

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：33905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00410

研究課題名(和文) ブロックモデルを基礎としたDNAの分極力場の開発

研究課題名(英文) Development of a Polarizable Force Field for DNA Based on the Block Model

研究代表者

中川 節子 (Nakagawa, Setsuko)

金城学院大学・生活環境学部・教授

研究者番号：50050711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：分子動力学シミュレーションは、タンパク質・核酸など生体高分子の動的構造を研究する上で有力な方法である。生体系のように多数の電荷をもつ不均一な系では、分極効果を取り入れた分極力場を使用して計算精度を上げる必要があると考えられる。しかし、DNAのようにリン酸イオンを多数含む系では、原子上の電荷と分極率を切り離して設定することが難しいので、高い精度を持つ分極力場を構築することができていない。そこで、電荷と分極率をブロック単位で求め、DNAに適応可能な実践的な方法を提案した。A、B、Z型のトリヌクレオチド二本鎖を用いて検証し、十分な精度を持つ分極ブロックモデルポテンシャルを開発した。

研究成果の概要(英文)：Molecular dynamics simulation is a powerful method for studying the dynamic structure of biopolymers such as proteins and nucleic acids. In heterogeneous systems with a large number of charges like biological systems, it is necessary to increase the calculation accuracy by using the polarizable force field incorporating the polarization effect. However, in a system containing a large number of phosphate ions like DNA, it is difficult to set the charge and the polarizability on atom separately, so it is not possible to construct a polarizable force field with high accuracy. Therefore, a practical method adaptable for DNA is proposed by obtaining charges and polarizabilities in block units. The method was verified using A, B, and Z type trinucleotide duplexes, and a polarized block model potential with sufficient accuracy was developed.

研究分野：生体分子の理論化学

キーワード：分極力場 分極率 誘起双極子 点電荷 核酸 ブロック分子 ブロックモデル DNA

## 1. 研究開始当初の背景

分子動力学シミュレーションは、タンパク質・核酸など生体高分子の動的構造を研究する上で有力な方法である。シミュレーションではこれまで、系のエネルギーを加算的に扱う二体のポテンシャルが使用されてきたが、生体系のように多数の電荷をもつ不均一な系では、分極効果を取り入れた分極力場を使用して計算精度を上げる必要があると考えられる。分極力場では、静電場によって誘起される双極子を組み込むため、多体の効果を取り込むことが可能である。

分極ポテンシャルを用いた計算は 1970 年代に始まっていた。しかし、コンピュータが発達してきた 1990 年代に入ってようやく、分極ポテンシャルを用いた液体や溶液のシミュレーションが盛んに行われるようになり、その必要性が認識されるようになった(文献 1)。生体高分子を扱う系では、分極ポテンシャルの必要性は、更に増すと考えられ、2000 年代に入って、分極ポテンシャルを扱うことができるように、生体高分子用のコンピュータ・プログラム(AMBER、CHARMM、TINKER 等)の拡張・開発が進められた(文献 2)。今日、DNA のシミュレーションにおいて、分極項の導入がある程度の成果を出しつつあるとはいえ、二体のポテンシャルの結果を格段に改善したとの報告は、現段階ではなされていない(文献 3)。核酸に対する分極ポテンシャルの第一世代のパラメータセットがようやく揃い、その評価と改良は始まったばかりであるといえる。

1993 年に筆者らは、量子力学計算から分子の多中心分極率を決定する方法である「分極一電子ポテンシャル最適化(POP)法」を新規に提案した(文献 4)。従来、分極率を分子上に分散させる方法はあったが、分子シミュレーションにおいて使用するにはパラメータ数が多く複雑で、利用が難しかった。POP 法がユニークだったのは、テスト電荷を用い、分子表面で生じる静電ポテンシャルの変化量を、簡単な誘起双極子で最適化した点にある。最適化結果は良好で、1995~2000 年には小形の有機分子に応用した(文献 5-7)。2007 年には、5 種の核酸塩基の分極ポテンシャルに関する研究結果を発表した(文献 8)。続いて発表した論文は、分極力場に関する特集号への寄稿である(文献 9)。POP 法の理論的背景を詳述すると共に、各種の誘起分極モデルの評価を行った。今日、POP 法に類似したテスト電荷を置く手法は、さまざまな分極モデルにおいて使用されている。

