量子化学の生物学への応用

—いくつかの新しい流れ—

広島大学・理学部 今 村 詮
山口大学・理学部 谷 誠 治
九州大学・理学部 藤 博 幸

Some novel quantum chemical approaches to biological problems are reviewed. First, molecular orbital calculations for carcinogenic and mutagenic compounds were presented with their molecular structural characteristics. Next, approaches to ion channels were described indicating usefulness of molecular orbital calculations of transition state theory. Finally attempts were introduced by using molecular orbitals to clarify mechanism of evolution with roles of metal cations.

molecular orbital / carcinogen / ion channel / chemical evolution

1. はじめに

生物学の諸現象を電子のレベルで解釈すべきであると考えて、Szent-Györgyi が分子下生物学を提唱して以来、多くの研究者が生体関連分子の電子状態をその機能と結びつける努力を試みてきた。しかし生体系のあまりの複雑さの為に、このアプローチは必ずしも成功したとは言い難い。一方、近年電子計算機の急速な進歩は、電子状態の計算結果にかなりの定量性を与えた。また、その計算の対象となる分子の大きさも格段に大きくなり、生体関連分子へのアプローチも可能になりつつある。このような状況によって、いわゆる量子生物学にも新たな流れが生じてきた。そのいくつかを、筆者らの研究を中心に、取り上げて紹介する。

2. 発がん性化合物・ 突然変異原性化合物への応用

分子の電子状態とその発がん性の間に関連性を見ようという試みの歴史は古い。すなわち、既に1939年に Schmidt が箱型模型法と呼ばれる方法によってこの問

題にアプローチして以来、Pullman ら、永田らが分子軌道法によって、電子状態と発がん性との関連を調べてきた。そして、一連の芳香族炭化水素の研究において、ある特定の領域の電子状態が、発がん性と密接に関連していることを見出した。一方、芳香族炭化水素の発がん性に対する実験的研究が進むと、ディオールエポキシドを生成して発がんするという道筋や、オキシラジカルを経由して発がんに結びつくという考え方が出された。さらに、突然変異原性を有する化合物の多くが、発がん性を有するという実験結果も出されてきた。

このように、新しい実験結果が得られるにつれて、それに対応した新しい理論的アプローチがなされている。その一つは、ディオールエポキシド生成に関連して提出された Bay 領域理論であろう。すなわち、図1で示したように多環芳香族炭化水素がディオールエポキシドを生成してのちカルボニウムカチオンに変化して発がん性を示す為の条件は、分子の中に海岸の湾の形をした部分、すなわち Bay 領域の存在が必要であるという考えである。また、この Bay 領域を有するディオールエポキシドがカルボニウムカチオンになり易いことが、分子軌道法によって確かめられている。この Bay 領域の存在がその分子の発がん性に必要であるという考え方は、分子の中のある特定部分がどのように発がん性、あるいは、突然変異原性に寄与するかをみるための方法と結びつく。

そこで筆者らは、この Bay 領域がどのように発がん性に寄与するかをみるために分子軌道法のなかで、

Application of Quantum Chemistry to Biology: Some New Currents

Akira IMAMURA—Department of Chemistry, Hiroshima University

Seiji TANI—Department of Chemistry, Yamaguchi University

Hiroyuki TOH—Department of Biology, Kyushu University

図1. 芳香族炭化水素ベンツ [a] ピレンの代謝活性経路.

CNDO/2 法が、分子の全エネルギーを次式に従って、分子内の原子および原子対の寄与の和で与えることに注目して、上述の発がん性や、突然変異原性に対する分子の部分構造の寄与を見積もった。

$$E_{\text{全エネルギー}} = \sum_A E_A + \sum_{A>B} E_{A-B}$$

ここに E_A は原子 A の全エネルギー、 E_{A-B} は原子対 A-B のエネルギーを与えている。この方法をディオールエポキシドがカルボニウムイオンに変化する反応へ用いたところ、Bay 領域の部分がこの反応の活性化エネルギーを下げるのに大きく寄与することを見出した¹⁾。

以上、発がん性化合物の活性と、分子部分構造の寄与との関連をみた研究を紹介した。この方向の研究が進めば、発がん性、突然変異原性を有する分子、あるいは有さない分子にするには、どのように分子を変えればよいかという、いわゆる分子設計のアプローチにつながるものと思われる。

