

令和元年6月7日現在

機関番号：32686

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04635

研究課題名(和文)アクチニド分子種と生体分子の相互作用に関する計算化学的研究

研究課題名(英文)Theoretical studies on the interaction between actinide species and biomolecules

研究代表者

望月 祐志(MOCHIZUKI, Yuji)

立教大学・理学部・教授

研究者番号：00434209

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、分子動力学(MD)計算とフラグメント分子軌道(FMO)計算を連携させることにより、保健物理分野におけるアクチニドイオン種とタンパク質/DNAの複合系に関する理論計算・シミュレーション手法を提案し、実証する研究を行いました。プログラム開発では、ABINIT-MP、PAICSで幾つかの機能の向上が図られました。また、MD-FMOスキームによって生成される大量の計算結果を統計的/機械学習的に処理・簡約するプロトコルも確立しました。応用計算では、カルモデュリン-Ca(II)/Eu(III)/Cm(III)系、DNA-UO₂(II)系などを扱い、学会や論文で公表しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

保健物理分野で問題となるアクチニド系イオンと生体分子の結合/相互作用をFMO計算によってまるごと電子状態レベルで解析することを世界で初めて達成した点は重要だと考えています。また、FMO計算を単一構造ではなくMDシミュレーションによって生成される多数(100以上)の構造サンプル群に対して適用し、生み出される膨大な数値データを統計的・機械学習的に処理して物理化学的な描像を得るプロトコルを確立した点も学術的な意味があると思います。DNA-ウラン系MD-FMO連携計算はChem. Comm.誌に出版済みですが、表紙を飾る高い評価を得ました。

研究成果の概要(英文)：In this research, by combining molecular dynamics (MD) simulation and fragment molecular orbital (FMO) calculation, we have performed theoretical studies for complex systems of actinide ion species and protein/DNA in the context of health physics. Several functional enhancements were made in the FMO programs, ABINIT-MP and PAICS. In addition, we have established a protocol to handle an amount of calculated data such as matrices of interaction energies generated by the combination of MD and FMO, based on statistical analyses and machine-learning techniques. As realistic applications, we have investigated calmodulin - ion (Ca(II), Eu(III) and Cm(III)) complex, DNA-uranyl complex and so on. These results have been presented in conferences as well as papers.

研究分野：計算化学、理論化学

キーワード：保健物理 アクチニド フラグメント分子軌道法 分子動力学法 FMO MD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原子力の保健物理分野において、放射性核種のイオン・分子種と生体分子(タンパク質や DNA)の相互作用に関する原子・分子レベルでの描像は実験的にほとんど得られていませんでした。一方、シミュレーションによる解析例も限られ、電子状態を扱う理論計算では部分系を切り出した限定的なモデルによるもので、信頼性の点で十分ではありませんでした。

2. 研究の目的

本研究では、分子動力学(MD)計算とフラグメント分子軌道(FMO)計算を連携させ、水和条件下のタンパク質や DNA をモデル化することなく、電子状態をそのまま計算して詳細な相互作用解析を行います。さらに、MD によって得られる多数の構造サンプル群の数値データを統計的に評価することにより、単一の最適化構造に依拠しないリアリティのある描像を得ます。

上記の目的を達するために、FMO 計算の機能強化や大量の結果データ解析手法の改良などの基盤整備も行います。これは、単なる応用計算的な研究で終わらないための重要なポイントです。

3. 研究の方法

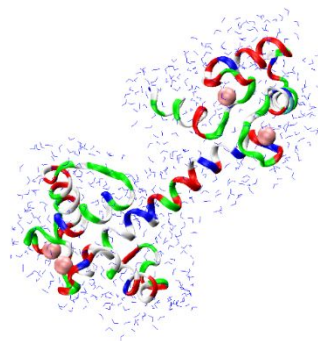
既述しているように MD と FMO を組み合わせた理論的なアプローチを取りました。古典力場の設定に留意して周期条件下で MD シミュレーションを行い、タンパク質ないし DNA を中心として液滴状に切り出して 100 個以上のサンプル構造を調製し、FMO 計算を行ってイオン-アミノ酸残基間、アミノ酸残基間の相互作用エネルギーのリストを取得します。こうしたリストを統計的に評価し、正常状態とアクチニド系イオン種の結合状態との差を検討しました。FMO 計算で得られた一連のデータ処理は、スクリプトなどを使って自動化すると共に、一部では機械学習などによる特徴量抽出なども試みました。

