

酵素反応機構解明のための軌道相互作用解析法の開発と応用

(九大院・総理工¹, JST-CREST²) ○折本 裕一¹, 青木 百合子^{1,2}

Development of orbital interaction analysis method for investigating enzymatic reaction mechanism

(Kyushu Univ.¹, JST-CREST²) ○Yuuichi Orimoto¹, Yuriko Aoki^{1,2}

【序】 生体内の様々な反応は酵素の特異的触媒作用に支えられて機能し、その分子論的メカニズムの理解は医・薬学発展の重要な一歩となる。本研究では、特定の軌道相互作用が引き起こす特異的な遷移状態安定化という視点から酵素反応をとらえ、その遷移状態・反応経路を支配している相互作用を定量解析可能な量子化学手法の開発を目指している。当グループ開発の Through-Space/Bond 相互作用解析法を軸に、個々の軌道相互作用と遷移状態・反応経路の関係を明らかにできるような手法開発を行い、さらに別途当グループで開発している巨大系の高速度・高精度計算のための Elongation 法との結合により巨大酵素系内における相互作用解析法に発展させる。

【方法】 Through-Space/Bond(TS/TB)相互作用解析法[1]は、基底関数のガウス型関数の軌道指数を人為的に増大させて特定の軌道間相互作用をカットし(図1(a))、カット前後の比較によって系の全エネルギー、電子状態等への個々の相互作用の寄与を非経験的レベルで定量的に見積もることができる。その手順(図1(b))はまず、分子構造に対して通常の軌道指数をもつ基底関数(File-1)、軌道指数を人為的に増大させた基底関数(File-2)それぞれで各種原子軌道(AO)基底の積分を計算する。カットして調べたい相互作用に対応する積分の非対角行列要素について File-1 と File-2 を交換する(積分 merging)。

merging 後の積分を用いた SCF 計算により、相互作用カット状態における系の全エネルギー等が得られる。

軌道収縮により、軌道の重なりによる空間的相互作用のカットと同時に、収縮した軌道がつくる点電荷が適切な量だけ核電荷を遮蔽し、核間反発・電子間反発・核-電子引力の各エネルギー項のバランスを意識することなく自動的に静電相互作用もカットされる。積分レベルでの相互作用カットのため、CI/MP 法との結合による電子相関効果の考慮時にカットの効果が正しく取り込まれ、さらに励起状態の相互作用解析も可能である。AO 基底以外の、例えば σ , π 等の NBO 表現を基底とした TS/TB 解析も可能であり、この場合、解析手順中で各種積分を NBO ベースに変換することで実現する(図1(b))。

【結果と考察】 本 TS/TB 法の解析例として、 S_N2 遷移状態の安定化機構解明への応用を示す(図2(a))[1b]。臭化アリの S_N2 反応が臭化プロピルより早く進むことが知られている。TS/TB 法によって臭化アリの遷移状態における分子内 σ - π^* 相互作用をカットしたところ、カット後の活性化エネルギーが増大し、反応座標が臭化プロピルに近づくことがわかった。本解析により、 σ - π^* 相互作用が臭化アリの遷移状態を 3.2kcal/mol 安定化させ、 S_N2 反応性を高めていることが明らかとなった。その後、連続誘電体モデルとの結合によって溶媒効果を考慮した解析も可能となった[1c]。今後更に、本解析法を軸に、

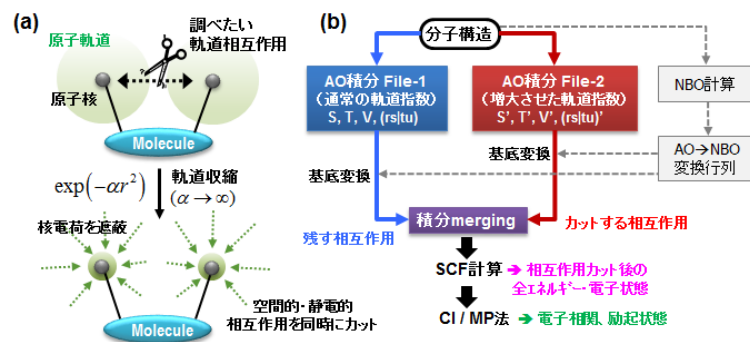


図1 TS/TB 解析法における(a)相互作用カットの概念と(b)計算手順

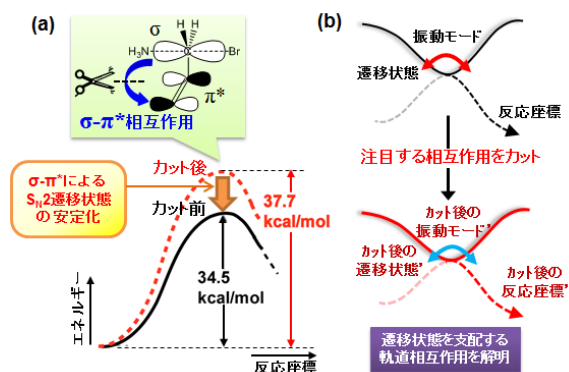


図2 (a) S_N2 遷移状態安定化に対する TS/TB 解析、(b)遷移状態支配因子解析の概念

振動解析・反応経路解析法との結合により、特定の相互作用をカットしたときの遷移状態構造や振動モード、反応座標などを得られるようにし(図 2(b))、酵素反応における遷移状態を支配する軌道相互作用を特定可能となるよう開発を進める。また、TS/TB 法を構造最適化手法とも結合させ、酵素-基質間の相互作用エネルギーを構造緩和も含めてさらに高精度に評価可能とし、酵素の分子認識機構解明にも応用可能となるよう開発する。

