

令和元年6月25日現在

機関番号：33304

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05670

研究課題名(和文)高精度電子カップリング計算による生体励起エネルギー移動の解明

研究課題名(英文) Electronic coupling calculations for excitation energy transfer in biological systems

研究代表者

藤本 和宏 (Fujimoto, Kazuhiro)

北陸大学・薬学部・講師

研究者番号：00511255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：高精度電子カップリング計算法であるTDFI法の拡張を行い、振電カップリングの計算を可能にした。また、本手法をザントロドプシンの吸収・円偏光二色性(CD)スペクトルの計算へ適用した。TDFI計算の結果、本系の電子カップリングにはクーロン相互作用が大きく寄与し、交換相互作用の寄与は非常に小さなものであった。したがって、この系での励起エネルギー移動はフェルスター機構が支配的であることが明らかとなった。計算で求めたCDスペクトルは、実験のCDスペクトルの特徴を再現することに成功した。また、ザントロドプシンの負と正のコットン効果は振電カップリングの影響により出現することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで励起エネルギー移動(EET)に関する多くの研究が行われてきたが、それらの大多数は双極子・双極子近似が適用可能な系のみを扱ったものである。これに対し、私はこれまでにTDFI法という電子カップリング計算法を考案し、EETの研究対象を広げることに成功してきた。本研究ではEETの研究対象を更に広げられるよう、TDFI法に振電相互作用を取り込むことを試みた。これにより、これまであまり研究されてこなかった振電カップリングの計算を可能にした。また本手法を生体分子のザントロドプシンに適用することで、EETの分子機構を解明することにも成功した。

研究成果の概要(英文)：A vibronic exciton model combined with a transition-density-fragment interaction (TDFI) method is developed, and it is applied to the calculations of absorption and circular dichroism (CD) spectra of xanthorhodopsin. The TDFI calculation clearly shows that Coulomb interaction predominantly contributes to the electronic coupling energy between carotenoid and retinal, whereas exchange interaction results in a negligible contribution. Thus, the antenna function of carotenoid is found to result from the Forster type of excitation-energy transfer, not from the Dexter one. The absorption and CD calculations successfully reproduce the main features of the experimental spectra. Based on these results, we investigate the mechanism of biphasic CD spectrum observed in xanthorhodopsin. The results indicate that vibronic coupling between carotenoid and retinal plays a significant role in the shape of the CD spectrum.

研究分野：量子化学

キーワード：励起状態 物理化学 生物物理

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

## 1. 研究開始当初の背景

励起エネルギー移動 (EET) は分子ペアや分子集合体で観測される現象であり (図1) その特性は生体内の光反応において広く用いられている。EET 研究は、フェルスターの EET 速度式が発表された 1948 年以降、精力的に行われてきた。EET 速度式の中には電子カップリングと呼ばれる「ドナーの脱励起とアクセプターの光励起に関する電子の相互作用」が含まれる。フェルスターは双極子・双極子 (DD) 近似の適用により、積分量である電子カップリングを遷移双極子による分子間配向と分子間距離を用いて表すことに成功した。このお陰で電子カップリングの値を簡単に計算できるようになったが、他方で DD 近似の制約により「ドナー・アクセプター間の距離が分子サイズよりも大きい場合でしか適用できない」問題を含むこととなった。そのため、ドナー・アクセプター間の距離が近い系で起こる近距離 EET において電子カップリングを求めることができないのである。これまでに EET に関する多くの研究が行われてきたが、それらの大多数は DD 近似が適用可能な系のみを扱ったものである。したがって、近距離 EET に対する理論研究はほぼ手つかずの状態となっている。生体系の EET を含め、実験で EET 研究の進展があったとしても、計算手法の制約のために理論研究が行えないのは大きな問題だと言えるだろう。

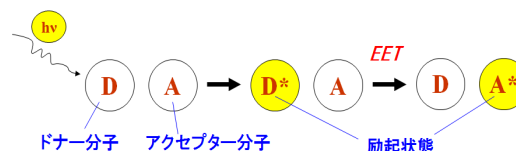


図1. 励起エネルギー移動 (EET) の概念図.

