM/MM(ONIOM)グラジエントを用い、ニュートンの運動方程式を解いて行う。

$$F(\text{Grad}E_{QM/MM,Real}) = ma \quad (3)$$

【応用】酵素の触媒作用の解明は、創薬につながることから、さまざまな角度から研究されている。シチジンデアミナーゼによるシチジンの脱アミノ化反応は、抗癌剤が体内で酵素により活性化され、抗悪性腫瘍効果を持つ物質に変換される過程の中で最も重要であり、癌治療のための新薬開発の観点から注目されている。新たに開発した QM/MM(ONIOM)-MD 法を、触媒作用機構を解明することを目的とし、シチジンデアミナーゼに応用した。今回は、シチジンデアミナーゼの活性サイトで基質がどのように活性化されるのか、という観点から、生成物が活性サイトで結合したシチジンデアミナーゼ(PDB ID:1AF2)への応用を紹介する。また、類似の触媒機能を持つシトシンデアミナーゼ(PDB ID:1P6O)への応用も一緒に紹介する。脱アミノ化反応の解析については時間が許せば紹介する。

両酵素の活性サイトの様子を Fig. 2 に示す。QM/MM(ONIOM)計算の QM 部分には、どちらの場合も、基質はウラシル、活性サイトは触媒作用において重要な役割を果たしていることが ab initio 分子軌道法の解析により明らかとなった³⁾、Glu(104 または 64)と Zn 錯体部分を含めた。シチジン

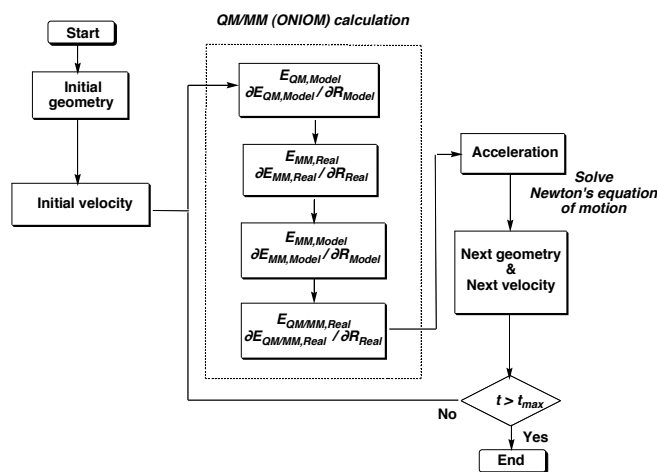


Fig. 1. QM/MM(ONIOM)-MD 計算のフローチャート

デアミナーゼの場合には、x 線結晶構造で確認されている、活性サイトポケット内の溶媒水1分子も QM 部分に含めた。基質のリボース置換基、酵素のその他の部分と周囲の水溶媒は MM 部分とした。水溶媒を再現するために、酵素(約 4,500 原子)の周囲に、約 2,500 個の水分子をランダムに配置した。QM/MM(ONIOM)-MD 計算は、{HF/3-21G:AMBER99+TIP3P} レベルで、温度一定(298.15 K)で行った。

シチジンデアミナーゼの QM/MM(ONIOM)-MD 計算の結果を Fig. 3(a)に示す。活性サイトの Zn 原子と結合した生成物は、約 1.5 ps 後に解離した。そのため、QM エネルギーは上昇している。周囲のアミノ酸残基がなければ、生成物は解離せず、Fig. 3(b)に示すように、エネルギー的に安定化されている。また、エネルギーのゆらぎも小さい。このように、近隣アミノ酸残基の熱運動によって、活性サイトポケット内の基質の構造は歪められ、エネルギー的に不安定化されることが分かった。

基質のどの部分にどれくらいの力が近隣アミノ酸残基の熱運動によって加わっているか、次式によって求め、解析した。

$$\text{Grad}E_{\text{MM}(\text{uracil})} = \text{Grad}E_{\text{MM,Real}(\text{uracil})} - \text{Grad}E_{\text{MM,Model}(\text{uracil})} \quad (4)$$

その結果、活性サイトの溝により深く挿入している部分、-N10(R)-C11(=O12)-、に近隣アミノ酸残基からの大きな力が加わり、基質の構造が歪むことが明らかになった。

