

遠隔インタラクティブ講義

2016年11月22日

「計算生命科学の基礎（Ⅲ）」

# QM/MM法による タンパク質機能解析

広島市立大学大学院情報科学研究科

鷹野 優



[ytakano@hiroshima-cu.ac.jp](mailto:ytakano@hiroshima-cu.ac.jp)



# 概要

## I. 序論

## II. QM/MMの理論

## III. 金属タンパク質中の補欠分子の電子構造

III-1. 暗所作動型プロトクロロフィリド還元  
酵素 (DPOR)中の[4Fe-4S]クラスター

III-2. 光合成反応中心のスペシャルペア

## IV. Photoactive Yellow Proteinに現れるH/D同位体効果の 理論的解析

## V. 生体高分子生化学的機能解析のための分子計算技術の開発

V-1. 半経験的分子軌道法によるQM部分の高速化

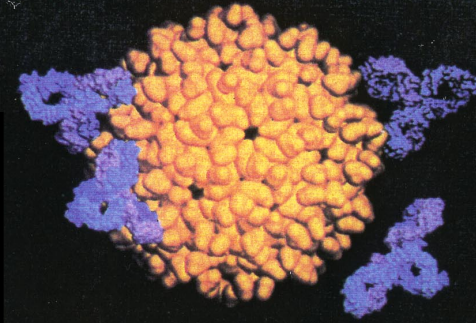
V-2. 超並列QM/MM-MD連成計算プログラムPlatypus

## VI. まとめ

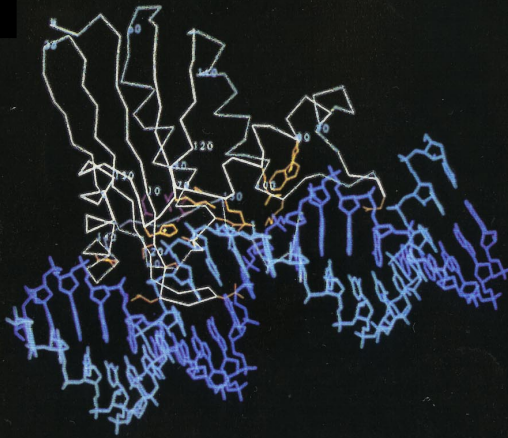
タンパク質は活性中心固有の性質を強める

# I. 序論

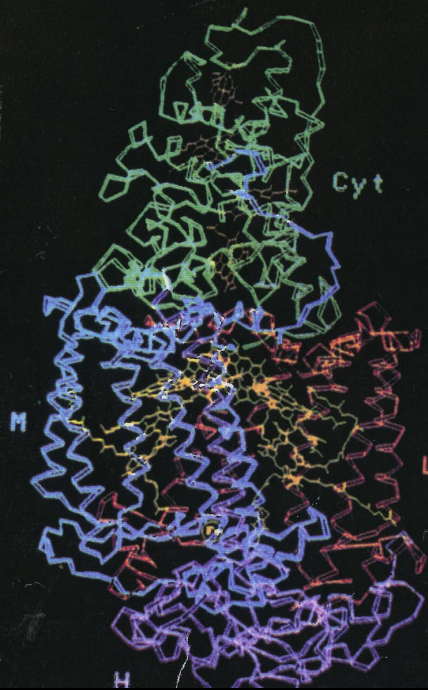
# タンパク質は、個々に いろいろな機能を持つ



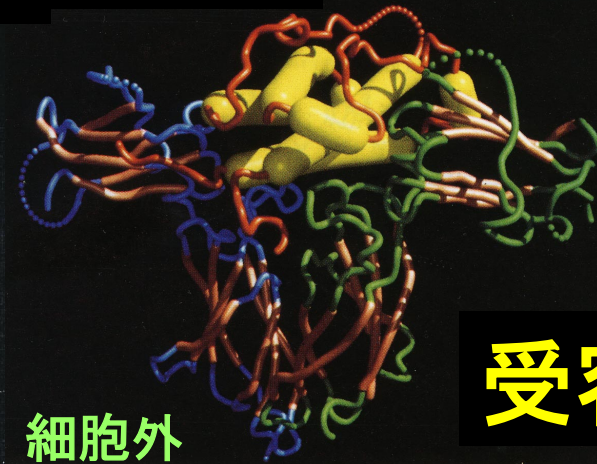
抗体



酵素



光合成  
活性中心



受容体

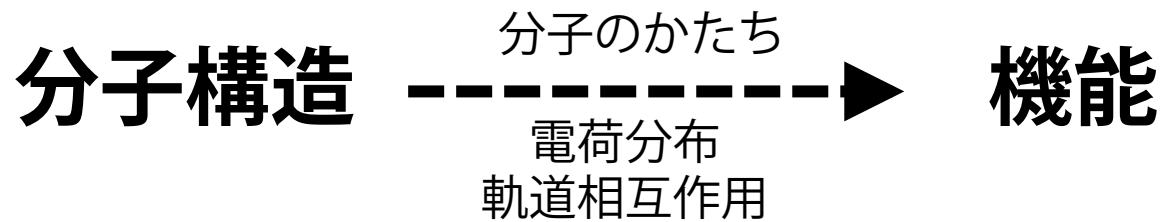
細胞外

細胞膜

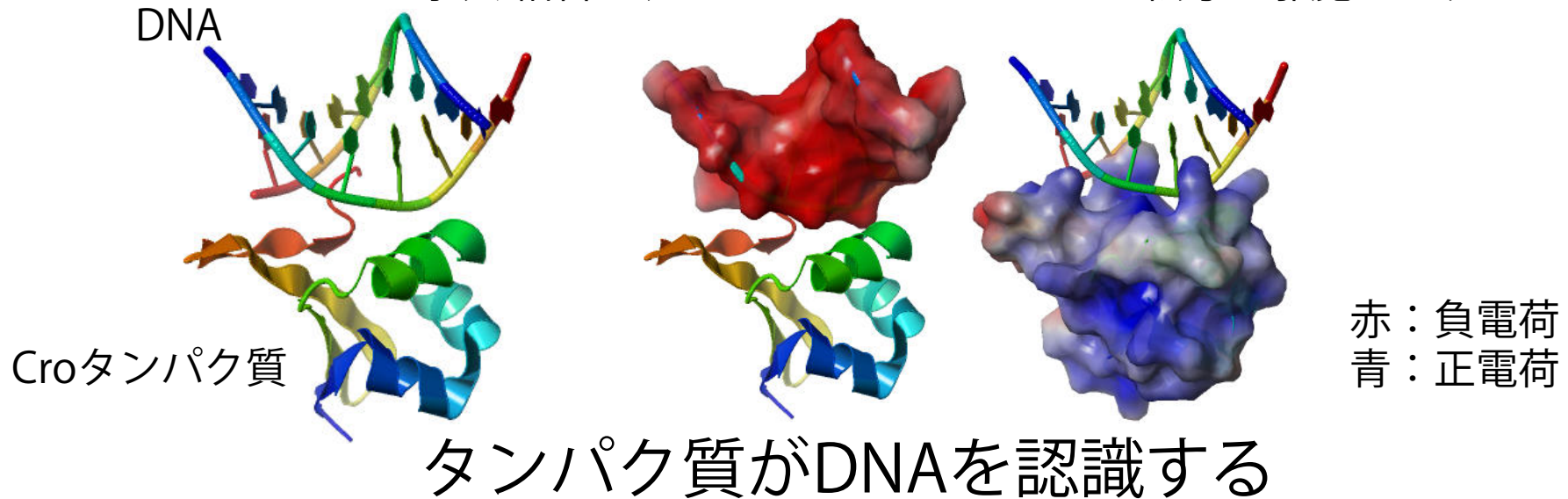
細胞内

# Our goal

## 構造機能相関

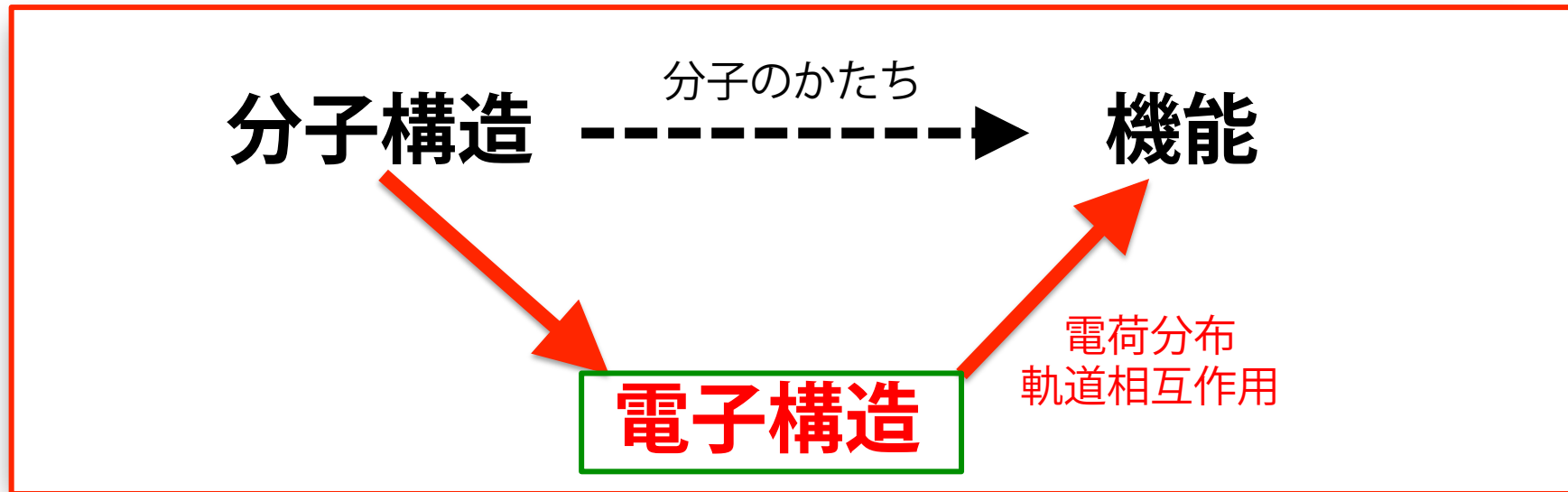


(例) Croタンパク質  
DNAと強く結合し、RNAポリメラーゼによる転写を邪魔します



# Our goal

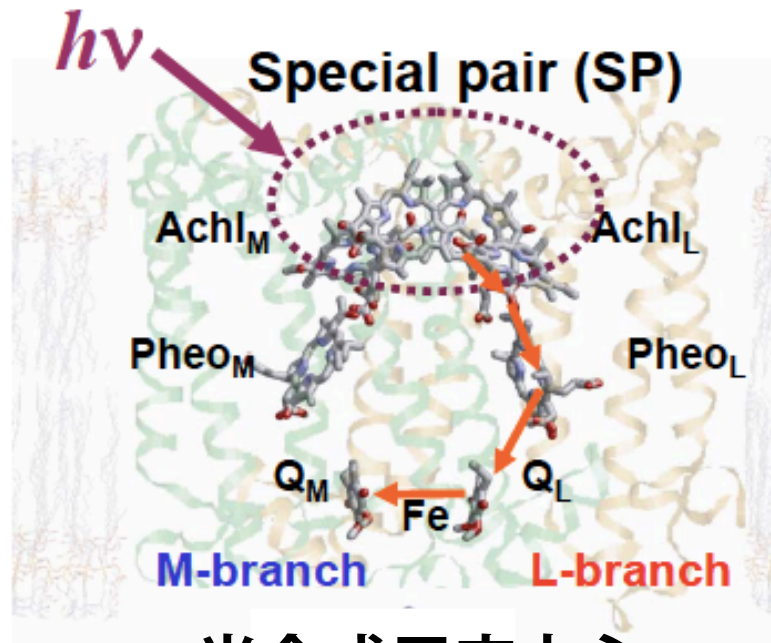
分子構造—電子構造—機能相関



分子構造・電子構造は機能発現を  
どのように制御しているか？

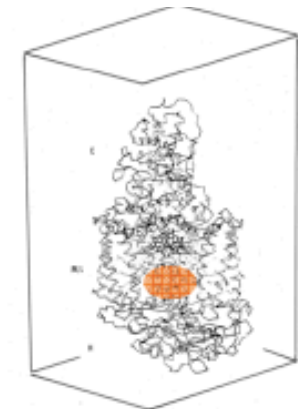
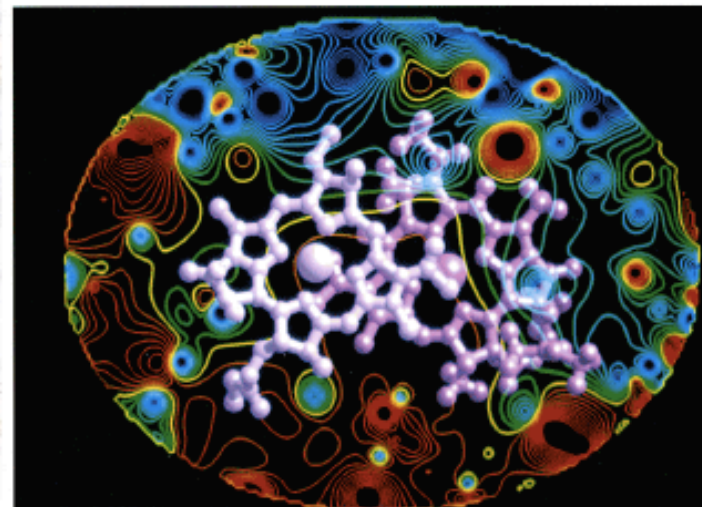
# タンパク質の電子構造

- 1) タンパク質は巨大で、ヘテロで、ダイナミックな系
- 2) タンパク質の機能の発揮は局所部位の電子状態に依存する



光合成反応中心

## タンパク質のつくる電場

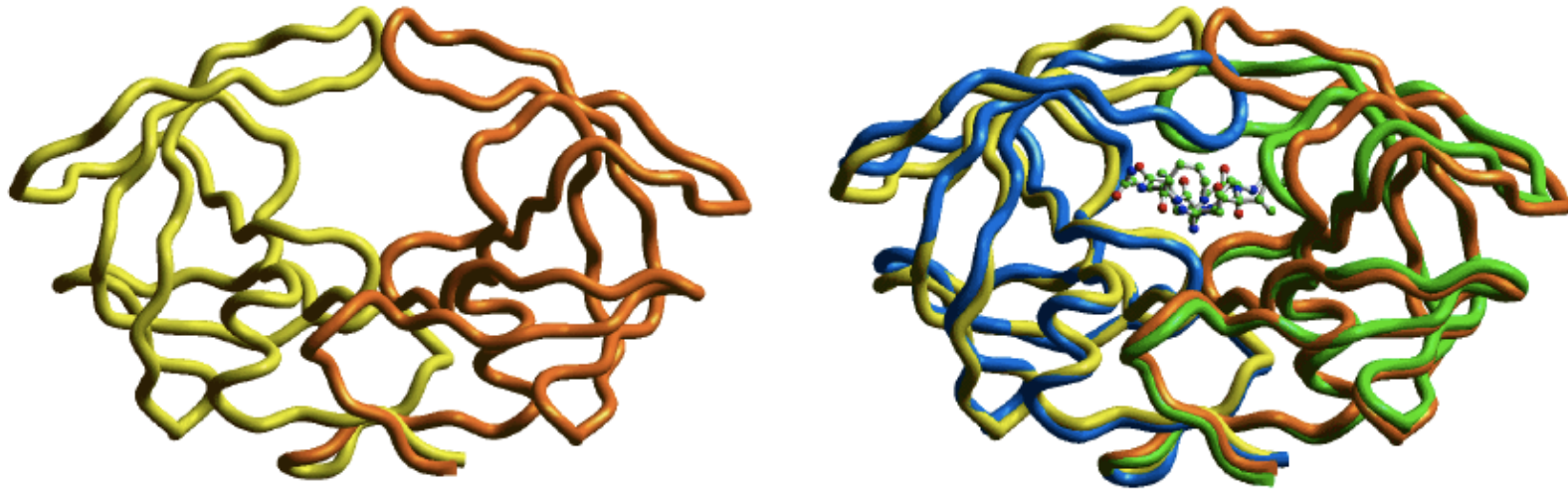


[文献 2: Sakuma et al. (1997) *Int. J. Quantum Chem.* 61, 137]

タンパク質のつくる環境は電子構造に影響

# タンパク質の電子構造

- 1) タンパク質は巨大で、ヘテロで、ダイナミックな系
- 2) タンパク質の機能の発揮は局所部位の電子状態に依存する



HIV-1 プロテアーゼ  
黄色・オレンジ: アポ体  
緑・青: 薬物との複合体

はたらく時には形が変わる。

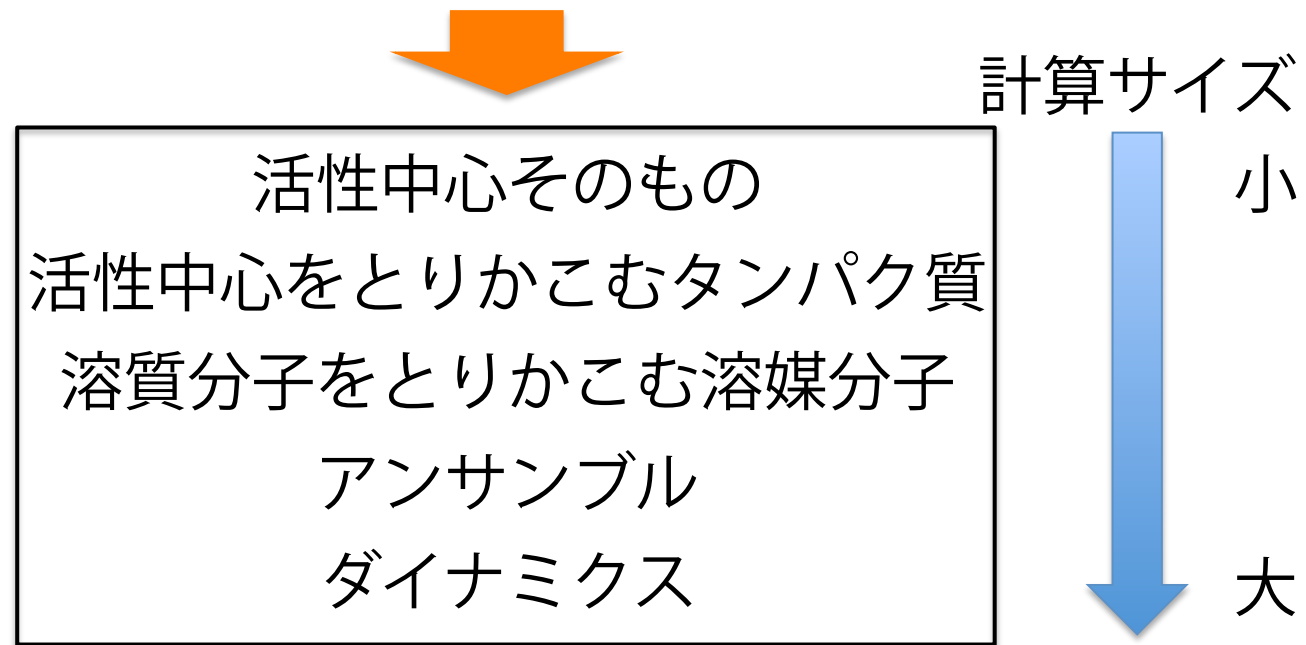


タンパク質のうごき(ダイナミクス)は電子構造に影響



# タンパク質の電子構造

- 1) タンパク質は巨大で、ヘテロで、ダイナミックな系
- 2) タンパク質の機能の発揮は局所部位の電子状態に依存する



資源（計算機・人間の能力）には限りがある

「どのようにしてモデル化するか？」

# タンパク質の電子構造

## モデル化の功罪

功：計算量の減少

系の単純化

罪：情報の欠損



資源の分配をどうするか

なにを理解したいのか？



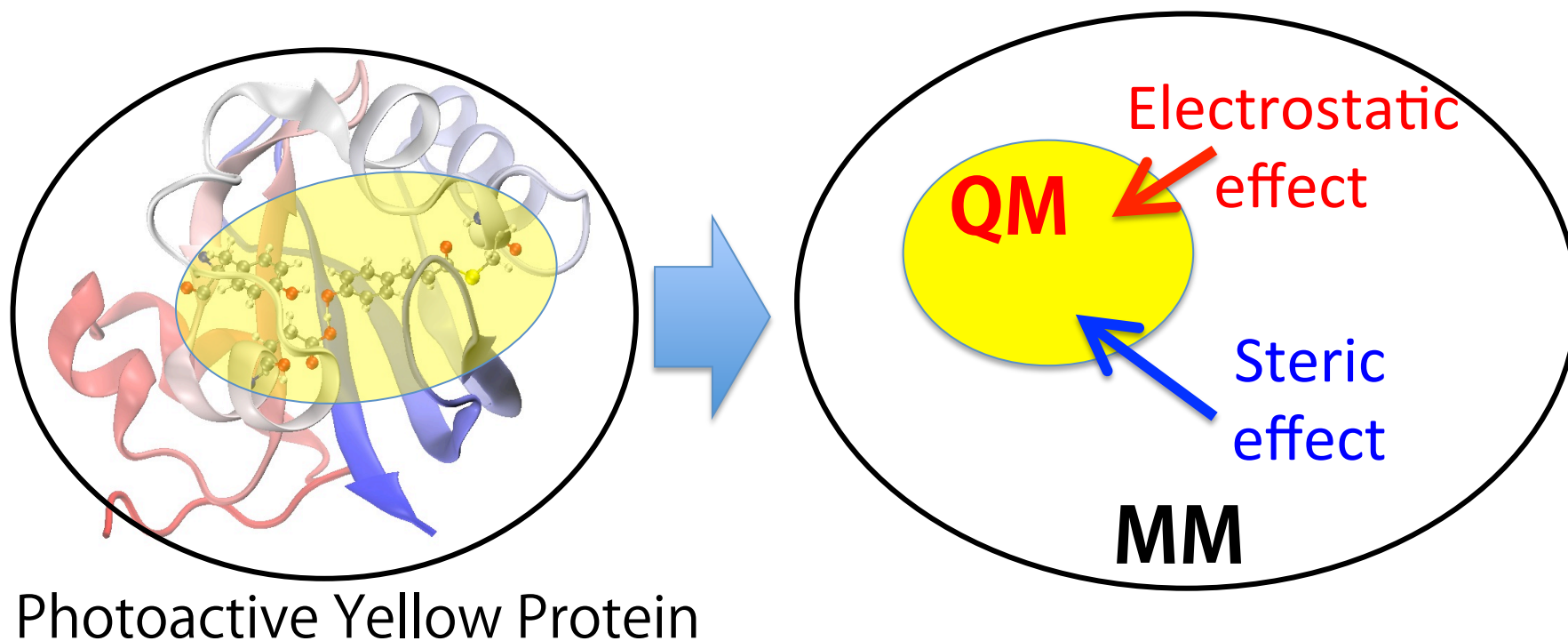
賢いモデルの選択は本質の理解に必須

# タンパク質の電子構造

- 1) タンパク質は巨大で、ヘテロで、ダイナミックな系
- 2) タンパク質の機能の発揮は局所部位の電子状態に依存する



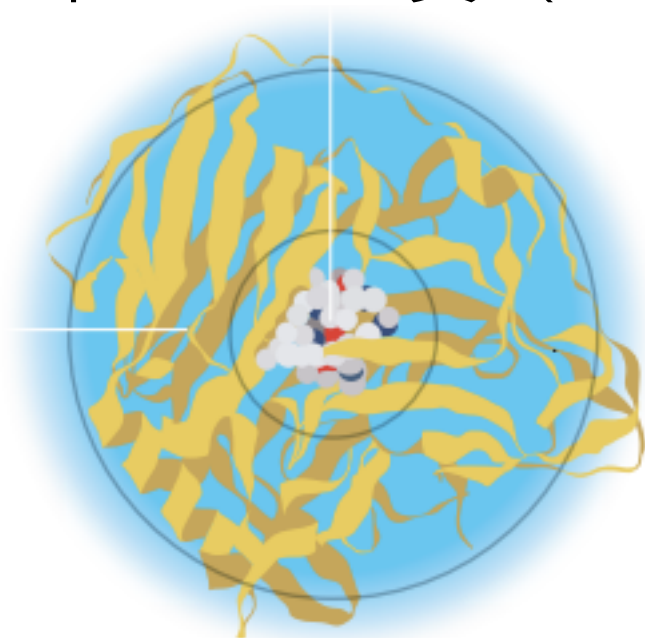
## QM/MM法の適用



## II. QM/MMの理論

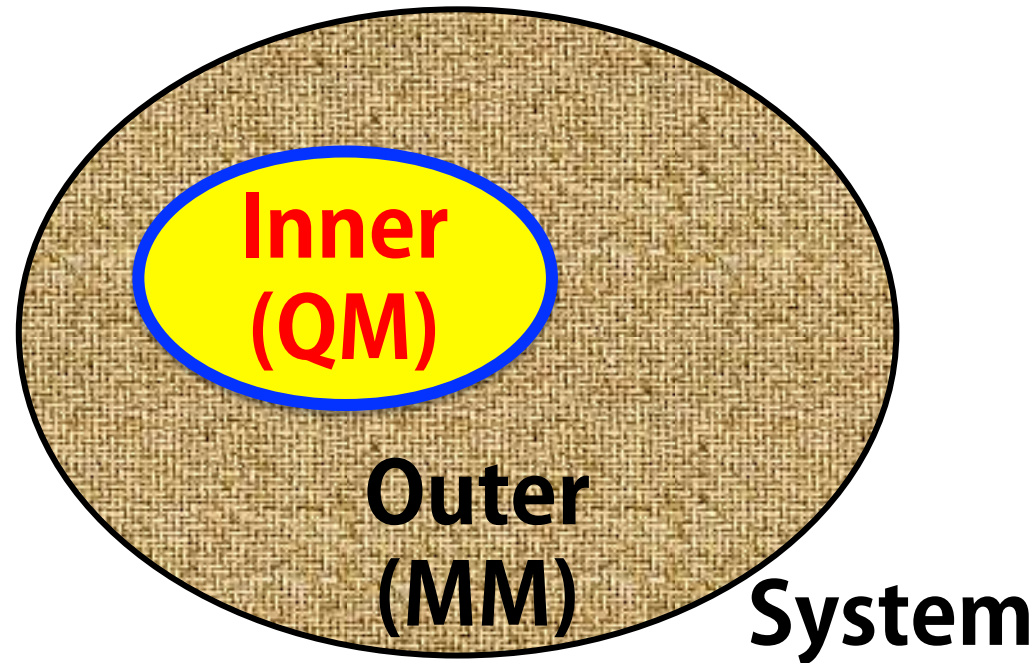
# QM/MM法

- 多階層連結計算法の一つ
- 電子構造が重要な部分（化学反応）は量子力学(QM)をそれ以外は分子力場(MM)を用いる
- 1976年にWarshelとLevittが提案
- 2013年ノーベル賞（Warshel, Levitt, Karplus）



# QM/MM法

- 全系(System)をQM領域(Inner)とMM領域(Outer)に分割
- QMとMMの境界に共有結合が含まれる場合は特別な取り扱いが必要



$$\text{System} = \text{Inner} + \text{Outer} + (\text{Link})$$

共有結合

# QM/MM法に使う計算手法

- 基本的に制限はない

QM: 密度汎関数法(DFT)

Hartree-Fock法(HF)

post-HF法(MP2, CASSCFなど)

半経験的分子軌道法 (AM1, PM6法など)