こうした DD 近似の問題を解決するため、私は TDFI 法と TrESP-CDQ 法という 2 つの電子カップリング計算法を考案してきた。TDFI 法ではドナー・アクセプター分子のそれぞれの遷移電子密度を使用し、TrESP-CDQ 法では各原子の遷移電荷・遷移双極子・遷移四極子を用いて電子カップリングを計算する。TDFI 法と TrESP-CDQ 法の違いは量子論と古典論による記述の仕方にあるのだが、両手法とも DD 近似が適用不可能な近距離 EET に対しても高精度な電子カップリング計算を実現させた。

こうした DD 近似の問題を解決するため、私は TDFI 法と TrESP-CDQ 法という 2 つの電子カップリング計算法を考案してきた。TDFI 法ではドナー・アクセプター分子のそれぞれの遷移電子密度を使用し、TrESP-CDQ 法では各原子の遷移電荷・遷移双極子・遷移四極子を用いて電子カップリングを計算する。TDFI 法と TrESP-CDQ 法の違いは量子論と古典論による記述の仕方にあるのだが、両手法とも DD 近似が適用不可能な近距離 EET に対しても高精度な電子カップリング計算を実現させた。

## 2. 研究の目的

これまでに私が開発してきた電子カップリングの計算手法を更に発展させること、そして開発した計算手法により生体分子に関する EET 機構を明らかにすること、を本研究の目的とした。

### (1) 振電相互作用を取り込んだ電子カップリング計算法の開発

これまでの私の計算では電子カップリングに対する振電相互作用の効果を一切考慮していなかった。そこで、振電相互作用を含んだ電子カップリング (振電カップリング) の形式へ理論を拡張させることを目指した。こうした理論の拡張により、実在系へ適用可能な EET 理論へ発展させたいと考えた。

### (2) 電子カップリング計算の生体分子への適用

今回新たに開発した電子カップリング計算法をレチナールタンパク質の一種であるザントロドプシンに適用することで、EET の分子機構の解明を目指した。TDFI 法には、エネルギー分割解析を行えるという利点があるが、この解析をザントロドプシンへ適用することで、電子カップリングへ大きく寄与する相互作用を解明したいと考えた。また今回開発した手法は系全体のハミルトニアン行列を構築する際にも適用可能である。そこで、ザントロドプシンの吸収スペクトルと円偏光二色性 (CD) スペクトルの計算へ本手法を適用することを目指した。

## 3. 研究の方法

本研究では、振電カップリング計算や CD スペクトル計算といった計算科学的手法の開発、およびそれら手法を生体分子に対して適用することを試みた。

(1) 基準振動解析と電子カップリング計算を組み合わせることで振電カップリングの算出を試みた。また、タンパク質環境の効果を記述するため、QM (量子力学) /MM (分子力学) 法とも組み合わせることを試みた。従来の私の電子カップリング計算では EET に関わる色素分子の振動状態を全く考慮していなかったが、本手法の開発によってタンパク質中での振電カップリングの値を求められるようにした。

(2) 振電カップリング計算を用いて系全体のハミルトニアン行列を構築し、そこから系全体の吸収スペクトルや CD スペクトルを求めることを試みた。

(3) 上記で開発した手法をザントロドプシンに適用することで、カロテノイドとレチナール色素と間で起こる EET の分子機構を解明することを試みた。また上記で開発した手法を用いてザントロドプシンが有する特異な CD スペクトルの形状と EET の関係についても解明することを試みた。

## 4. 研究成果

#### (1) TDFI 法の振電カップリング計算への拡張

TDFI 法と基準振動解析、さらに QM/MM 法を組み合わせることでタンパク質環境の影響を取り込んだ振電カップリング計算を可能とした。さらに、本手法をハミルトニアン行列の行列要素の計算に使用することで、大規模系に対する励起状態計算を可能とした。また、ここで得られた波動関数を用いて系全体の吸収スペクトルと CD スペクトルを計算できるようにした。

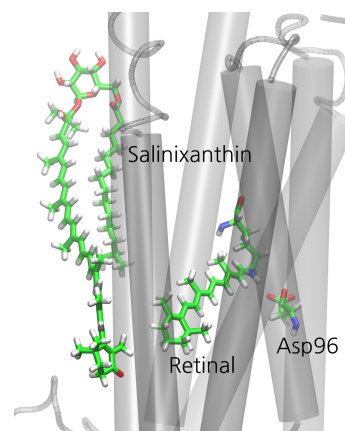


図2. ザントロドプシンの構造。

#### (2) ザントロドプシンの EET 機構の解明

(1)で開発した手法をレチナルタンパク質の一種であるザントロドプシンに対して適用した(図2)。ザントロドプシン中ではカロテノイドとレチナルとの間で EET が起こることが知られている。これらの色素間の距離は色素サイズと比べて近いことから DD 近似は適用できない。また、色素間距離が近いことから、スピン交換相互作用が主因となるデクスター機構がこの EET の起源ではないかと議論されてきた。この分子機構を明らかにするため、TDFI 法による電子カップリング計算を行った。その結果、スピン交換相互作用の効果はほぼゼロであること、そしてクーロン相互作用が支配的になることが分かった。したがって、本系ではデクスター機構ではなく、フェルスター機構により EET が起きていることが明らかとなった。