本方法を巨大酵素系中の効率的相互作用解析手法に発展させるため、当グループで別途開発している巨大系の高速度・高精度計算のための Elongation(ELG)法[2]との結合を行う。ELG 法は、高分子の重合反応のように反応末端にモノマーを順次付加させつつ反応末端とモノマーのみ固有値問題を解くことで効率的に系の電子状態を伸長できる(図 3(a))。まず、出発クラスタの計算から得た正準分子軌道をユニタリ変換によって反応末端側の Active 領域局在化軌道(RLMO)と反対側の Frozen RLMO に変換する。このとき、Frozen 領域は付加モノマーと相互作用のない距離に自動設定される。Active RLMO と付加モノマーからなる相互作用領域のみ解くが、Frozen RLMO はモノマーと相互作用がないため固有値問題から外しても計算精度に影響しない。軌道局在化と部分固有値問題を繰り返すことで、計算精度を保ちつつ高効率に電子状態を伸長できる。DNA モデル系を用いた ELG 法の計算時間について(図 3(b))、従来法(CONV)では系のサイズ N (塩基対数)とともに計算時間が急激に増大するのに対し、ELG 法では AO カットオフ法(軌道の tailing が及ばなくなった領域の AO 基底関数を計算から外す)が開始後、各ステップにかかる計算時間がほぼ一定となり、 N に一次比例したオーダー N の計算時間が実現する。さらに従来法との全エネルギーの誤差は、 $N=20$ で僅かに 2.16×10^{-9} hartree/atom であり、1 万原子を想定しても系全体の誤差が約 0.01 kcal/mol と十分に化学精度を満たす。また、ELG 法は各ステップで一定サイズの固有値問題を解くため SCF の収束性が従来法に比べて格段に向上することが分かっており、従来法で計算困難なモデル(非局在系など)も容易に計算可能である。

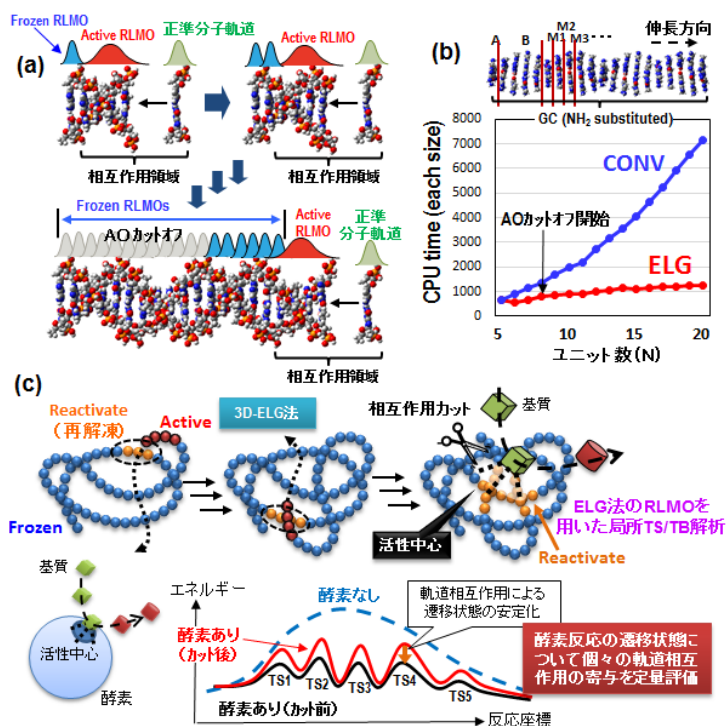


図 3 (a)Elongation 法の手順、(b)従来法との計算時間の比較、(c)3D-ELG 法との結合による酵素内局所 TS/TB 解析

ELG 法の酵素への適用について、反応末端が Frozen 領域に再接近した時に Frozen 部を再解凍 (reactivate) することで、3 次元的に絡み合った酵素にも ELG 法は応用可能である(3D-ELG 法、図 3(c)上)。ELG 法から得た RLMO を利用した局所 TS/TB 解析法を開発することで、系全体の電子状態を考慮しつつ、“活性中心+基質”部分に対して特定の相互作用をカットした状態での遷移状態解析(遷移状態構造・活性化エネルギー・振動モード・反応経路等)が可能となり、個々の軌道相互作用の寄与を定量評価できる(図 3(c)下)。同様に、構造緩和を考慮した相互作用エネルギー高精度評価によって酵素の分子認識機構解明にも適用する。当該開発手法によって酵素反応の触媒効果や分子認識機構を分子軌道レベルで明らかにしていく。

討論会当日は、上記開発手法とその応用検証について、進捗状況を発表する。

【謝辞】 本研究は JST 戦略的創造研究推進事業 CREST、及び科学研究費助成事業(課題番号:15KT0146, 16K08321, 25810103)により実施されたものであり、計算の一部は九州大学情報基盤研究開発センター・研究用計算機システムにより行った。

【参考文献】 [1] (a) A. Imamura, H. Sugiyama, Y. Orimoto, Y. Aoki, *Int. J. Quantum Chem.*, **1999**, 74, 761; (b) Y. Orimoto, K. Naka, Y. Aoki, *Int. J. Quantum Chem.*, **2005**, 104, 911; (c) L. Jiang, Y. Orimoto, Y. Aoki, *J. Chem. Theory Comput.*, **2013**, 9, 4035. [2] (a) A. Imamura, Y. Aoki and K. Maekawa, *J. Chem. Phys.*, **1991**, 95, 5419; (b) Y. Aoki and F. L. Gu, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 7640; (c) Y. Orimoto, K. Liu, and Y. Aoki, *J. Comput. Chem.*, **2015**, 36, 2103; (d) Y. Orimoto and Y. Aoki, *J. Chem. Phys.*, **2016**, 145, 024107.