3. イオン・チャンネルへの応用

Na^+ チャンネルのイオン選択性フィルター部分にカルボキシル基を持つアミノ酸が存在することからカルボキシル基がフィルターとして働くことが示唆され、一つの陰イオン性カルボキシル基を含むフィルター構造のモデルが提案され²⁾、さらに four barrier モデルよりイオン透過に対する遷移状態を考慮して絶対反応速度論の適用が試みられている³⁾。また、最近 Na^+ チャンネルのたんぱく質の一次構造が明らかになり、この

図2. $\text{HCO}_2\text{M}-\text{H}_2\text{O}$ ($\text{M} = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}$) 系の最適化構造。金属イオンがフィルターの成分であるカルボキシル基（ここでは蟻酸）の $\text{O}_1(\rightarrow)\text{O}_2$ への移動をモデルとして計算している。基底関数は MINI-3。遷移状態中のベクトルは反応（イオンのフィルター透過）が進行するにつれて原子の動く方向を示す。結合距離と結合角の単位はそれぞれ Å と度。計算の結果、Li, Na, K は、それぞれ $\text{C1} \rightarrow \text{TS1} \rightarrow \text{C2} \rightarrow \text{TS1}' \rightarrow \text{C1}'$, $\text{C3} \rightarrow \text{TS2} \rightarrow \text{C4} \rightarrow \text{TS2}' \rightarrow \text{C3}'$, $\text{C5} \rightarrow \text{TS3} \rightarrow \text{C5}'$ の形で反応が進行することが示された。（図3参照） $\text{C1}, \text{C3}, \text{C5}$ は、金属がフィルターに入る時の安定構造であり、 $\text{C1}', \text{C3}', \text{C5}'$ はフィルターから出る時の安定構造、 $\text{C2}, \text{C4}$ はフィルターの透過過程で現われる安定構造。TS で示した構造はそれぞれの安定構造間の遷移状態。ここでは、電場や他のアミノ酸の効果は無視しているので、エネルギーに関して等価である。

アミノ酸配列に基づいてイオン透過孔の立体的な位置が推定される段階にまで進んできた^{4,5)}。一方これまでに多くの量子生物学者もまた、フィルター機構における活性化エネルギーの大きさ、ならびにフィルターの最小断面積（実験により計測された断面積；これに対し理論計算によって導入されるものを最大断面積という）に興味を抱いてきた。しかしこれまではこのイオン透過に対して水の効果も含めて遷移状態の構造を計算し、それに基づいた速度論的取り扱いは行われていなかった。そこで我々は、このチャンネルのフィルター機構に対して、水の働きを明確にするために、水分子のない系、1分子の水を含む系、2分子の水を含む系の3つのモデルを考えて分子軌道計算を行なった。

$\text{HCO}_2\text{M}-\text{H}_2\text{O}_2$ 系 ($\text{M} = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}$) の最適化構造を図2に示す。また、金属イオンがカルボキシル基（蟻酸で代用）の O_1 から O_2 へ移動する際のポテンシャルエネルギー変化を図3に示す。 Li^+ と Na^+ の ΔH はそれぞれ7.0, 6.4 kJ/mol でほぼ等しく、 K^+ の ΔH は23.4 kJ/mol と大きい。これはかなり粗いモデルであるにもかかわらず、 ΔH から推定される各イオンの透過比は定性的に実験事実 ($\text{Li}:\text{Na}:\text{K} = 1:1:1/12$) と一致している。またフィルター一部の最小断面積は $3 \times 5 \text{ \AA}^2$ と推定されているが²⁾、このモデルの最大断面積は Li^+ で 3.0×3.6 , Na^+ で 3.0×4.3 , K^+ で $3.0 \times 5.2 \text{ \AA}^2$ であり、このモデルではチャンネルの大きさという立場から Na^+ が特異的に通りやすいチャンネルということはできない。したがってイオンチャンネルの特異性はエネルギーによって決まると考えることができる。