DNA のような高分子の場合、原子上に置く電荷と分極率を分離して決定することが難しく、ダブルカウントの問題が生じてくる。AMBER の分極力場では、原子電荷から分子内誘起分極の効果を予め差し引く手法が採られている(文献 10)。タンパク質・核酸のように複雑な系において、高精度の量子力学計算を再現する分極パラメータをいかにして決

定するかという問題は、解決すべき課題として残されている。

## 2. 研究の目的

リン酸イオンを多数含む高分子である DNA は、構成するヌクレオチドのコンフォメーション変化に伴って分子内の電荷分布が変化するので、原子上の電荷と分極率を切り離して設定することが特に難しい系である。本研究では、点電荷と原子分極率をブロック単位で求めることで、DNA に適用可能な実践的な方法を提案し、十分な精度を持つ分極ブロックモデルポテンシャル(PBMP)を開発する。

## 3. 研究の方法

(1) 分極力場は、次式で示すように、従来の二体のポテンシャルに分極項を新たに追加した形をとる。

$$V = V_{\text{結合}} + V_{\text{結合角}} + V_{\text{捻じれ角}} + V_{\text{面外角}} + V_{\text{静電}} + V_{\text{ファンデルワールス}} + V_{\text{分極}}$$

ここで、結合、結合角、捻じれ角、面外角の項は結合に関するエネルギーを表しており、静電、ファンデルワールス、分極項は非結合部の相互作用エネルギーを表している。1,2,3,4 番の原子が結合している場合、前者は 1-2,1-3,1-4 の結合のエネルギーを表している。後者は、基本的には 1-4 以上の相互作用を表している。

分極項は、次式のように表される。

$$V_{\text{分極}} = -(1/2) \sum_i \mu_i^0 \cdot E_i$$

ここで、 $\mu_i$  は i 番目の原子の等方的な分極率であり、 $E_i^0$  は i 番目の原子にかかる元々の静電場である。 $E_i$  は他のすべての点電荷と誘起双極子による静電場である。分極エネルギーは、原子上の電荷と誘起双極子間、誘起双極子と誘起双極子間の相互作用から算出されるが、誘起双極子は変化するので、繰り返し計算が必要となる。

分子の点電荷は静電ポテンシャル最適化(ESP)法で決定するのが一般的であり、本研究でも使用している。ESP 法では、量子力学計算で求めた分子表面の静電ポテンシャルを最適化するように一連の点電荷を決定する。求めた点電荷は、分子内で分極が生じた後の点電荷であるために、分子内の分極の効果を既に含んでいる。分子のコンフォメーションが変化すれば、点電荷の値も異なってくる。分極項において、分子内の誘起双極子-点電荷間相互作用を取り込むと、分極効果を過剰に取り込むことになる。ESP 法で点電荷を決定した場合は、分子内の誘起双極子-点電荷間相互作用は計算しないか、あるいは、何らかの方法で分子内分極をあらかじめ取り除いた点電荷を用いる必要がある。

AMBER の二体のポテンシャルでは、ESP 法の一種である RESP 法で決定した点電荷を採

用している。この点電荷は、分子内で分極が起こった後の点電荷であるために、そのままの形では分極力場で用いることができない。そこで、AMBER の分極力場では、分子内分極の効果をあらかじめ取り除いた、点電荷を採用している。また、TINKER では、タンパク質用の分極力場を作成する際、誘起双極子と点電荷間の相互作用の評価において注意が必要であるとしている。点電荷はグループ化し全体でゼロに近くなるようにして取り込む必要があると述べている(文献 11)。本研究では、分子内の誘起双極子 - 点電荷間相互作用は計算しない方法を用いた。

コンフォメーションの違いによる電荷分布の変化を、分子を細分化して、ブロック単位で点電荷と分極率を決めることで回避できるか検討した。コンフォメーション変化が少ないか、あるいは、変化を起しても点電荷の変化が少ない部分で、ヌクレオチドを分割した。図 1 はモノヌクレオチドの三分割例である。リン酸イオン部分(P)、デオキシリボース部分(R)、塩基部分(B)に分けている。一重結合部分で分割しており、分割部は H 原子でキャップする。ここでは、キャップしてできた分子をブロック分子と呼ぶこととする。積み木のように DNA をブロック分子で組み立てていくことになる。