MM: AMBER

CHARMM

GROMOS

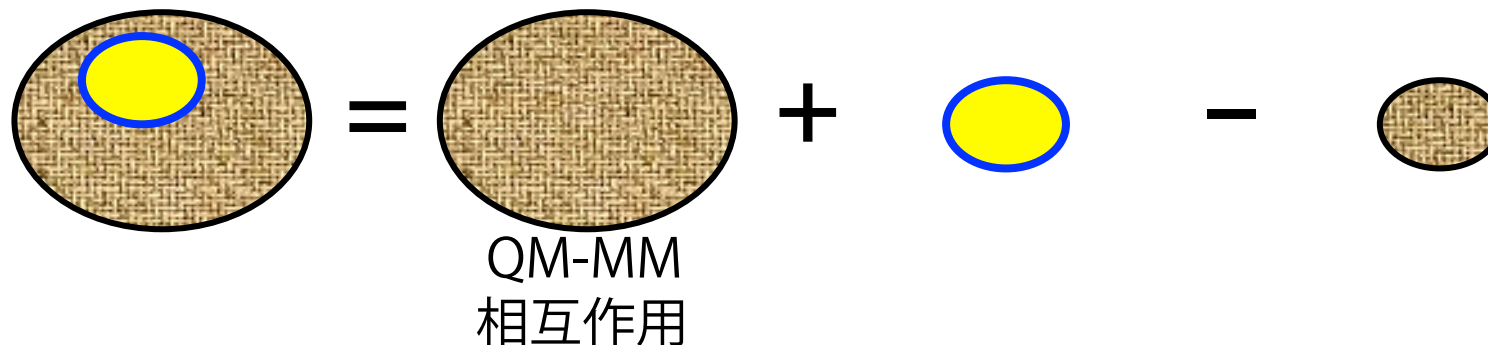
OPLS-AA

# QM/MM法の種類

全系のエネルギーの表現法に関して大きく二種類ある

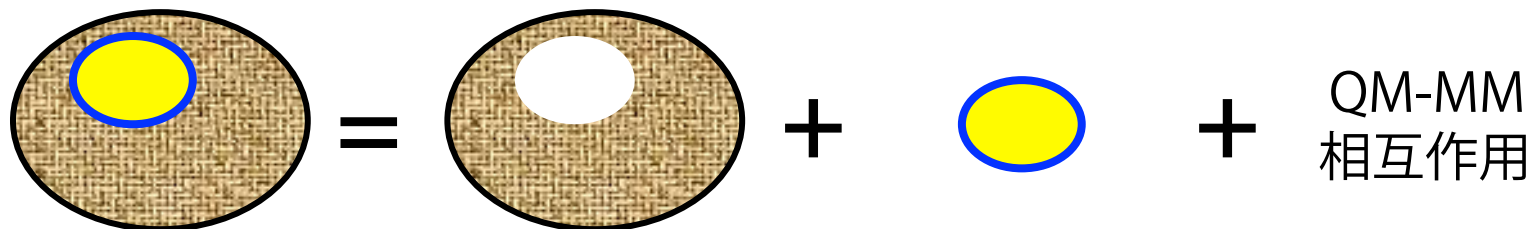
## 減法表現 (ONIOM法)

$$E_{\text{QM/MM}}^{\text{sub}}(\text{System}) = E_{\text{MM}}(\text{System}) + E_{\text{QM}}(\text{Inner+Link}) - E_{\text{MM}}(\text{Inner+Link})$$



## 加法表現 (QM/MM法)

$$E_{\text{QM/MM}}^{\text{add}}(\text{System}) = E_{\text{MM}}(\text{Outer}) + E_{\text{QM}}(\text{Inner+Link}) + E_{\text{QM/MM}}(\text{Inner,Outer})$$





# タンパク場の効果

## mechanical embedding

QMの電子密度はMMと相互作用しない

Steric effectのみ考慮

## electrostatic embedding

QMのハミルトニアンにMMとの静電相互作用をとりこむ

Electrostatic effectとSteric effectを考慮

MMの電荷がQM領域に近いときには過分極を起こす

→ ・ 電荷スケーリング法

    QM境界付近のMM電荷の大きさを調整

・ 電荷シフト法

    QM境界付近のMM電荷をより外の原子にシフトする

・ ガウス型電荷分布

# QM/MM境界問題

QM/MM境界に化学結合が存在する場合

QM空間の切断->不対電子対の発生->QM (分子軌道) の歪み



正しいエネルギー及び力が得られない

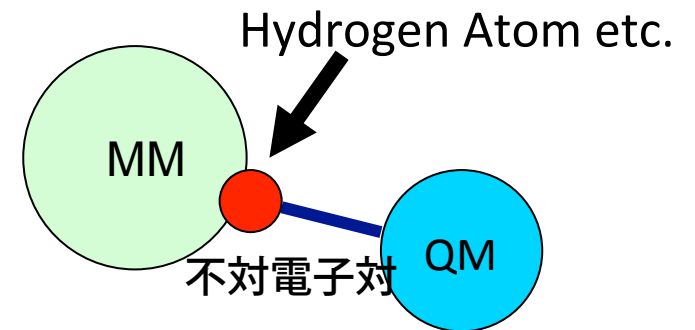
1. どのように切るか？
2. どこを切るか？

# QM/MM境界問題

## 1. どのように切るか？

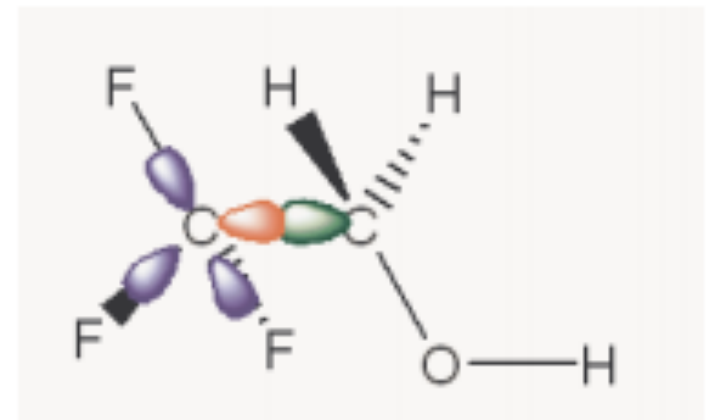
### (1) Link atom method

QM領域とMM領域の境界にある化学結合の末端を水素原子などで置き換える



### (2) 局在化軌道法

QM領域とMM領域の境界にある化学結合を局在化軌道(SLBOs)を用いて表現する。



# QM/MM境界問題

## 2. どこを切るか？

### (1) 経験的、化学的洞察

活性中心から遠方の領域を選択

sp<sup>3</sup>炭素で切る

### (2) 線形応答関数解析

QM/MMモデル化に起因する

QM領域の電子構造の誤差の最小化

$$\boxed{\delta\rho(\mathbf{r})} = \int \frac{\delta\rho(\mathbf{r})}{\delta v(\mathbf{r}')} \delta v(\mathbf{r}') d\mathbf{r}'$$

# 線形応答関数解析

従来：QM/MMモデルによる誤差  $\delta v(\mathbf{r}')$  の最小化

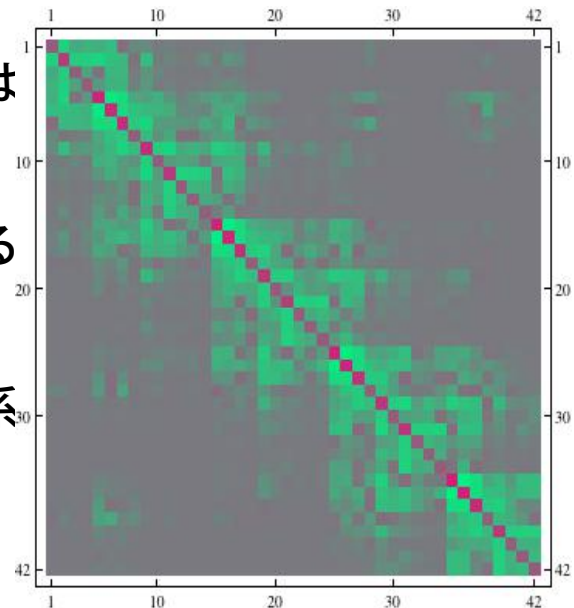
↓  
QM/MMモデル由来のQM領域の誤差  $\delta\rho(\mathbf{r})$  の最小化

## [ガイドライン]

- (i) 共有結合では電子トランスファーが大きい平衡核間距離では結合不安定が起こる(結合が切れかけた)状態で最大となる。
- (ii) トランスファーブロックがない状況ではサイト数が多くなるにつれフリーデル振動型の振動・減衰となる。
- (iii) アラニンジペプチド, グルタチオン, アラニントリペプチド系では  $sp^3$  接合点が伝播をブロックする。水素結合経由の伝播は約0.001(ex. 0.1 Hartreeの  $\delta v(\mathbf{r}')$ ) に対し0.0001の誤差伝播。  
 $\alpha$ ヘリックス系では明白に誤差伝播が構造化される(右図)。

従来の  $sp^3$  接合点での切断が有効

↓  
QM/MM境界問題の定量化が可能に！



■  $\delta\rho_{iatom} / \delta v_{jatom} = 1$

■  $\delta\rho_{iatom} / \delta v_{jatom} = -1$

■  $\delta\rho_{iatom} / \delta v_{jatom} = 0.0$

RGB=(1-LRF, LRF, 0.5)/max LRF

# QM/MM法による構造最適化

計算コスト

QM > QM/MM >> MM



## microiterative scheme

QM部分とMM部分の構造最適化に異なるアルゴリズムや座標系を使う

QM: macroiteration (内部座標 + 擬ニュートンアルゴリズム)

MM: microiteration (カーテシアン座標 + 共役勾配法)

## 構造最適化の手続き

### (1) 断熱アプローチ

QMのmacroステップではMM環境は完全に構造最適化される

### (2) 交互スキーム

QMとMMの構造最適化は交互に行われる

# III. 金属タンパク質中の補欠分子

# 生物と金属

バランスを保つことで生物の生命維持に必須のはたらきをする

| 多量 | 微量 | 超微量 |
|----|----|-----|
| Na | Fe | Ni  |
| K  | Zn | Cr  |
| Mg | Cu | Co  |
| Ca | Mn | Mo  |
|    | V  | W   |



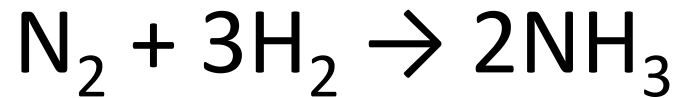
**呼吸・光合成・窒素固定**

**どのように金属と生体分子が相互作用（制御）しているか？**

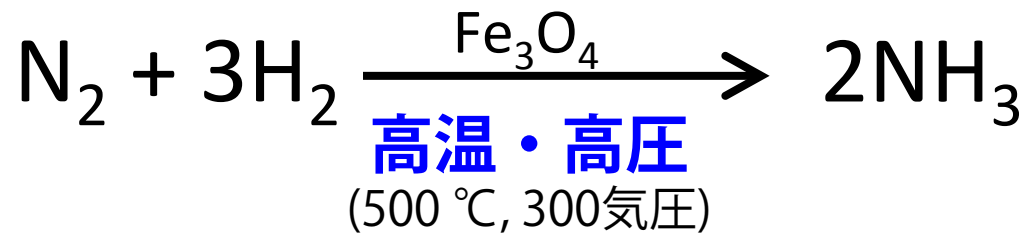
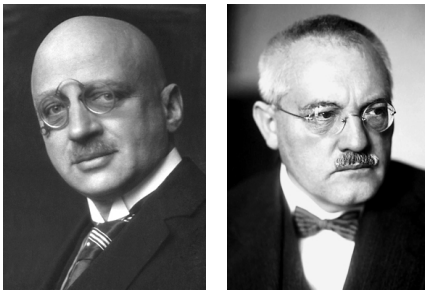


# 金属をもつ生体分子の特徴 (環境にやさしい触媒)

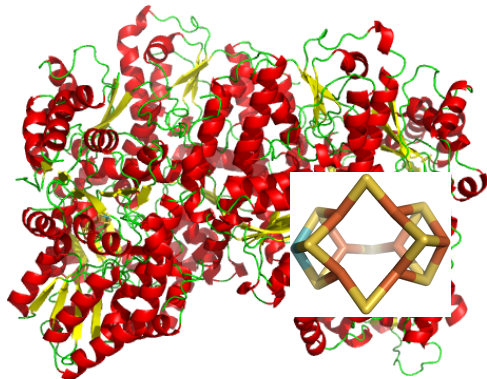
例：窒素（反応しにくい安定な気体）からアンモニアを生成



・ハーバーボッシュ法



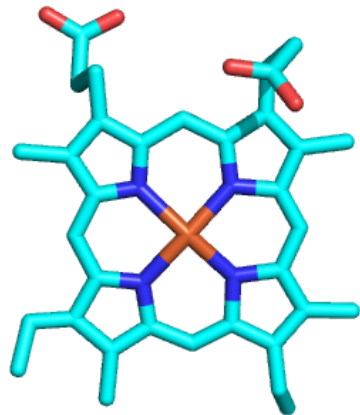
・ニトロゲナーゼ (鉄: Fe, モリブデン: Mo)



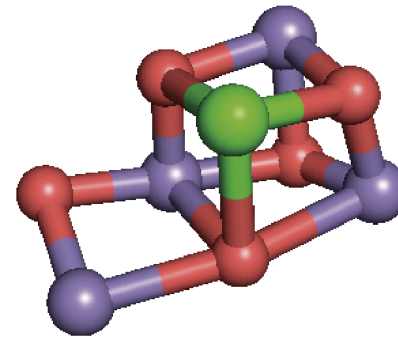
金属タンパク質の機能発現機構？

# 金属補欠分子

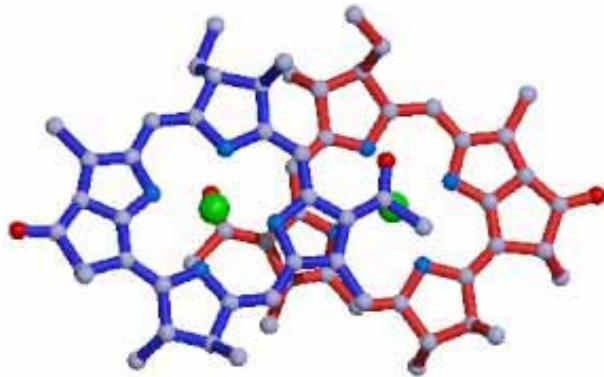
タンパク質の生物活性において重要な、タンパク質に結合する非タンパク質  
**活性中心として機能を発現する**



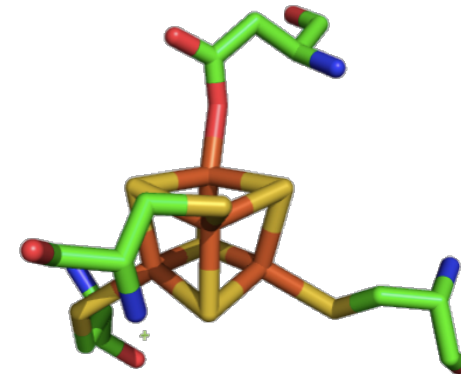
ヘム (Fe)



酸素発生複合体(Mn)



スペシャルペア (Mg)



[4Fe-4S]クラスター (Fe)

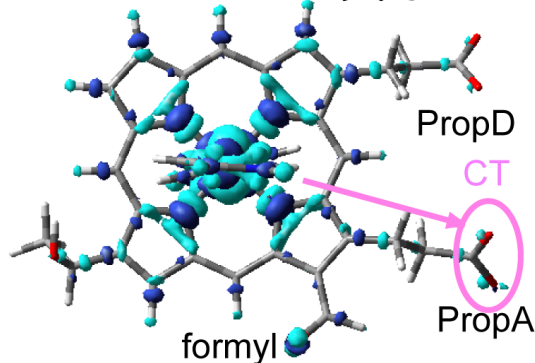
# Inside-out アプローチ

1. 金属補欠分子固有の電子構造を調べる
2. タンパク質中での電子構造を調べる
3. 1と2を比較する

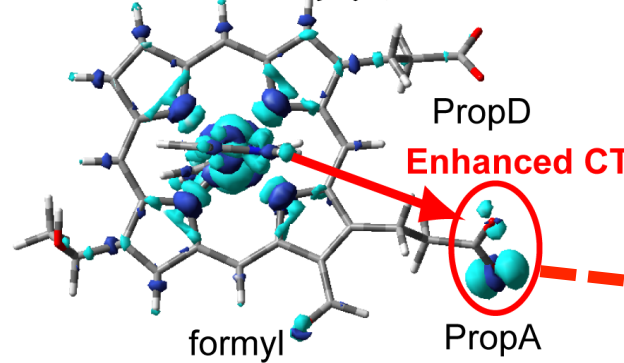


**static effects (構造歪み、静電相互作用)**  
**dynamic effects (ゆらぎ)**

(例) シトクロムc酸化酵素のヘム *a* in  $\text{CoO}$   
タンパク質なし



タンパク質あり



Takano and Nakamura,  
J. Comput. Chem. (2010)

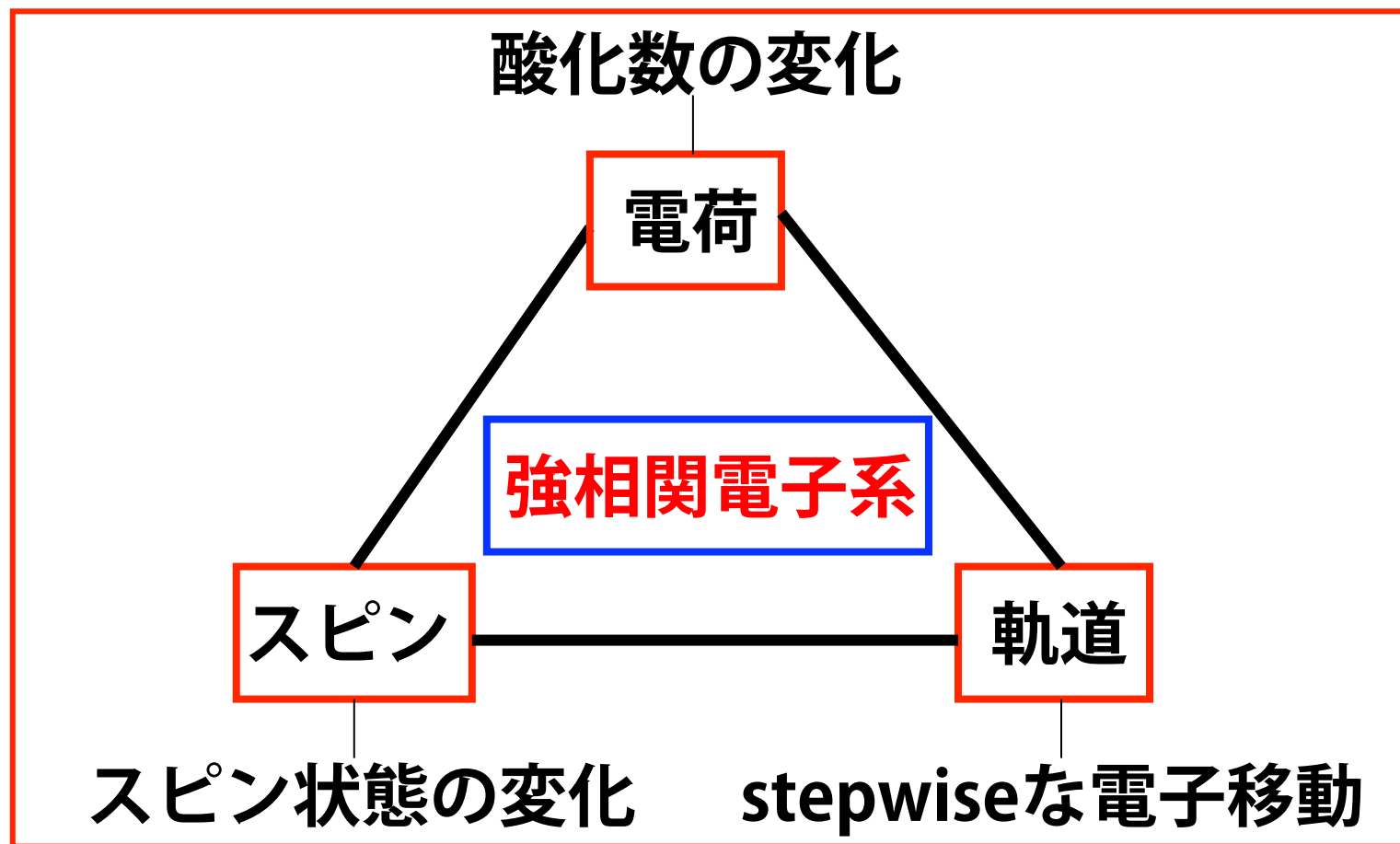
**タンパク質は電荷移動を強める**

**PropAの電荷変化が  
プロトン移動のトリガー**

■ increase of charge density

■ decrease of charge density

# 遷移金属と生体分子の相互作用



軌道・電荷・スピンの協同的影響

→ 理論的取り扱いが非常に困難

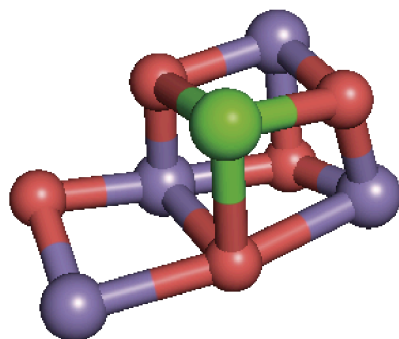
# 強相関電子系

金属イオンの電子間にはたらく強いクーロン反発相互作用



さまざまな電子配置・電子相関を考慮にいれないといけない

(例) 酸素発生複合体 ( $\text{Mn}_4\text{CaO}_5$  クラスター)



可能な電子配置数

Mnの3d軌道

0の2p軌道



約100京通り！



*ab initio* DMRG法で可能になった

# Density Functional Theory (DFT)

$$E = E_T + E_{NE} + E_{NN} + E_{EE}$$

In DFT

$$E_{DFT} = E_{Ts} + E_{NE} + E_{NN} + E_J + E_{xc}$$

Approximation

厳密な交換相関汎関数はわからない

$E_{Ts}$  : kinetic energy of non-interacting system

$E_{xc}$  : exchange-correlation energy

# Exchange-Correlation Energy

The exchange-correlation energy has the form:

$$E_{xc} = \underbrace{(E_T - E_{Ts})}_{\text{Correction of kinetic energy}} + \underbrace{(E_{EE} - E_J)}_{\text{Correction of electron-electron interaction}}$$

DFTの精度は交換相関汎関数項に依存する

# DFTの利点

## Excellent performance-to-cost ratio !

|                    |  |  |
|--------------------|--|--|
| <b>performance</b> | ex. Mean absolute error of heat of formation for the G2 dataset (kcal/mol) |  |
| DFT                | 3.0 (B3LYP), 7.1(BLYP), 90.8 (SVWN)  |  |
| HF                 | 149.2  |  |
| MP2                | 23.8   |  |
| CC                 | 11.5   |  |
| <b>cost</b>        | ex. Benzene (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> ) single point                  |  |
| DFT                | O(N <sup>3</sup> )~O(N <sup>4</sup> )                                      | 1 min 38 sec (SVWN), 2 min 20 sec (BLYP) |
| HF                 | O(N <sup>4</sup> )   | 1 min 48 sec                             |
| MP2                | O(N <sup>5</sup> )   | 2 min 36 sec                             |
| CC                 | O(N <sup>7</sup> )   | 2 hours 29 min 20 sec                    |

Xu, X. and Goddard III, W. A. , *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 2673-2677.  
Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd ed. Wiley (2007)



# DFTの欠点

## Obscure systematic improvability

There is **not clear path to the exact solution** of the Schrödinger eq., since DFT show very good accuracy for a wide range of applications due to **the error cancellation**.



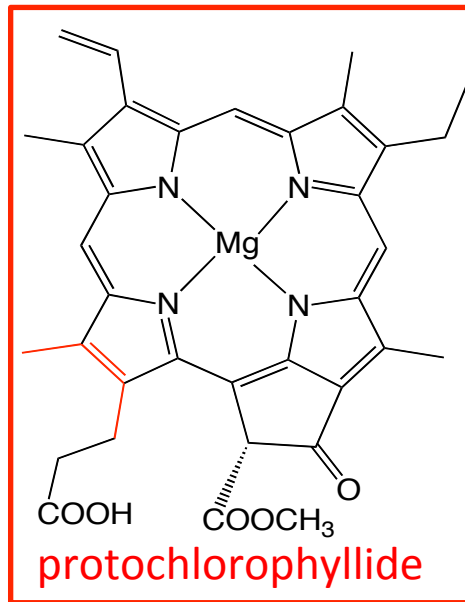
**DFTの交換相関汎関数のチェックが必要！  
(特に遷移金属系)**

# III-1. 暗所作動型プロトクロロフィリド 還元酵素 (DPOR)中の [4Fe-4S]クラスター

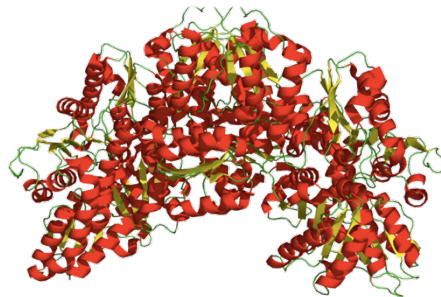
Takano, Y.; Yonezawa, Y.; Fujita, Y.; Kurisu, G.; Nakamura, H. *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *503*, 296–300.