#### (3) ザントロドプシンの CD スペクトルの形状の解明

CD スペクトルの形状に対してエキシトン(励起子)結合が大きく影響を与えることが知られており、この現象は Exciton-Coupled CD (ECCD)と呼ばれている。ザントロドプシン中の CD スペクトルは一般的なレチナルタンパク質の形状とは異なるために CD に対する EET の関与(すなわちエキシトン結合)が示唆されているが、その本質は明らかとなっていない。そこで、TDFI 法を用いた振電カップリング計算によってザントロドプシンの CD スペクトルを求めた。その結果、計算で求めた CD スペクトル(図3)は大きな負と正のコットン効果を示し、実験で得られているザントロドプシンの CD スペクトルの特徴を再現することに成功した。また、振電カップリングを含めずに CD 計算を行ったところ、コットン効果の符号が逆転した形状のスペクトルが得られた。したがって、ザントロドプシンの負と正のコットン効果は振電カップリングの影響により出現することが明らかとなった。更なる解析の結果、電子カップリングが負値となることがザントロドプシンの CD スペクトルの形状に重要であることが明らかとなった。

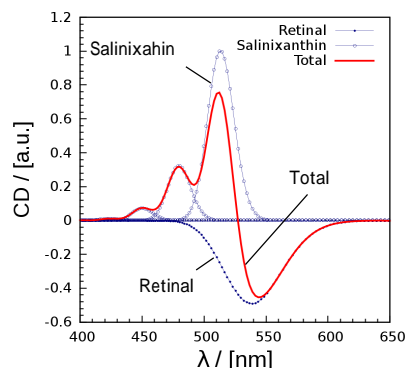


図3. CDスペクトルの計算結果。

#### (4) ドッキングシミュレーション法の改良

ザントロドプシンではカロテノイドがタンパク質表面に付加することでカロテノイド・レチナル間の EET が実現される。野生型ザントロドプシンとは異なる配置のカロテノイド結合を探索するため、私が以前から開発していたドッキングシミュレーション法の改良を行った。ここではドッキングシミュレーションと分子動力学計算と組み合わせることで、タンパク質の揺らぎ(誘導適合)を考慮したりガンドドッキング計算を行えるようにした。また、本手法を用いてインシリコ創薬の研究を試みたところ、超強力な抗サイトメガロウイルス薬の候補を設計することに成功した。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Kazuhiro J. Fujimoto and Sergei P. Balashov, Vibronic coupling effect on circular dichroism spectrum: Carotenoid-retinal interaction in xanthorhodopsin, *The Journal of Chemical Physics*, 査読有, Vol. 146, 2017, pp. 95101  
DOI: 10.1063/1.4977045

Kazuhiro J. Fujimoto, Daiki Nema, Masayuki Ninomiya, Mamoru Koketsu, Hidetaka Sadanari, Masaya Takemoto, Tohru Daikoku, and Tsugiyu Murayama, An in silico-designed flavone derivative, 6-fluoro-4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, has a greater anti-human cytomegalovirus effect than ganciclovir in infected cells, *Antiviral Research*, 査読有, Vol. 154, 2018, pp. 10-16  
DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.03.006

Hidetaka Sadanari, Kazuhiro J. Fujimoto, Yuto Sugihara, Tomoki Ishida, Masaya Takemoto, Tohru Daikoku, and Tsugiyu Murayama, The anti-human cytomegalovirus drug triclin inhibits cyclin-dependent kinase 9, *FEBS Open Bio*, 査読有, Vol. 8, 2018, pp. 646-654  
DOI: 10.1002/2211-5463.12398

〔学会発表〕(計3件)

藤本 和宏、バラショフ セルゲイ、CD スペクトルに対する振電相互作用の効果：ザントロドブシン中でのカロテノイド レチナル相互作用、第11回分子科学討論会、2017

藤本 和宏、根間大貴、二ノ宮真之、纈纈守、定成秀貴、武本眞清、大黒徹、村山次哉、インシリコ創薬の手法を用いた超強力な抗サイトメガロウイルス薬の開発、第12回分子科学討論会、2018

藤本 和宏、高精度ドッキングシミュレーション法の開発と抗ウイルス薬のデザイン、日本薬学会北陸支部第130回例会、2018

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：