

大規模量子化学計算による甘味タンパク質ブラゼインの機能解析

○矢城陽一朗, 直島好伸

岡山理科大学大学院総合情報研究科 (〒700-0005 岡山県岡山市北区理大町 1-1)

【緒言】

1994年に発見されたブラゼイン (brazzein) は、数種類の甘味タンパク質のなかで、最も小さく、最も甘いものの一つである。ブラゼインは、西アフリカ原産の植物 *Pentadiplandra brazzeana* の果実から抽出され、その構造は54種のアミノ酸から成る一本のポリペプチドである。自然界には2種類のブラゼインが存在していて、一つはN末端にパイログルタミン酸をもつもの(存在確率80%)で、一般に brazzein と呼ばれる。もう一つ(存在確率20%)はN末端のパイログルタミン酸が無いもので、*des-pGlu brazzein* と呼ばれる。brazzein の甘さは2%のスクロース水溶液の2000倍であり、*des-pGlu brazzein* にいたっては、さらにその2倍の4000倍であることがわかっている。brazzein および *des-pGlu brazzein* は熱的に安定で、その甘さ持続時間は、98°Cで2時間、80°Cで4.5時間である。¹⁾

本研究は、以前から当研究室で行ってきたライフおよびグリーン・イノベーション研究の一つである甘味の発現機構の解明の一環として、^{2, 3)} タンパク質の全電子量子化学計算を行うことができる量子化学計算ソフトウェア ProteinDF を用いて、*des-pGlu brazzein* の電荷分布や分子軌道を算出し、甘味との相関を検討したものである。

【方法と結果】

des-pGlu brazzein を構築するために、Protein Data Bank から、NMRにより決定された brazzein の立体構造 (PDB code : 2brz) をダウンロードし、N-末端のパイログルタミン酸を除去した。(Fig.1) 以下、*des-pGlu brazzein* をブラゼインと記す。このブラゼインに対して、以下のような AMBER9 での分子力学計算および分子動力学計算を実行し、構造を調整した。すなわち、まず、ブラゼインの周囲 8.0Å に水分子を配置し、分子動力学計算の初期の発散を防ぐ意味で分子力学計算によるエネルギー極小化計算を行った。ついで、温度 300K で、30ps までの分子動力学計算の後、再度の分子力学計算によってエネルギーを極小化した。さらに、その極小化構造の周りの水分子を除去してから、ProteinDF システムの GUI ソフトウェア ProteinEditor を用いてカウンターイオンを配置し、引き続いて行ったブラゼインの座標を固定した分子力学計算でカウンターイオンの位置を調整した。このようにして構築、調整したブラゼインについて、ProteinDF を使用する SVWN 汎関数での全電子量子化学計算を検討した。

ProteinDF の特徴は、タンパク質全体を一度に計算せず、段階的にいくつかのステップに分けて計算することにある。そこでブラゼインの計算では、4つのステップに分割して行った。まず、ステップ1では、アミノ酸1残基毎の計算を行い、つぎにステップ2では、3残基毎の計算を、続いてステップ3では、9~11残基毎に分割しての計算を、最後のステップ4で全アミノ酸残基の計算を行った。この分割操作は ProteinEditor である程度自動で行われるが、計算対象のタンパク質

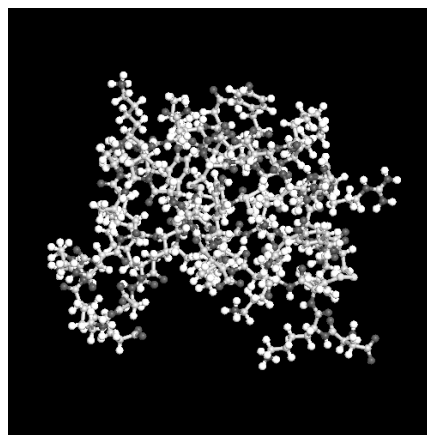


Fig.1 Structure of sweet-tasting protein, *des-pGlu brazzein*.