# DPOR

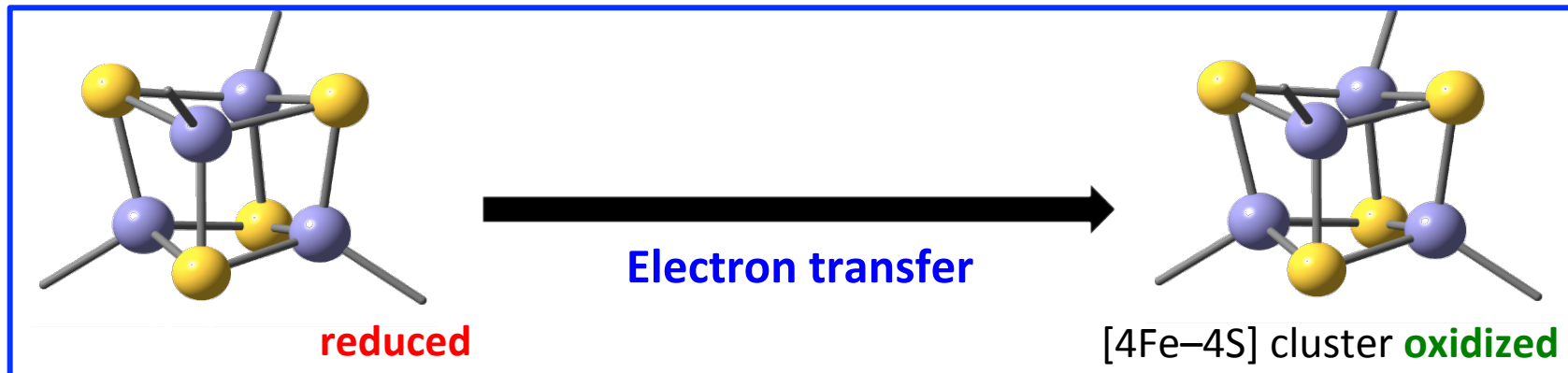
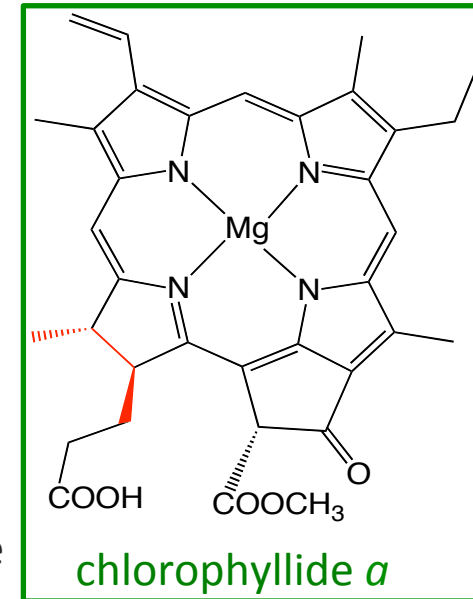
## クロロフィルの生合成にかかわる酵素



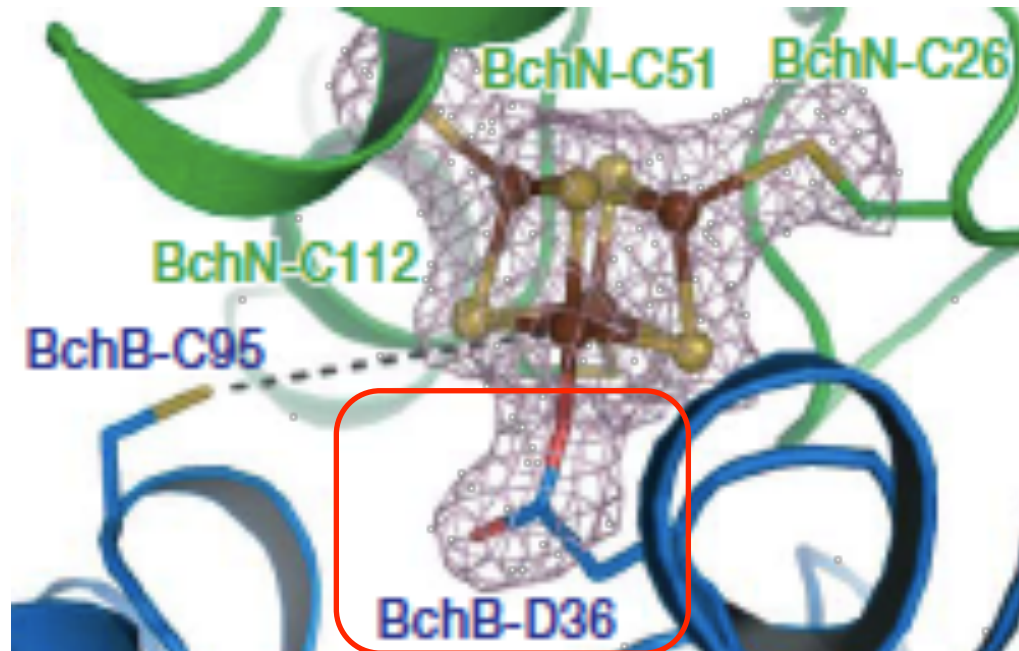
Stereo-specific reduction of  
C17=C18 double bond



Dark-operative protochlorophyllide  
oxidoreductase (DPOR)

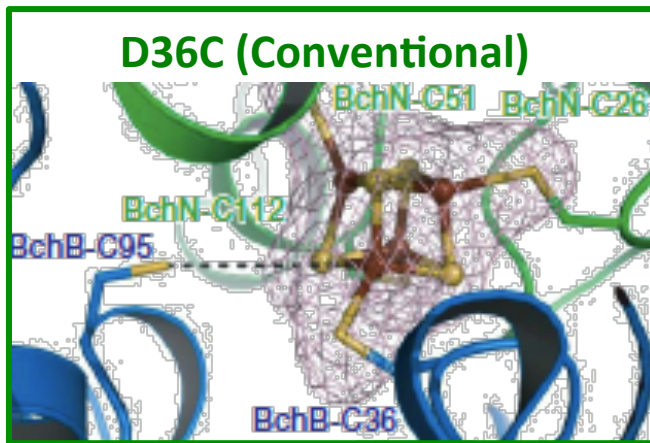
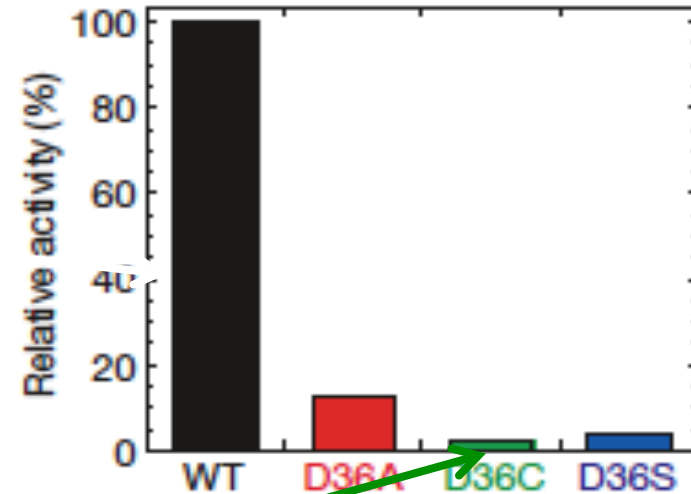
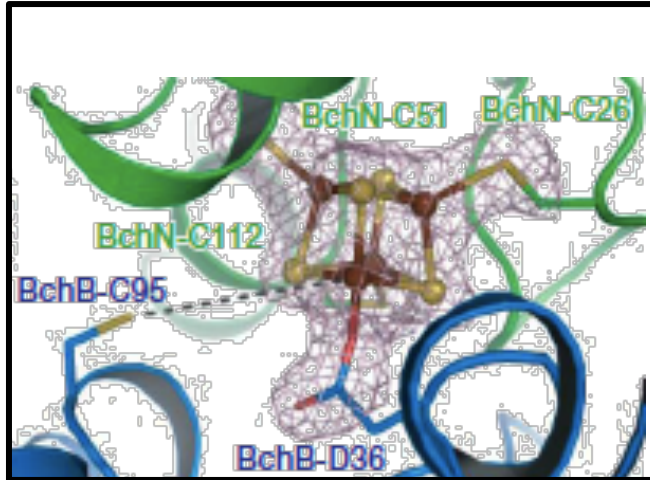


# DPORの変わった[4Fe-4S]クラスター



chelated by the carboxylate group of Asp36

# 酵素活性

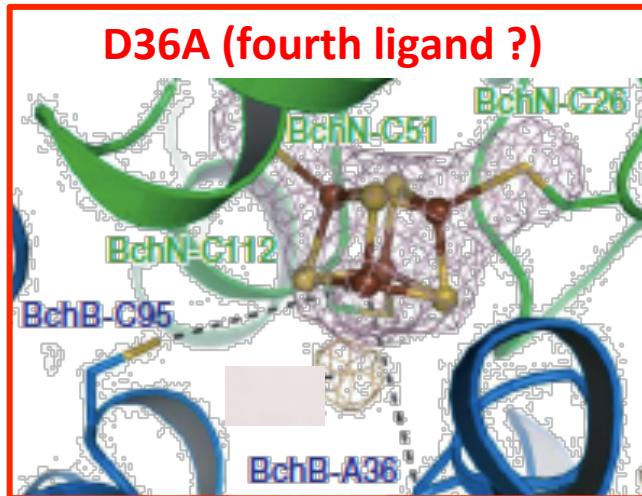
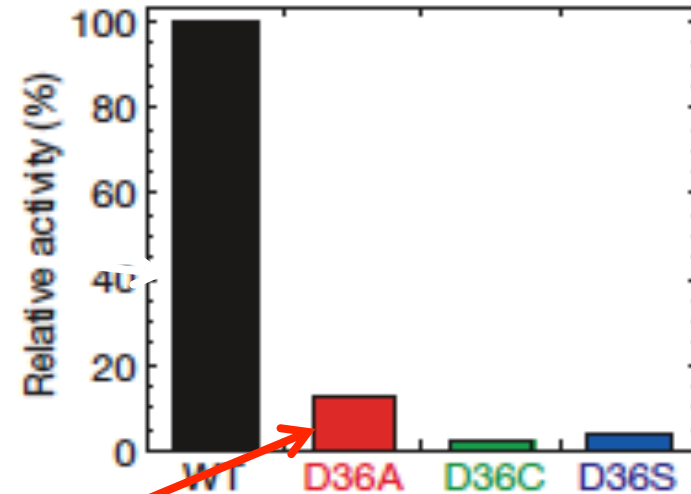
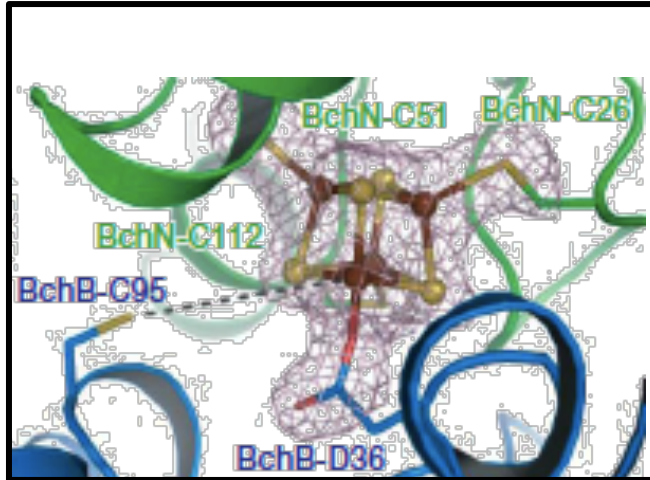


D36C: almost no activity



How is the Asp ligation involved in the enzyme activity?

# 酵素活性



**D36A: small activity (13 %)**



**What is the fourth ligand?**

# 問題

**Q1: How does the Asp ligation affect the electronic structure of the [4Fe-4S] cluster?**

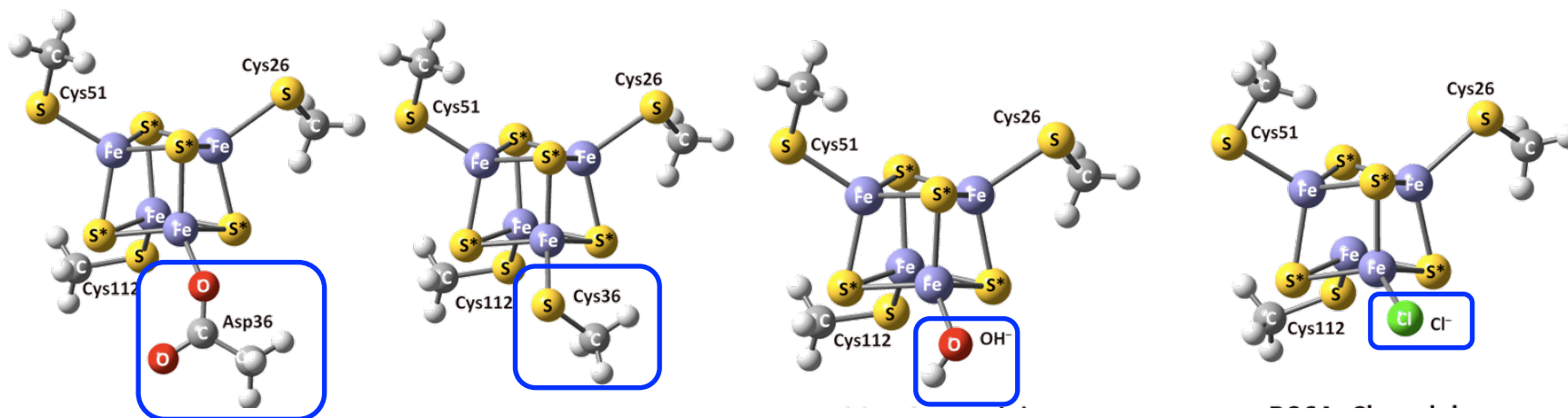
**Q2: What is the fourth ligand of the [4Fe-4S] cluster in the D36A mutant?**

**Q3: How does DPOR affect the electronic structure of the NB cluster?**



**Quantum chemical calculations  
QM/MM calculation**

# Model



Electronic states:  $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_3)_3\text{R}]^{1-}$  ( $\text{Fe}^{\text{III}}_3\text{Fe}^{\text{II}}_1$ )  
 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_3)_3\text{R}]^{2-}$  ( $\text{Fe}^{\text{III}}_2\text{Fe}^{\text{II}}_2$ )  
 $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_3)_3\text{R}]^{3-}$  ( $\text{Fe}^{\text{III}}_1\text{Fe}^{\text{II}}_3$ )  
 (R = CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>, SCH<sub>3</sub><sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, and Cl<sup>-</sup>)



# 交換相関汎関数の選択

Niu, S.; Nichols, J. A.; Ichiye, T. *J. Chem. Theory Comput.* **2009**, *5*, 1361-1368

Computation of the vertical and adiabatic detachment energies for  $[\text{Fe}(\text{SCH}_3)_4]^{2-/1-/0}$  and  $[\text{Fe}(\text{SCH}_3)_3]^{1-/0}$

*"B3LYP gives the best balance of accuracy in energy and geometry and is comparable to coupled cluster methods."*

*"Addition of diffuse functions to only the sulfur significantly improves the energies."*

Szilagy, R. K.; Winslow, M. A. *J. Comput. Chem.* **2006**, *27*, 1385-1397

Computation of the atomic spin densities for  $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SEt})_4]^{2-}$  and  $[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{SEt})_4]^{2-}$

*"The most reasonable agreement for atomic spin densities is obtained by a hybrid functional 5 % HF exchange and 95% P86."*

*"The basis set seems to saturate only at the triple-zeta level with polarization and diffuse functions."*

# Methods

計算方法

UB3LYP

基底関数

エネルギー計算

Fe: wachters + f

C, N, O, H: 6-311++G(df,pd)

構造最適化、振動解析

Fe, C, N, O, H: 6-31G(d,p)

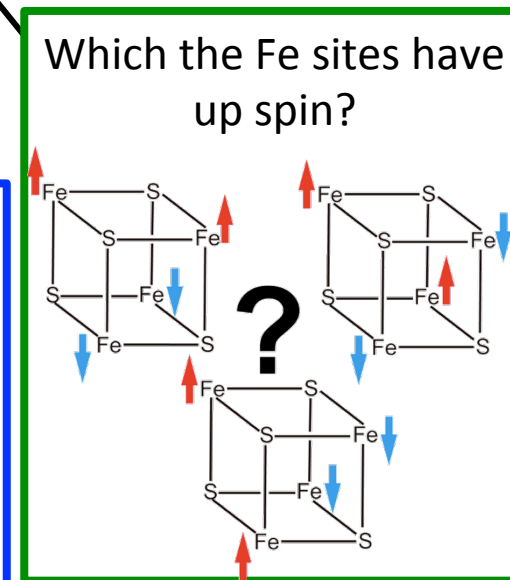
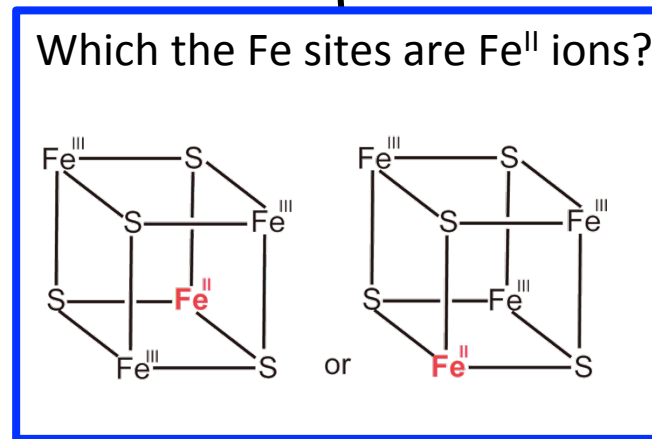
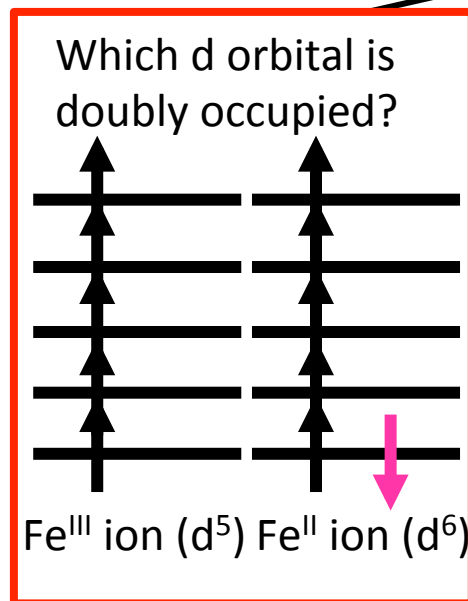
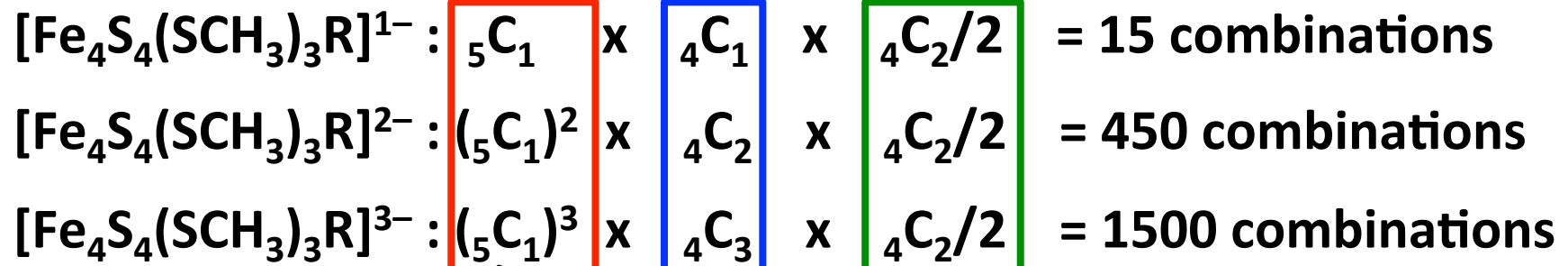
電子状態

total charge    -1: [Fe<sup>III</sup><sub>3</sub>Fe<sup>II</sup><sub>1</sub>]  
                     -2: [Fe<sup>III</sup><sub>2</sub>Fe<sup>II</sup><sub>2</sub>]  
                     -3: [Fe<sup>III</sup><sub>1</sub>Fe<sup>II</sup><sub>3</sub>]

タンパク質環境

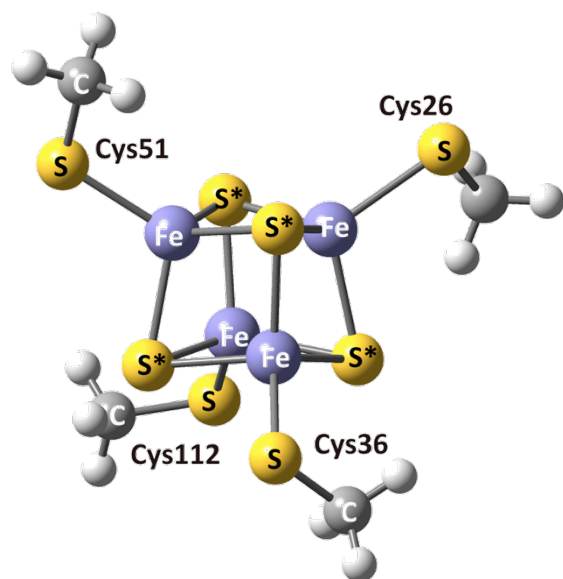
Polarizable continuum model ( $\epsilon = 4.0, 10.0, (\text{protein})$  and  $37.0 (\text{DMF})$ )

# 可能な電子配置



# 交換相関汎関数の選択

◆実験値（イオン化ポテンシャルと酸化還元電位）との比較



D36C model  $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_3)_4]$

Ionization Potential,  $IP$

$$IP(1-/2-)_{\text{calc}} = \mathbf{0.29 \text{ eV}}$$

$$IP(1-/2-)_{\text{exp}} = \mathbf{0.29 \pm 0.10 \text{ eV}} \text{ (}^{\text{a}}[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SC}_2\text{H}_5)_4]\text{)}$$

Redox Potential  $E^0$

$$E^0(1-/2-)_{\text{calc}} = \mathbf{-0.068 \text{ eV}} \text{ (DMF (PCM, } \epsilon = 37.0))}$$

$$E^0(1-/2-)_{\text{exp}} = \mathbf{0.1 \text{ eV}} \text{ (}^{\text{b}}[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{S}(t\text{-Bu}))_4]\text{ in DMF)}$$

$$E^0(2-/3-)_{\text{calc}} = \mathbf{-0.79 \text{ eV}} \text{ (DMF (PCM, } \epsilon = 37.0))}$$

$$E^0(2-/3-)_{\text{exp}} = \mathbf{-1.05 \text{ eV}} \text{ (}^{\text{c}}[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{SCH}_3)_4]\text{ in DMF)}$$

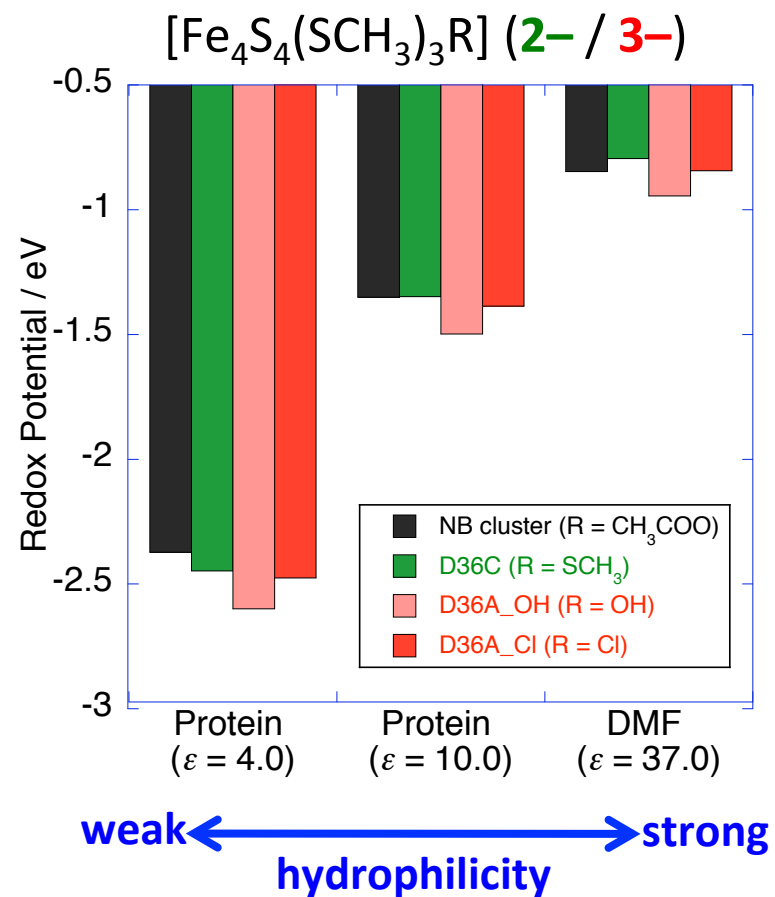
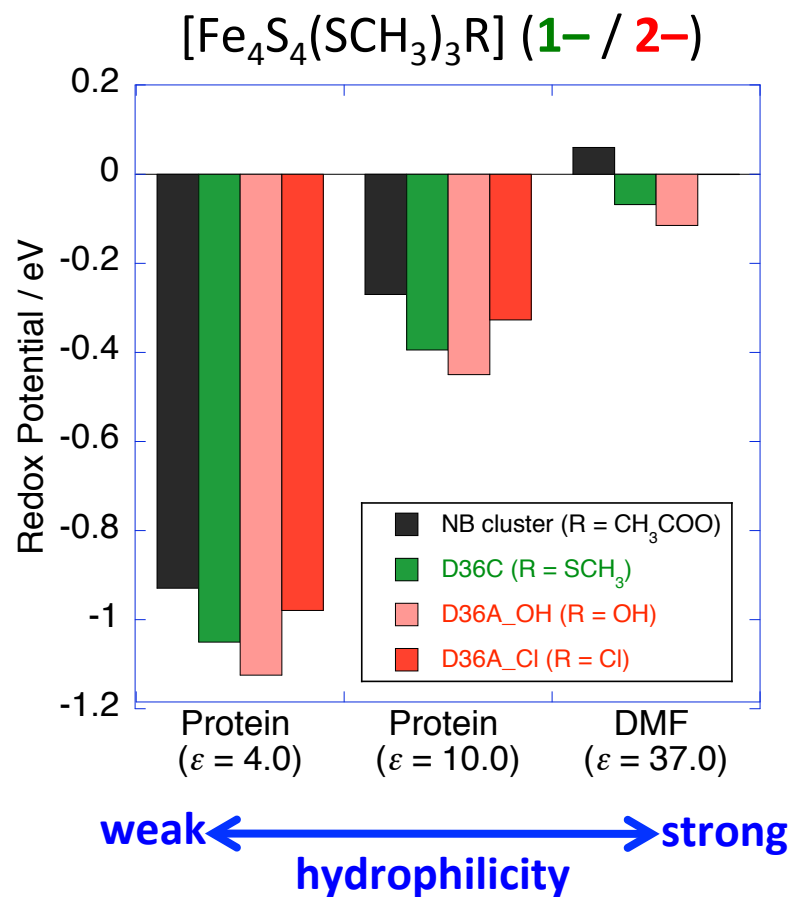
**The computational procedure reproduces the experimental redox potentials.**

<sup>a</sup>Wang, X.-B.; Niu, S.; Yang, X.; Ibrahim, S. K.; Pickett, C. J.; Ichiye, T.; Wang, L.-S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14072-14081

<sup>b</sup>Mascharak, P. K.; Hagen, K. S.; Spence, J. T.; Holm, R. H. *Inorg. Chim. Acta* **1983**, *80*, 157-170

<sup>c</sup>DePamphilis, B. V.; Averill, B. A.; Herskovits, T.; Que, L., Jr.; Holm, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4159-4167

# Redox potential



# Electron-donating character

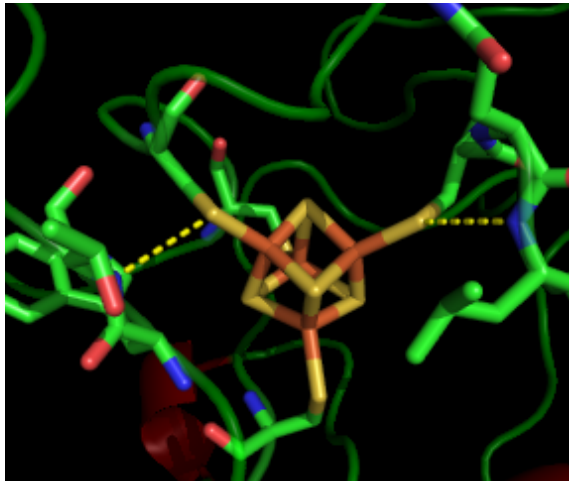
| state          | $\epsilon$        | electron-donating character           |
|----------------|-------------------|---------------------------------------|
|                | $\epsilon = 4.0$  |                                       |
| <b>1- / 2-</b> | $\epsilon = 10.0$ | D36A_OH > D36C > D36A_Cl > NB cluster |
|                | $\epsilon = 37.0$ |                                       |
|                | $\epsilon = 4.0$  | D36A_OH > D36A_Cl > D36C > NB cluster |
| <b>2- / 3-</b> | $\epsilon = 10.0$ | D36A_OH > D36A_Cl > NB cluster > D36C |
|                | $\epsilon = 37.0$ | D36A_OH > NB cluster > D36A_Cl > D36C |

In the 2- / 3- reduction reaction, in a hydrophilic environment

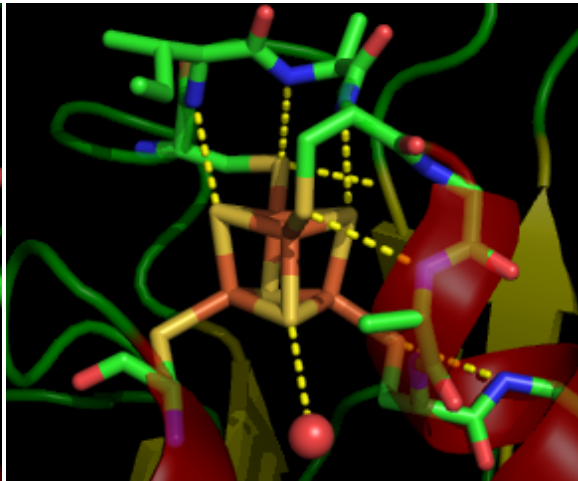
**NB cluster**  a better electron-donor

# Comparison to other [4Fe-4S] proteins

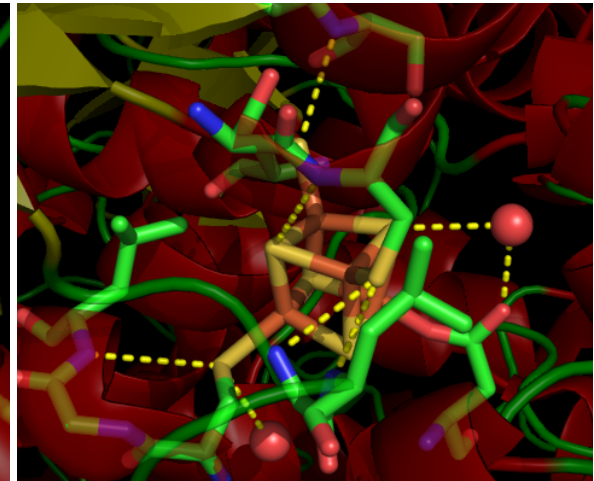
HiPIP (1-/2-)



Ferredoxin (2-/3-)



DPOR (?)



