

## MD 法と QM/MM 計算によるブルー銅タンパク質の酸化還元電位に関する理論的研究 2

(金沢大院・自然\*, 金沢大・大教センター\*\*) ○岩山将士\*,  
齋藤大明\*, 杉森公一\*\*, 川口一朋\*, 長尾秀実\*

### Theoretical studies on redox potential of blue copper proteins by MD and QM/MM calculations. II

(Nat.Sci. Kanazawa Univ.\*, RCHE. Kanazawa Univ.\*\*\*) ○Masashi Iwayama\*,  
Hiroaki Saito\*, Kimikazu Sugimori\*\*, Kazutomo Kawaguchi\*, and Hidemi Nagao\*

【序論】生体系の酸化還元反応は光合成、代謝、細胞内シグナル伝達等の生命現象に密接に関与しており、これらの電子移動を伴う反応機構の理解は生物学的な生体機能発現の原理の究明に向け、広く関心を集めている。電子移動を伴う酸化還元反応の研究では、電位差、電子の移動方向、及び反応経路の情報を含む酸化還元電位を詳細に解析することが重要である。酸化還元電位を理論的に求める上で、酸化還元反応の自由エネルギー変化を求めるために、分極連続体モデル(PCM)を用いた Born-Haber cycle (BHC)が広く使用されてきた<sup>[1]</sup>。近年では溶媒和の寄与が、量子力学/古典力学(QM/MM)的手法と分子動力学(MD)法のカップリングをベースとした熱力学積分法やエネルギー表示(ER)法を用いて顕に取り扱われている<sup>[2,3]</sup>。しかしながら、これらの計算手法では、タンパク質を含む大規模系の酸化還元電位を実験値に対して正確に見積もることは容易では無く、生体分子を対象とした酸化還元電位を計算するための理論的手法の改善は、現在も挑戦的課題の一つになっている。

本研究では、低分子、及びブルー銅タンパク質の酸化還元電位を評価するために、酸化還元反応における BHC モデルにより、MD 計算から得られた構造の QM/MM 法等による気相中のイオン化自由エネルギーの計算、及び ER 法等を用いた過剰化学ポテンシャルの計算を実行する。これらの結果から得られた酸化還元電位について、分子間の酸化還元電位の差を実験値と比較することで議論する。

【手法】酸化還元電位  $E^\circ$  は次式で示す Nernst の式に従い、酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$  から計算する。

$$E^\circ = \Delta G/nF + E^{\text{NHE}} \quad (1)$$

ここで  $F$  はファラデー定数、 $n$  は反応に寄与する電子数、 $E^{\text{NHE}}$  は標準水素電極電位である<sup>[1,4]</sup>。酸化反応の自由エネルギー変化  $\Delta G$  は、図 1 に示す BHC モデルを用いて次式で与えられる。

$$\Delta G = \Delta E + (\Delta\mu_{(N-1)} - \Delta\mu_{(N)}) \quad (2)$$

ここで  $\Delta E$  はイオン化自由エネルギーであり、 $\Delta E = E_{(N-1)} - E_{(N)}$  を示す。 $E_{(N-1)}$ 、及び  $E_{(N)}$  は酸化型、及び還元型分子の全エネルギー、 $\Delta\mu_{(N-1)}$ 、及び  $\Delta\mu_{(N)}$  は酸化型、及び還元型の過剰化学ポテンシャル、 $N$  は分子の価数を示す。 $\Delta E$  は溶液中の MD 計算から得られた分子構造を用いて、低分子は密度汎関数(DFT)(B3LYP/6-31+G\*\*)計算、ブルー銅タンパク質は DFT(B3LYP/6-31G\*\*)-QM/MM 計算により気相中の全エネルギーの平均値から算出する。 $\Delta\mu$  は MD 計算をベースとした ER 法等を用いて計算する。

【計算】酸化型、及び還元型各々の分子の水溶液中における熱平衡化 MD 計算を実行する。MD 計算は Langevin 熱浴による 300 K の温度制御、及び 1 atm の圧力制御を施す。水溶媒には TIP3P を使用し、力場には AMBER force field 03 (parm99)を使用する。但し、低分子、及びブルー銅タンパク質の含金属活性部位には、伸縮振動、変角振動、及び原子電荷について

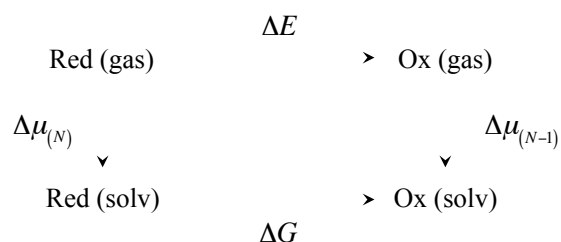


図 1. 酸化反応の BHC モデル

DFT 計算により求めた力場パラメータを使用する<sup>[5]</sup>。長距離相互作用には Particle Mesh Ewald (PME) 法を用い、カットオフを 12 Å とする。時間積分の刻みは 2 fs とする。DFT 計算には Gaussian 03、MD 計算には AMBER 11 を用いる。低分子に対しては、10 ns の十分な熱平衡化 MD 計算が実行されており、温度、圧力、及び重原子の根平均二乗偏差(RMSD)の収束をもとに、系の熱平衡化が確認されている。 $\Delta E$  の平均値は前に示した条件を用いて、これらの熱平衡状態にある系から得られた 400 個のサンプル構造をもとに計算する。