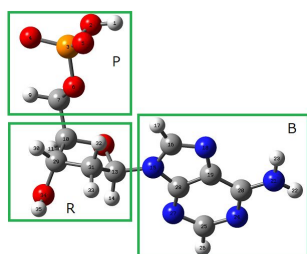


図 1 ヌクレオチドのブロック化  
H は白、C は灰色、N は青、O は赤、P は橙で各原子を示した。

各々のブロック分子の点電荷と原子分極率はそれぞれ、ESP 法と POP 法で決定する。その際、キャップした H 原子には点電荷を置かないで最適化する。更に、キャップした H 原子に近い分子表面 (2.2 Å 以内) は最適化の際には含めない。この扱いによって、各分割部分の点電荷の総和は厳密に、0 (ブロック分子が中性の場合) か -1 (ブロック分子がマイナスイオンの場合) とすることができる。ヌクレオチドのエネルギーを算出する際には、ブロック間の誘起双極子 - 点電荷間の相互作用はすべて含めるが、ブロック内のは完全に除外する。この取り扱いによって、ダブルカウントの問題を回避することが可能となる。これらの手法を用いて決定したものを、分極ブロックモデルポテンシャル (PBMP) と呼ぶこととする。

(2) DNA を構成するヌクレオチドに対して、PBMP のパラメータである点電荷と原子分極率を決定する。DNA を構成する 4 種のヌクレ

オチド (A, T, C, G) について、パラメータを決定した。リン酸基部分、デオキシリボース部分及び塩基部分に分けたヌクレオチド 3 ブロックモデルの開発を行った。更に、デオキシリボースの 3' 側にリン酸基を配置した部分 (RP) 及び塩基部分 (B) に分けたヌクレオチド 2 ブロックモデルの開発も進めた。点電荷と原子分極率の最適化の際に参照とするブロック分子の量子化学計算には、MP2/6-311++G(2d,2p)を用いた。

(3) 決定したパラメータを用い、分子表面の静電ポテンシャル及び相互作用エネルギーの再現性を評価する。パラメータの検証に用いたトリヌクレオチド二本鎖は、二重らせん構造の異なる A 型 CCC-GGG、B 型 GAC-GTC 及び Z 型 GCG-CGC である。いずれも X 線結晶構造解析データ (PDB-ID 1ZF1, 1ZF7, 3P4J) より構築した。図 2 には計算に用いた GAC-GTC の構造を示した。対イオンとして Na イオンを配置したモデルについても評価する。比較の対象とする量子化学計算には、MP2/6-31+G\*を用いる。vdw 項のパラメータは基本的には CHARMM36 より取得したが、相互作用エネルギー曲線の安定点を再現するよう改変している。

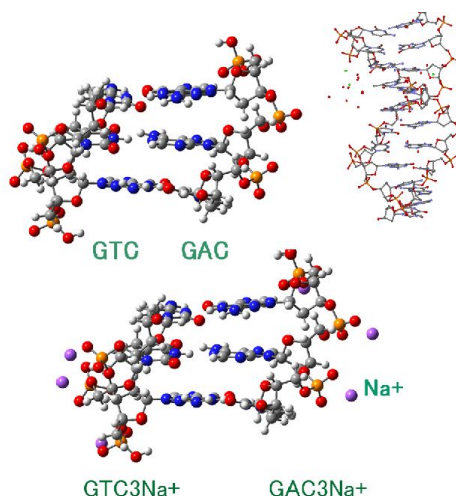


図 2 B 型 DNA の X 線結晶構造 (1ZF7) 及び計算に使用したトリヌクレオチド二本鎖と六つの Na イオンを配置した二本鎖の構造

(4) PBMP を構築し評価するための三つのプログラム (ESPFIT、POPFIT、IDFF) の改良・拡張を行った。

ESPFIT は、量子化学計算で求めた分子表面の静電ポテンシャルを再現するように、分子の点電荷を最適化するプログラムである。ブロック分子のキャップ H 原子を含めないで最適化できるよう改良した。

POPFIT は、量子力学計算で求めた分子表面の分極一電子ポテンシャルを再現するように、分子の原子分極率を最適化するプログラムである。ブロック分子のキャップ H 原子を含めないで最適化できるよう改良した。

IDFF は、決定した点電荷および原子分極率パラメータを用い、エネルギーを求めるプログラムである。ブロック分子内の点電荷-誘起双極子間の相互作用を含めないでエネルギー計算ができるように改良した。

#### 4. 研究成果

(1)PBMP 法をトリヌクレオチドに適用した。3ブロックモデルでは、9つのブロック分子からトリヌクレオチドのパラメータを作成した。2ブロックモデルでは、7つのブロック分子から作成した。

