

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：34521

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650158

研究課題名(和文) Hadwiger の定理に基づいた蛋白質水和熱力学量の汎用的計算手法

研究課題名(英文) Hydration thermodynamics of a protein developed by using Hadwiger theorem

研究代表者

原野 雄一 (Harano, Yuichi)

姫路獨協大学・薬学部・准教授

研究者番号：60456259

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000 円

研究成果の概要(和文)：本研究は『Hadwigerの定理』に基づいて蛋白質の水和熱力学量を簡便に計算する方法論の開発可能性及びその汎用性を検討するものである。その定理から導かれる系の形状と物理量との関係性を、溶質分子と水和熱力学量との関係に適用すると、溶質分子の4つの幾何学的指標とそれに掛かる係数によって熱力学量は表記される。溶質の部分モル熱力学量がこの式に従うとすれば、水和熱力学量の計算を非常に簡便に行うことができ、しかも汎用性が極めて高いことが期待される。これら一連の計算手続きに関する方法論を確立し、複雑な分子の水和熱力学量に関する優れた計算手法開発の可能性を探った。

研究成果の概要(英文)：We have developed a versatile method for calculating solvation thermodynamic quantities for molecules, starting from their atomic coordinates. The contribution of each atom to the thermodynamic quantities is estimated as a linear combination of four fundamental geometric measures of the atomic species, which are defined by Hadwiger's theorem, and the coefficients reflecting their solvation properties. This treatment enables us to calculate the solvation free energy with high accuracy despite of the limited computational load. The method can readily be applied to macromolecules in an all-atom molecular model, allowing the stability of these molecules' structures in solution to be evaluated.

研究分野：生物物理

キーワード：水和熱力学 Hadwiger定理 計算化学

1. 研究開始当初の背景

蛋白質の機能はその立体構造と密接に関連しており、その関連性は現代の生物科学にとっては必要不可欠な情報である。一般的な球状蛋白質は溶液中に存在しており、その立体構造は置かれた溶媒環境に依存して大きく変化する。従って、機能との相関を調べる上で溶媒である水は無視できない存在である。しかも、実験的に観測される量は熱力学量であり、生体分子の構造変化とそれに伴う熱力学を議論することは本質的な重要性を持つ。このことから、水和にともなう熱力学量の変化(水和熱力学量)に関する様々な計算手法が提案されているが、計算精度が良く、しかも蛋白質のような巨大分子にまで適応するためには計算速度が要求されるが、そのような要求に答える計算手法は未だ存在しない。

近年、我々の研究グループでは『Hadwigerの定理(1957年)』に基づき、溶媒分子の幾何学的形状と熱力学量に関する定式化を行い、剛体球原子モデルの溶質-溶媒システムに対して試算を実施した。その結果、精密な統計力学を用いて計算した水和自由エネルギーを 10^4 倍速い計算時間で、かつ1%以下の誤差で再現することを確認している[R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, "Morphometric Approach to the Solvation Free Energy of Complex Molecules." *Phys. Rev. Lett.* **97**, 078101 (2006)]. しかし、より現実的な原子間相互作用を反映した全原子溶質分子モデルに適用した例はなく、本研究が端緒となる。

2. 研究の目的

蛋白質の水和熱力学量はその機能を議論する上で必須であるが、その計算は蛋白質分子の巨大さと複雑さのため困難を極める。本研究は『Hadwigerの定理』に基づいて蛋白質の水和熱力学量を簡便に計算する方法論の開発可能性及びその汎用性を検討するものである。その定理から導かれる系の形状と物理量との関係性を、溶質分子と水和熱力学量との関係に適用すると、溶質分子の4つの幾何学的指標とそれに掛かる係数によって熱力学量は表記される。溶質の部分モル熱力学量がこの式に従うとすれば、水和熱力学量の計算を非常に簡便に行うことができ、しかも汎用性が極めて高いことが期待される。これら一連の計算手続きに関する方法論を確立し、複雑な分子の水和熱力学量に関する優れた計算手法開発の可能性を探る。

3. 研究の方法

『Hadwigerの定理』に従えば、水和熱力学量は蛋白質分子の形状を表す4つの幾何学的指標とそれに掛かる係数によって決定されるという、非常に簡単な式に落とし込める。そこで、化学的発想から構成原子の性質