2 H-bonds and 0 water    7 H-bonds and 1 water    8 H-bonds and 2 water

In DPOR, the [4Fe-4S] cluster would be exposed in a **high dielectric environment** and reduced **from the 2- to 3- oxidation states**.

# Electron-donating character in DPOR

| state                 | $\epsilon$        | electron-donating character                        |
|-----------------------|-------------------|--|
|                       | $\epsilon = 4.0$  |  |
| <b>1-</b> / <b>2-</b> | $\epsilon = 10.0$ | D36A_OH > D36C > D36A_Cl > NB cluster              |
|                       | $\epsilon = 37.0$ |  |
|                       | $\epsilon = 4.0$  | D36A_OH > D36A_Cl > D36C > NB cluster              |
| <b>2-</b> <b>3-</b>   | $\epsilon = 10.0$ | D36A_OH > D36A_Cl > <b>NB cluster &gt; D36C</b>    |
|                       | $\epsilon = 37.0$ | D36A_OH > <b>NB cluster &gt; D36A_Cl &gt; D36C</b> |

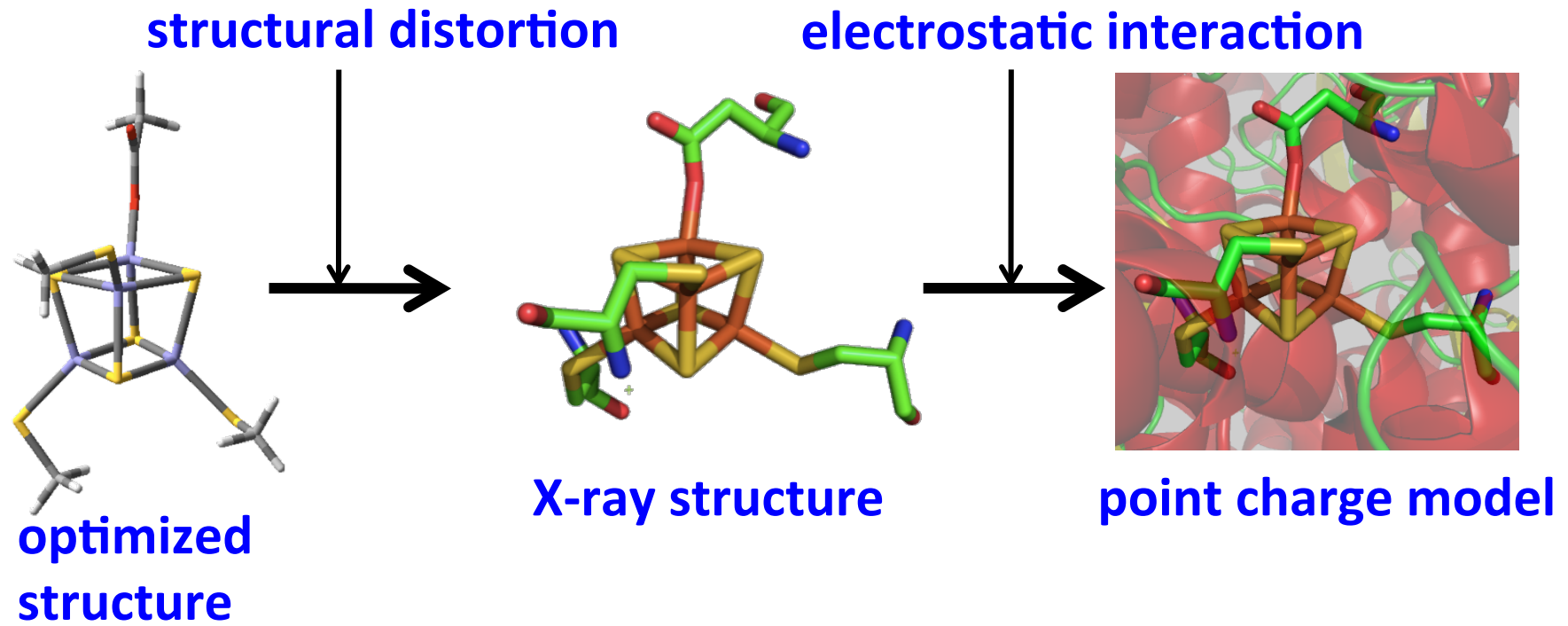
## DPOR

**NB cluster** ➡ a better electron-donor

**Cl<sup>-</sup> ion** ➡ the fourth terminal ligand of the D36A mutant

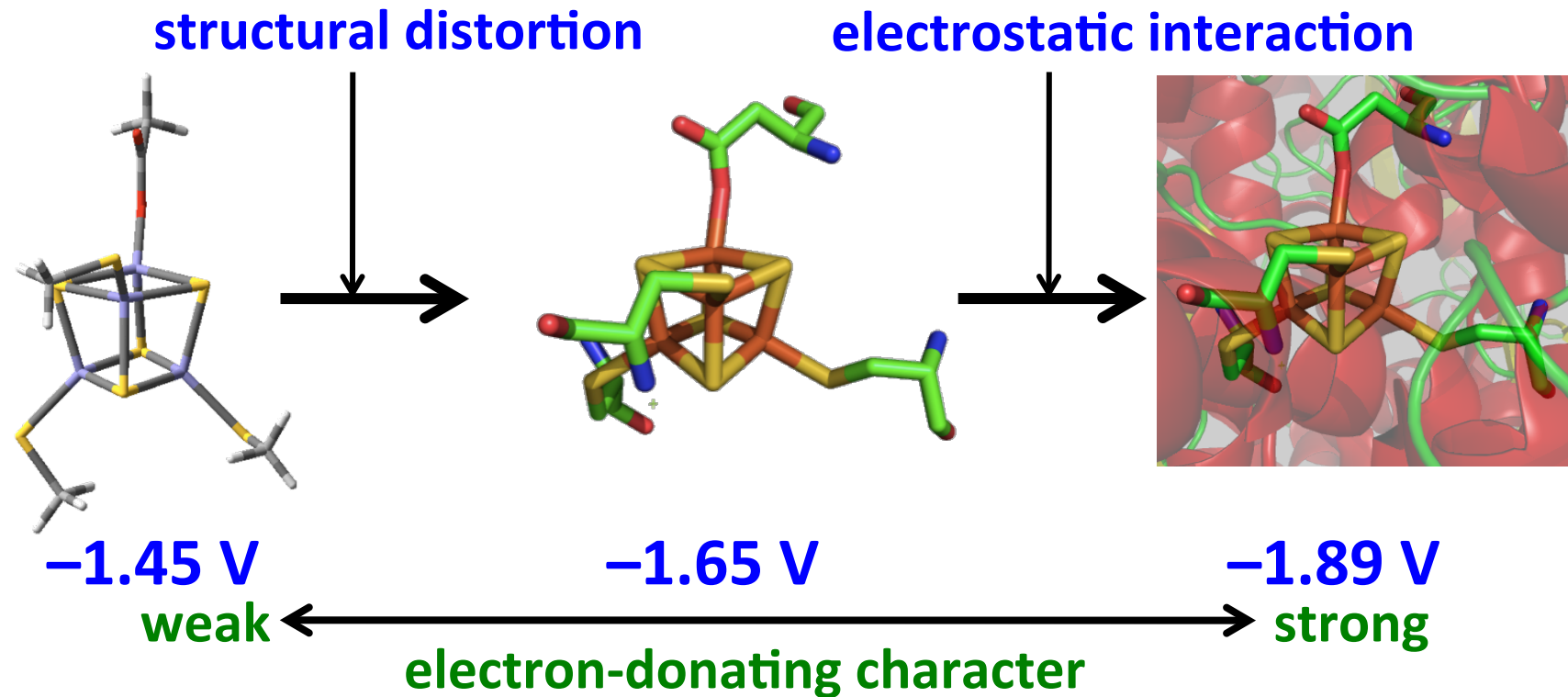


# Effects of protein environment



# Effects of protein environment

Redox potential ( $\epsilon = 10.0$ )



DPOR enhances the electron-donating character of the NB cluster

# まとめ

Q1: How does the Asp ligation affect the electronic structure of the [4Fe-4S] cluster?

A1: **The Asp ligation to the [4Fe-4S] cluster provides a better electron-donating character.**

→ Reduction of the protochlorophyllide in DPOR

Q2: What is the fourth ligand of the [4Fe-4S] cluster in the D36A mutant?

A2: Redox potential and enzyme activity

→ A **Cl<sup>-</sup> ion** is more likely to be **the fourth terminal ligand to the [4Fe-4S] core of the D36A mutant** than an OH<sup>-</sup> ion.

Q3: How does DPOR affect the electronic structure of the NB cluster?

A3: The structural distortion and electrostatic interactions of DPOR **enhance the electron-donating character of the NB cluster.**

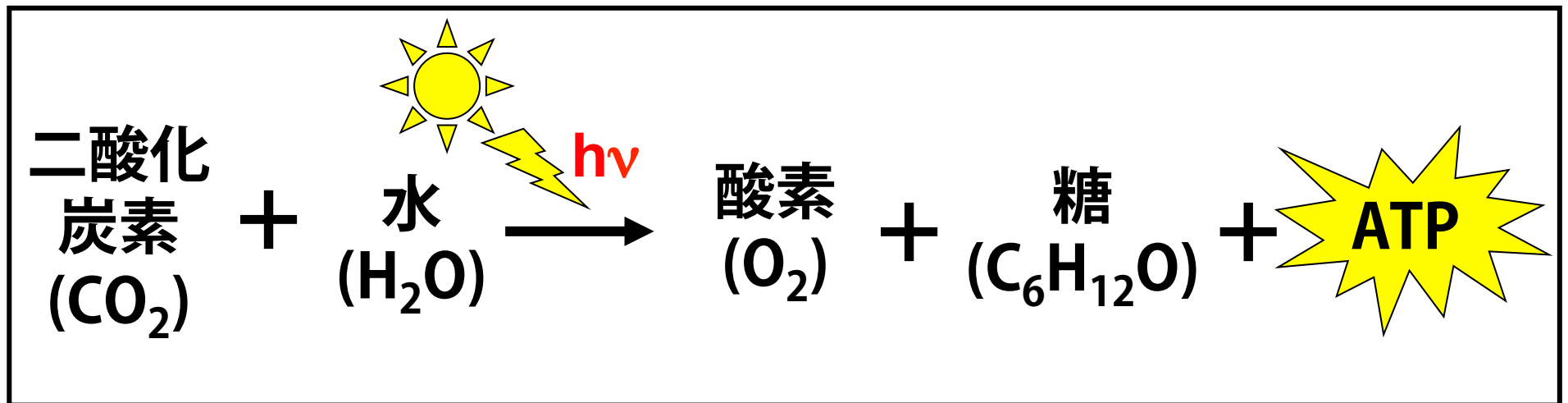
## III-2. 光合成反応中心スペシャルペア

Yamasaki, H.; Nakamura, H.; Takano, Y. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *447*, 324–329

Yamasaki, H.; Takano, Y.; Nakamura, H. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 13923–13933

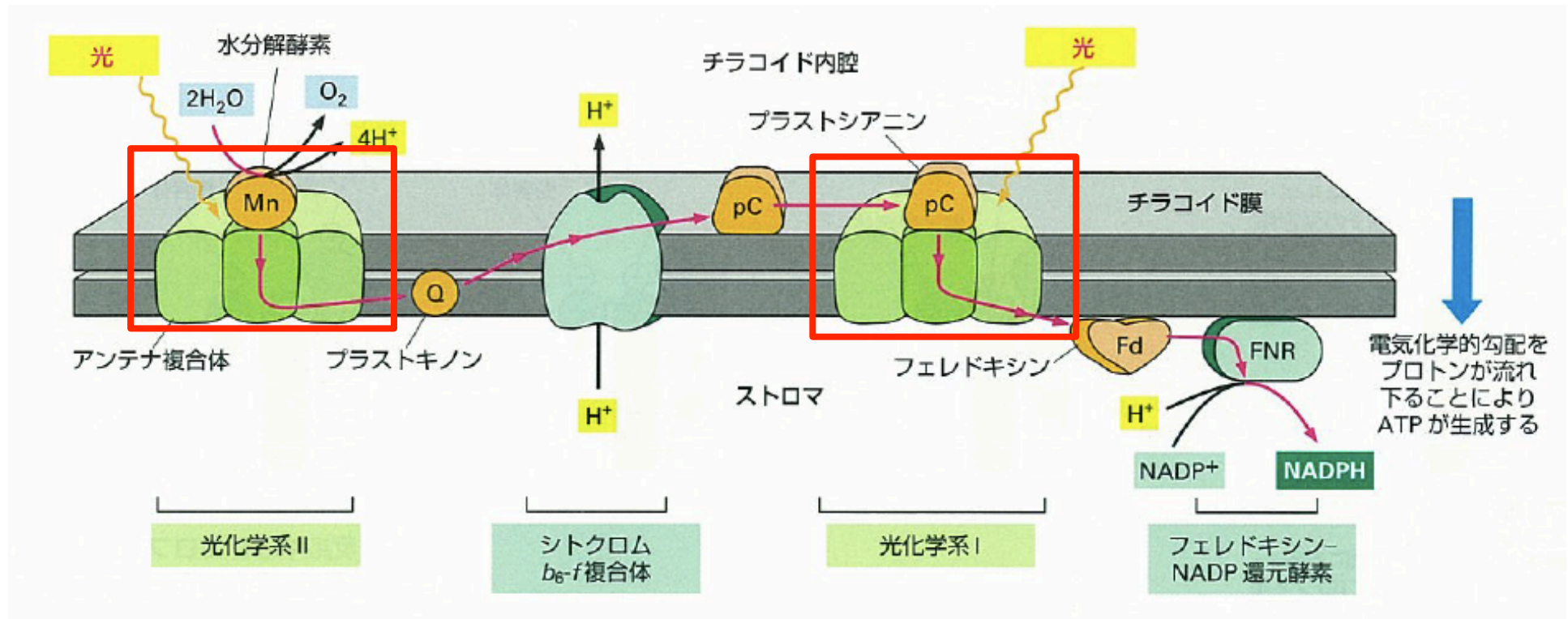
# 光合成

植物などの光合成色素をもつ生物がおこなう、  
光エネルギーを化学エネルギーに変換する生化学反応



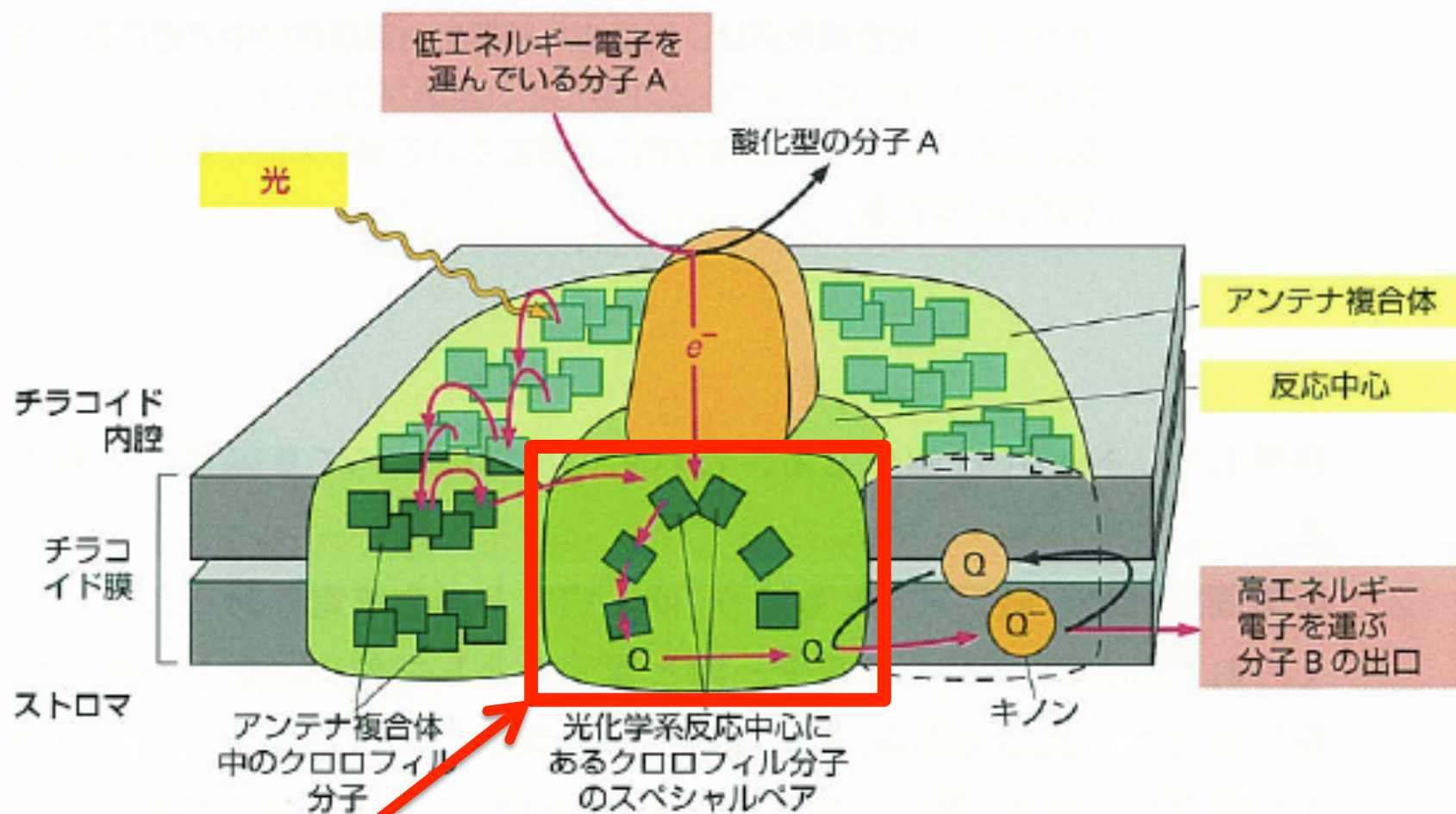
光合成電子伝達反応 (明反応) + 炭素固定反応 (暗反応)

# 光合成電子伝達反応 (明反応)



数々のタンパク質複合体により構成されている

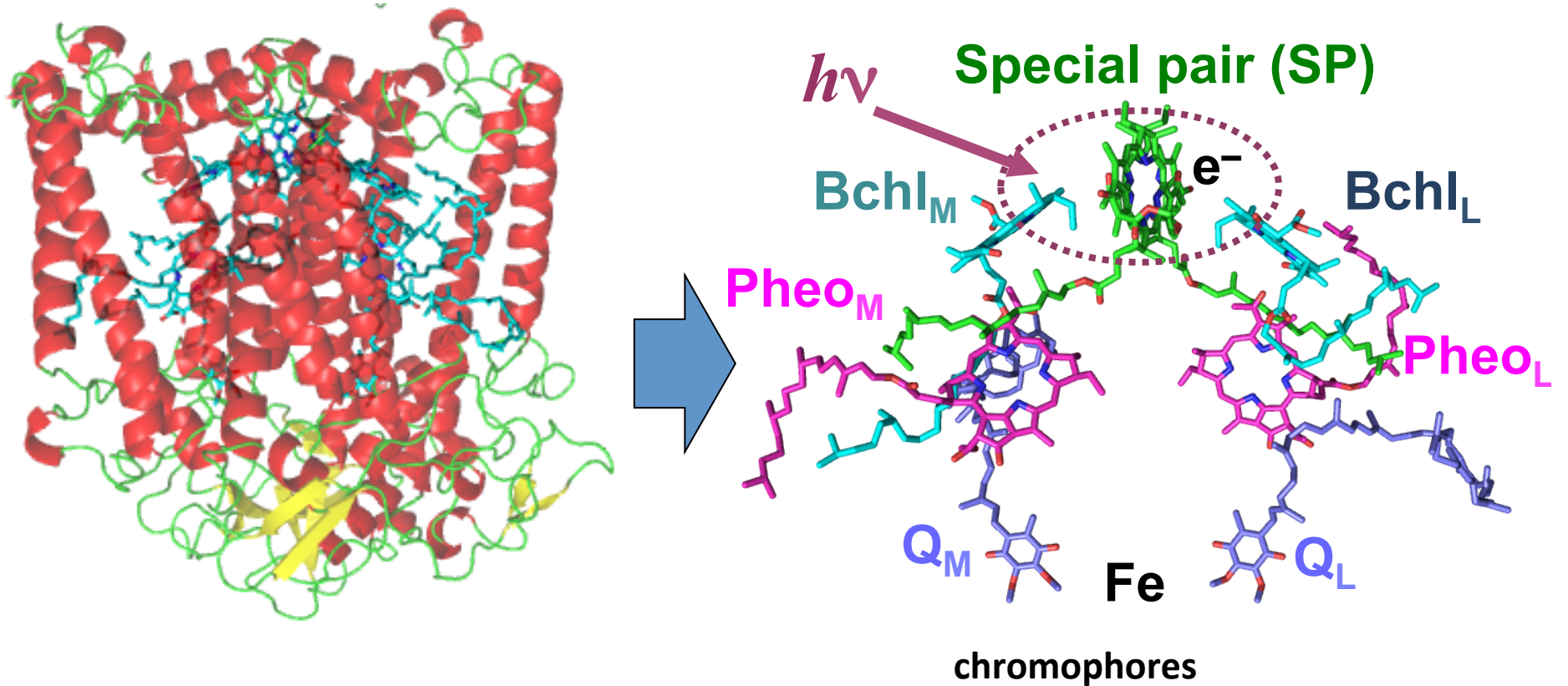
# 光化学系



反応中心: 光エネルギーを電子エネルギーに変換

# 光合成反応中心

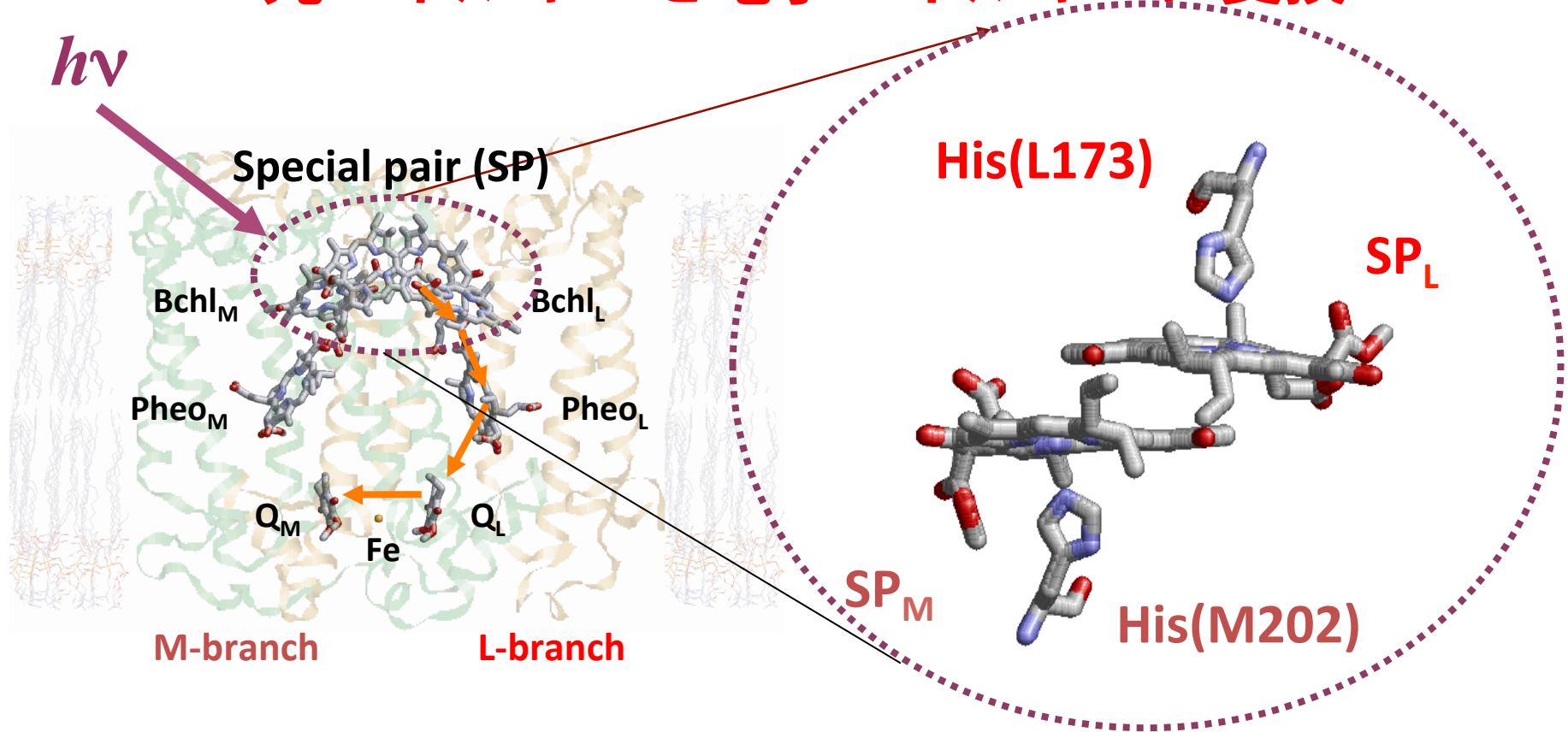
光エネルギーを電子エネルギーに変換  
(量子収率 > 0.8)