近隣アミノ酸残基の運動エネルギーは、基質の構造の歪みによってポテンシャルエネルギーとして蓄積され、基質が解離し構造が緩和する際に、再び運動エネルギーとして近隣アミノ酸残基へ放出される。シトシンデアミナーゼの場合に、この放出エネルギーの移動先を、エネルギーの等分配則にしたがって求めた局所温度の時間変化で調べたところ、基質をサンドイッチ状に挟んでいる Ile33 と His62 に移動することが分かった。これは、基質と水素結合しているアミノ酸残基は、単に基質の配置を固定する役割を果たしているにすぎず、基質と立体的に接触しているアミノ酸残基が熱運動を通して基質を不安定化していることを示している。詳細は、当日発表する。このように、新たに開発した QM/MM(ONIOM)-MD 法により、近隣アミノ酸残基の触媒作用における役割を明らかにできた。

【References】

- (1) T. Matsubara, M. Dupuis, M. Aida, submitted for publication.
- (2) (a) T. Matsubara, S. Sieber, K. Morokuma, *Int. J. Quant. Chem.*, **60**, 1101-1109 (1996). (b) T. Matsubara, F. Maseras, N. Koga, K. Morokuma, *J. Phys. Chem.*, **100**, 2573-2580 (1996). (c) M. Svensson, S. Humbel, R. D. J. Froese, T. Matsubara, S. Sieber, K. Morokuma, *J. Phys. Chem.*, **100**, 19357-19363 (1996). (d) S. Dapprich, I. Komáromi, K.S. Byun, K. Morokuma, M. J. Frisch, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **461-462**, 1-21 (1999).
- (3) T. Matsubara, M. Ishikura, M. Aida, *J. Chem. Inf. Model.*, **46**, 1276-1285 (2006).

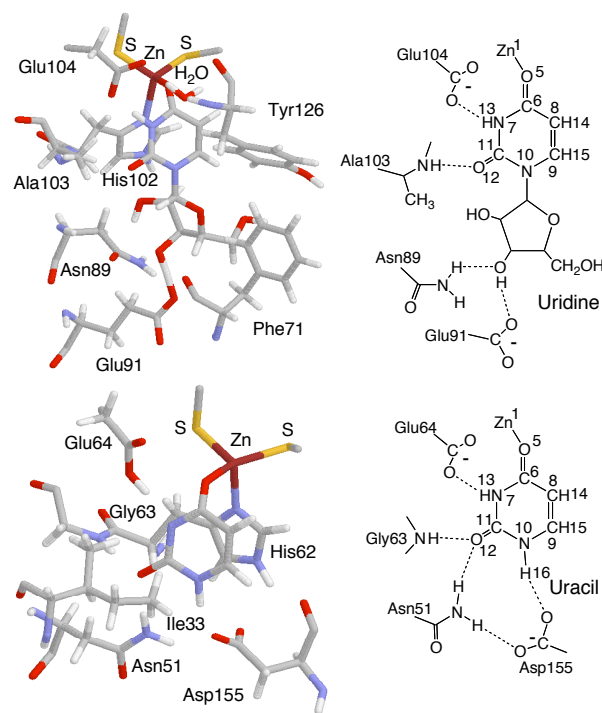


Fig. 2. 生成物と結合したシチジンデアミナーゼ(上)とシトシンデアミナーゼ(下)の活性サイト

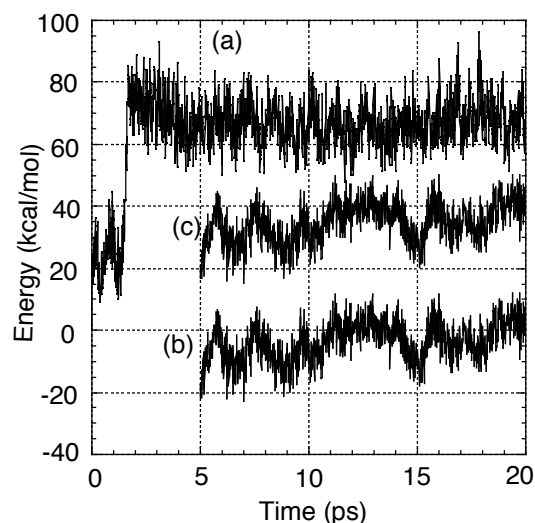


Fig. 3. シチジンデアミナーゼの MD 計算における QM エネルギーの時間変化 (a) QM/MM(ONIOM)-MD 計算 (b) QM 部分のみの QM-MD 計算 (c) (b)で基質が解離したと仮定した場合