

令和 6 年 6 月 23 日現在

機関番号：17104

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19296

研究課題名（和文）電子線散乱と量子化学計算を利用した分子内分極決定法の開発

研究課題名（英文）Development of Intramolecular Polarization Determination Method Using Electron Scattering and Quantum Chemical Calculations

研究代表者

安永 卓生（Yasunaga, Takuo）

九州工業大学・大学院情報工学研究院・教授

研究者番号：60251394

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：電子線回折による構造解析において、小分子であるアセトアミノフェンを用いて、電子線回折と量子化学計算による電子密度及び静電ポテンシャルを用いて、構造の精密化を行うための手法を開発した。その結果、従来の電子密度によらず、静電ポテンシャルによる構造解析を行うことで、R因子の低下がみられ、静電ポテンシャルを用いて構造解析を行うことが適切であることが示された。加えて、水素原子の精密位置を静電ポテンシャルを用い、R因子を評価関数とすることで、精密化できた。電子密度を用いた場合とはその配置が異なった。比較したところ、静電ポテンシャルを用いて決定した水素原子の配置が適切である可能性が高いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

創薬などの立場から分子の構造設計を行う場合には、精密な分子構造決定が必要である。また、分子設計やリガンドとしての対応タンパク質などへの結合状態を明らかにするためにも、分子のもつ電子分布を求めることが求められる。しかし、原子毎の荷電情報を考慮した解析はあったが、量子化学と組み合わせ静電ポテンシャルで評価したものはない。今回、静電ポテンシャルを用い構造野精密化の可能性を示唆するデータを得たことから、計算コストを投じて、精密構造解析を行う学術的意義が示された。また、創薬を含め、生物学的な課題を解決するための技術として、電子線回折を通じた静電ポテンシャル及び電子配置の精密化が重要であることを示した。

研究成果の概要（英文）：A novel method to determine small molecules, such as acetaminophen, has been developed for structure refinement by a combination of electron diffraction and quantum chemical calculations of electron density and electrostatic potential. The results showed that the R-factors as an evaluation function were reduced by using the electrostatic potential instead of the conventional electron density, with indicating that it is appropriate to use the electrostatic potential for structural refinement analysis. In addition, the precise position of the hydrogen atoms could be refined by using the electrostatic potential and the R factors. The arrangement differed from that using the electron density. Their comparisons suggested that the hydrogen atoms determined using the electrostatic potential were more likely to be in the appropriate position from the stereo-chemical views and electrostatic potentials of neighbor atoms.

研究分野：生物物理学

キーワード：電子顕微鏡 電子線回折 量子化学計算 静電ポテンシャル 構造生物学 生物物理学

1. 研究開始当初の背景

電子線回折や透過型電子顕微鏡などで利用される電子線は、試料の分子を形作る原子のもつ静電ポテンシャルを原因として、その散乱角方向の散乱強度(以下、構造因子とよぶ)が異なる。X線散乱による方法では、電子密度に対応した構造因子を示し、電子密度マップを求めることができる。それに対して、元素の電気陰性度などに起因する電子雲の偏りによる静電ポテンシャルの偏りも反映しやすい。特に、水酸基やアミノ基など電気陰性度の高い元素(O, N)やそれに結合した水素の電子状態を捉えられる可能性がある。実際、これまで、水素元素の荷電状態を置くことで、電子顕微鏡による構造解析の精密化が行われた事例が報告されていた。

我々自身もまた、図1に示したように、量子化学計算により、アセトアミノフェンの分極の状態を計算したところ、電子密度マップとしてX線散乱で得られる情報と、静電ポテンシャルマップとして電子線散乱で得られる情報には違いがあり、特に、水酸基やケトン基等ではその分極状態の違いが電子線散乱から得られる情報により、区別できる可能性があった。