を考慮するため、その幾何学的形状を原子の寄与に分割した表式を導出する。その後、異なった分子種の熱力学量を用いることによって、構成原子の幾何学的寄与に対する係数を決定する。例えば、20種類のアミノ酸に関しての熱力学量と、それらを構成する少なくとも5種類の原子種による幾何学的寄与が与えられた場合、それらに掛かる4つ係数は、結局20個の連立方程式を解く事で得ることができる。このように低分子の熱力学量から求められた係数を用いて、蛋白質の水和熱力学量が再現できるかの検証を試みる。

4. 研究成果

本研究は『Hadwigerの定理』に基づいて蛋白質の水和熱力学量を簡便に計算する方法論の開発可能性を検討するものである。系の形状とその熱力学量との関係が、『Hadwigerの定理』に従うとすると、熱力学量(Q)は系の形状を表す4つの幾何学的指標(V ;体積、 A ;表面積、 C ;境界の曲率、 X ;オイラー定数)とそれに掛かる4つ係数(a, b, c, d)によって表され、以下の様な非常に簡単な式に落とし込める。

$$Q = aV + bA + cC + dX \quad \dots(1)$$

特に水和自由エネルギー(F_{solv})の場合、以下のようになり、

$$F_{solv} = -pV + \sigma A + \kappa C + \bar{\kappa} X \quad \dots(2)$$

各係数はそれぞれ P ;圧力、 σ ;表面張力、 κ ;折れ曲がり剛性に関する量等として物理的意味合いを持つようになる。このような関係性は後に得られた係数の妥当性を推し量る際に必要になる。以下、水和熱力学量算出に際し行った、具体的な研究成果について記述する。

①分子形状の定義に関する評価

分子の形状と水和熱力学量が『Hadwigerの定理』に従うと仮定すると、分子の形状は明確に定義されなければならない。すなわち、系と外界とが厳密に区別される必要がある。しかし、“分子”というミクロスコピックな描像では厳密な境界は物理的に定義できない事は、量子化学が示すところである。そこで、古典論として分子シミュレーションが有効である様に、どのような近似を持って分子形状の定義が妥当であるか検討を行った。その結果、溶液中では分子は常に動いていると考えられるため、幾何学的指標は固定された1分子のものではなく、平均値を用いる必要があることが解った。その場合の対応策として、分子シミュレーションの援用で溶質分子の幾何学的形状の平均量を得た。

②原子寄与への要素分割を行う式の導出

多原子分子への適応は、剛体球系では成果を収めている[R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, *Phys. Rev. Lett.* **97**, 078101 (2006)].

ここでは Connolly アルゴリズム [M. L. Connolly, *Science*, 221, 709–713 (1983)]を用いて分子の幾何学的形状を算出している。さらに本研究では、化学的な発想から構成原子の性質を考慮するため、その幾何学的形状を原子寄与に分割した表式を導出しなければならない。この課題に関しては、プログラミングを含め、Roland Roth 教授 (ニュルンベルグ-エアランゲン大学) と共同で実施した。

③係数決定に関する検討

ある分子 (j) の水和熱力学量 (Q_j) に関する式 (2) は、各構成原子からの寄与に分割できたとして、以下の様子に書ける。

$$Q_{\text{molecule } j} = \sum_{\text{atom type } i} a_i V_i^j + b_i A_i^j + c_i C_i^j + d_i X_i^j \dots (3)$$

上述の成果から、分子の $V \sim X$ までの幾何学的指標は既知の値になる。次に、それぞれの係数を求めることになるが、以下のように異なった分子種の熱力学量を用いることによって決定する。成功例として、20種類のアミノ酸に関しての熱力学量が与えられた場合を示す。5種類の原子種に分割できたとして、それらによる寄与を考えれば、4つの幾何学的形状に掛かる係数は、以下の行列で定義できる。

$$\begin{pmatrix} Q_{\text{ALA}} \\ \vdots \\ Q_{\text{HIS}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} V_{\text{C}}^{\text{ALA}} A_{\text{C}}^{\text{ALA}} C_{\text{C}}^{\text{ALA}} & \dots & A_{\text{H}}^{\text{ALA}} C_{\text{H}}^{\text{ALA}} X_{\text{H}}^{\text{ALA}} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ V_{\text{C}}^{\text{HIS}} A_{\text{C}}^{\text{HIS}} C_{\text{C}}^{\text{HIS}} & \dots & A_{\text{H}}^{\text{HIS}} C_{\text{H}}^{\text{HIS}} X_{\text{H}}^{\text{HIS}} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_{\text{C}} \\ b_{\text{C}} \\ c_{\text{C}} \\ \vdots \\ b_{\text{H}} \\ c_{\text{H}} \\ d_{\text{H}} \end{pmatrix} \quad \dots (4)$$