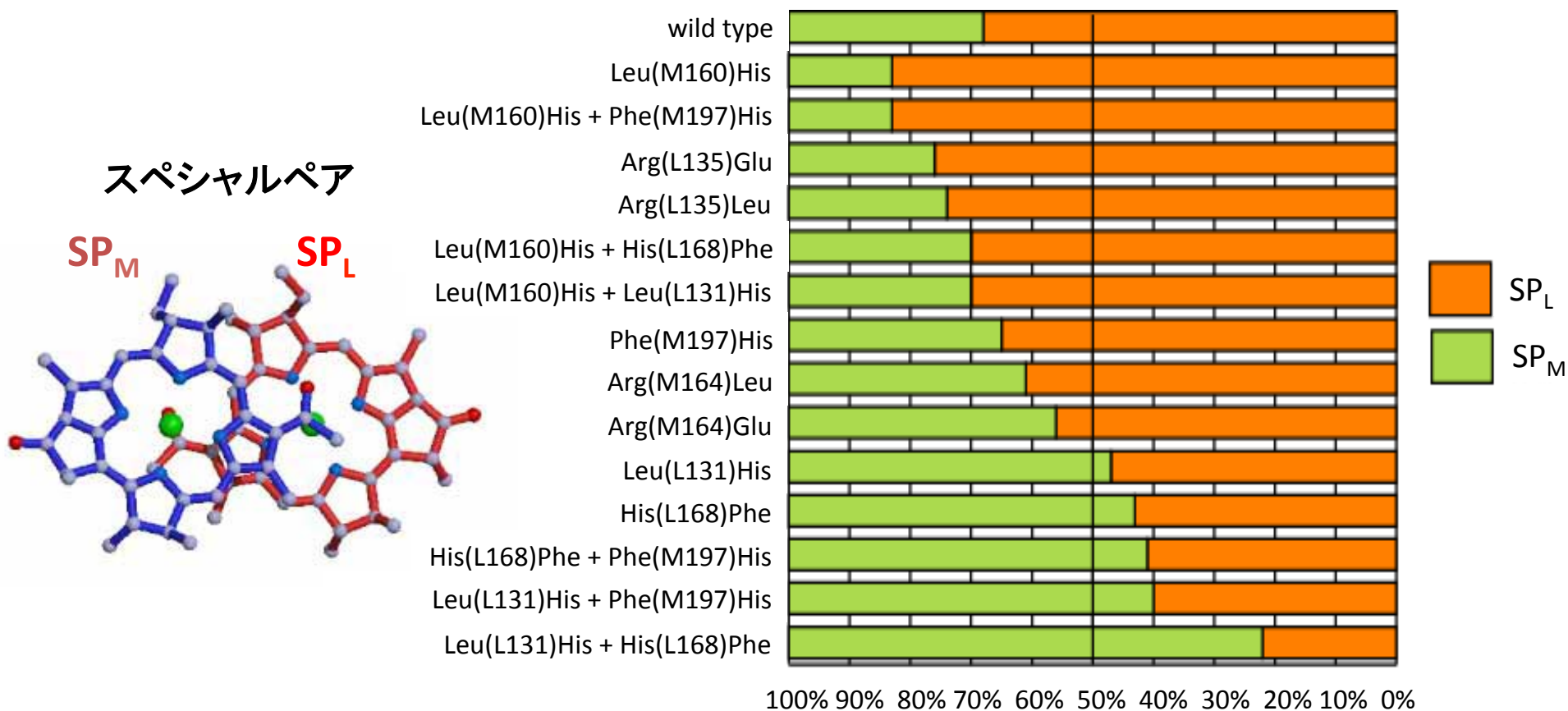
# 光合成反応中心

光エネルギーを電子エネルギーに変換



色素が疑似二回対称性を持つにもかかわらず  
電子移動経路は一方向

# スペシャルペアカチオンラジカルの スピン密度



スペシャルペアカチオンラジカルのスピン密度は非対称

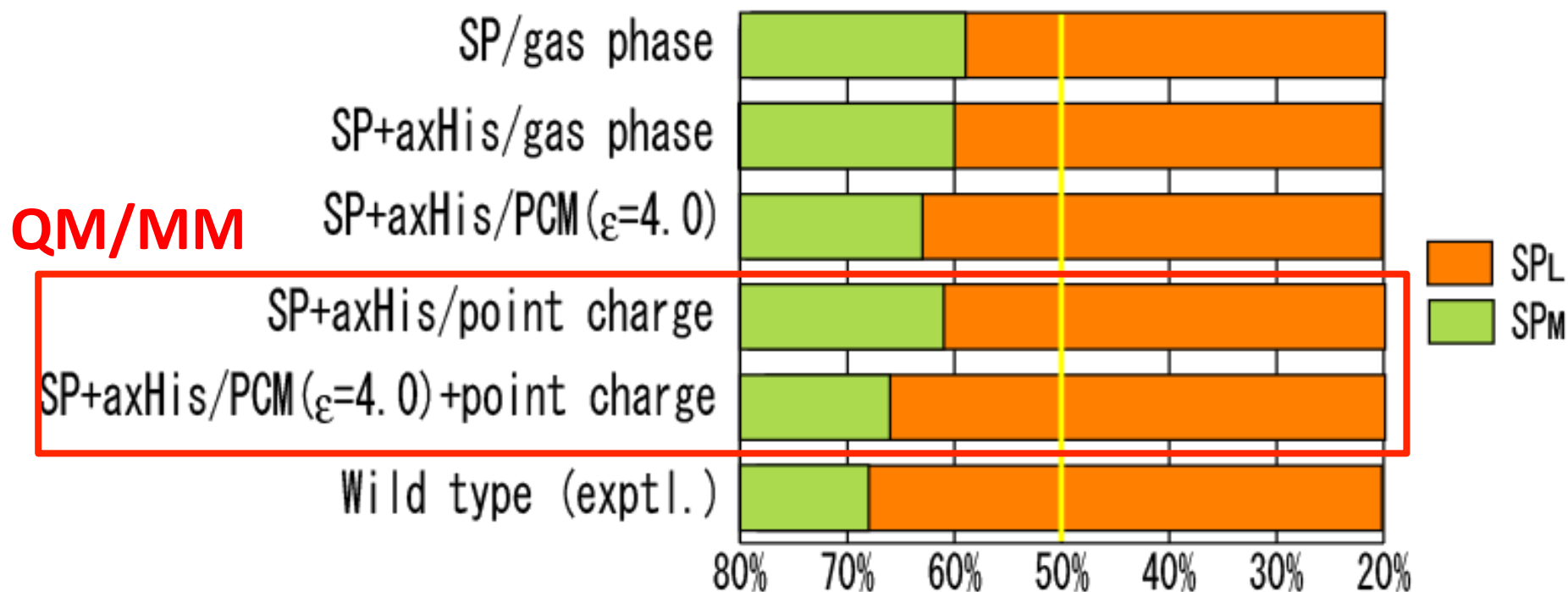
# 目的

スペシャルカチオンラジカルの  
スピン密度の非対称性の原因は何か？



光合成反応中心の非対称な電子移動

# タンパク場の効果

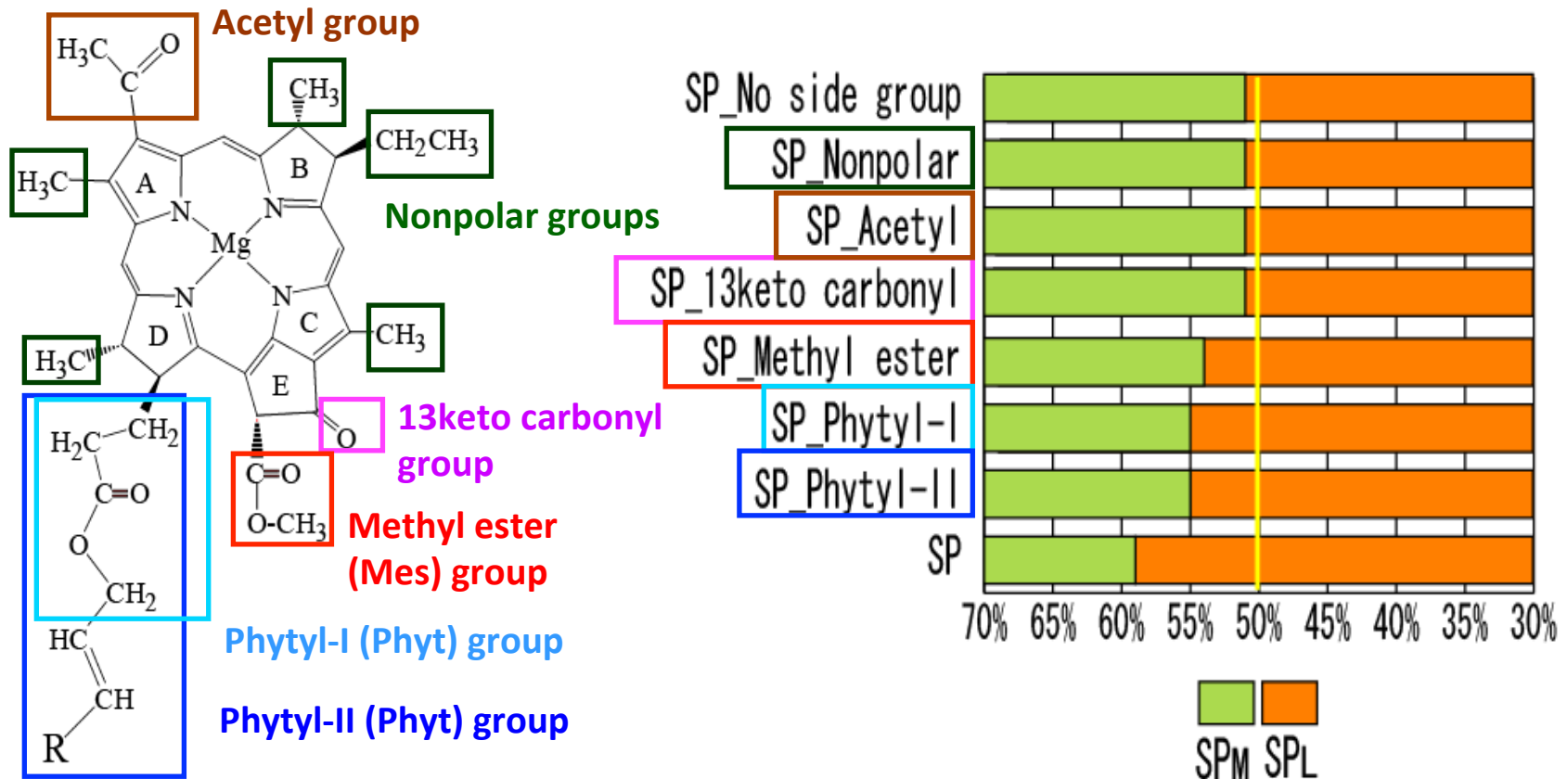


- スピン密度の偏りが再現された
- スペシャルペア単体でもスピン密度に偏りが生じている
- タンパク質の静電相互作用がスピン密度の非対称性が強める

Yamasaki, H.; Nakamura, H.; Takano, Y. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *447*, 324–329

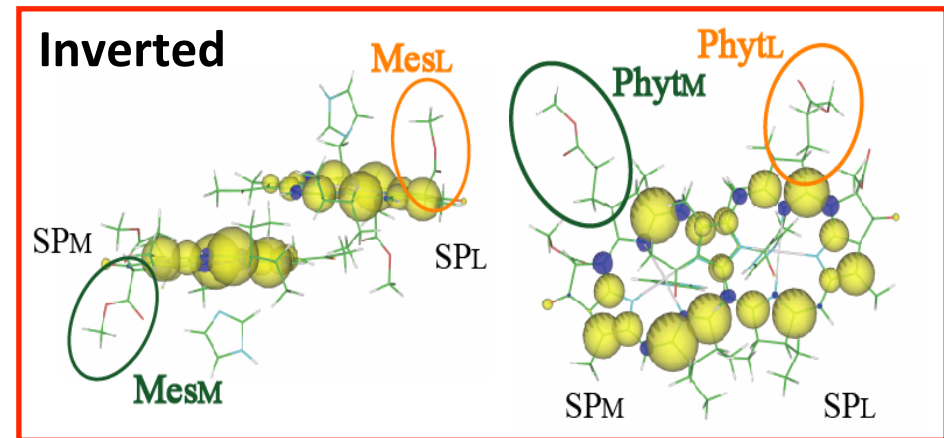
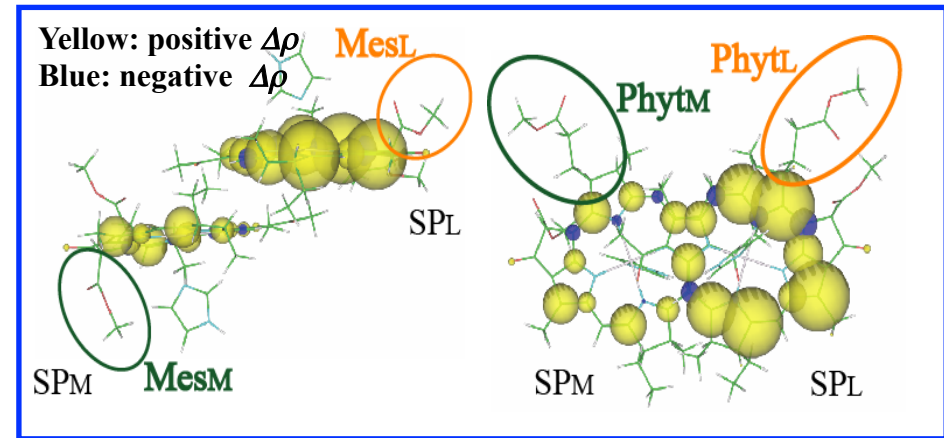
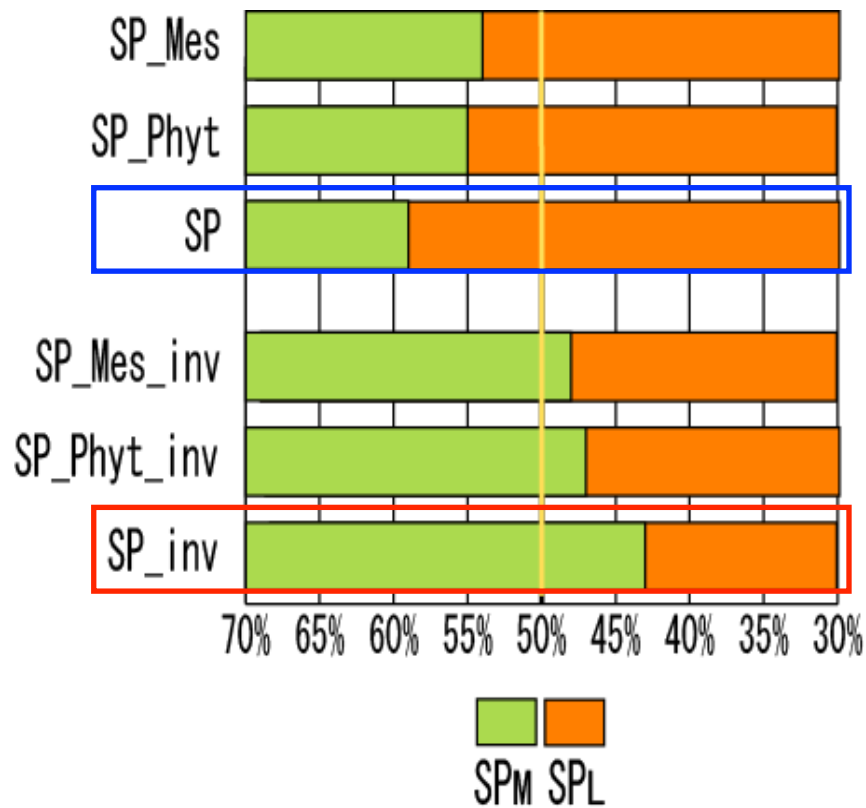
[QM]方法:UB3LYP 基底関数6-31G(d)(0.25) [MM] AMBER96

# 側鎖の影響

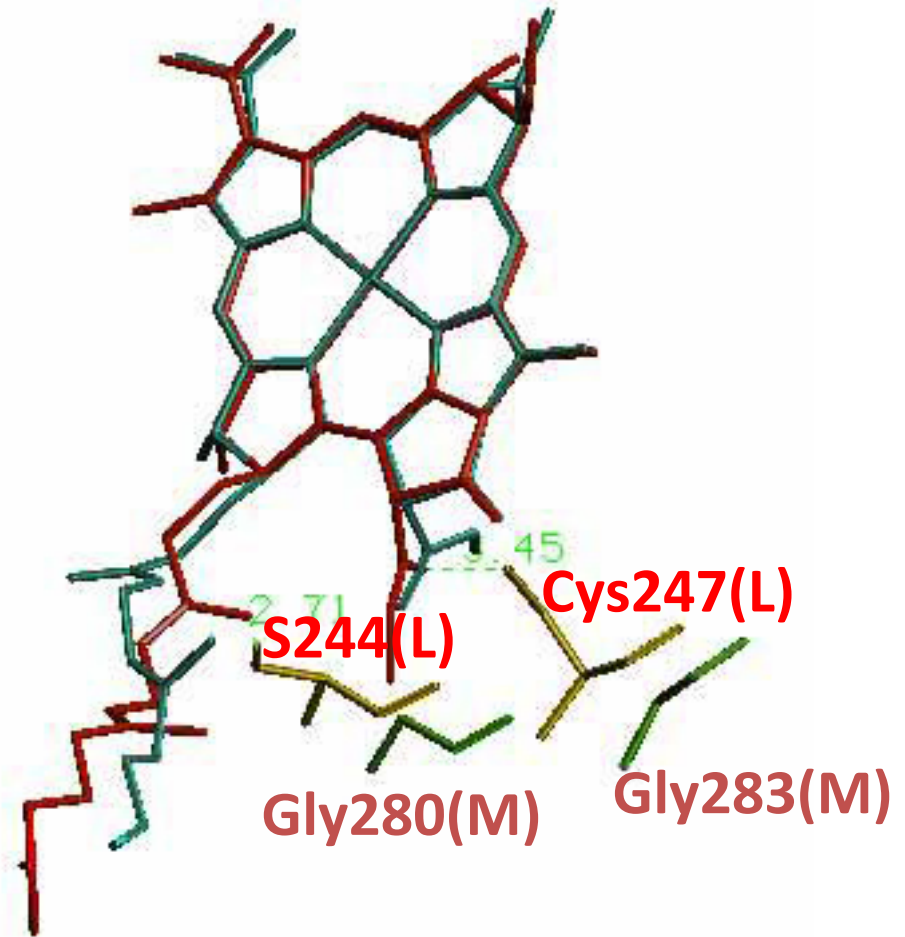
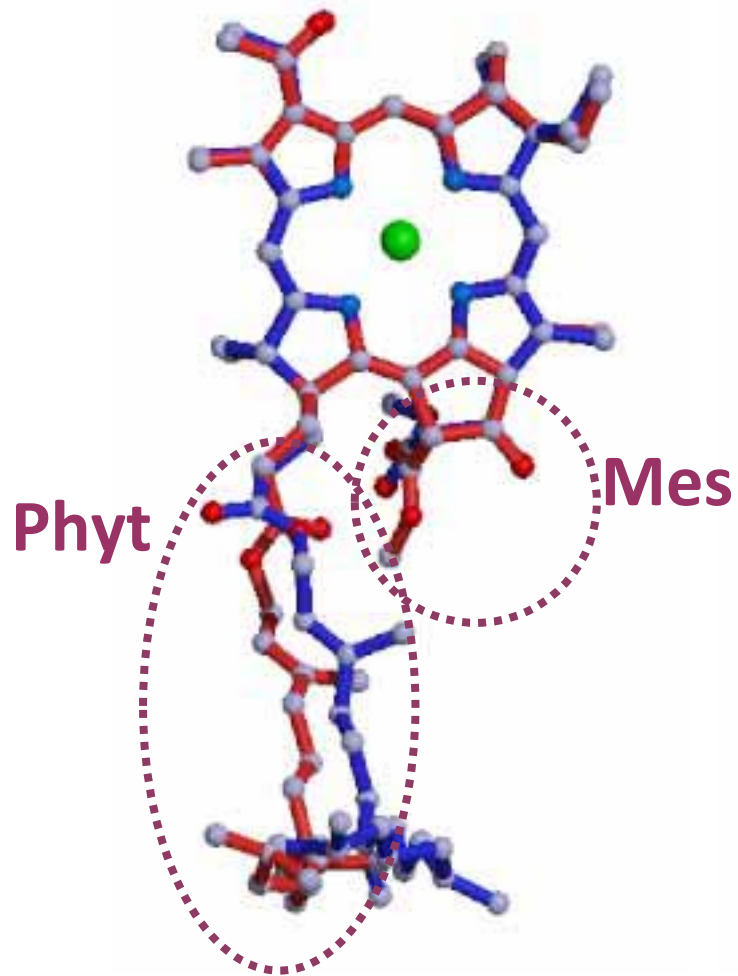


Mes基とPhyt基の配向の違いにより  
 スペシャルペアの電子構造の非対称性が生じた

# 側鎖の影響



# Mes基とPhyt基の配向が異なる

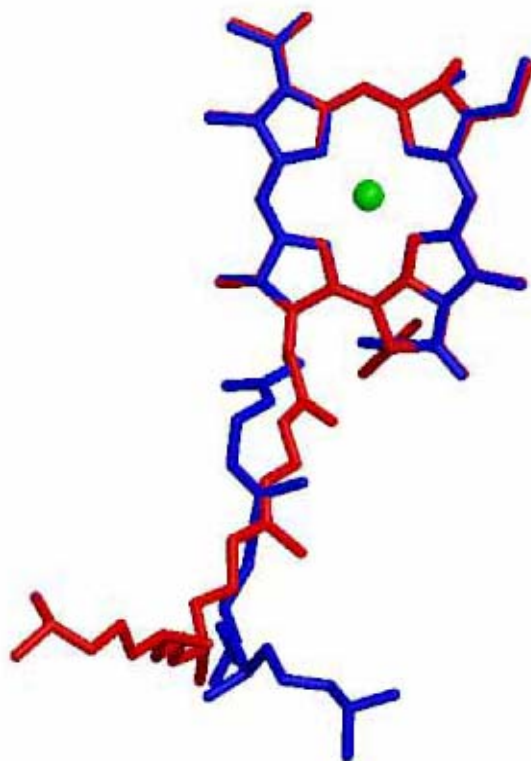


# 配向の違いは保存されている



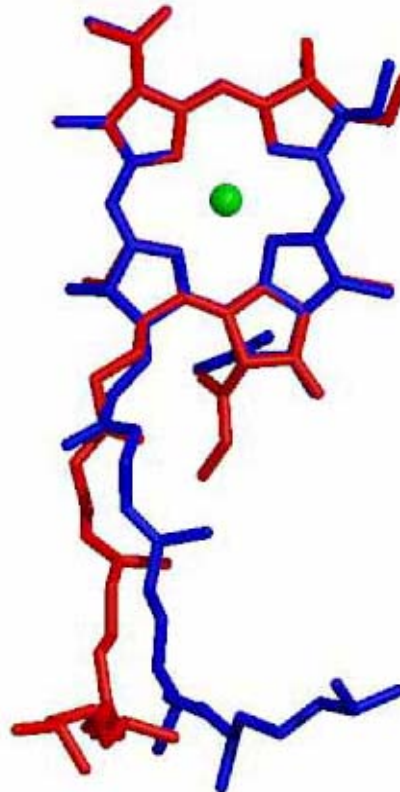
1aig

*Rhodobacter  
sphaeroides*



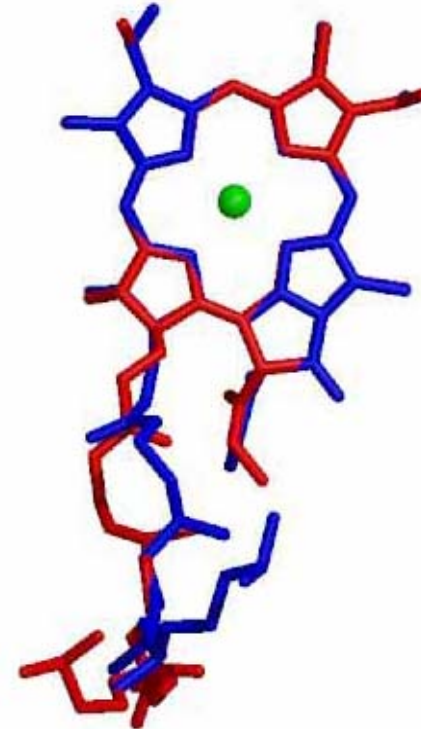
2i5n

*Rhodospseudomonas  
viridis*



1eys

*Thermochro-  
matium tepidum*



2axt

*Thermosynecho-  
coccus elongatus*

---

Purple bacteria

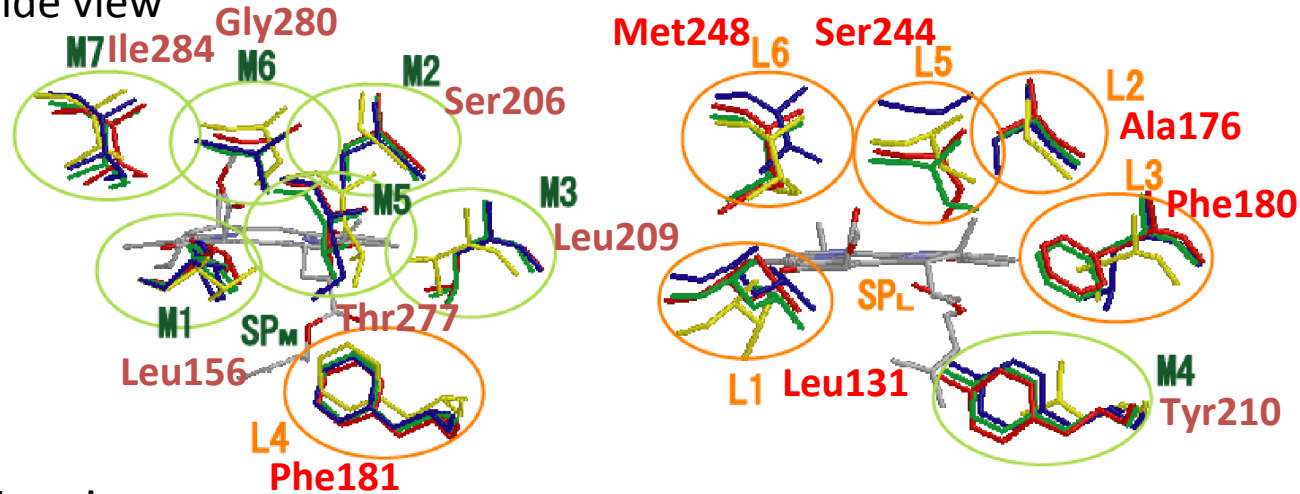
---

Cyanobacteria



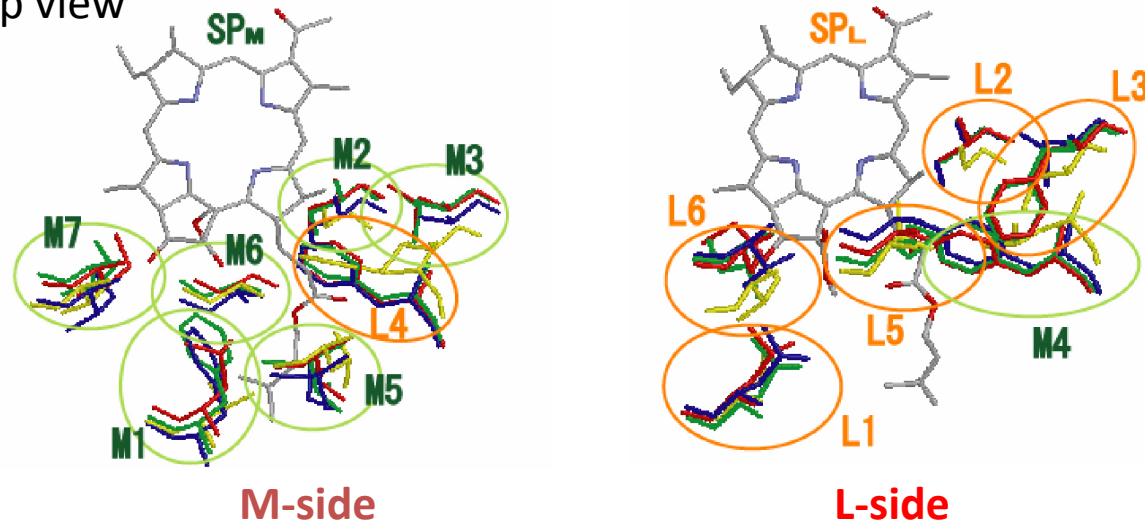
# タンパク質環境が配向の違いを与える

Side view



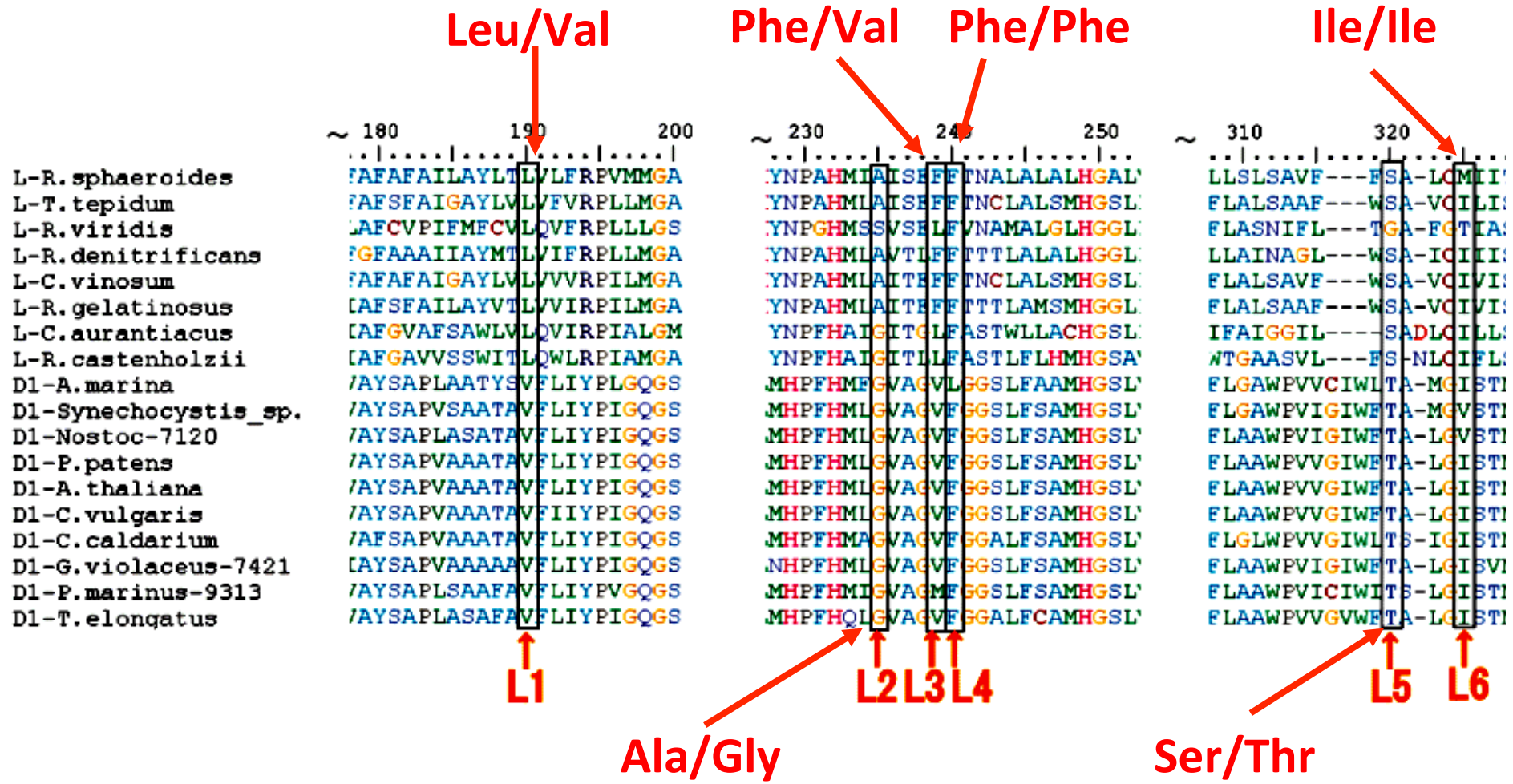
*Rb. sphaeroides* (red)  
*Rh. viridis* (blue)  
*T. tepidum* (green)  
*T. elongatus* (yellow)