MD シミュレーションには定番のソフトウェア AMBER を、FMO 計算には、研究代表者(望月)が主開発者となっている ABINIT-MP プログラムを用いました。また、研究分担者(石川)が開発している FMO コード PAICS を使っての新規の摂動計算アルゴリズムの実装なども行いました。

4. 研究成果

(1) カルモデュリンとイオン種{Ca(II), Eu(III)}

【序】 カルモデュリンは、生体内に遍在するアミノ酸残基 148 個から成る Ca(II)イオン結合タンパク質であり、結合部位の数は 4 です(右図を参照)。各部位では、Asp と Glu の負電荷を帯びた残基が結合に重要な役割を担っています。核分裂生成物には Ln(III)が含まれますが、タンパク質や DNA などの生体分子との相互作用に関する研究例は未だに少ない状況です。そうした中、Eu(III)イオンに関してはカルモデュリンとの結合が実験的に調べられています(Horrocks et al., Biochem. 27 (1988) 413)ので、



MD-FMO 連携計算によって、Eu(III)の影響を評価することしました。

【計算】 先ず、Ca(II)結合カルモデュリンの結晶構造を用い、結合部位全ての Ca(II)を Eu(III)に置換しました。次に、プロトン化状態を調整し、さらに電荷的中和のために 12 個の Na (I)

イオンを加え、8Å 厚の水を配した系に対し、AMBER で MD シミュレーションを実行しました。昇温後の 100ns の軌跡から 1ns 毎に 100 個以上の構造を取り出し、対イオンの Na(I)を含む状態で水 4Å 厚の液滴モデルを調製し、これらのサンプルに対して ABINIT-MP によって FMO2-MP2 計算(メラープレセットの 2 次摂動)を行いました(Ca(II)と Eu(III)を合わせた総数で 250 程の FMO ジョブを実行)。基底関数は、Ca(II)と Eu(III)にモデル内殻ポテンシャル(Eu-4f 電子もポテンシャルで置換)、他の原子には 6-31G*を使用しました。

【結果】 MD 軌跡の解析からは、Eu(III)-カルモデュリンは構造がかなり変形することが視て取れました。結合部位毎に見ていくと、部位 1,2,4 は Ca(II)の場合と類似性があるものの、負荷電残基が 1 つ少なくイオンとの相互作用エネルギー的に最も小さい部位 3 には顕著な差が認められました。Eu(III)周りの水和数は部位 1,2,4 では 1.7~1.9、部位 3 では 2.9 と異なりますが、これは実験結

(kcal/mol)	#1	#2	#3	#4
Ca(II)	-245.0 ± 8.4	-249.0 ± 8.4	-213.6 ± 8.0	-250.6 ± 7.7
Eu(III)	-412.6 ± 15.3	-406.2 ± 14.0	-354.5 ± 14.0	-416.4 ± 12.9

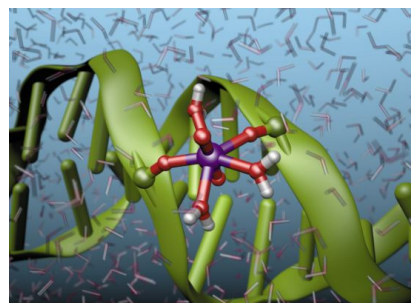
果(前出)に符合しています。FMO 計算の結果を右表にまとめました。Ca(II)の場合、部位 1,2,4 に比べて部位 3 は安定化エネルギーが小さくなりました。Eu(III)となると価数の増加に伴い安定化は増しますが、部位 3 が相対的に小さい値となるのは共通しています。興味深いのは、標準偏差が Eu(III)の方が有意に大きいことで、タンパク質の構造揺らぎの大きさに対応していると考えられます。また、荷電性のアミノ酸残基間の相互作用エネルギーの時間的変動が Ca(II)に比して Eu(III)では大きくなっており、カルモデュリン内の荷電バランスの変調から揺らぎの拡大がもたらされていると理解されます。機械学習による解析で荷電残基間の相互作用エネルギーを特徴付けてみると、残基の電荷重心間の距離が通常質量重心間の距離よりも大きな相関係数を持つことが確認されました。

【付記】 上記の解析の完了後、協力者(津島)が在籍するドイツ HZDR のグループの Cm(III)の実験データをさらに合わせて論文を構成して投稿を続けています。本報告書の作成時点(2019 年 4 月末)で、未だ出版受諾に至っていないのは残念ですが、アピール力の高い内容になっていると考えています。