ここで、ALA、HISなどはアミノ酸の種類を意味し、下付きのアルファベットはアミノ酸を構成する5種類の原子種 (C: 炭素、N: 窒素、O: 酸素、S: 硫黄、H: 水素) を意味する。この例では、各原子からの幾何学的寄与が与えられた場合、それらに掛かる4つ係数は、正方行列の固有値を決定する問題に帰着させることができる。

例では正方行列を生成させた。しかしながら、炭素や水素の要素に比べて、硫黄などは明らかに要素としては少なく、結果的に疎行列になってしまう。したがって、場合によっては信頼性のある解を得ることが出来ない可能性があった。疎行列の固有値を求めるための手法は計算科学的に数多く提案されており、しかも、適切な解法は解くべき問題に大きく依存することが知られている [『疎行列解法』; 数理解析研究所講究録 第832巻 1993年 127–136 など]。よって、安定した解を得るためには、得られた行列の素性を吟味しつつ、様々な数値解析的手法を随時試す必要がある。また、取り入れる熱力学的デ

ータとしてはアミノ酸に限る必要はなく、現在、数多くの有機物質の熱力学データが存在しており [Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Donald Mackay, *et al.*, CRC Press, (2006)]、各原子からの幾何学的寄与 (行列要素) の偏りを減らし、疎行列の問題を回避することで、安定した解を得た。

④ 方法論及び性能評価

幾何学的指標 (分子形状) の定義の仕方及び得られた熱力学係数の結果を吟味した。熱力学量を再現するために得られた係数が、例えば水和自由エネルギーの場合、式 (2) が示すように物理的に妥当なものか否かを検討した。なぜなら、数値的に再現できたとしても、各係数に物理的に意味がなければ、結果的に汎用性は失われることに繋がるからである。その原因は分子形状の定義の仕方にも依存するので、両軸での検討を実施した。その結果、多くの物質に関して得られている LogP に対して実験誤差範囲内に収めることに成功し、膜透過ペプチドの定性的挙動を理論的に明らかにした。

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 6件)

- ① Y. Maruyama, Y. Harano, “Does water drive protein folding?”. *Chem. Phys. Lett.*, 581, 85-90 (2013).
- ② Y. Harano, R. Roth, S. Chiba, “A morphometric approach for the accurate solvation thermodynamics of proteins and ligands”. *J. Comput. Chem.*, 34, 1969-1974 (2013).
- ③ Y. Harano, “Application of hydration thermodynamics to the evaluation of protein structures and protein-ligand binding”. *Entropy*, 14, 1443-1468 (2012).
- ④ S. Du, Y. Harano, M. Kinoshita, M. Sakurai, “A scoring function based on solvation thermodynamics for protein structure prediction”. *Biophysics*, 8, 127-138 (2012).
- ⑤ S. Chiba, Y. Harano, R. Roth, M. Kinoshita, M. Sakurai, “Evaluation of protein-ligand binding free energy focused on its entropic components”. *J. Comput. Chem.* 33, 550-560, (2012).
- ⑥ H. Mishima, S. Yasuda, T. Yoshidome, H. Oshima, Y. Harano, M. Ikeguchi, M. Kinoshita, “Characterization of experimentally determined native-structure models of a protein using energetic and entropic components of free-energy function”. *J. Phys. Chem. B*, 116, 7776-7786 (2012).

〔学会発表〕（計 6件）

- ①第 52 回生物物理学会、2014 年 9 月、於；札幌コンベンションセンター
- ②第 38 回溶液化学シンポジウム、2013 年 9 月、於；北海道大学学術交流会館
- ③蛋白質研究所セミナー『蛋白質と過飽和』、2012 年 6 月、於；蛋白質研究所
- ④『次世代の物質科学・ナノサイエンスを探る』研究会、2013 年 1 月 11 日、於；北海道大学
- ⑤アジア連携分子研研究会 『溶液・ソフトマターの新局面：実験及び理論研究手法の開拓と新規物性探索への展開』、2012 年 6 月、於；分子科学研究所
- ⑥第 5 回京阪奈計算生物物理学セミナー、2012 年 3 月、於；関西光科学研究所

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原野 雄一 (HARANO, Yuichi)
姫路獨協大学・薬学部
研究者番号：60456259

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：