Top view

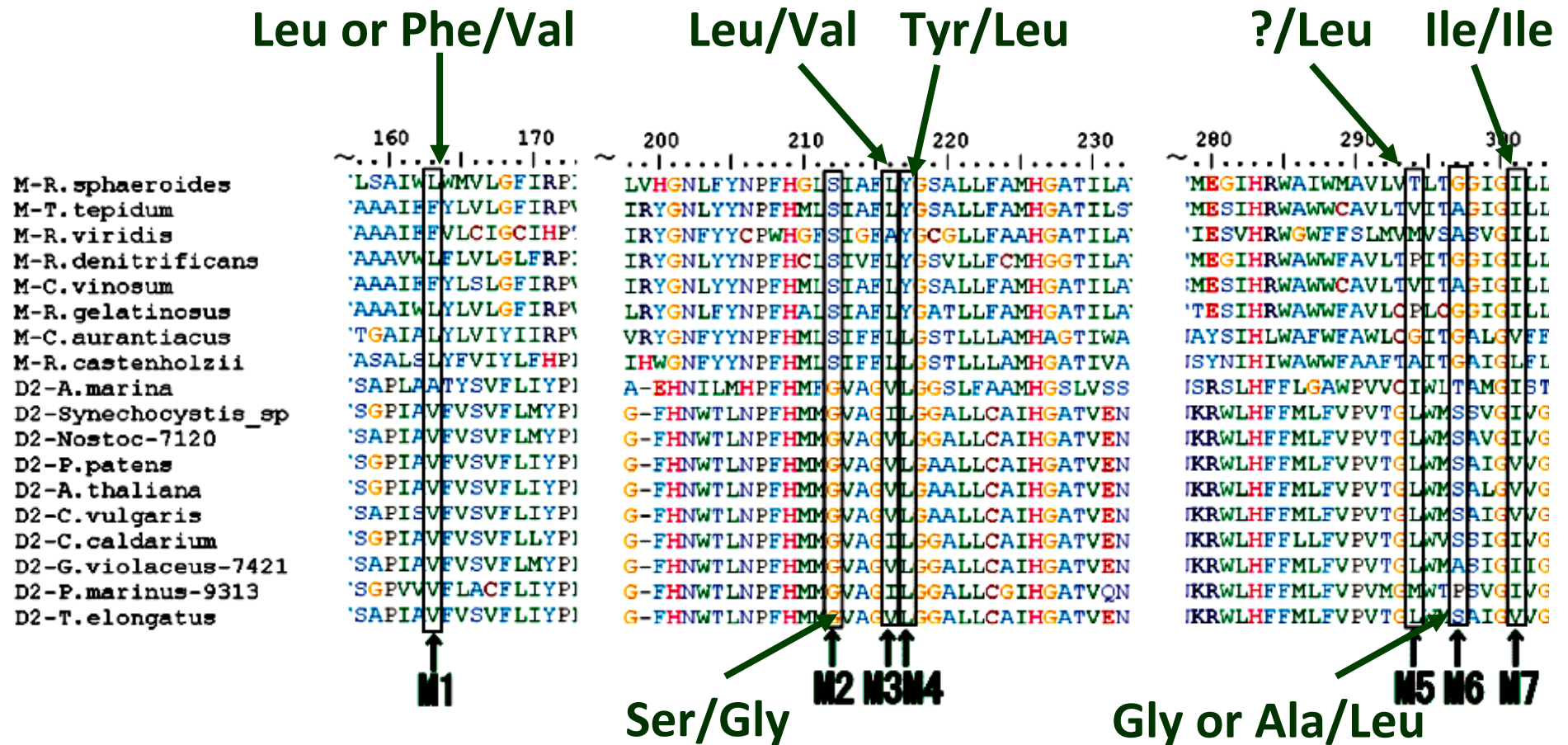


4つの結晶構造の重ね合わせでは、  
Mes基とPhyt基のまわりはよく重なっている

# 配向の違いを与えるアミノ酸残基は 保存されている



# 配向の違いを与えるアミノ酸残基は 保存されている



Mes基とPhyt基の配向を決めるアミノ酸残基は  
よく保存されている

# NMRによる検証


## Symmetry Break of Special Pair: Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization NMR Confirms Control by Nonaromatic Substituents

Karthick Babu Sai Sankar Gupta,<sup>†</sup> A. Alia,<sup>†,§</sup> Huub J.M. de Groot,<sup>†</sup> and Jörg Matysik<sup>\*,†,‡</sup>

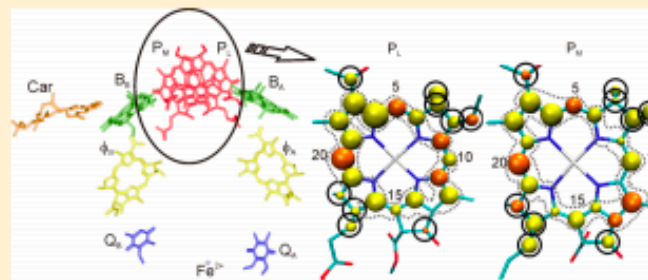
<sup>†</sup>Institute of Chemistry, Leiden University, P.O. Box 9502, 2300 RA Leiden, The Netherlands

<sup>‡</sup>Institut für Analytische Chemie, Universität Leipzig, Linnèstr. 3, 04104 Leipzig, Germany

<sup>§</sup>Institut für Medizinische Physik und Biophysik, Universität Leipzig, Härtelstraße 16-18, 04107 Leipzig, Germany

 Supporting Information

**ABSTRACT:** Despite the high structural symmetry of cofactor arrangement and protein environment, light-induced electron transfer in photosynthetic reaction centers (RCs) of the purple bacterium *Rhodobacter sphaeroides* runs selectively over one of the two branches of cofactors. The origin of this functional symmetry break has been debated for several decades. Recently, a crucial role of the substituents has been proposed by theoretical studies [Yamasaki, H.; Takano, Y.; Nakamura, H. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 13923–13933]. Photo-CIDNP (photochemically induced dynamic nuclear polarization) MAS (magic angle spinning) NMR demonstrates that indeed the peripheral atoms show opposite electronic effects on both sides of the special pair. While the aromatic system of  $P_L$  receives electron density from its periphery, the electron density of the aromatic ring of  $P_M$  is decreased.



# まとめ

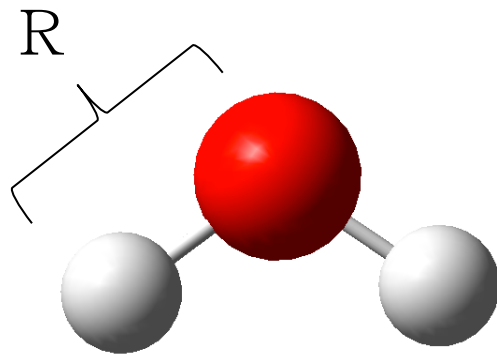
1. **Mes基とPhyt基の配向の違い**がスペシャルペアの電子構造の非対称性を引き起こした
2. **タンパク質の静電相互作用**がスピン密度の非対称性を強めた
3. Mes基とPhyt基の配向を決める配列は**保存**されていた

**IV. Photoactive Yellow Proteinに  
現れる  
H/D同位体効果の理論的解析**

# H/D同位体効果（同位体シフト）

重水素置換によって分子の構造や  
分光スペクトルに生じる微小変化

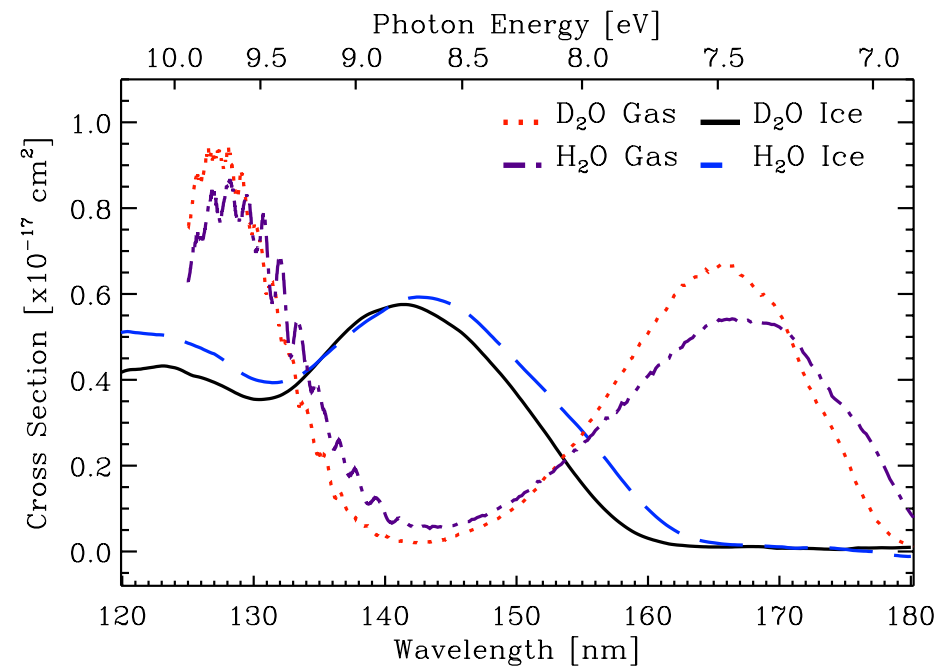
Geometry



$$R(\text{OH}) = 0.990$$

$$R(\text{OD}) = 0.985$$

Absorption spectrum



原子核の量子揺らぎの違いを反映  
電子状態の量子化学計算だけでは解析不能

# H/D同位体効果の理論解析手法： Multi-Component Quantum Mechanics (MC\_QM)

## ▼理論概説

### ① 拡張されたHamiltonian

$$\hat{H}_{MC} = \hat{H}_e + \hat{T}_p + \hat{V}_{e-p}$$

電子のHamiltonian  
水素原子核の運動エネルギー

核-電子相互作用

### ② 拡張された波動関数

$$\Psi = |\Psi\rangle^e \otimes \prod_i \varphi_i^p$$

電子の波動関数 (Slater行列式)

水素の波動関数

### ③ 拡張されたLCAO-SCF方程式

$$FC = SC\varepsilon$$

電子のFock演算子:

$$f_0^e = h^e + \sum_j 2J_j^e + V^{XC(e-e)} - \sum_k J_k^p$$

水素のFock演算子:

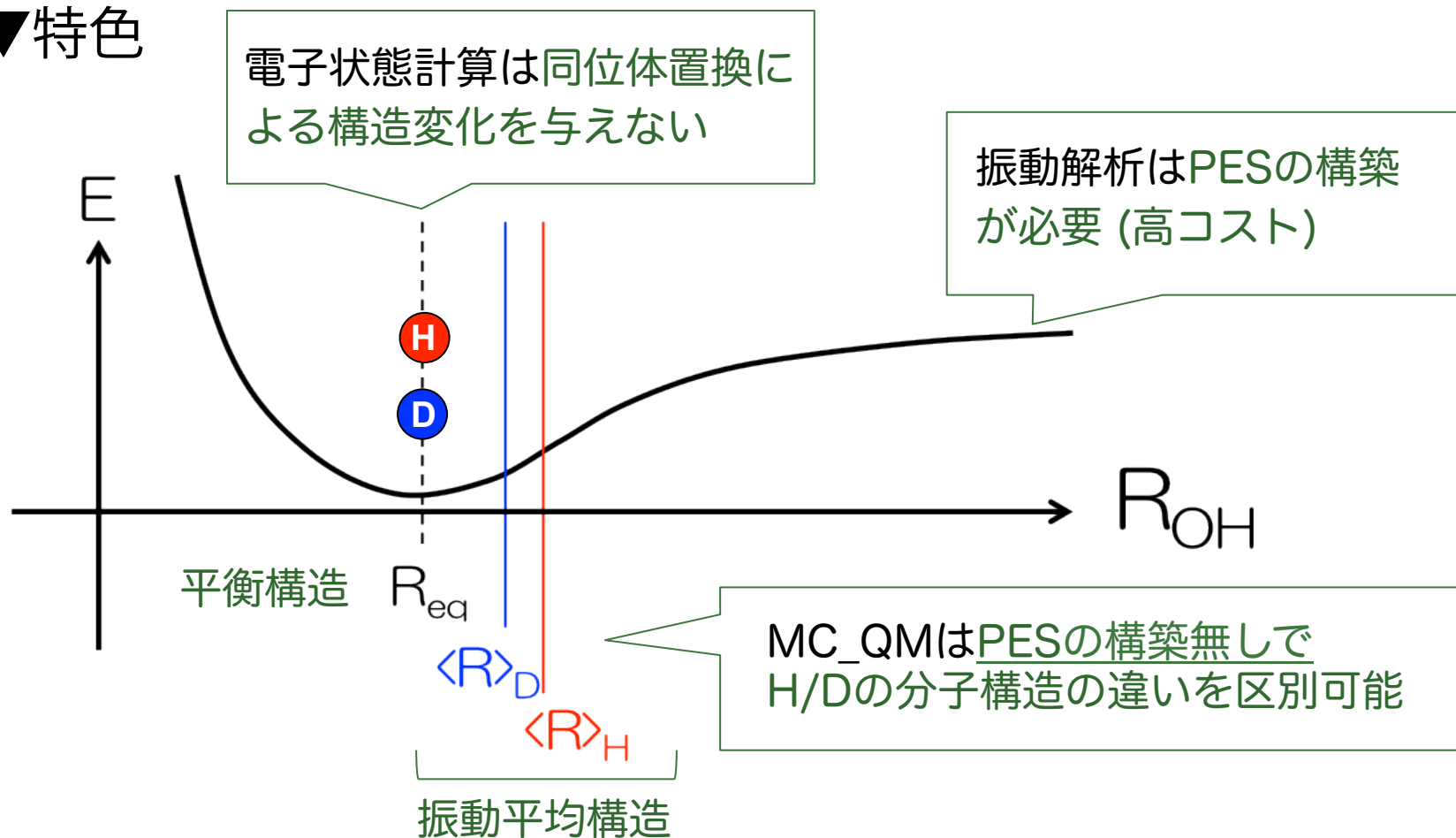
$$f_0^p = h^p + \sum_{l \neq k} J_l^p - \sum_j J_j^e$$

✓ 電子と水素原子核の量子状態を同時に決定



# H/D同位体効果の理論解析手法： Multi-Component Quantum Mechanics (MC\_QM)

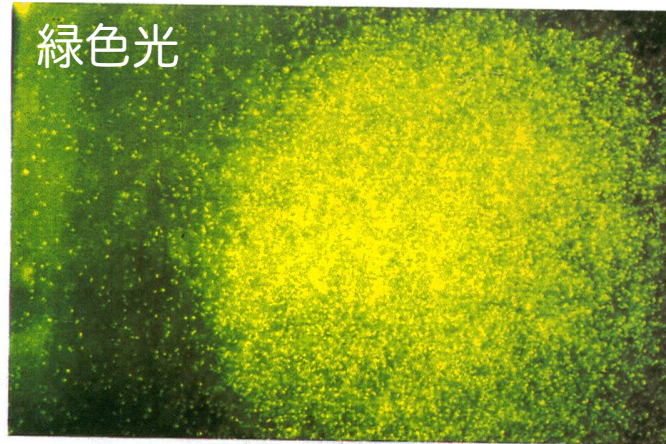
## ▼特色



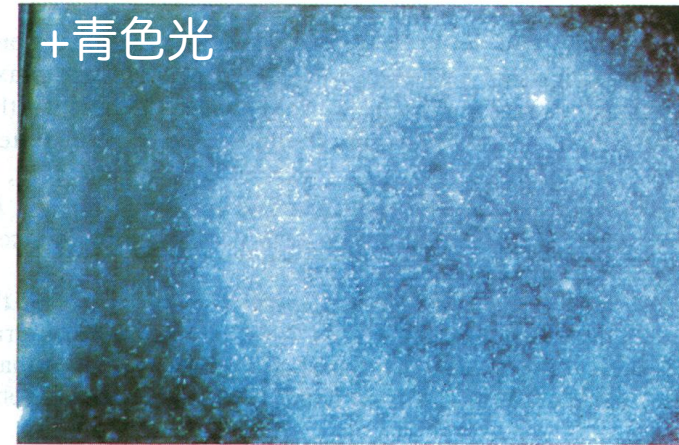
- ✓ MC\_QMは効率的に構造と分光スペクトルに現れるH/D同位体効果を解析可能

# Photoactive Yellow Protein (PYP)

好塩光合成細菌 *H. halophila* の負の走光性を制御

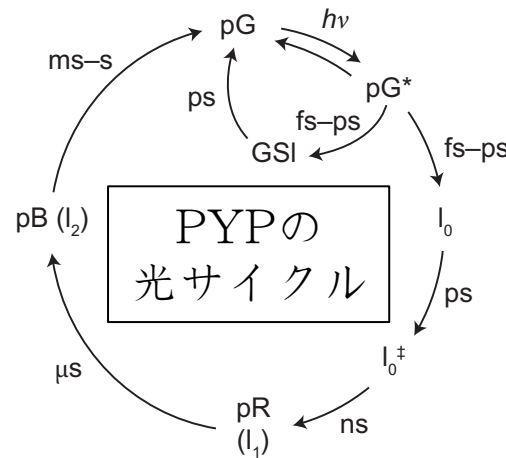
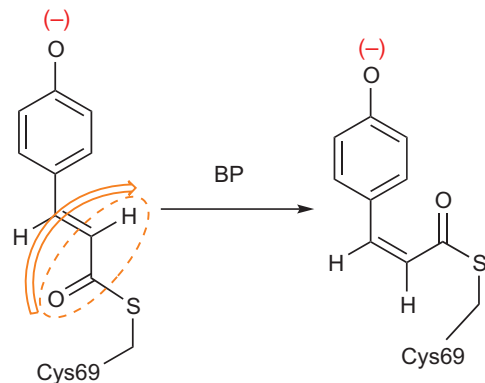


正の走光性



+負の走光性

発色団の光異性化  
(パラクマル酸: pCA)

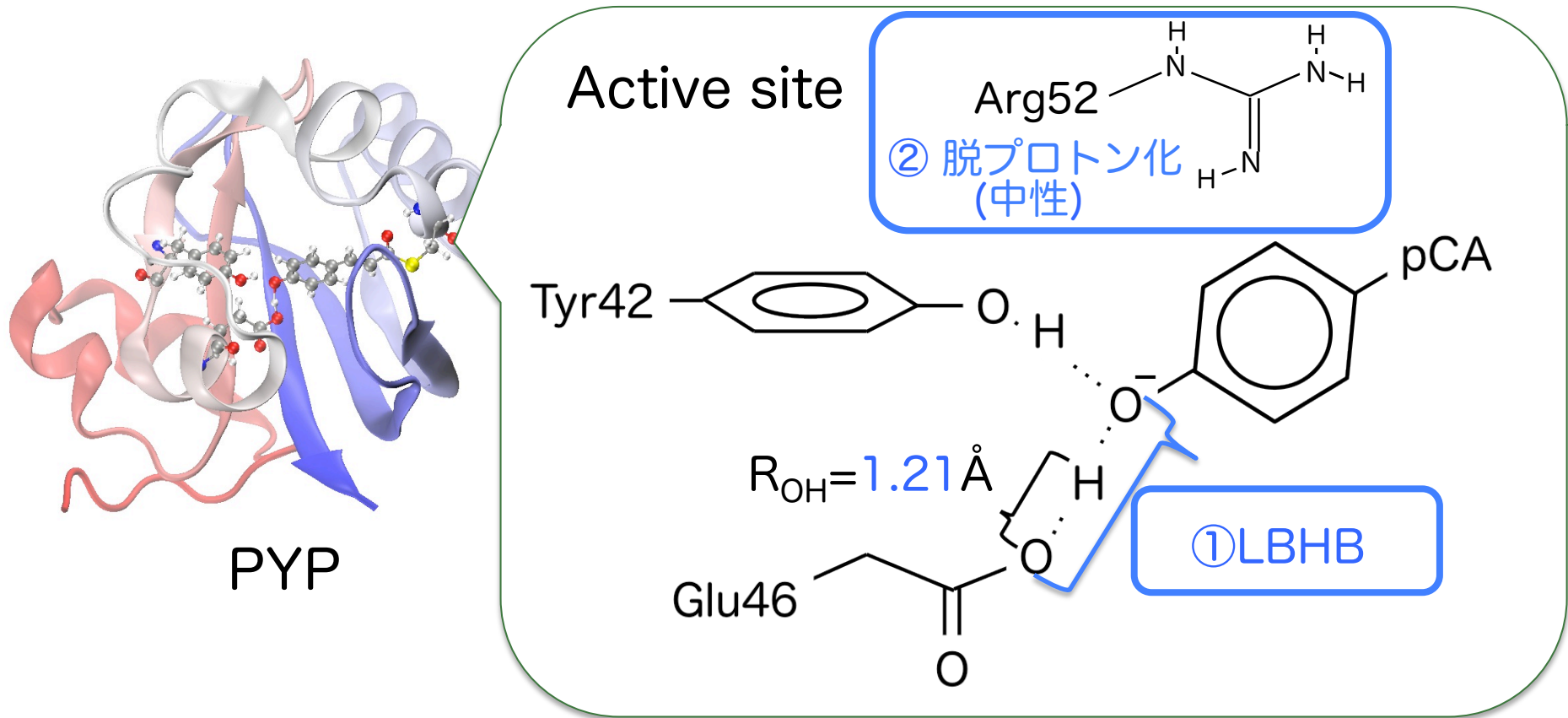


プロトン移動共役  
シグナル伝達?

# Photoactive Yellow Protein (PYP)

## ▼ 結晶構造解析

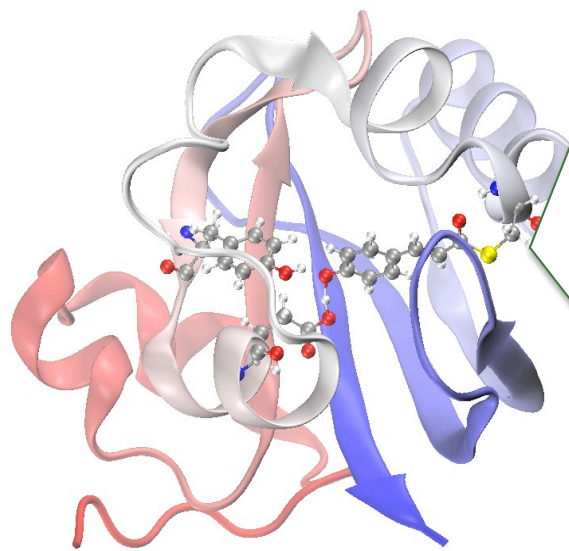
- ① 低障壁水素結合 (LBHB) が存在
- ② 近隣のArg52が脱プロトン化



# Photoactive Yellow Protein (PYP)

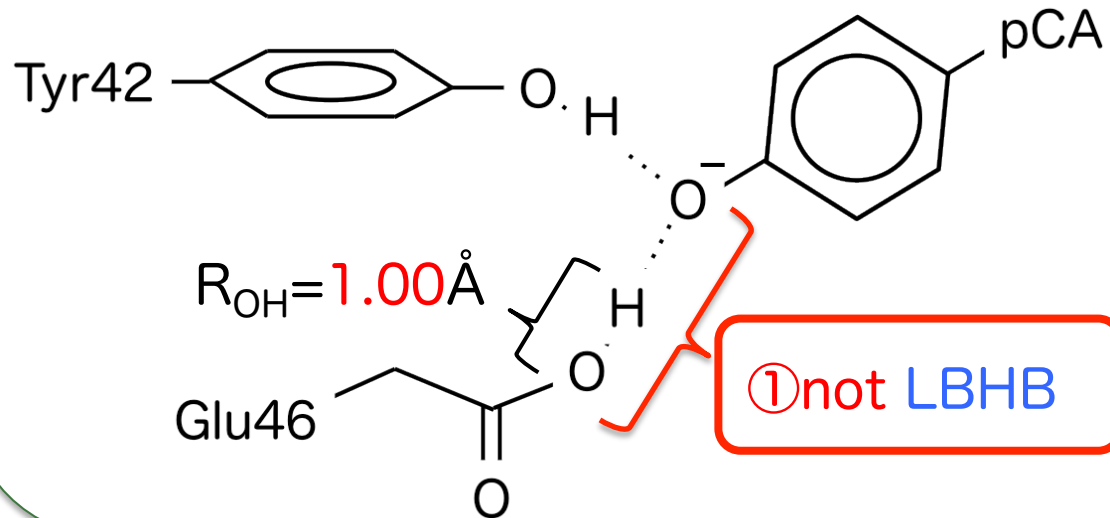
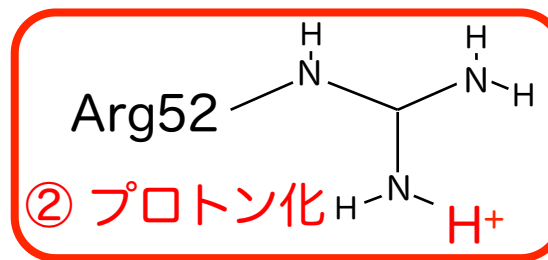
## ▼ 理論解析

- ① 一般的な水素結合が存在
- ② 近隣のArg52がプロトン化



PYP

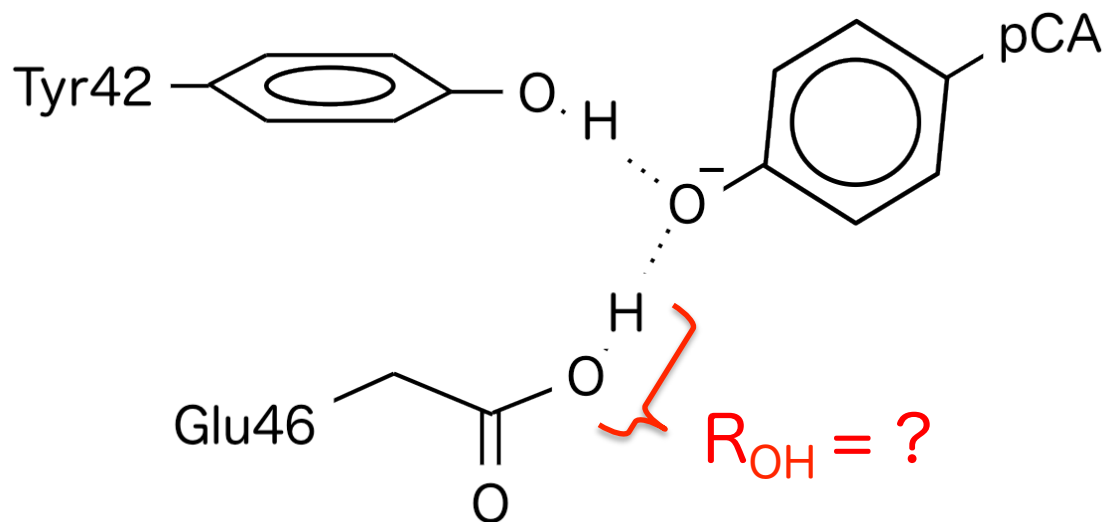
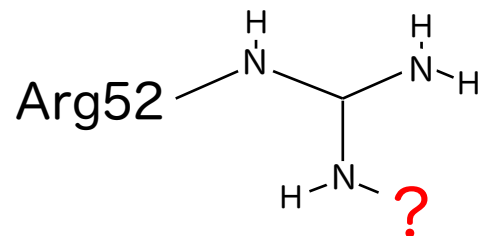
Active site



