

平成 23 年 5 月 23 日現在

機関番号 : 11301  
 研究種目 : 基盤研究 (C)  
 研究期間 : 2008~2010  
 課題番号 : 20550146  
 研究課題名 (和文) 新しい生体機能発見のための量子力学計算によるタンパク質の電子構造の決定  
 研究課題名 (英文) Determination of the electronic structure of proteins by quantum mechanics for discovery of new biological function  
 研究代表者 ピキエリ ファビオ (PICHIERRI FABIO)  
 東北大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号 : 40374920

研究成果の概要 (和文) : 量子力学計算を用いることにより、数種のタンパク質の電子構造を計算し、生体機能との関係についての新しい洞察を得ることができた。Kcsa カリウムチャンネル、塩化物チャンネル、集光複合体 LH2 のような膜タンパク質を理論計算したところ、非常に大きい双極子モーメント(500~1000 Debye)をもっていることが特徴づけられた。これは、膜中のタンパク質が、強く分極していることを意味している。この電荷の分極が生体機能に関係している。例えば、強い分極は、細胞膜を通るイオンの流量をコンスタントに維持するのに有用であると思われる。さらに、これらのタンパク質の大きい双極子モーメントは、カリブドトキシンのような小さいタンパク質が膜タンパク質と相互作用する際に正しい配向にするのを助けるのに重要である。最後に、スルフィリミン結合は、コラーゲン IV タンパク質中の新しいタイプの化学結合であることが見つかり、その性質についても量子力学計算を用いて解明することができた。

研究成果の概要 (英文) : With the aid of quantum mechanical calculations, we have explored the electronic structure of several proteins and obtained new insights about its relation with biological function. Membrane proteins such as the Kcsa potassium channel, the chloride channel, and the light-harvesting LH2 complex are characterized by very large dipole moments (500~1000 Debye). This means that the protein inside the membrane is strongly polarized. This polarization of charge is connected to biological function. For example, strong polarization may be useful to maintain constant the flux of ions through the membrane. Furthermore, the large dipole moment of these proteins is important on helpin smaller proteins like charybdotoxin to adopt the correct orientation when they interact with membrane proteins. Finally, the sulfilimine bond, a new type of chemical bonding inside proteins (collagen IV) has been investigated and its properties have been revealed using quantum mechanical calculations.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：生体関連高分子化学、量子生物化学、計算化学、タンパク質、量子力学

### 1. 研究開始当初の背景

タンパク質は、非常に大きい分子量(MW) および非常に3次元構造によって特徴付けられる巨大な分子である。この特徴により、莫大な数の電子が蛋白質をくまなく非局在化してしまうため、その電子構造の計算は不可能とされ、これに関する理論計算の研究は長年滞っていた。しかし最近では、大きい分子の電子構造の計算への新しいアルゴリズムおよびすぐれたソフトウェアが開発され、計算が可能になってきたところである。そこで、本課題研究では、電子構造の計算を系統的なタンパク質について行うことで、タンパク質の電子構造と生物学的プロセス間の相関関係：分子認識および触媒作用を初めて確立することができるという非常に重要な意味を持つ研究であるといえる。

### 2. 研究の目的

本研究では、最近まで不可能とされていた大きな分子量をもつタンパク質の電子構造の理論計算を、最新のアルゴリズムおよびソフトウェアを駆使することにより可能にし、今まで未解決であった(a) タンパク質に於ける電子の役割、(b) それらは生物学的機能のために重要であるか、という問題を解明することを目的として研究を行なった。本研究は、一連のタンパク質の折りたたみ構造の電子構造について、高精度な X 線結晶構造解析により得られた3次元構造に量子力学法を用いた理論化学計算を適用することにより、タンパク質の電子構造を明らかにし、そしてこれがどのようにタンパク質の「関数」に影響を与えるかを生物学及び生物物理学的に解明することを目的とした。すなわち、タンパク質の電子構造と生物学的プロセス間の相関関係を初めて確立することができるという非常に重要な意味を持つ研究である。