の構造をよく考慮して手動で分割を調整する必要がある。⁴⁾ 具体的には、ステップ3において、ブラゼインのヘリックスや折れ曲がっている部分を途中で切らないように注意した。

Fig.2に示したステップ4における全エネルギーから、この計算は40回の繰り返しでスムーズに収束していることが確認された。

ブラゼインの静電ポテンシャルマップ³⁾ (**Fig.3**の a, b はそれぞれ 180° 回転した方向から見たもの) を算出したところ、Lys5, His31, Arg43 などの塩基性アミノ酸は正に強く帯電し、Asp29, Glu41 などの酸性アミノ酸と C-末端の Tyr54 は負に強く帯電していることが認められた。また、上記のアミノ酸とは異なる中性アミノ酸の Tyr8 が、正に帯電していることが明らかとなった。これらのアミノ酸残基は、全て甘味度の変化に関与すると報告されているもので、¹⁾ 興味深い結果と言える。

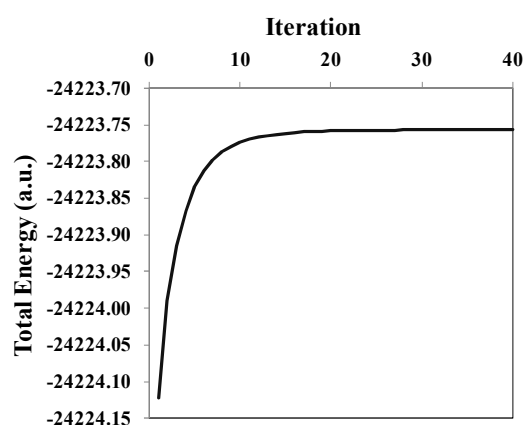


Fig.2 Total energy at step4.

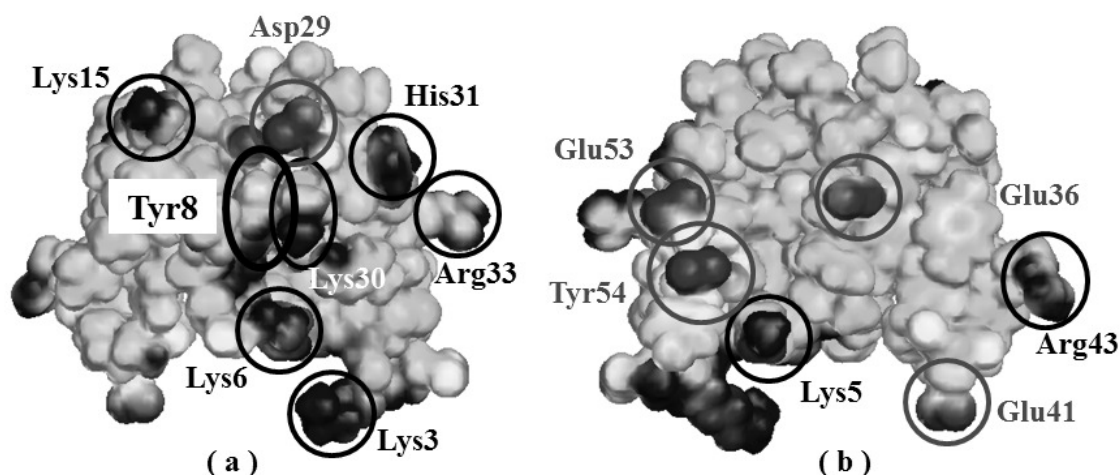


Fig.3 Electrostatic potential maps (a and b) of *des*-pGlu brazzein.

【まとめ】

甘味タンパク質ブラゼインに対して、密度汎関数法に基づいた ProteinDF による全電子量子科学計算で静電ポテンシャルマップを算出し、アミノ酸残基の電荷分布を調べた。その結果、ブラゼインの甘味度の変化に関与すると報告されている特定のアミノ酸残基が正または負に強く帯電していることを見出した。これは、以前から行っている糖分子の量子化学計算の結果²⁾と同様、電荷分布と甘味度の関連性を示唆するものである。目下、ブラゼインのフロンティア分子軌道 (HOMO と LUMO) や軌道エネルギーを算出し、甘味との関連性を検討中である。

【参考文献】

- 1) G. Hellekant and V. Danilova, *Chem. Senses*, **30**, i88-i89 (2005).
- 2) 柴崎, 藤本, 直島, 第 28 回日本シミュレーション学会大会発表論文集, 151-154 (2009)
- 3) 柴崎, 藤本, 直島, 第 27 回日本シミュレーション学会大会発表論文集, 61-64 (2008).
- 4) N. Nishino-Uemura, T. Hirano, and F. Sato, *J. Chem. Phys.*, **127**, 184106-1-184106-10 (2007).