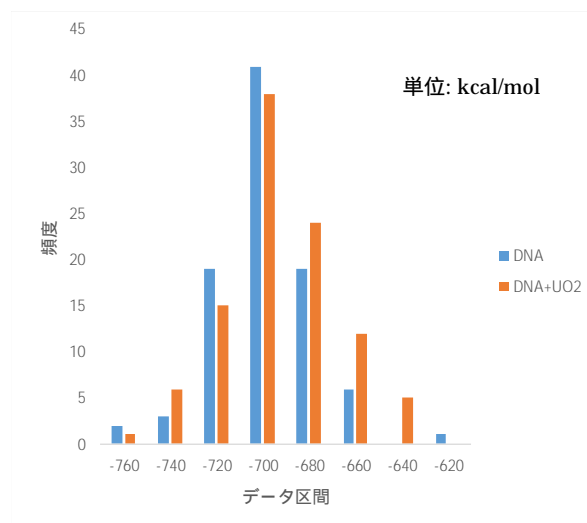
(2) DNA とウラニルイオン

【序】 ウラニルイオン(UO_2^{2+})と DNA との化学的な相互作用は、長年実験的な関心を集めてきました(Stearns et al., Mutagenesis. 20 (2005) 417 & George et al., Chem. Res. Tox. 24 (2011) 1830 など)。小型モデルによる構造最適化を伴う理論計算はありますが、リアリティの点で十分ではありませんでした。そこで、12 塩基対の DNA モデルを取り、MD-FMO 連携による大規模なシミュレーションを行いました。解析にあたっては、塩基ユニットの相互作用エネルギーに対するウラニルイオンの有無による変化に特に着目しました[雑誌論文 1]。

【計算】 Na(I)を対イオンとして AMBER による MD を行い、一連の軌跡から 1ns インターバルで液滴状の構造サンプルを取り出しました。ウラニル有りの場合、右図のように DNA の 2 本鎖に架橋する構造が 100ns を超える時間でも安定に得られていました。FMO の計算レベルは、分散力の過大評価を低減する高次励起を実行的に取り込める修正 MP2 法としました。また、基底関数には H を除く全ての原子にモデル内殻ポテンシャルを用いました(U 原子の相対論効果も考慮)。



【結果】塩基対間(AT対とCG対)の水素結合のエネルギーは、12塩基全体としてはウラニルの有無で大きな差は見られませんでした。一方、塩基のスタッキングの相互作用エネルギーでは、ウラニルが架橋している近傍の部位では、分散が大きくなるなどの有意な差が認められました。また、水素結合とスタッキングを合算した全相互作用エネルギーでは、右図のようにウラニルが有る場合には安定化が減じたサンプル構造の数が増えていることが分かりました。



(3) プログラムの機能強化とデータ解析

2電子積分の恒等分解(RI)を使ったMP3(メラープレセット摂動の3次)の新規アルゴリズムを分担者(石川)と創案し、PAICSに先ず実装の後にABINIT-MPにも移植しました[雑誌論文6]。その他、ABINIT-MPの高速化や励起状態モデルの改良も行いました[雑誌論文5&7]。

FMO計算の相互作用エネルギーのデータの解析に機械学習・深層学習を用いる研究も進め[雑誌論文4&8]、カルモデュリンやDNAの解析でも用いました。また、今後の研究展開を意識して粗視化シミュレーション関係の整備も立ち上げました[雑誌論文2&3]。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 30 件)

"Destabilization of DNA through interstrand crosslinking by UO_2^{2+} " A. Rossberg, T. Abe, K. Okuwaki, (全8名7番目に Y. Mochizuki), Chem. Comm., 55 (2019) 2015-2018. 査読有り
<https://doi.org/10.1039/C8CC09329F>

"FMO計算-粗視化シミュレーション連携手法の開発と応用", 奥脇弘次, 土居英男, 望月祐志, (全6名3番目), J. Comp. Chem. Jpn., 17 (2018) 144-146. 査読有り
<https://doi.org/10.2477/jccj.2018-0020>

"A portable code for dissipative particle dynamics (DPD) simulation with additional specific interactions", H. Doi, S. Saitou, K. Okuwaki, (全5名5番目に Y. Mochizuki: corresponding author), CBI-J., 18 (2018) 70-85. 査読有り
<https://doi.org/10.1273/cbij.18.70>