$\text{HCO}_2\text{Li}-(\text{H}_2\text{O})_2$ 系における ΔH は20.2 kJ/mol と水

図3. ポテンシャルエネルギー図 (単位: kJ/mol). 括弧内の数値はそれぞれ零点エネルギーによる補正値をしめす。

一分子を含む系の約3倍であり、最大断面積は 7.1×3.2 であり、エネルギー的にも空間的にも $\text{HCO}_2\text{Li}-(\text{H}_2\text{O})$ 系より不利になっている。水二分子を含む Na^+ または K^+ の系においても同じような傾向が得られると期待される。また、無水系 HCO_2M ($\text{M} = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}$) では C_{2v} 対称の安定構造のみが得られ、これは金属イオンがカルボキシル基に強く捕捉された状態に対応すると考えられる。従って、無水系および水二分子を含む系ではチャンネル受動輸送が妨げられることになりこれらのモデルは適当でない。

以上3つのモデル計算の結果より、二分子以上の水と水が金属イオンに結合したり、金属イオンから完全に脱水された場合は膜の透過が不利になるが、水一分子であればイオン輸送がエネルギー的にも空間的にも非常に有利になることが示唆される。つまり水一分子はフィルター部での限られた断面積内でイオン輸送に必要な活性化エネルギーを低下させるという重要な役割を持っているようである。

このイオンチャンネルの機構をより定量的に見ていくためには、 Na^+ チャンネルの正確な三次構造より、さらに精巧なモデルを確立し活性化自由エネルギーを算出しモデルの検証を行うことが今後の課題であろう。

4. 進化への応用

化学進化の段階にある原始生命体あるいは化学反応系は、現在の生体系の中に見受けられる反応に比べ非常に単純な構造をもっていたであろう。しかし、それらの単純な反応は、生命の起源を考える上で基本的なステップであったと考えられる。これらの反応は、その単純さゆえに化学反応としてとらえやすく、化学進化の問題は分子軌道法的应用が期待される分野であろう。筆者らは、このような観点から、核酸複製系における金属イオンの選択の問題をとりあげてみた。

現在知られている多くの核酸複製酵素、例えばDNAポリメラーゼやRNAポリメラーゼ、また逆転写酵素などは、亜鉛イオン含有酵素であることが知られている⁶⁾。また、無酵素条件下における核酸重合実験によって、亜鉛イオンは化学進化の非常に初期の段階から核酸複製系に密接な関係があったことが示唆されている^{7),8)}。核酸複製酵素なかでは、亜鉛イオンはプライマー鎖末端の3'水酸基に結合しており、その脱水素化を促進していると考えられている。原始海水中には、多くの金属が含まれていたと考えられているが、その中から亜鉛イオンが核酸複製系によって選択されたのは歴史的偶然によるものだったのか、それともな

表1 金属イオンと核酸の複合体のモデル分子とその計算結果. 基底関数は MINI-1, 金属イオンには Hay, Wadt の ECP を採用した. 構造は最適化された. binding energy の単位は, atomic unit である.

a)	model 1	model 2	model 3
overlap population between M and O	0.15752	0.13488	0.00706
binding energy	-0.18067	-0.16578	-0.08907
b)	model 4	model 5	model 6
overlap population between O and H	0.10549	0.16934	0.28286
charge on hydrogen	+0.44697	+0.45167	+0.36612

んらかの必然的要因が作用したのであろうか. この問題について次のような計算を行なった.

核酸全構造を考慮した *ab initio* 計算を行なうことは困難であるので, 直接金属イオンの作用を受ける部分として 3' 水酸基の領域をメタノールでモデル化し, このモデル分子の酸素に亜鉛イオン (Zn^{2+}) を結合させ, その電子状態を計算した. また, 比較のため, 生体内に多く見受けられる Ca^{2+} や Mg^{2+} を結合させて, その電子状態を計算した. 金属イオン選択の要因としては, その金属イオンの 3' 水酸基への結合の効率と 3' 水酸基からの脱水素化の効率の 2 点が考えられるので, 前者については, 各金属イオンの結合エネルギー及び金属イオンと酸素間の overlap population (分子内の原子間の結合の強さを示す指数) によって, または後者は, モデル分子の水酸基の水素と酸素間の overlap population および水素の正電荷の増加によって評価した. 結合能に関する計算のモデル分子は表 1 c) に示されているが, M が金属イオンを表わしており, model 1, 2, 3 のそれぞれにおいて, M は Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} である. また, 脱水素化の効率に関するモデル分子も表 1 d) に示されている. この時, 水素受容体のモデル分子としてアンモニア分子を加えた. model 4, 5 において, M は Zn^{2+} , Mg^{2+} であり, model 6 は, 金属イオンが結合していない場合を表わしている. これらの指標の計算結果は表 1 に示されている.