### 3. 研究の方法

まず、一連のタンパク質の折りたたみ構造の電子構造について、高精度な X 線結晶構

造解析により得られた3次元構造に量子力学法を用いた理論化学計算を適用することにより、代表的なタンパク質の電子構造を明らかにする。線形スケールリング semiempirical MO 量子力学法を活用して 100 個のタンパク質の電子構造を計算し、たたみこみ構造が収集されている PDB (Protein Databank) と SCOP (Structural Classification Of Proteins) のデータベースから、計算のターゲットとなるタンパク質を、 $\alpha$ -タンパク質、 $\beta$ -タンパク質、 $\alpha+\beta$ -タンパク質、multi-domain タンパク質、膜および細胞の表面タンパク質、小さいタンパク質、coiled-coil タンパク質、ペプチド、および設計されたタンパク質の 9 つのクラスに分類されたタンパク質から数種類ずつ選んだ。最も高精度に X 線結晶構造解析がなされているものから順に複数のタンパク質を抽出した。そして、これらについて LMO-SCF-COSMO (Localized Molecular Orbital - Self Consistent Field - Continuum Screening Model) 法の電子構造の計算を行なった。

次に、各タンパク質の波動関数から、それぞれフロンティア軌道関数 (HOMO、LUMO)、HOMO-LUMO エネルギーギャップ、双極子モーメント、各アミノ酸残基の電荷、およびタンパク質の全体エネルギーを計算した。最後に、これらの情報を解析することにより、各タンパク質の折りたたみの電子構造と生物学的機能との間の可能な相関関係を解明した。

### 4. 研究成果

本研究では、代表的なタンパク質数種の X 線結晶構造解析により得られた 3 次元分子構造に量子力学法を用いた理論化学計算を適用することにより、タンパク質の電子構造を明らかにし、それぞれのタンパク質内の電子の分布やフロンティア軌道の局在を解析した。これらのプロパティは、各タンパク質の相互作用のプロパティを含むそれぞれのタンパク質の既知の生物学的機能と比較

した。

線形スケーリング半経験的量子力学計算により、カリウムチャンネルタンパク質 KcsA の電子構造を計算した。このタンパク質は、カリウムイオンが細胞膜を行き来するのに重要なタンパク質で、8796 原子を含んだテトラマーの構造をとっている。各モノマーは、短いヘリックス、中程度の長さのヘリックス、長いヘリックスの 3 つの  $\alpha$ -ヘリックスから成っている。403 デバイという大きい双極子モーメントが存在することが、量子力学計算により示された。双極子モーメントの大きい値は、電荷をもった多数のアミノ酸残基に起因するものであり、特に、細胞膜の下の長いヘリックスに位置しているプラスの電荷をもったアルギニン残基によるものである。双極子モーメントベクトルは、4 回回転軸に沿って配向し、細胞膜平均平面に垂直に配向している。双極子ベクトルのポジティブ部分は細胞の内部の方向を向いており、このことは細胞膜の外部を向いて強く分極している

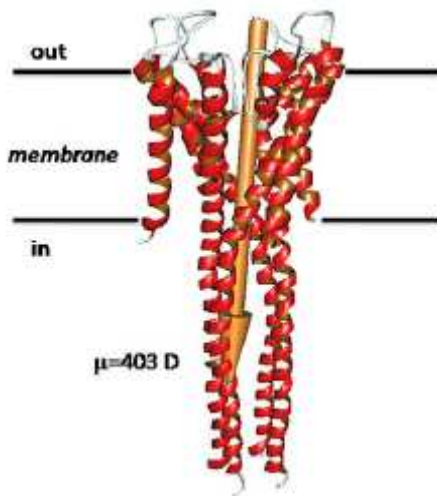


図 1 KcsA カリウムチャンネルの双極子モーメント

ことを示している。この結果は、細胞膜を行き来するイオン輸送の生物物理に重要で、おそらく K イオンの動きは KcsA チャンネルの大きい双極子によって影響を受けていることを示唆している。

また、コラーゲンタンパク質の 2 つのチェーンを結ぶ硫黄原子と窒素原子の間のスルフィ

ルイミン結合 N-S の性質も調べた。この結合は、最近アメリカの研究グループによって見つけられたもので、彼らはこれを 2 重結合と言っているが、私たちの量子力学計算によれば、一重結合であるという結果が出ている。分子における原子の量子理論を用いてスルフィルイミン結合の電子構造を解析し、スルフィルイミン結合が窒素原子に寄与している供与一重結合であることが明らかになった。スルフィルイミン結合のキャラクタリゼーションは、コラーゲンタンパク質のさらなる量子力学研究に重要である。