$\Delta\mu_{(N-1)}$ 、及び  $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値は ER 法に従い、熱平衡化 MD 計算から得られたサンプル構造をもとに ERMOD を用いて計算する<sup>[6]</sup>。ER 法では、サンプル構造についての溶液系、及び純溶媒系への溶質挿入に伴う溶質-溶媒間のエネルギー分布関数を求める必要がある。エネルギー分布関数を計算するために、溶液系では溶質座標を固定した 300 ps の MD 計算から 30,000 個のスナップショットを用意し、純溶媒系では 100 ps の MD 計算で平衡状態にある純溶媒に対し、1,000 回の溶質挿入を行い計 100,000 個のサンプルを用意する。これらの計算を 400 個のサンプル構造それぞれに対し実行し、分子の過剰化学ポテンシャルの平均値を算出する。

**【結果】** 低分子としてアセトン、及び 3-ペンタノンの酸化還元電位を求める。表 1 に分子のイオン化自由エネルギー  $\Delta E$ 、及び酸化型、還元型の過剰化学ポテンシャル  $\Delta\mu_{(N-1)}$ 、 $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値と標準偏差を示す。これらの標準偏差の値は構造の熱揺らぎから生じている。 $\Delta E$  の平均値は断熱イオン化ポテンシャルの実験値と比較すると、アセトンで -2.2 kcal/mol、3-ペンタノンで -3.8 kcal/mol である。一方で  $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値は実験値と比較すると、アセトンで +1.5 kcal/mol、3-ペンタノンで +3.0 kcal/mol である。これらの計算値から式(1)、式(2)より酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$  (表 1 に示す)、及び酸化還元電位  $E^\circ$  を計算する。 $E^\circ$  の計算結果はアセトン、及び 3-ペンタノンで 3.7 V、3.5 V であり、標準偏差は 0.1 V、0.2 V である。実験値の 0.16 V (アセトン)、0.14 V (3-ペンタノン) と比較すると、3.54 V、3.36 V の差があるが、これらの差は酸化型の系の過剰化学ポテンシャルの計算過程により生じるものと思われる。

そこで我々は、次の式で示すようにそれぞれの分子の酸化還元電位  $E^\circ$  の差  $\Delta E^\circ$  を計算する。

$$\Delta E^\circ = \Delta(\Delta G)/F \quad (3)$$

$$\Delta(\Delta G) = \Delta G_{\text{acetone}} - \Delta G_{\text{3-pentanone}} \quad (4)$$

ここで  $\Delta G_{\text{acetone}}$ 、及び  $\Delta G_{\text{3-pentanone}}$  は、アセトン、及び 3-ペンタノンの自由エネルギー変化を示す。 $\Delta(\Delta G)$ 、及び  $\Delta E^\circ$  の計算結果は 4.6 kcal/mol、0.2 V であり、標準偏差は 4.6 kcal/mol、0.2 V である。これらの値は実験値 0.4 kcal/mol、0.02 V との比較から、熱揺らぎからくる標準偏差内で見積もられている。これらの結果は、分子間の電子移動を伴う酸化還元反応を、酸化還元電位の差から議論できることを示唆している。当日の講演では分子間の酸化還元電位の差による詳細な議論を与える。またブルー銅タンパク質を対象にしたこれらの計算結果、及び実験値との比較を示す。

表 1. 酸化型/還元型の全エネルギー  $E_{(N-1)}/E_{(N)}$ 、イオン化自由エネルギー  $\Delta E$ 、酸化型/還元型の過剰化学ポテンシャル  $\Delta\mu_{(N-1)}/\Delta\mu_{(N)}$ 、及び酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$  を示す。

単位は kcal/mol であり、( ) の数値は標準偏差を示す。

molecular	$E_{(N-1)}$	$E_{(N)}$	$\Delta E$	$\Delta\mu_{(N-1)}$	$\Delta\mu_{(N)}$	$\Delta G$
acetone	-120,996.4 (0.9)	-121,217.2 (1.0)	220.8 (1.4)	-34.8 (2.6)	-2.3 (0.2)	188.3 (3.0)
3-pentanone	-170,348.0 (1.3)	-170,559.2 (1.4)	211.2 (1.9)	-27.9 (3.0)	-0.4 (0.2)	183.7 (3.5)

**References:** [1] Y. Fu, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 7227 (2005). [2] X. Zeng, *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **128**, 124510 (2008). [3] H. Takahashi, *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **129**, 205103 (2008). [4] 標準水素電極,  $\text{H}^+(\text{solv}) + \text{e}^+(\text{gas}) \rightarrow 1/2\text{H}_2(\text{gas})$ :  $E^{\text{NHE}} = 4.44 \text{ V}$ . [5] M. Iwayama, *et al.*, *Recent Development in Computational Science*, **4**, 59-69 (2013). [6] ERMOD. Available from: <http://sourceforge.net/projects/ermod/>.