

## 大規模量子化学計算による甘味タンパク質および その変異体の機能解析

○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】

我々は、ライフおよびグリーン・イノベーション研究の一環として、コンピュータシミュレーションによる糖分子や甘味タンパク質の甘味の発現機構の解明を検討している。タンパク質に関しては、ブラゼインに対し、密度汎関数法に基づいた生体分子化学計算プログラム Protein DF での大規模量子化学計算を行い、これまでの糖分子<sup>1)</sup>と同様、電荷分布と甘味の関連性を強く示唆する結果を得た。<sup>2)</sup>

本研究は、ブラゼインの変異体<sup>3)</sup>の中、特に甘味が増加する変異体 Glu41Lys と無味になる変異体 Arg43Ala についてブラゼインと同様な量子化学計算を行い、ブラゼインや変異体のアミノ酸残基の電荷分布と甘味との関係を調べ、甘味を感じる機構に関する知見を得ることを目的としている。また、今回、甘味タンパク質の中で 2 番目に小さく (アミノ酸残基 44 個の A 鎖と 50 個の B 鎖)、甘味度が高い(スクロースの 3000 倍)モネリン (monellin)<sup>4)</sup>についても Protein DF による大規模量子化学計算を試行した。

### 【方法と結果】

変異体 Glu41Lys および Arg43Ala については、ブラゼインの立体構造<sup>2)</sup>において、ProteinEditor を用いて Glu41 を Lys に、Arg43 を Ala に変異させ、それぞれの構造を得た。また、モネリンに関しては、Protein Data Bank から X 線構造解析により決定された立体構造 (PDB code : 4mon) をダウンロードした。(Fig.1) 変異体 Glu41Lys, Arg43Ala, およびモネリンの構造に対して、ブラゼインの場合<sup>2)</sup>と同様に、AMBER9 を用いて分子力学計算と分子動力学計算による構造の調整や、カウンターイオンの配置と位置の調整を行った。それらの操作の後、それぞれの構造について、ProteinDF による SVWN 汎関数での全電子量子化学計算を実施した。

算出した Glu41Lys (甘味増加)<sup>3)</sup>の静電ポテンシャルマップから、ブラゼインの Glu41 は負の電荷を帯びていたのに対し、変異体の Lys は正に帯電するなど、ブラゼインでは帯電していなかったアミノ酸残基が強く正電荷を帯び、変異体全体に正電荷が広く分布していることがわかった。一方、Arg43Ala (無味)<sup>3)</sup>に関しては、全体的な電荷分布に大きな変化は見られなかったが、ブラゼインでは正に強く帯電していた

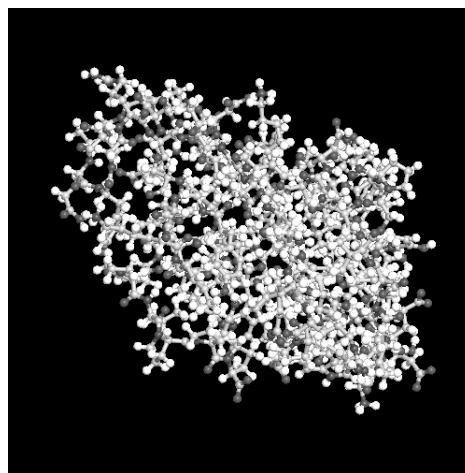


Fig.1 Structure of monellin.

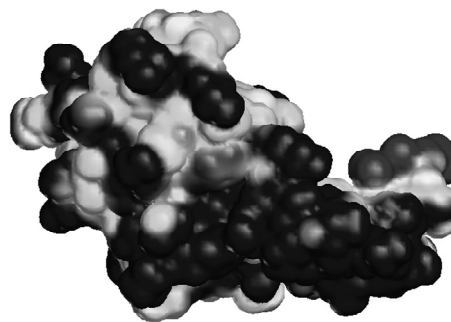


Fig.2 Electrostatic potential map of monellin.

Tyr8, His31 の電荷は減少し、同じく正に強く帯電していた Arg33 は、変異体 Ala ではほぼ中性になっていることが判明した。(Table.1) また、モネリンの静電ポテンシャルマップでは、大部分が正に帯電している様子が認められた。(Fig.2)

**Table.1 Sweetness of mutants in comparison to brazzein and electric charge of the selected amino acid residue in electrostatic potential (ESP) maps of brazzein and mutants.**

| Brazzein Mutants | Sweetness in Comparison to Brazzein <sup>3)</sup> | Electric Charge of the Selected Amino Acid Residue in ESP Map of Brazzein <sup>2)</sup> |          | Electric Charge of the Selected Amino Acid Residue in ESP Map of Mutants |                |
|------------------|---|---|----------|--|----------------|
| Glu41Lys         | increase  | Glu41   | negative | Lys41  | positive       |
| Arg43Ala         | taste like water                                  | Arg43   | positive | Ala43  | neutral        |
| Lys6Asp          | taste like water                                  | Lys6  | positive | Asp6   | in calculation |
| Tyr8Ala          | decrease  | Try8  | positive | Ala8   | in calculation |
| Lys15Ala         | decrease  | Lys15   | positive | Ala15  | in calculation |
| Asp29Lys         | increase  | Asp29   | negative | Lys29  | in calculation |
| Lys30Ala         | taste like water                                  | Lys30   | positive | Ala30  | in calculation |
| His31Ala         | decrease  | His31   | positive | Ala31  | in calculation |
| Arg33Ala         | taste like water                                  | Arg33   | positive | Ala33  | in calculation |
| Glu36Lys         | taste like water                                  | Glu36   | negative | Lys36  | in calculation |

### 【まとめ】

ブラゼインのアミノ酸残基の中で強く電荷を帯び、且つフロンティア分子軌道 LUMO の部分に存在している Glu41 と Arg43 を、<sup>2)</sup> それぞれ Lys と Ala に変えた変異体 Glu41Lys および Arg43Ala に対して、ProteinDF による全電子量子化学計算を行い、静電ポテンシャルマップを算出した。その結果、甘味度が増加する Glu41Lys では、ブラゼインでは帯電していなかったアミノ酸残基が正に強く帯電し、正電荷が広範囲にわたっていることがわかった。これに反し、無味になる変異体 Arg43Ala では、Ala43 のように電氣的に中性なアミノ酸残基が増加し、正電荷を帯びている部分が減少していることが判明した。これらのことは、ブラゼインにおいて、Arg43, Glu41 といった正または負に帯電している塩基性あるいは酸性アミノ酸残基が、その甘味の発現や甘味タンパク質受容体との相互作用に重要な役割を果たしていることを示唆している。また、甘味度が高いモネリンにおいて、正電荷が広く分布していることを考慮すると、甘味タンパク質の正電荷分布が、甘味度の増減や受容体との相互作用に関与していることが予想される。現在、他の甘味タンパク質変異体の ProteinDF 量子化学計算、および糖質や甘味タンパク質と、ホモロジーモデリングで構築した受容体タンパク質 N-末端との相互作用計算を試行中である。

### 【参考文献】

- 1) 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).
- 2) 矢城, 直島, 日本コンピュータ化学会年会 2011 春季年会&10 周年記念シンポジウム講演予稿集 口頭発表の部 (3004) .
- 3) G. Hellekant and V. Danilova, *Chem. Senses*, **30**, i88-i89 (2005).
- 4) 日本化学会編, 「化学総説 40 味とにおいの分子認識」, 学会出版センター(1999).