

学位論文の要約

題目 Free energy analysis related to biomolecular functions by QM/MM hybrid method
 (QM/MM ハイブリッド法による生体分子機能に関する自由エネルギー解析)

氏名 鹿倉 啓史

第1章 概論

タンパク質は、ナノ秒からミリ秒の時間スケールで大域的でゆっくりとした構造変化をしている。酵素的触媒反応や光受容タンパク質など、タンパク質の多くの特徴的な分子機能は、反応中心の局所的な化学状態とタンパク質の大域的な構造変化がカップルして生じている。これらのタンパク質の関わる反応は、X線結晶構造解析、NMR分光法、FTIR分光法のような実験的手法によって広く研究されてきたが、現在の技術では、複雑なタンパク質系の化学反応を原子レベルで研究することは困難である。最近のコンピューターハードウェアの進歩と分子力学力場を用いた分子動力学シミュレーションの方法論的発展により、マイクロ秒からミリ秒の時間スケールでのタンパク質の構造変化を原子論的に調べることが可能となった。しかしながら、古典的なMM力場では分子の電子波動関数が明示的に記述されておらず、化学結合の組み換えや反応中心の電子状態の明示的な変化を含む化学反応の記述には限界がある。電子波動関数は量子力学(QM)計算によって記述することができるが、その計算コストはMM力場による計算よりもかなり高い。したがって、QM計算を大規模タンパク質系のゆっくりとした構造変化ダイナミクスのMDシミュレーションに直接適用することは計算上不可能である。

1976年に発表されたQM/MM静電相互作用による量子力学(QM)と分子力学(MM)を組み合わせた最初のマルチスケール計算法以来、QM/MM法は様々な系や目的で開発され、採用されてきた。本研究では、マルチスケール法的一种であるQM/MM RWFE-SCF法を光受容タンパク質GtACR1に適用し、光受容によるチャネル活性化で生じる構造変化の詳細を原子分解能で明らかにした。また、阻害剤と共有結合を形成している酵素メインプロテアーゼに対し、同手法により共有結合前後の正確な構造モデリングを行い、タンパク質-阻害剤間のエネルギー解析を行い、薬剤の反応性の違いについて明らかにした。

第2章 分子シミュレーションによる、アニオンチャネルロドプシン GtACR1 のプロトン化状態、イオン結合、光活性化チャネル開口についての研究

チャネルロドプシンは、微生物に見られるレチナール発色団分子をもつ光受容膜タンパ

ク質で、光を利用して神経細胞の活動を制御する神経科学の一分野であるオプトジェネティクスに広く利用されている。Guillardia theta 由来の陰イオン伝導性チャネルロドプシン GtACR1 は、その高い伝導性と選択性からオプトジェネティクスの神経サイレンサーとして注目されている。しかし、チャネルの光活性化とイオン伝導の原子論的メカニズムはまだ解明されていない。本章では、GtACR1 の分子特性とその光活性化過程を分子シミュレーションにより調べた。高精度量子化学計算と長時間分子動力学 (MD) シミュレーションを組み合わせた QM/MM RWFE-SCF 法を用いて、野生型および主要なアミノ酸残基のプロトン化状態が異なる変異体のタンパク質構造をモデル化し、モデルの検証のために吸収エネルギーを計算した。レチナール発色団分子近傍のアミノ酸残基のプロトン化状態や変異によって、タンパク質環境が作り出す静電場が異なり、これがレチナール発色団分子の吸収エネルギーに影響を与えることを明らかにした。複数の変異体において吸収エネルギーシフトが一致することなどから、Asp234 の側鎖カルボキシル基はプロトン化された状態であることが示唆された。また、QM/MM モデリングおよび MD シミュレーションによる自由エネルギー計算の結果、暗状態では、細胞外ポケットに塩化物イオンが強く結合し、レチナール発色団分子の持つプロトン化シッフ塩基の正電荷を中和していることが明らかとなった。さらに、レチナール発色団分子の光異性化後のチャネル開口状態のモデル化に成功した。原子レベルで明らかにされた光活性化過程は、チャネル活性化機構に関する有益な知見を提供するとともに、イオン伝導性の向上やイオン選択性の向上を目指した改編をするための手掛かりとなることが期待される。

第3章 QM/MM 自由エネルギー構造最適化による SARS-CoV-2 M^{pro} の共有結合型阻害剤の自由エネルギー解析

SARS-CoV-2 ポリタンパク質を加水分解するメインプロテアーゼ (M^{pro}) は、ウイルスの増殖において必須の酵素であり、創薬の標的タンパク質として注目されている。このプロテアーゼの触媒反応の活性中心には Cys145 があり、この Cys145 と共有結合を形成する阻害剤分子が数多く開発されている。阻害剤分子を開発するためには、共有結合阻害剤の反応点と Cys145 との共有結合形成と、M^{pro} の結合ポケットにおける阻害剤とタンパク質との分子間相互作用を精密かつ同時に検討する必要がある。本章では、SARS-CoV-2 M^{pro} に対する、異なる共有結合反応点を持つ 3 種類の共有結合型阻害剤の結合過程に関する分子シミュレーション研究を紹介する。QM/MM RWFE-SCF 法を用いることで、長時間 MD シミュレーションによるタンパク質環境の自由エネルギー曲面上で、共有結合を形成する阻害剤分子を正確に量子化学的に記述できる。バルク水中での阻害剤分子の構造、また M^{pro} と共有結合を形成する前後の構造を、QM/MM RWFE-SCF 法によりそれぞれ構造最適化を行った。最適化された構造をもとに、長時間の平衡化 MD シミュレーションを行い、

反応点での共有結合形成という局所的な現象が、タンパク質の大きな構造変化を引き起こし、阻害剤結合の安定性に重要な影響を与えることを明らかにした。さらに、共有結合エネルギーを含む自由エネルギーの詳細な解析を行い、共有結合阻害剤の結合過程のエネルギー論に関する原子論的洞察を得ることができ、異なる共有結合阻害剤の特性の根底にある分子メカニズムを明らかにした。