"Application of TensorFlow to recognition of visualized results of fragment molecular orbital (FMO) calculations", S. Saitou, J. Iijima, M. Fujimoto, (全7名4番目に Y. Mochizuki: corresponding author), CBI-J., 18 (2018) 58-69. 査読有り
<https://doi.org/10.1273/cbij.18.58>

"Accuracy of Dimer-ES Approximation on Fragment Molecular Orbital (FMO) Method", T. Nakano, K. Fukuzawa, Y. Okiyama, (全6名6番目に Y. Mochizuki), CBI-J., 18 (2018) 119-122. 査読有り
<https://doi.org/10.1273/cbij.18.119>

"RI-MP3 calculations of biomolecules based on the fragment molecular orbital method",
T. Ishikawa, K. Sakakura, Y. Mochizuki, (全 3 名 3 番目) J. Comp. Chem., 39 (2018)
1970-1978. 査読有り

<https://doi.org/10.1002/jcc.25368>

"Development of the Fragment Molecular Orbital Method for Calculating Non-local
Excitations in Large Molecular Systems", T. Fujita, Y. Mochizuki, (全 2 名 2 番目), J. Phys.
Chem. A, 122 (2018) 3886-3898. 査読有り

<https://doi.org/10.1021/acs.jpca.8b00446>

"FMO プログラム ABINIT-MP の開発状況と機械学習との連携", 望月祐志, 坂倉耕太, 秋永
宜伸, (全 11 名 1 番目), J. Comp. Chem. Jpn., 16 (2017) 119-122. 査読有り

<https://doi.org/10.2477/jccj.2017-0051>

〔学会発表〕(計 83 件)

Y. Mochizuki, et al., "FMO-based interaction analyses on uranyl(VI)-bound model DNA"
(Poster) 4th International Workshop on Advanced Techniques in Actinide Spectroscopy
(ATAS 2018), Univ. Nice, France, 2018/11/7.

Y. Mochizuki, et al., "Development status of ABINIT-MP program in 2018" (Poster) CBI
conference 2018, Tokyo, 2018/10/9.

望月祐志, 津島悟, 他, "FMO 法を用いたカルサイト結晶表面とペプチドの相互作用解析"
(口頭発表) 応用物理学会秋期年会 2018, 名古屋, 2018/9/19.

望月祐志, 津島悟, 他, "フラグメント分子軌道(FMO)法のナノバイオ系への応用事例"(招待
講演) 日本生物工学会大会シンポジウム, 大阪, 2018/9/7.

望月祐志, 津島悟, 他, "MD-FMO 連携計算による DNA-ウラニル系の相互作用解析"(口頭
発表) 応用物理学会春期年会 2018, 東京, 2018/3/17.

望月祐志, 津島悟, 他, "ウラニルイオンと DNA の相互作用"(ポスター), 極限環境生物学
会, つくば, 2017/11/12.

望月祐志, 他 "FMO プログラム ABINIT-MP の開発状況と機械学習との連携"(口頭発表),
日本コンピュータ化学会 2017 年秋季年会, 熊本, 2017/10/21.

望月祐志, 津島悟, 他, "Eu(III)とカルモデュリンの相互作用についての計算化学的研究"
(口頭発表), 日本原子力学会 2017 秋の年会, 札幌, 2017/9/15.

Y. Mochizuki, S. Tsushima, et al. "Site-specific binding affinity of Eu(III) towards
Ca-binding protein calmodulin: A combined spectroscopic and theoretical study", (Oral),
Actinides 2017 Conf., Sendai, 2017/7/12.

Y. Mochizuki, S. Tsushima, et al. "Fragment Molecular Orbital (FMO) for studying
actinide interaction with proteins", (Oral), 3rd International Workshop on Advanced
Techniques in Actinide Spectroscopy (ATAS 2016), EMSL Richland, Washington, USA,
2016/11/8.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

雑誌論文[1]が Chem. Comm.誌の表紙を獲得 (2019, Issue 14)
<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/cc/c8cc09329f#!divAbstract>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 石川 岳志

ローマ字氏名： ISHIKAWA takeshi

所属研究機関名： 鹿児島大学

部局名： 学術研究院 理工学域工学系 化学生命・化学工学専攻

職名： 教授

研究者番号（8桁）： 80505909

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 津島 悟

ローマ字氏名： TSUSHIMA satoru

研究協力者氏名： 古明地 勇人

ローマ字氏名： KOMEIJI yuto

研究協力者氏名： 森 寛敏

ローマ字氏名： MORI hirotoshi

研究協力者氏名： 中野 達也

ローマ字氏名： NAKANO tatsuya

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。