✓ 実験・理論で異なる描像を提示

# 目的

MC\_QM法を用いた解析により、H/D同位体効果  
という観点からpCAとGlu46間の水素結合と、  
Arg52のプロトン化状態について検討する



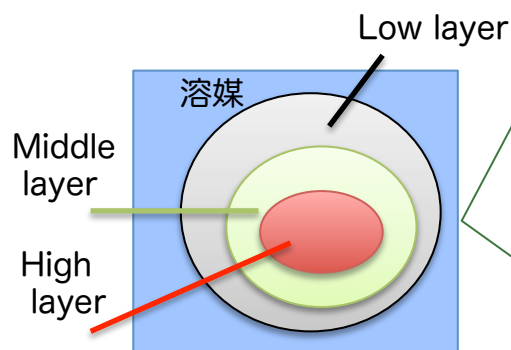
# 計算条件

## ▼ モデル

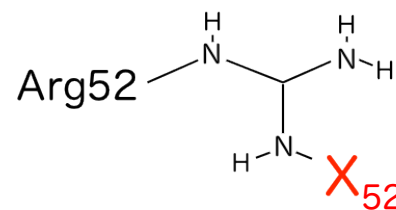
溶媒効果

ONIOM ×

ONIOM/PCM ○

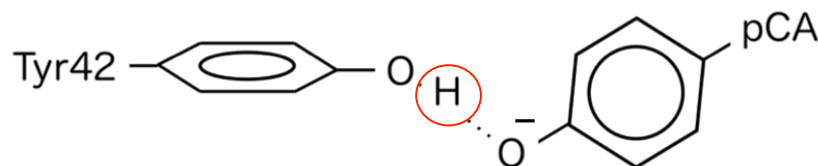


QM領域



$X_{52} = \text{Null}$   
→ 脱プロトン化(DP)

$X_{52} = \text{H}^+$   
→ プロトン化(P)



## ▼ 計算詳細

- high layer: MC\_CAM-B3LYP/6-31+G(d,p)
- middle layer: HF/3-21G
- layering
- low layer: Amber力場 (MM領域の構造は固定)
- 核基底関数系: 1s GTF
- 溶媒効果: CPCM
- NMR計算: GIAO

|           | high                            | middle          | low   | 溶媒  |
|-----------|---------------------------------|-----------------|-------|-----|
| ONIOM     | Y42,E46,R52,C69,pCA,(I31, T50)* | -               | 残りの残基 | -   |
| ONIOM/PCM | Y42,E46,pCA                     | I31,T50,R52,C69 | 残りの残基 | PCM |

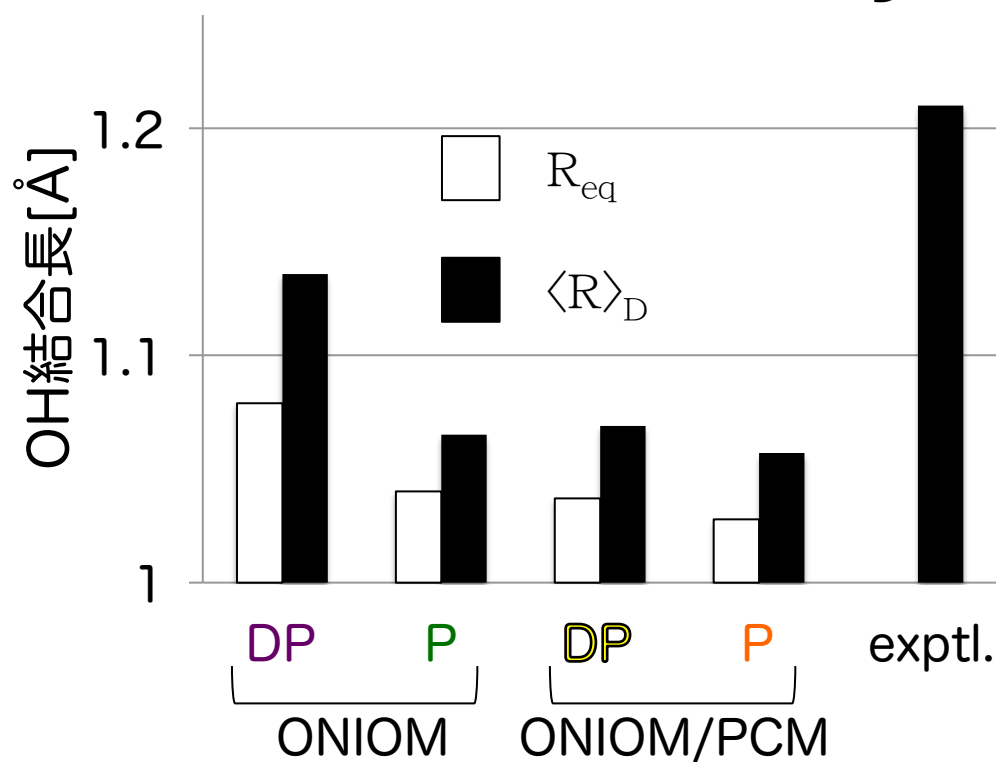
\* Only for protonated model \*\* main chains are assigned into middle layer

# 結晶構造解析との比較

- ▼ 各条件にGlu46のOH基の  
平衡結合長 ( $R_{eq}$ )  
と振動平均結合長 ( $\langle R \rangle_D$ )

✓  $\langle R \rangle_D > R_{eq}$

→ PESの非調和性を反映



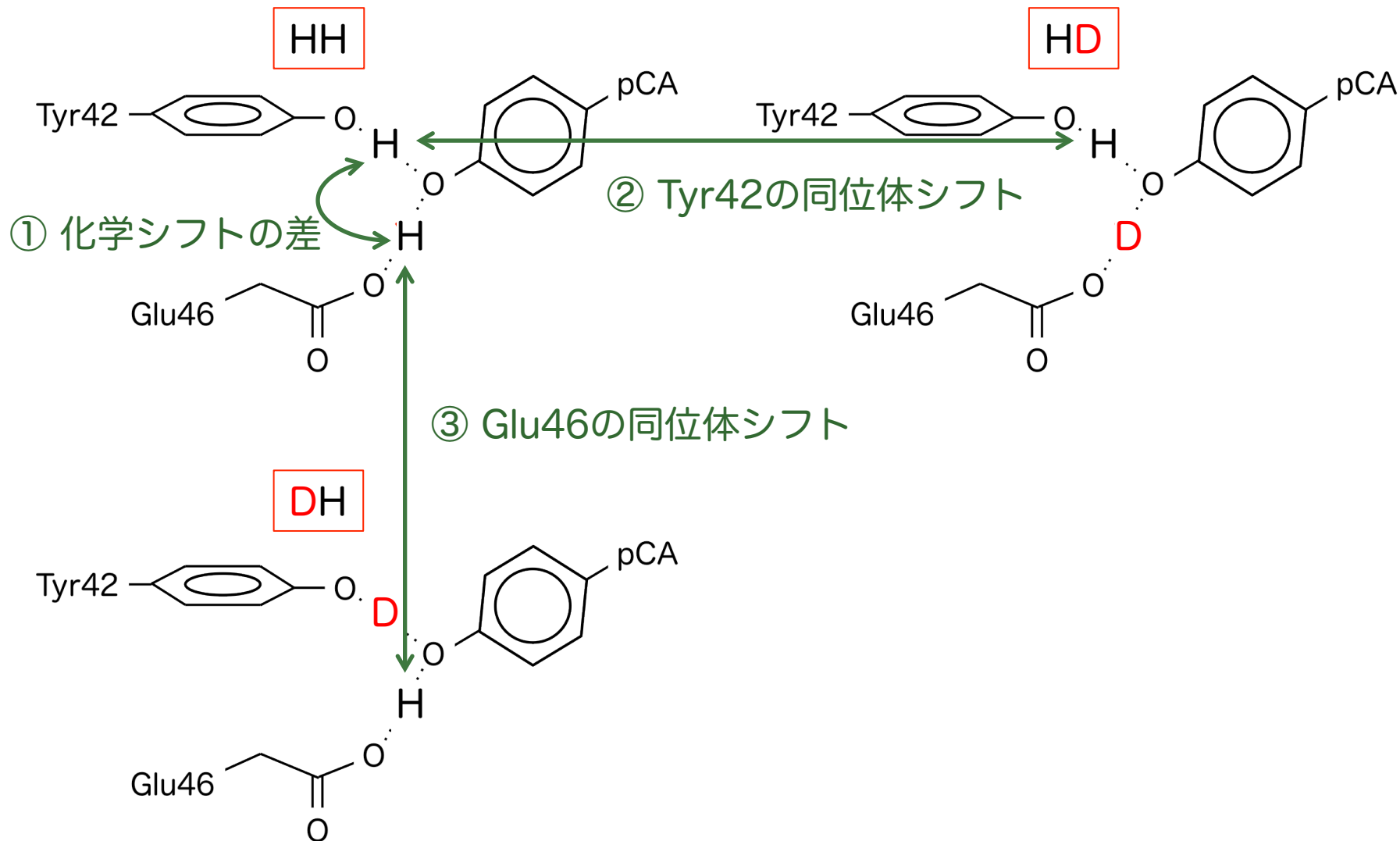
- ✓ 特にONIOM-DP (脱プロトン化)のモデルでOH結合長の伸びしろが大きい

- ✓ PCMにより水の溶媒効果を導入するとDPモデルでも大きな結合伸長は起きない

- ✓ 結晶構造解析に最も近いのは  
脱プロトン化Arg52のモデル(ONIOM-DP)

# 溶液NMRとの比較

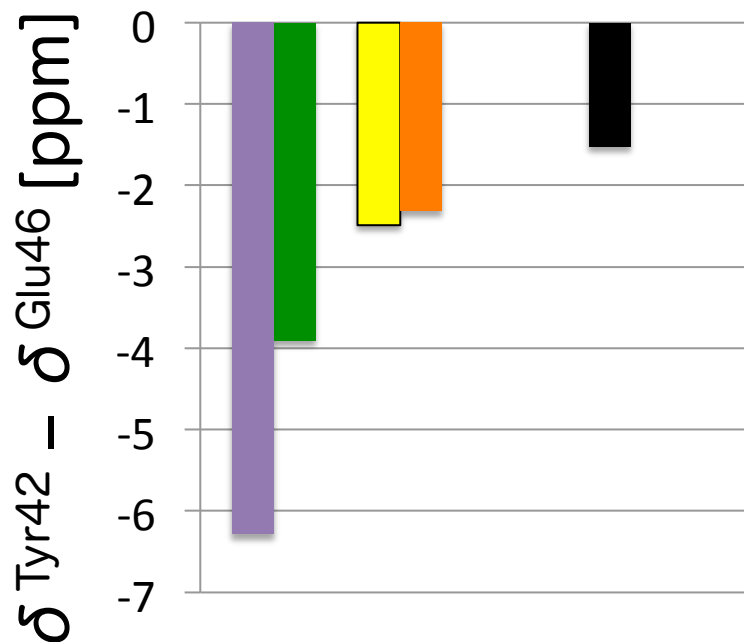
▼ 溶液NMRの3つの実験値に着目



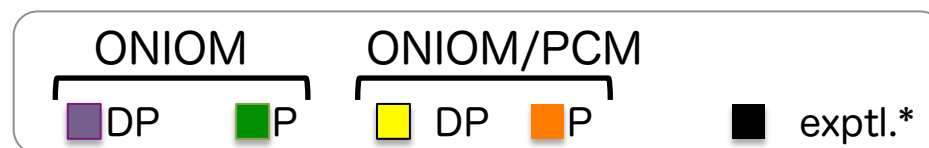
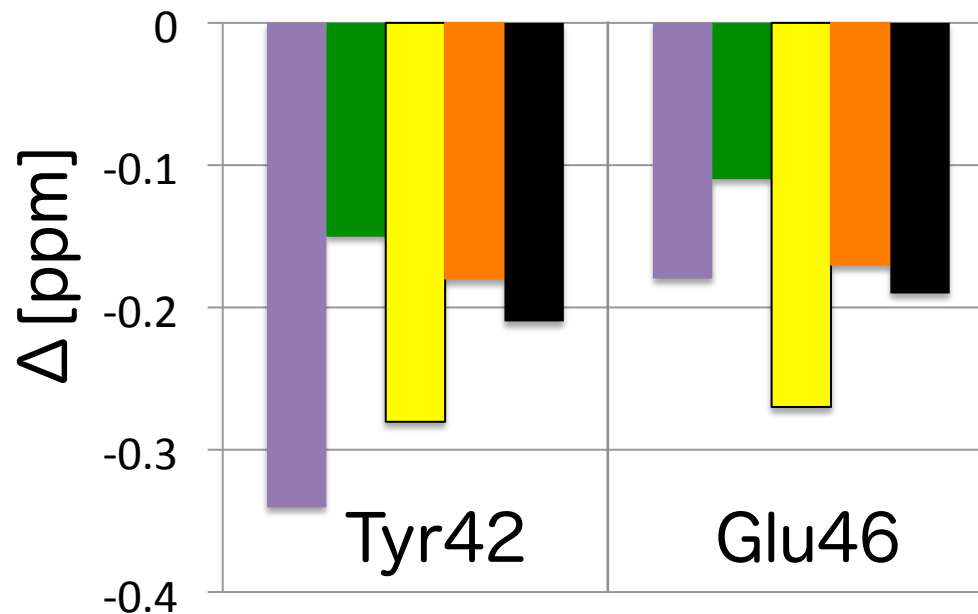


# NMR化学シフト、同位体シフト

▼ Tyr42とGlu46の  
 $^1\text{H}$  NMR 化学シフトの差



▼ Tyr42, Glu46それぞれの  
同位体シフト



✓ NMRの結果を最も良く再現したのは、  
プロトン化+溶媒効果のモデル (ONIOM/PCM-P)

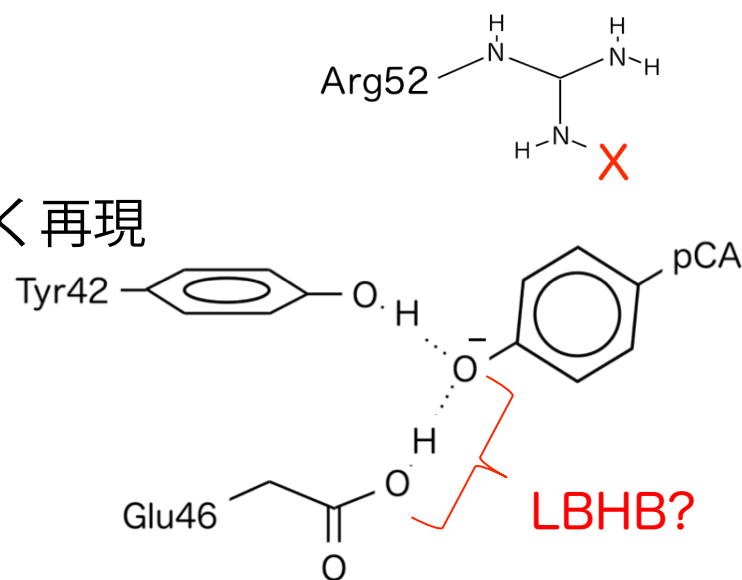
# 溶媒環境の違いが水素結合様態に影響か？

- ✓ Arg52の脱プロトン化のモデルが結晶構造解析の結果を最もよく再現
- ✓ プロトン化のモデル計算がNMRのそれぞれの同位体シフト実験値を最もよく再現

→ 両実験条件下ではArg52はプロトン化し、LBHBを形成しない

- ✓ 溶媒効果により液相NMRの再現性向上
- ✓ 溶媒効果は大きな結合伸長を阻害

→ LBHB形成時の静電環境は一般的な水溶媒のものとは異なっていることを示唆



|        | 溶液<br>NMR | 結晶<br>構造解析 | 発現菌の<br>生育環境 |                |
|--------|-----------|------------|--------------|----------------|
| Arg52  | プロトン化     | 脱プロトン化     | ?            |                |
| LBHB形成 | ×         | ○          | ?            |                |
| pH     | 7         | 9          | 10.5         | 強電解質<br>(誘電率減) |
| 塩濃度    | 40mM      | 1 M        | saturating   |                |

# **V. 生体高分子生化学的機能解析の ための分子計算技術の開発**

# Inside-out アプローチ

1. 金属補欠分子固有の電子構造を調べる (QM)
2. タンパク質中での電子構造を調べる (QM/MM)
3. 1と2を比較する



static effects (構造歪み、静電相互作用)  
dynamic effects (ゆらぎ)



半経験的分子軌道法によるQM部分の高速化  
+  
超並列 *ab initio* QM/MM-MD連成計算プログラム  
Platypusの開発

# V-1. 半経験的分子軌道法による QM部分の高速化

Saito, T.; Kitagawa, Y.; Takano, Y. *J. Phys. Chem. A* **2016**, *120*, 8750–8760.

# QM/MM-MDシミュレーションの 計算コスト

time for QM/MM

single point calculation / s

600

UDFT/DZP level

size of QM region

number of steps in MD run

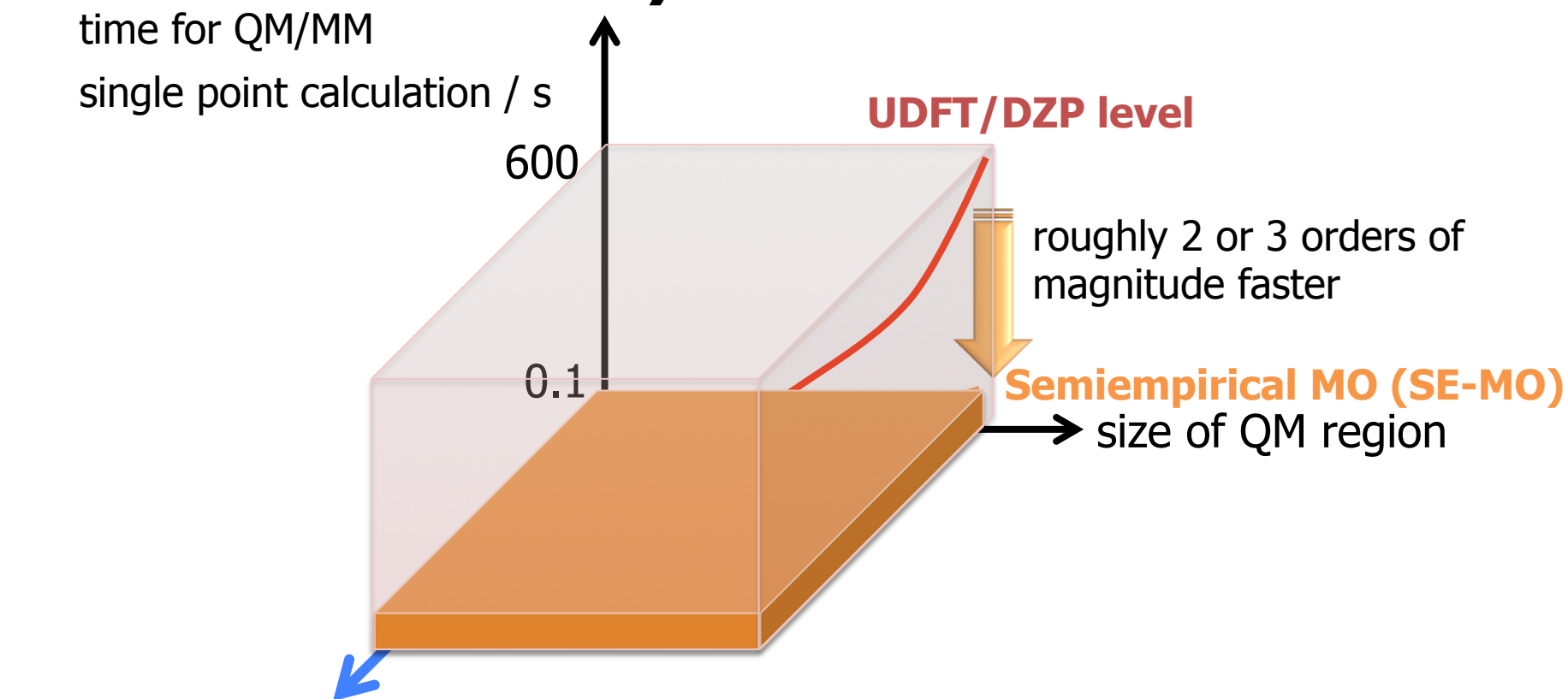
e.g.,) 1ns =  $1 \times 10^6$  step

**Provided that every QM/MM energy and force computation takes 10 min.,**

it adds up to the 1,000,000 QM/MM computations

**→ one MD run takes 20 years !!**

# Semiempirical Molecular Orbital (SE-MO) model



number of steps in MD run

e.g.,) 1ns =  $1 \times 10^6$  step

**1ns MD run requires 70 days.**

M. J. S. Dewar and W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* 99, 2338 (1977).  
W. Thiel, *WIREs. Comput. Mol. Sci.* 4, 145 (2014).

# SE-MO法の精度

## **GMTKN30-CHNOF database**

**(430 reactions mostly involving closed-shell molecules)**

L. Goerigk and S. Grimme, *J Chem. Theory Comput.* 6, 107 (2010).

L. Goerigk and S. Grimme, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 6670 (2011).

|            | MAEs (kcal/mol)* | Supporting TM |
|------------|------------------|---------------|
| MNDO       | 27.3             | No            |
| AM1        | 14.7             | No            |
| PM3        | 11.3             | No            |
| <b>PM6</b> | <b>10.2</b>      | <b>YES</b>    |
| OM3        | 6.3              | No            |

\*mean absolute errors, excluding the MB08-165 subset

P. Dral et al., *J. Chem. Theory Comput.* 12, 1097 (2016).

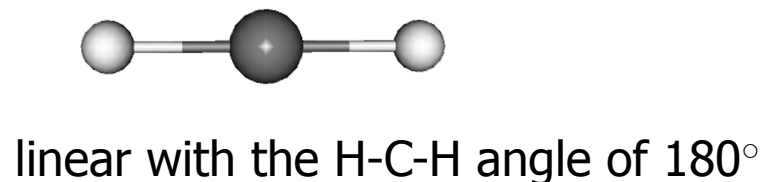
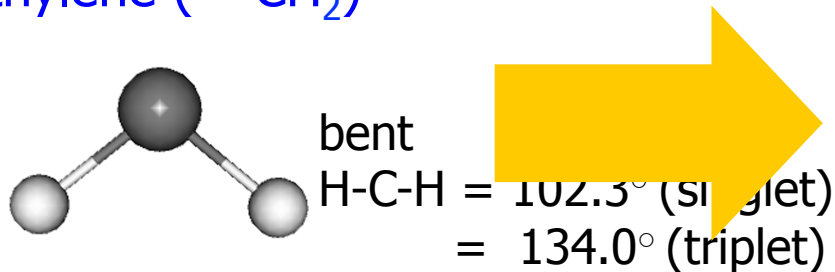
Given the applicability to a wide range of molecules, we chose **PM6**, which supports 70 elements in the periodic table.

J. J. P. Stewart, *J. Mol. Model.* 13, 1173 (2007).

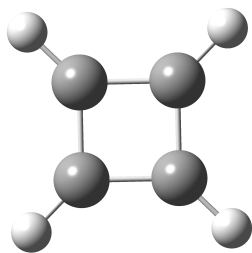


# What about Opens-shell Systems ?

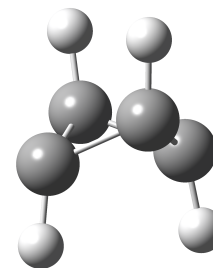
## ■ methylene ( $^{1,3}\text{CH}_2$ )



## ■ cyclobutadiene ( $^1\text{C}_4\text{H}_4$ )



square planar ( $D_{4h}$ )

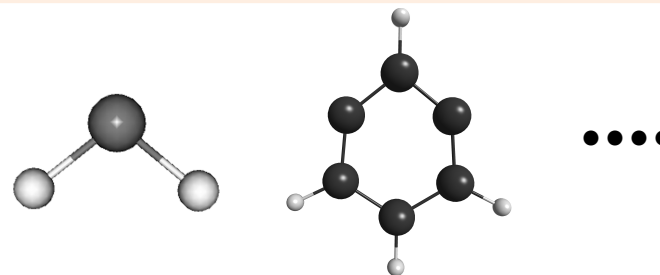
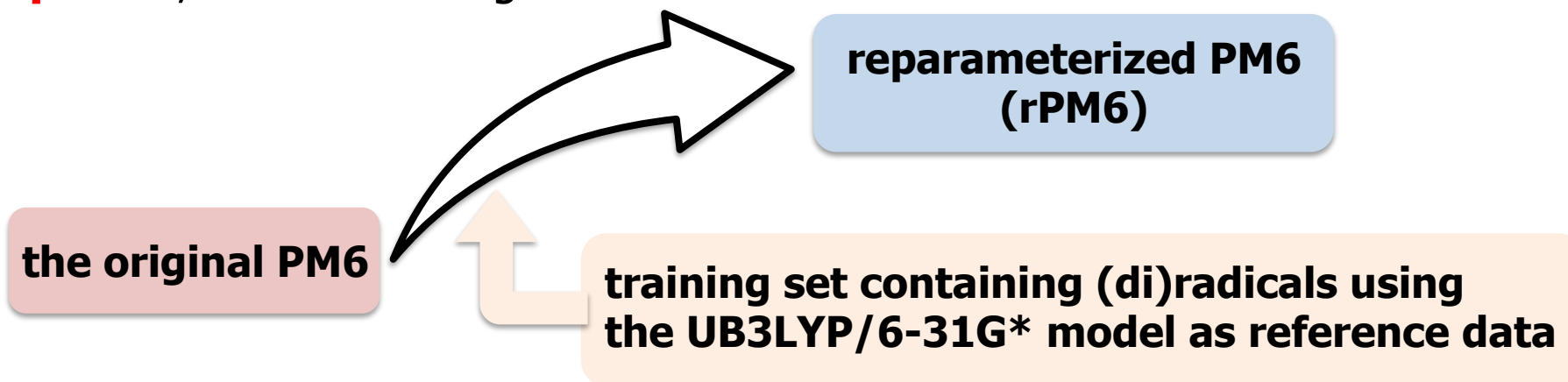


non-planar

The spin-unrestricted PM6 (UPM6) computation **does not work** for open-shell diradical molecules.

# 目的

Our primary purpose is to improve the accuracy of PM6 in describing electronic and geometric structures of **organic open-shell species**, for which a slight modification was made.



part of GMTKN30 was also included to maintain the performance for general-purpose applications

The number of optimizable electronic and core-core parameters adds up to 43 (**P**) for the basic elements (H, C, N, O).