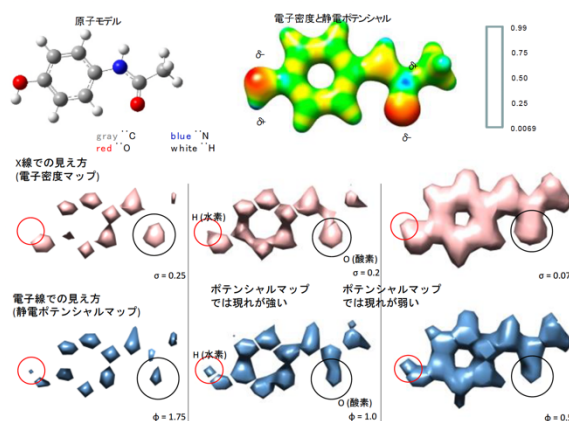


図1 アセトアミノフェンの電子密度(X線)と静電ポテンシャル(電子線)の違い:量子化学計算による示唆

2. 研究の目的

本研究では、電子線回折法を中心に、解析対象である「分子内の原子の持つ、電子分布に依存する分極状態を可視化する手法の研究開発」を行うこととした。特に、分子内の原子の単なる位置だけの情報の構造情報と比べて、分極状態が分かることによって、その分子の反応性や非共有結合性結合の推測や評価が、実験的に可能になる。結果として、生物のもつ酵素の反応性や創薬における分子の設計などに繋げることができると考えた。

3. 研究の方法

試料の傾斜シリーズによる「電子線回折からの構造解析手法」と「量子化学計算による電子配置の情報」を組み合わせる。図2に示すように、従来の電子線回折による電子密度による方法ではなく、対象分子の原子の原子核位置とともに電子軌道の電子配置を変化させた場合に、計算される静電ポテンシャルが電子線回折の観察強度を説明できるように、R因子を基に最適解を求めた。具体的には、電子軌道上の電子配置(電子個数)と原子位置を変化させ、それによる静電ポテンシャルおよび構造因子を推定することで、実験値を説明できる最適構造・電子配置を求めた。対象としては、解熱鎮痛薬であるアセトアミノフェン(図2)をモデル薬物として取扱い、全原子の精密化を試みた。加えて、単粒子解析や電子線回折により得られたタンパク質構造(PDBデータベース上で元データを公開しているもの)を対象として水酸基やカルボキシ基等の水素位置の精密化をおこなった。とくに、温度因子の影響を考慮する必要があり、今回は、分子全体の温度因子による揺らぎを考慮した。

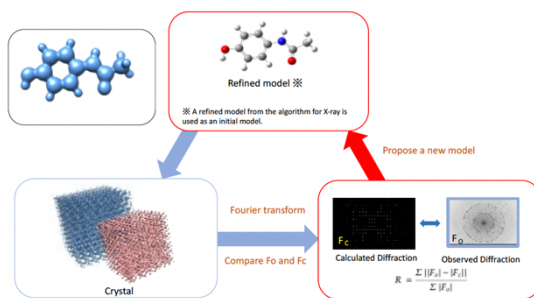


図2 構造解析法のフロー

挑戦的開発要素として、量子化学計算を加味した構造計算の開発にある。現在、Gaussian等の汎用量子化学計算ソフトを用いた場合、精密化の過程での静電ポテンシャル計算に時間がかかる(アセトアミノフェンの結晶構造(3 x 3 x 3)につき16時間程度)。そのため、アセトアミノフェンといえども、現状のシステム全原子の精密化は実施が困難であった。当初、この高速化を目指すとしたが、そこに至っていない。

挑戦的開発要素として、量子化学計算を加味した構造計算の開発にある。現在、Gaussian等の汎用量子化学計算ソフトを用いた場合、精密化の過程での静電ポテンシャル計算に時間がかかる(アセトアミノフェンの結晶構造(3 x 3 x 3)につき16時間程度)。そのため、アセトアミノフェンといえども、現状のシステム全原子の精密化は実施が困難であった。当初、この高速化を目指すとしたが、そこに至っていない。

4. 研究成果

ここでは、R因子を評価関数として、アセトアミノフェンの水酸基(OH基)の水素の配置に付いて、精密化を行った。X線回折法のソフトウェアを用いては、この水素位置を決定することはできなかった。今回、水素位置を回転させながら、量子化学計算を行い、X線結晶解析法と同