表 1 a) に示されているように, 結合能に関しては比較した 3 種の金属イオンの中で, Zn^{2+} が最も有効に働き得ること, また Ca^{2+} は最も水酸基に結合しにくいことがわかる. そこで Zn^{2+} と Mg^{2+} を取り上げ, 表 1 d) に示すモデル分子を用いて脱水素化の効率が調べられた. その結果, 水素上の正電荷の増加には顕著

な差は見られなかったが, Mg^{2+} よりも Zn^{2+} の結合によって O-H 間の overlap population が減少しており, Mg^{2+} よりも Zn^{2+} のほうが脱水素化を促進しやすいことを示唆している. これらのことから化学進化の段階における核酸複製系による亜鉛イオンの選択はある程度必然的要因, すなわち 3' 水酸基への結合能及びそこからの脱水素化の効率に支配されてなされたものと推測される.

5. おわりに

以上大きく三つのテーマについて, まことに駆け足であるが, 概観してきた. この量子生物学 (生体電子論) が, 今後大きな流れになるかどうかは, ひとつは, 電子計算機の能力の向上に依存している. この方向への見通しは, かなり明るい. しかし, 生体系は, 複雑なので, いくら電子計算機の能力が向上しても, 全ての因子を含めて計算することはできない. そこで本質的に重要な因子のみを取り出して, 生物現象と結び付ける必要がある. この重要な因子が, 適当に複雑な系で, ある程度の定量性を要求するものであれば, この重要な因子に対して, 電子計算機を用いて量子生物学の手法を適用することによって, 量子生物学の break-through となる結果を得ることが期待できよう. この重要な因子がばつばつみつかってよい時期に来ているように筆者らは思うのだが.

文 献

- 1) Imamura, A. and Osaku, M. (1982) *J. Theor. Biol.*, **102**, 511.
- 2) Hille, B. (1971) *J. Gen. Physiol.*, **58**, 599-619.
- 3) Hille, B. (1975) *J. Gen. Physiol.*, **66**, 535-560.
- 4) Noda, M., Shimizu, S., Tanabe, T., Takai, T.,

- Kayano, T., Ikeda, T., Takahashi, H., Nakayama, H., Kanaoka, Y., Minamino, N., Kangawa, K., Matsuo, H., Raftery, M.A., Hirose, T., Inayama, S., Hayashida, H., Miyata, T. and Numa, S. (1984) *Nature*, **312**, 121-127.
- 5) Noda, M., Ikeda, T., Kayano, T., Suzuki, H., Takashima, H., Kurasaki, M., Takahashi, H. and Numa, S. (1986) *Nature*, **320**, 188-191.
- 6) Mildvan, A.S. (1974) *Annu. Rev. Biochem.* **43**, 357-399.
- 7) Lohrmann, R., Bridson, P.K. and Orgel, L.E. (1980) *Nature*, **208**, 1464-1465.
- 8) Sawai, H. (1981) *J. Mol. Evol.*, **17**, 48-51.

いまむら あきら

昭和37年京都大学大学院博士課程修了
電々公社電気電信研究所, 国立がんセンター研究所, 滋賀医科大学
化学教室勤務を経て現広島大学化学教室に在職. 研究分野は, 大
きい系の量子化学, 量子生物学. 現在の希望は, 趣味にまわす時間
がほしい.

☎082-241-1221 内線2245

たに せいじ

昭和62年広島大学大学院理学研究科博士課程退学
同年より山口大学理学部助手
趣味は高校時代からやっているバドミントン (へたの横好き) をは
じめ, 各種スポーツと, 乱読.

☎0839-22-611 内線344

とう ひろゆき

九州大学大学院理学研究科博士課程在学中.
研究分野は, 計算機を使った分子生物学.
趣味は, スプラッター映画 (ルイス, ロメロなど) を見ること. 珍
しい (主に激辛) 食べ物を食べる.

☎092-641-1101 内線4438