# Application to Methylene

(included in the training set)

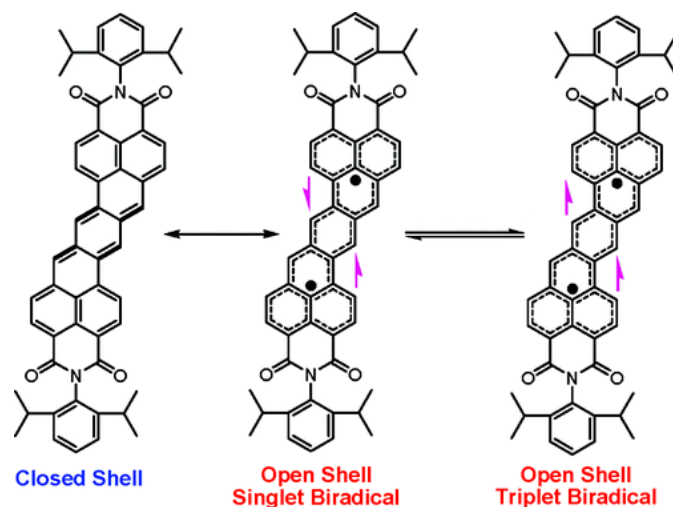
| Method        | <sup>1</sup> CH <sub>2</sub> |              | <sup>3</sup> CH <sub>2</sub> |              | S-T gap<br>[kcal/mol] <sup>a</sup> |
|---------------|------------------------------|--------------|------------------------------|--------------|------------------------------------|
|               | C-H                          | H-C-H        | C-H                          | H-C-H        |                                    |
| UAM1          | 1.068                        | 140.6        | 1.062                        | 151.7        | 34.1                               |
| UPM3          | 1.067                        | 131.3        | 1.063                        | 149.9        | 42.7                               |
| UPM6          | 1.018                        | 180.0        | 1.019                        | 180.0        | 31.5                               |
| <b>UrPM6</b>  | <b>1.081</b>                 | <b>111.9</b> | <b>1.039</b>                 | <b>152.6</b> | <b>11.2</b>                        |
| UB3LYP/6-31G* | 1.090                        | 113.5        | 1.082                        | 133.1        | 6.0                                |
| Expt.         | 1.107                        | 102.3        | 1.077                        | 134.0        | 9.0                                |

<sup>a</sup> With the AP correction

It is not surprising that the present UrPM6 shows great improvement over the original UPM6.

The standard SE-UMO calculations are likely to provide strong diradical characters that entail the significantly large S-T gaps.

# Application to Heptazethrene Derivative



Z. Sun et al. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 11896 (2011).

| Method       | $\langle S^2 \rangle_{BS}$ | $\langle S^2 \rangle_{HS}$ | S-T gap/<br>kcal mol <sup>-1</sup> | OS – CS gap/<br>kcal mol <sup>-1</sup> | CPU time /s<br>(serial mode) |
|--------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|--|------------------------------|
| UAM1         | 3.767                      | 4.027                      | -14.7                              | -34.0                                  |                              |
| UPM3         | 3.399                      | 3.604                      | -13.6                              | -30.7                                  |                              |
| UPM6         | 2.708                      | 3.190                      | -11.5                              | -19.5                                  |                              |
| <b>UrPM6</b> | <b>1.591</b>               | <b>2.436</b>               | <b>-8.1</b>                        | <b>-6.4</b>                            | <b>23</b>                    |
| UBHandHLYP   | 1.273                      | 2.254                      | -8.7                               | -7.5                                   | <b>&gt; 150 000</b>          |
| UB3LYP       | 0.355                      | 2.061                      | -8.0                               | -0.3                                   | <b>&gt; 150 000</b>          |

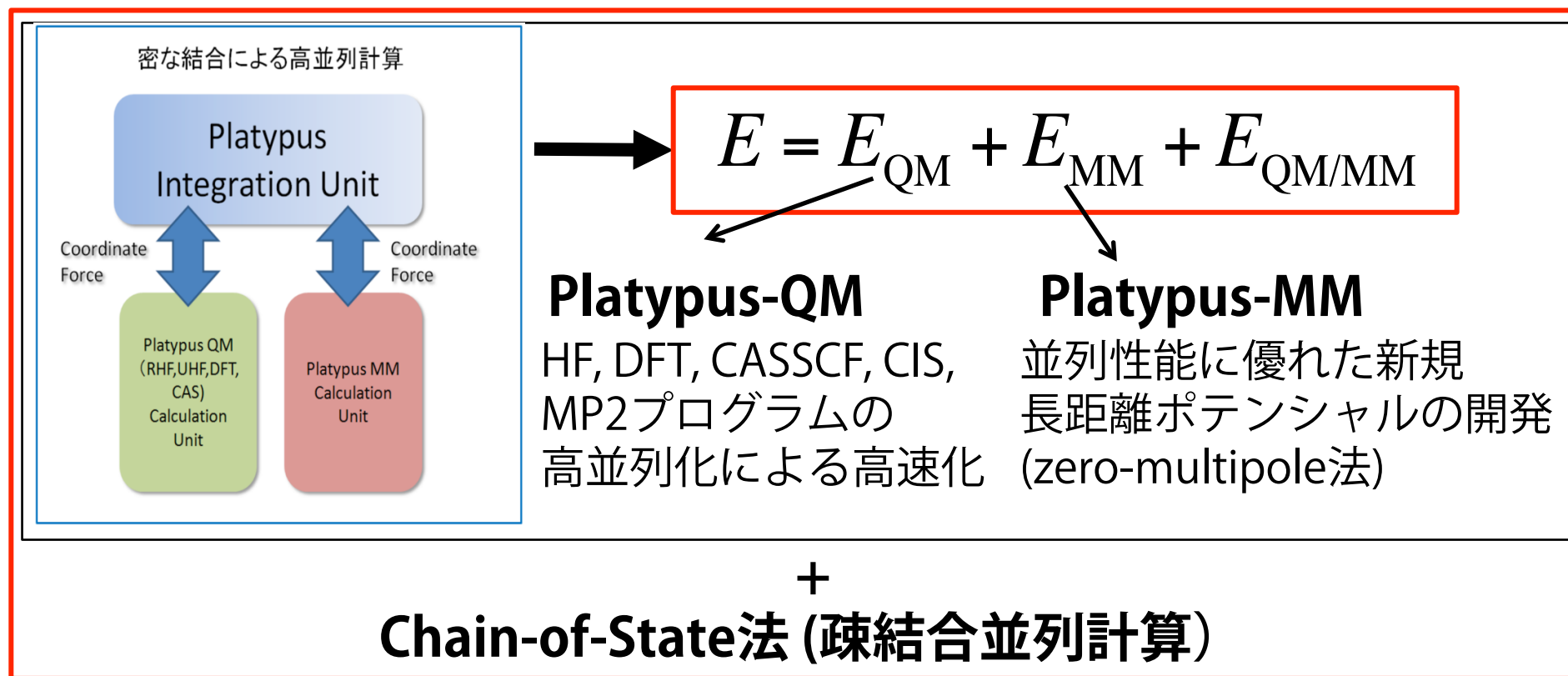
UrPM6 displays similar behavior to UBHandHLYP rather than to UB3LYP, showing a slight exaggeration of diradical character.

# V-2. 超並列 *ab initio* QM/MM-MD 連成計算プログラム Platypus

Takano, Y.; Nakata, K.; Yonezawa, Y.; Nakamura, H. *J. Comput. Chem.* **2016**, *37*, 1125–1132.

# 超並列 *ab initio* QM/MM-MD連成計算プログラム Platypusの開発

(*PLAT*form for *dY*namics *Protein Unified Simulation*)



ダウンロード先 (現在はPlatypus-QMのみ配布)

[http://www.islim.org/islim-dl\\_j.html](http://www.islim.org/islim-dl_j.html)

# 現在までの研究開発成果

- **RDF, UHF, R-DFT, U-DFT, CIS, CIS(D), CIS-DFT, MP2, CASSCF** の実装
- エネルギー・力計算における**積分計算のハイブリッド並列化とSIMD化**
- 2電子積分計算の**原子軌道基底から分子軌道基底への変換部分の高度化**
- CASSCF計算における**direct CI 計算の高速化** (CAS(16,16)まで可能)

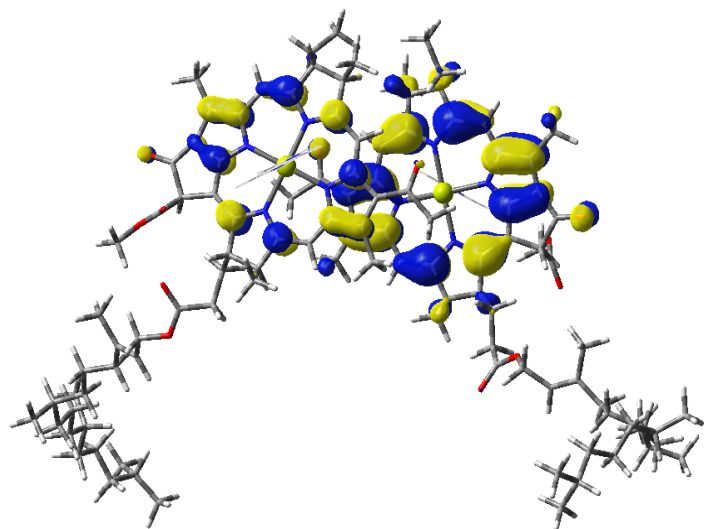
## **QM部分の高速化・超並列化**

- 粗結合 (**chain-of-state法**)を利用した超並列化

## **超並列化されたQM/MD計算による反応自由エネルギー**

# 「京」での並列性能(QM)

並列化率 99.9888%



光合成反応中心  
スペシャルペア  
(280原子)

RHF/cc-pVDZ

総数32,768コア

並列化率 99.9888%

実行効率 7.27~2.24%

(8192コア : 4.26%)

CASCI(16,16)/6-31G\*\*

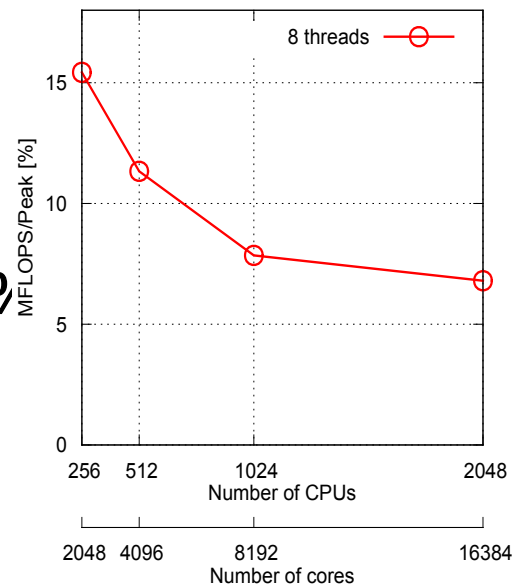
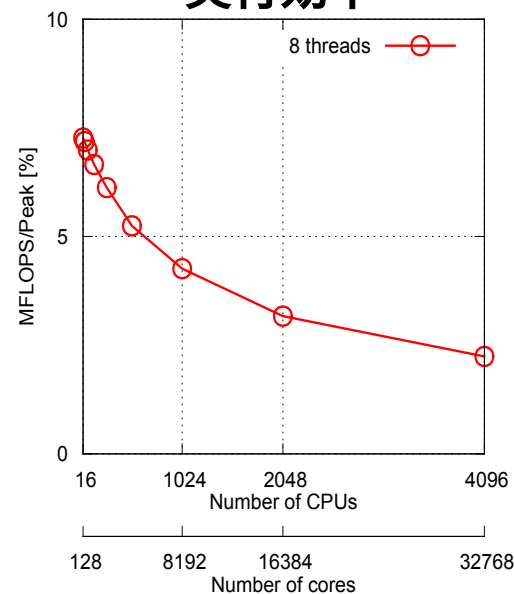
総数16,384コア

並列化率 99.9728%

実行効率 15.43~6.80%

(8192コア : 7.85%)

実行効率

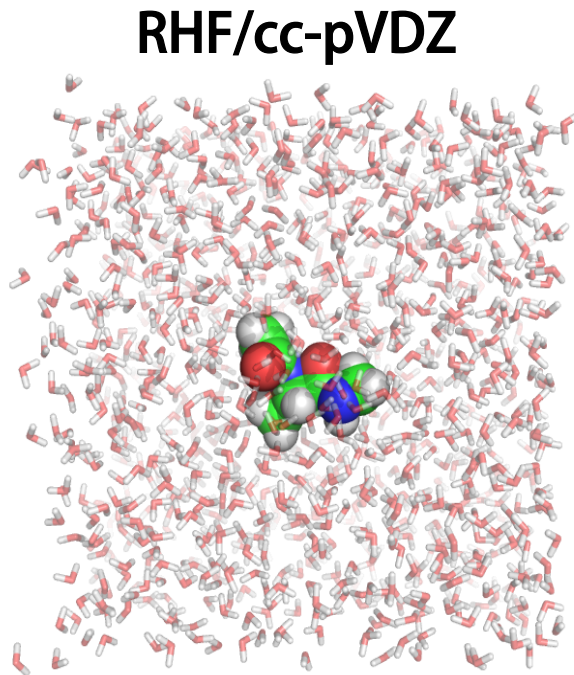




# 「京」での並列性能(QM/MM-MD)

## 98,304コアのハイブリッド並列の実行

実行効率



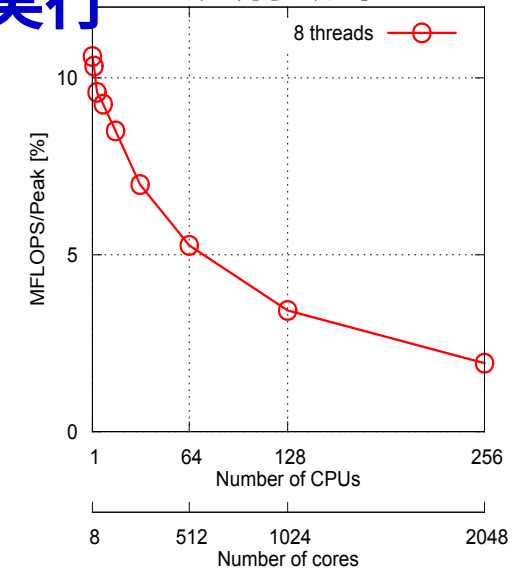
Ace-ALA-NMe  
+  
1,080 水分子

Strong scaling

総数**2,048コア**

並列化率：**99.7893%**

実行効率 10.60~1.94%



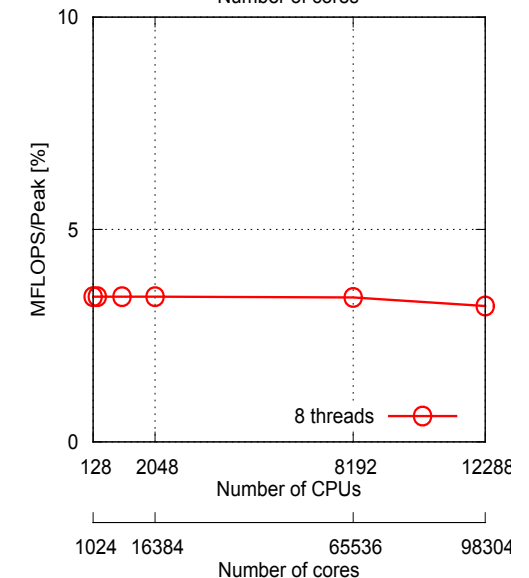
Weak scaling (Chain of State)

総数**98,304コア**

128プロセス x 768レプリカ

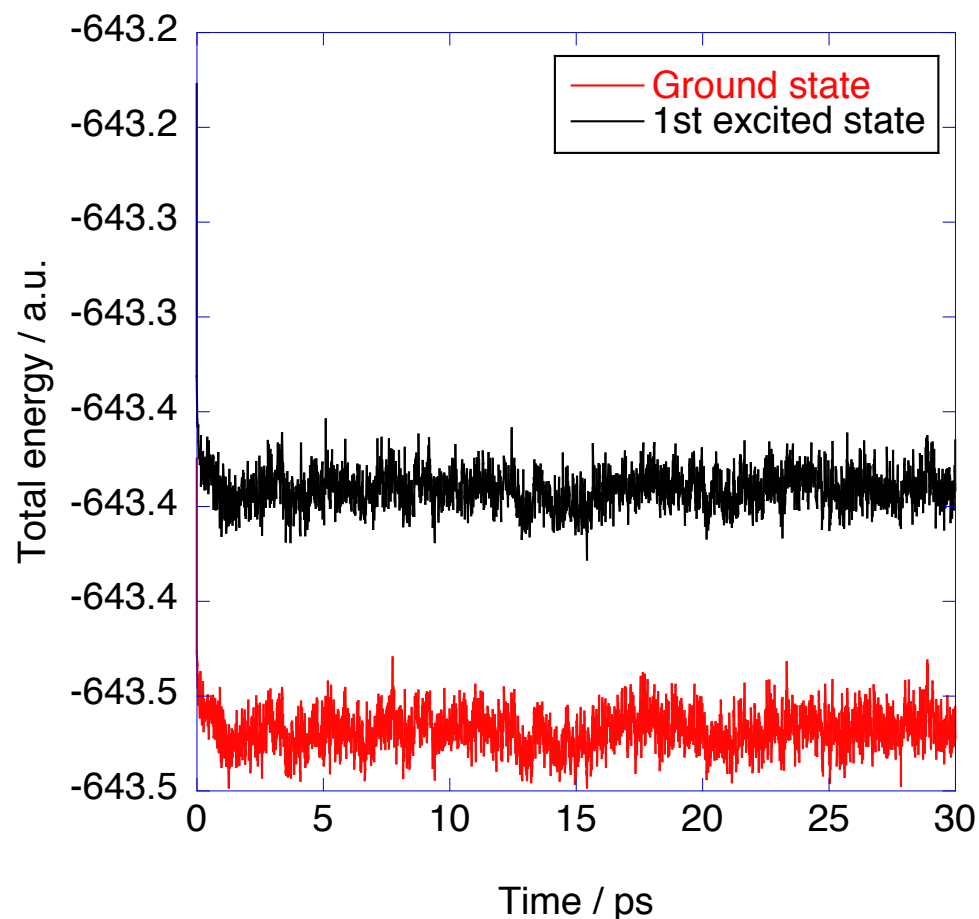
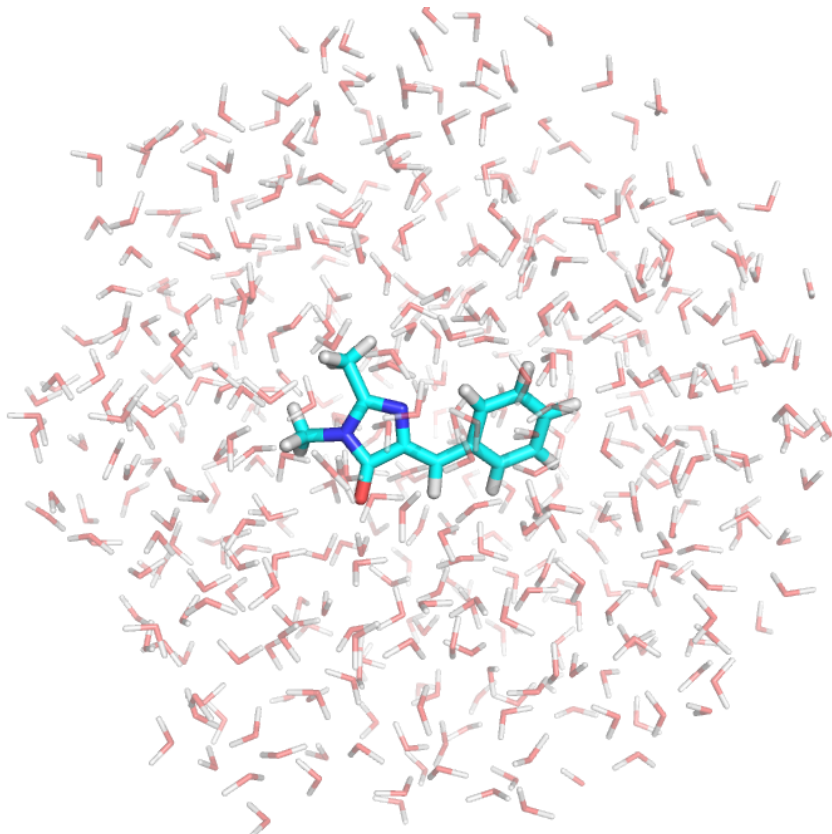
実行効率 3.42~3.20%

Weak scaling効率：**93.36%**



# 励起状態QM/MDシミュレーション

## sirius発色団



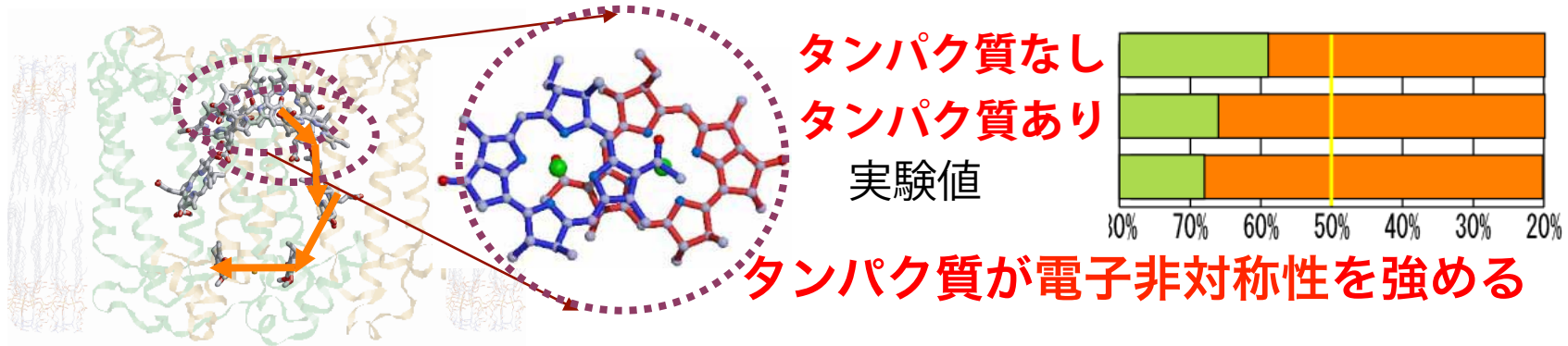
sirius発色団(1,374原子) QM: 発色団  
SA-CASSCF(8,8)/MINI-4 MM: 水

$\Delta t = 0.25$  fs  
120,000ステップ

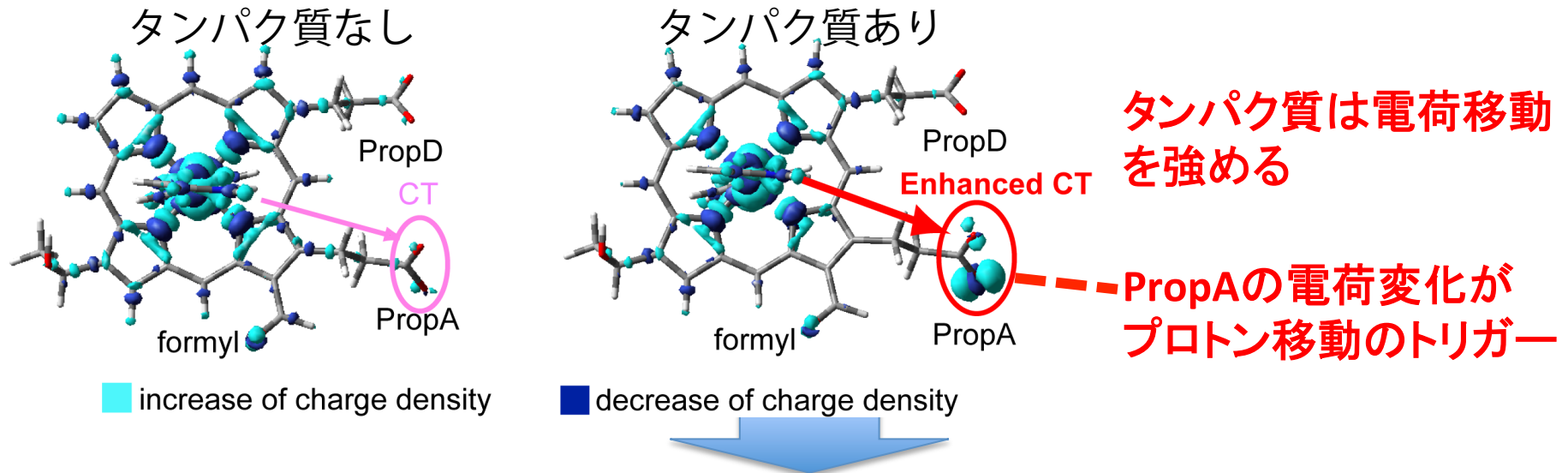
## 4. まとめ

# Protein as amplifier

## ・光合成反応中心のスペシャルペア

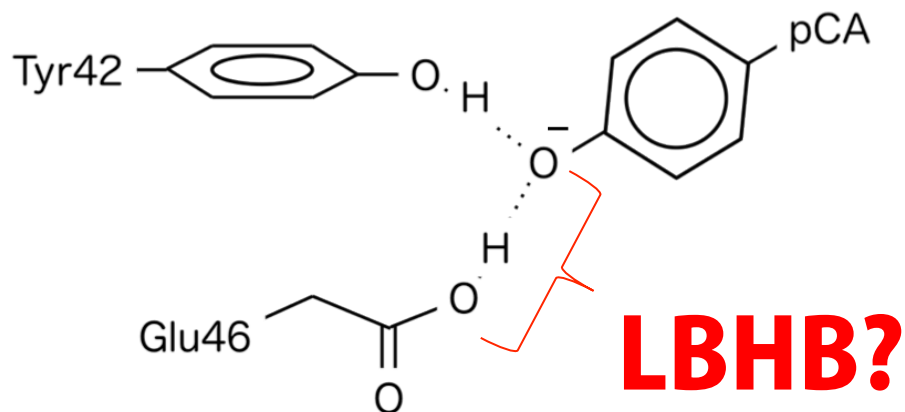
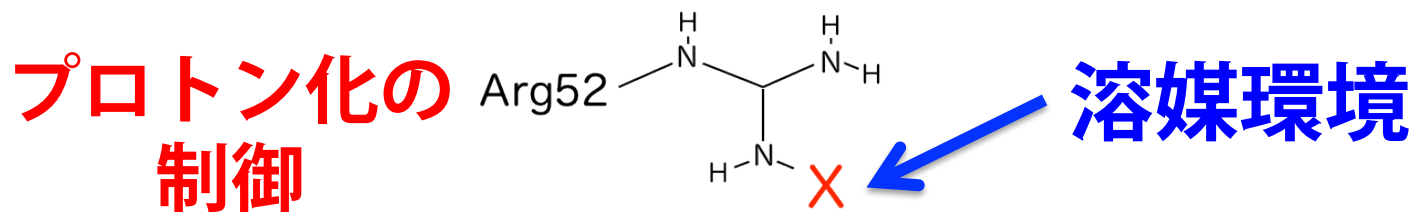


## ・シトクロムc酸化酵素のヘム a in CcO



タンパク質環境の電氣的・立体的摂動によって、補欠分子の固有に持つ性質が強められ、制御されている

# 溶媒環境の違いが活性中心を制御



|        | 溶液<br>NMR | 結晶<br>構造解析 | 発現菌の<br>生育環境 |                |
|--------|-----------|------------|--------------|----------------|
| Arg52  | プロトン化     | 脱プロトン化     | ?            |                |
| LBHB形成 | ×         | ○          | ?            |                |
| pH     | 7         | 9          | 10.5         | 強電解質<br>(誘電率減) |
| 塩濃度    | 40mM      | 1 M        | saturating   |                |

タンパク質  
溶媒環境 → 料理人



活性中心 → 包丁

# 共同研究者

## 光合成反応中心

- ・中村 春木 (大阪大)
- ・山崎 秀樹 (大阪大)

## PYP

- ・兼松佑典 (広市大)
- ・立川仁典 (横市大)

## Platypus開発

- ・中村 春木 (大阪大)
- ・中田一人 (NEC)
- ・米澤康滋 (近畿大)
- ・山中秀介 (大阪大)

## rPM6開発

- ・齋藤徹 (広市大)
- ・北河康隆 (大阪大)

# 外部資金



新学術領域「コンピューティクス」  
新学術領域「3D活性サイト科学」



JST-CREST

「ライフサイエンスの革新を目指した  
構造生命科学と先端的基盤技術」



Nakagawa project  
CREST



「次世代生命体統合シミュレーション  
ソフトウェアの研究開発」