

○矢城陽一朗, 直島好伸

岡山理科大学自然科学研究所、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、計算化学による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、甘味の発現機構を解明することを試みている。<sup>1,2)</sup> 今回、以前に報告した甘味タンパク質 *des*-pGlu ブラゼイン (ブラゼインの N-末端のピログルタミン酸が欠落したもので、アミノ酸残基 53 個) に加え、その変異体、Glu41Lys (甘味増加) と Arg43Ala (無味)、<sup>3)</sup> および甘味タンパク質モネリン (アミノ酸残基 44 個の A 鎖と 50 個の B 鎖) に対して、大規模タンパク質密度汎関数計算プログラム Protein DF による全電子量子化学計算を行い、甘味タンパク質の甘味度とその電荷分布やフロンティア分子軌道の相関を検討した。

## 【方法と結果】

まず、Protein Data Bank からダウンロードしたブラゼインの立体構造 (PDB code : 2BRZ) から N-末端のピログルタミン酸を除去して *des*-pGlu ブラゼイン (以下、これをブラゼインと記す) の構造を得た。(Fig.1(a)) ついで、AMBER を用いて、ブラゼインの周囲 8.0 Å に水分子を配置し、分子動力学計算およびエネルギー極小化計算により構造を調整した。さらに、周囲の水分子を除去した後、ProteinDF に導入されている GUI ソフトウェア ProteinEditor でカウンターイオンを配置した。最後に、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後、得られた構造に対して ProteinDF による SVWN 汎関数での全電子量子化学計算を実行した。変異体 Glu41Lys および Arg43Ala に関しては、ブラゼインの立体構造において、ProteinEditor を用いて Glu41 を Lys に、Arg43 を Ala に変異させ、それぞれの構造を構築した後、(Fig.1(b)、Fig.1(c)) ブラゼインと同様な方法で構造の調整と全電子量子化学計算を行った。また、モネリン (PDB code : 4MON) に対しても上記と同様な一連の計算を行った。

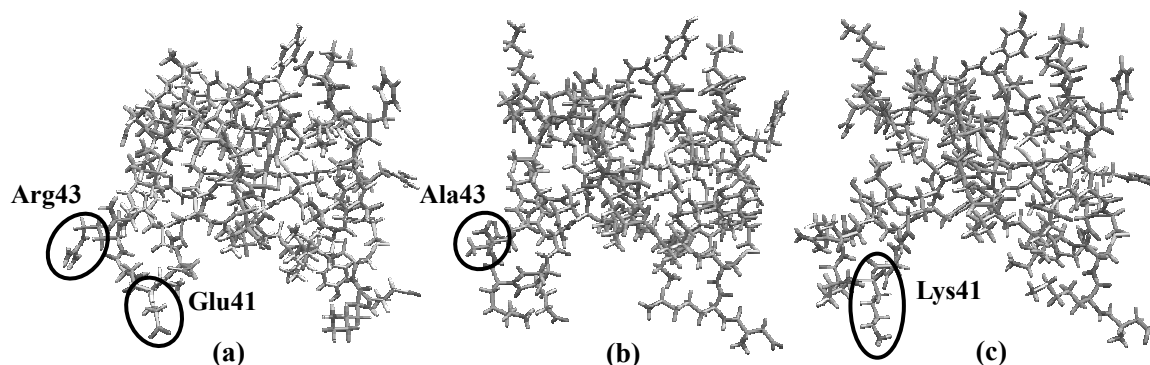


Fig.1 Structures of *des*-pGlu brazzein (a) and Two Mutants Arg43Ala (b) and Glu41Lys (c).

全電子量子化学計算により算出したブラゼインの静電ポテンシャルマップから、His31、Arg33、Arg43 などの塩基性アミノ酸は強く正に帯電し、Glu41 のような酸性アミノ酸と C-末端の Tyr は強く負に帯電していることが認められ、さらに、中性アミノ酸の Tyr8 が正に帯電していることが判明した。これらのアミノ酸残基は、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ものである。<sup>3)</sup> 続いて、甘味が増加する変異体 Glu41Lys と無味になる変異体 Arg43Ala に関する全電子量子化学計算の結果から、負に帯電している酸性アミノ酸の Glu41 を塩基性アミノ酸の Lys に置き換えると、Tyr8 や His31、Arg33、Arg43 に加えて、中性アミノ酸の Asn44 などが正に帯電し、正電荷がタンパク質全体に広がることがわかった。一方、正に帯電している塩基性アミノ酸の Arg43 を中性アミノ酸の Ala に置き換えると、正に帯電していた中性アミノ酸の Tyr8 や塩基性アミノ酸の His31、Arg33 などの正電荷が減少し、正に帯電するアミノ酸残基の数が減少することが明らかとなった。(Table 1) また、モネリンの静電ポテンシャルマップにおいても、正電荷が広く分布していることが確認された。さらに、フロンティア分子軌道の解析から、ブラゼインと変異体 Glu41Lys の HOMO もしくは LUMO には、正に帯電しているアミノ酸残基が存在しているのに対し、変異体 Arg43Ala の HOMO や LUMO には存在しないことがわかった。

**Table 1 Electric Charge of the Selected Amino Acid Residues in *des*-pGlu brazzein and Two Mutants.**

	<i>des</i> -pGlu Brazzein	Glu41Lys	Arg43Ala
<b>Tyr8</b>	+	++	<b>0</b>
<b>His31</b>	++	++	+
<b>Arg33</b>	+	++	<b>0</b>
<b>Glu41</b>	-		-
<b>Arg43</b>	+	++	
<b>Asn44</b>	<b>0</b>	++	<b>0</b>

++ : Strongly Positive    + : Positive    0 : Neutral    - : Negative

### 【まとめ】

甘味タンパク質ブラゼインとその変異体、およびモネリンに対して、密度汎関数法に基づいた全電子量子化学計算を行い、静電ポテンシャルマップおよびフロンティア軌道 (HOMO と LUMO) を算出し、アミノ酸残基の電荷分布とタンパク質の電子状態を調べた。ブラゼインにおいては、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<sup>3)</sup> が正または負に強く帯電していることが認められ、モネリンにおいては、タンパク質全体に正電荷が広く分布していることが明らかとなった。また、甘味を強く示すブラゼインとその変異体の HOMO もしくは LUMO には、正に帯電している His31、Arg33、Arg43 などの塩基性アミノ酸残基が存在することが判明した。これらの結果は、甘味タンパク質の正負の電荷分布が、甘味度やその増減に関連していることを示唆し、加えて、正に帯電している Tyr8、Asn44 などの中性アミノ酸や His31、Arg33、Arg43 などの塩基性アミノ酸残基が、甘味の発現や受容体タンパク質 T1R2/T1R3 との相互作用に主要な役割を果たしていることを推測させるものである。

### 【参考文献】

- 1) 矢城陽一朗, 直島好伸, 日本コンピュータ化学会 2011 春季年会&10 周年記念シンポジウム講演予稿集, 76-77 (2011).
- 2) 矢城陽一朗, 直島好伸, 日本コンピュータ化学会 2011 春季年会&10 周年記念シンポジウム講演予稿集, 102-103 (2011).
- 3) G. Hellekant and V. Danilova, *Chem. Senses*, **30**, i88-i89 (2005).