決定したパラメータを用い、トリヌクレオチドの分子表面の静電ポテンシャルを算出し、量子化学計算(MP2/6-31+G\*)の結果と比較した。A型のCCC、GGG、B型のGAC、GTC及びZ型のGCG、CGCのいずれの構造でも、3ブロックモデルよりも2ブロックの再現性がわずかではあるが優れていた(平均二乗偏差で2%改良)。2ブロックモデルでは、点電荷のみ考慮した場合の平均二乗偏差は6~8%であったが、分極効果を加味するといずれも2%に改良した。マイナス3価のイオンであるトリヌクレオチド分子では、ブロック分子から求めた点電荷は元々電荷分布をかなりうまく表していたが、分極効果を取り込むことで、量子化学計算の電荷分布を非常に良く再現できた。

対イオンとして三つのNa<sup>+</sup>をリン酸基の近くに配置した構造においても、分子表面の静電ポテンシャルの再現性を検討した。この構造でも、3ブロックよりは2ブロックの方が優れていた(平均二乗偏差で2~8%改良)。2ブロックモデルでは、点電荷のみの場合の平均二乗偏差は33~45%であったが、分極効果を加味すると11~16%に改善した。マイナス3価のトリヌクレオチドに三つのNa<sup>+</sup>が配置すると、ヌクレオチドの電子雲は、Na<sup>+</sup>に向けてかなり分極する。点電荷のみではこの分極は表現できないため、平均二乗偏差は大きい。一方、分極効果を加えるとリン酸基の電子がうまく分極し、全体の電荷分布を再現できたことがわかる。

(2)トリヌクレオチド二本鎖(CCC-GGG、GAC-GTC、GCG-CGC)の分子表面の静電ポテンシャルを算出し、量子化学計算の結果と比較した。ここでは、2ブロックモデルの結果を示す。

点電荷のみの場合の平均二乗偏差は3~5%であったが、分極効果を加味すると2%に改善した。一本鎖のトリヌクレオチドの場合と同様に、ブロック分子から求めた点電荷は電荷分布をかなりうまく表していたが、分極を取り込むことで、量子化学計算を非常に良く再現した。

Na<sup>+</sup>を配置したトリヌクレオチド二本鎖(CCC3Na-GGG3Na、GAC3Na-GTC3Na、GCG3Na-CGC3Na)の分子表面の静電ポテンシャルは、点電荷のみの場合には平均二乗偏差は38~48%であった。分極効果を加味すると10~13%

に大幅に改善した。Na<sup>+</sup>によるリン酸基の分極がPBMPではうまく再現されていることがわかる。

(3)2ブロックモデルを用いて、トリヌクレオチド二本鎖の相互作用エネルギーを求めた。A型のCCC-GGG、B型のGAC-GTC及びZ型のGCG-CGCのいずれの構造でも、リン酸基同士の強い反発を示した。量子化学計算で求めた相互作用エネルギー(BSSE補正したMP2/6-31+G\*)はそれぞれ86、135、131 kcal/molであった。PBMPでは、それぞれ85、138、131 kcal/molで、負電荷による反発を0~3 kcal/molの差でうまく再現していた。一方、同じ構造を二体のポテンシャルであるCHARMM36を用いて計算すると、それぞれ56、123、140 kcal/molで、-29~9 kcal/molの差を示し、反発をうまく再現することができていないことが分かった。

合計六つのNa<sup>+</sup>を配置したCCC-GGG、GAC-GTC及びGCG-CGCのいずれの構造でも、プラスとマイナスイオンによる強い安定化を示した。参照とする量子化学計算において相互作用エネルギーはそれぞれ-89、-61、-81 kcal/molであった。PBMPはそれぞれ-90、-62、-85 kcal/molで、-4~-1 kcal/molの差で量子化学計算を非常にうまく再現していた。一方、CHARMM36はそれぞれ-101、-58、-66で、-13~15 kcal/molの差となり、ある程度の再現性を示した。

今回検証した構造は、真空中に置いたトリヌクレオチド二本鎖と、対イオンとしてNa<sup>+</sup>を配置したかなり極端な構造であった。このような系でも良い結果が得られているので、水分子に囲まれている現実に近い系を扱った場合でも、良い再現性が得られると推定される。今回開発したPBMPは、コンフォメーションが大きく異なるA、B、Z型DNA二本鎖のいずれの構造でも電荷分布と相互作用エネルギーの再現性が良かった。同一のパラメータで、A、B、Z型のDNAを記述できるので、A、B、Z間のコンフォメーション変化を解析できる可能性もある。今後、PBMPを用いればDNAのシミュレーションの精度を改善できると期待される。