様の電子密度を用いて構造解析をおこなった場合 (図 3a 及び図 4a) と、静電ポテンシャルを用いて構造解析をおこなった場合の R 因子を計算した。その結果、水素の最適位置をそれぞれ求める事が出来たが、異なっていることが分かった。また、この際、分子全体の温度因子による補正を行うことで、R 因子は小さくなった。

静電ポテンシャルを用いて得られた水酸基の水素位置は、水酸基の水素が正に荷電していること、ベンゼン環の四重双極子 (図 5)、および単位胞近傍の元素の影響などから、妥当であることが示唆された。

これ以外に、メチル基についても構造の精密化を行ったところ、同様に、異なる位置が最適位置として求められた。また、いずれの場合も、静電ポテンシャルを用いた場合のほうが、R 因子の値が小さくなり、静電ポテンシャルを用いた構造解析が有効であることが示唆された。以上の事から、さらに、静電ポテンシャルを用いた構造解析を開発していく必要性を示唆するデータを得たといえる。

しかしながら、R 因子の値が大きい点に問題がある。これは、原子毎の温度因子を考慮していないことによると考えている。このため、実空間における温度因子の影響を考慮した上で、構造解析を行う方法を提案する必要がある。

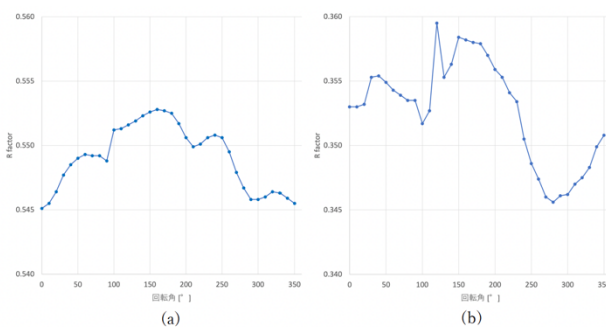


図 3 OH 基の回転角ごとの R factor

アセトアミノフェンの OH 基の水素を 10° ずつ回転し、R factor を計算してプロットしたもの。縦軸が R factor で横軸が回転角度。(a) 電子密度で算出したもの。(b) 静電ポテンシャルで算出したもの。

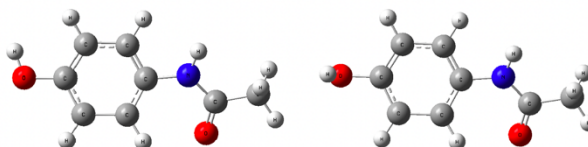


図 4 OH 基を回転させた時の R factor が最小の構造

図 3 で示したグラフの最も R factor が低い構造のモデル。(a) 電子密度で R factor を算出したときの最小のモデル。(b) 静電ポテンシャルで R factor を算出したときの最小のモデル。

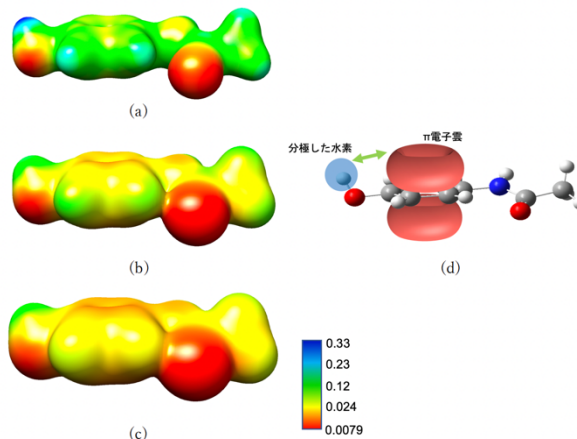


図 5 水酸基の水素とベンゼン環の四重双極子の位置関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Honda, Y., Takahira, K., and Yasunaga, T.
2. 発表標題 Structural refinement considering the electron orbitals in structural analysis using electron diffraction
3. 学会等名 生物物理学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------