小タンパク質 Charybdotoxin について、電子構造と KcsA カリウムチャンネルとの相互作用を調べるために、量子力学計算を行った。pH 7.5 におけるこのタンパク質の双極子モーメントは 116 デバイであり、Charybdotoxin は大きい双極子モーメントにより、静電相互作用を通してカリウムチャンネルと相互作用を持つことができる。小タンパク質の双極子モーメントは、272 デバイという大きい双極子を持つイオンチャンネルの出入り口の上に正しく配向するのに、重要であること、KcsA:Charybdotoxin 錯体の形成は、イオンチャンネルを通した K<sup>+</sup>イオンの通過を妨げていることがわかった。この結果は、毒性ペプチドとイオンチャンネルの間の相互作用のメカニズムを理解するのに重要な結果であり、このことは、イオンチャンネルの活性を調整できる新しい薬の開発にも重要となる。

また、光合成から化学エネルギーを生成する能力のある紅色細菌 LH2 の電子構造を量子力学計算を用いることにより調べた。LH2 錯体は、18 の  $\alpha$ -ヘリックスでできており、太陽エネルギーから化学エネルギーにするのに使われる細菌クロロフィルを 27 個含んでいる。LH2 は、紅色細菌の膜表面の中にあるのが見つけられているが、ペプチド 18 個の双極子が 806 デバイに対応するのに対して、1 つの  $\alpha$ -ヘリックスペプチドの双極子モーメントは、150 デバイである。この巨大双極子は、膜表面に垂直な向きを持ち、細胞の内側に向いたベクトルを持っている。この結果は、LH2 による太陽エネルギーから化学エネルギーへの変換は非対称な静電環境をた

いへん必要とすることを初めて示した。また、

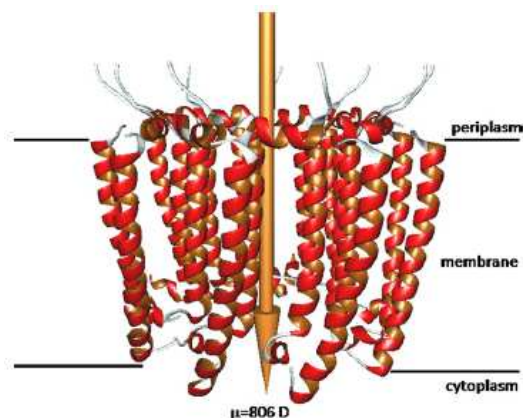


図 2 集光複合体 (LH2) の双極子モーメント

この結果は、合成光化学デバイスに基づいた新エネルギー源の発展に重要となるものである。

結論として、本研究では、いくつかの大きいタンパク質の電子構造を調べることにより、生物学的機能についての重要な知見を得ることに成功した。また、sulilimine 結合の性質を研究することにより、IV 型コラーゲン中に新しい結合相互作用を発見することができた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- 1) PICHIERRI Fabio, A quantum mechanical analysis of the light-harvesting complex 2 (LH2) from purple photosynthetic bacteria: insights into the electrostatic effects of transmembrane helices, *BioSystems*, 査読有, 103, 2011, 132-137.
- 2) PICHIERRI Fabio, The electronic structure and dipole moment of charybdotoxin, a scorpion venom peptide with K<sup>+</sup> channel blocking activity, *Computational and Theoretical Chemistry*, 査読有, 963, 2011, 384-393.
- 3) PICHIERRI Fabio, Macrodipoles of potassium and chloride ion channels as revealed by electronic structure calculations, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*,

査読有, 950, 2010, 79-82.

- 4) PICHIERRI Fabio, Theoretical characterization of the sulfilimine bond: double or single?, *Chemical Physics Letters*, 査読有, 487, 2010, 315-319

[学会発表] (計 5 件)

口頭発表

- 1) PICHIERRI Fabio, Ion channels' macro dipoles and their function, *Biophysics 2010*, 2010年 7月 18日, ケンブリッジ, (イギリス).
- 2) PICHIERRI Fabio, Ion channels' macro dipoles: what are their biological functions?, *Australian Biophysical Chemistry Workshop 2010*, 2010年4月 9日, アデレード, (オーストラリア).
- 3) PICHIERRI Fabio, What is the relationship between electronic structure and protein dynamics?, *Physical Principles of Protein Behavior in the Cell*, 2009年10月27日, Max Plank Institute, ドレスデン (ドイツ)
- 4) PICHIERRI Fabio, Electronic structure of the potassium channel protein, *Conference on Computational Physics 2009*, 2009年 12月 16日, カオション (台湾)
- 5) PICHIERRI Fabio, The Electronic Structure of Knotted Peptides, 山田コンファレンス 2008 「Topological Molecules」, 2008年9月3日, 淡路夢舞台国際センター, 兵庫県.

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

ピキエリ ファビオ (PICHIERRI FABIO)  
東北大学・大学院理学研究科・准教授  
研究者番号：40374920

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：