#### <引用文献>

- A. Warshel, M. Kato, AV. Pislakov, Polarizable Force Fields: History, Test Cases, and Prospects, J. Chem. Theory Comput. Vol. 3, No.6, 2007, pp 2034-2045.
- C. M. Baker, Polarizable Force Fields for Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules, WIREs Comput. Mol. Sci. Vol. 5, 2015, pp 241-254.
- P. D. Dans, I. Ivani, A. Hospital, G. Prortella, C. Gonzalez, and M. Orozco, How Accurate are Accurate Force-Fields for B-DNA?, Nucleic Acids Research, Vol. 45, No. 7, 2017,

pp 4217-4230.  
S. Nakagawa and N. Kosugi, Polarized One-Electron Potentials Fitted by Multicenter Polarizabilities and Hyperpolarizabilities. Ab Initio SCF-CI Calculation of water, Chem. Phys. Let. Vol. 210, 1993, pp 180-186.  
S. Nakagawa, Anisotropic Contribution in Multicenter Polarizabilities and First Hyperpolarizabilities. Ab Initio MP2 Calculations of Acetylene, Ethylene, Ethane and Benzene, Chem. Phys. Let. Vol. 246, 1995, pp 256-262.  
S. Nakagawa, Transferability in Multicenter Polarizabilities of Alkanes and Alcohols Derived from Ab Initio Polarized One-Electron Potentials, Chem. Phys. Let. Vol. 278, 1997, pp 272-277.  
S. Nakagawa, Polarizable Model Potential Function for Ion-Methanol Systems, J. Phys. Chem. A. Vol. 104, 2000, pp 5281-5290.  
S. Nakagawa, Polarizable Model Potential Function for Nucleic Acid Bases, J. Comput. Chem. Vol. 28, 2007, pp 1538-1550.  
S. Nakagawa, P. Mark, H. Gren, Recipe of Polarized One-Electron Potential Optimization for Development of Polarizable Force Fields, J. Chem. Theory Comput. Vol. 3, 2007, pp 1947-1959.  
P. Cieplak, J. Caldwell, and P. Kollman, Molecular Mechanical Models for Organic and Biological Systems Going Beyond the Atom Centered Two Body Additive Approximation: Aqueous Solution Free Energies of Methanol and N-Methylacetamide, Nucleic Acid Base, and Amide Hydrogen Bonding and Chloroform/Water Partition Coefficients of the Nucleic Acid Bases, J. Comput. Chem. Vol. 22, No. 10, 2001, pp 1048-1057.  
P. Ren and J. W. Ponder, Consistent Treatment of Inter- and Intramolecular Polarization in Molecular Mechanics Calculations, J. Comput. Chem. Vol. 23, No.16, 2002, pp 1497-1506.

#### 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 1 件)

S. Nakagawa, O. Weingart, and C. M. Marian, Dual Photochemical Reaction

Pathway in Flavin-Based Photoreceptor LOV Domain: A Combined Quantum-Mechanics/Molecular-Mechanics Investigation, J. Phys. Chem. B, 査読有, Vol. 121, No. 41, 2017, pp 9583-9596,  
DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b09207

[学会発表](計 4 件)

中川節子, DNA の分極モデルポテンシャル、理論化学討論会、2017年5月、京都大学 時計台国際交流ホール

Setsuko Nakagawa , Development of a Polarizable Block Model Potential function for DNA, Theory and Applications of Computational Chemistry (TACC) (国際学会) 2016年8月、University of Washington USA

中川節子, O. Weingart, and C. M. Marian, 青色光受容体 LOV ドメインの二つの反応経路に関する QM/MM 研究、理論化学討論会、2016年5月、早稲田大学 西早稲田キャンパス

中川節子, O. Weingart, and C. M. Marian, 青色光受容体 LOV ドメイン光サイクル反応に関する QM/MM 研究、理論化学討論会、2015年5月、大阪大学 大阪大学会館

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

中川 節子 (NAKAGAWA, Setsuko)  
金城学院大学・生活環境学部・教授  
研究者番号: 50050711

##### (3) 連携研究者

Christel M. Marian, (MARIAN, Christel M)  
Heinrich Heine University・Institute of Theoretical and Computational Chemistry・教授

##### (4) 研究協力者

Oliver Weingart (WEINGART, Oliver)  
Heinrich Heine University・Institute of Theoretical and Computational Chemistry・研究員