

2P101

## トロンビン基質結合ポケットの脱水和における Na<sup>+</sup>結合空洞の役割

(名大院・情報科学<sup>1</sup>, JST-CREST<sup>2</sup>)

○栗崎以久男<sup>1,2</sup>, 高柳昌芳<sup>1,2</sup>, Chantal Barberot<sup>1,2</sup>, 長岡正隆<sup>1,2</sup>

### Role of the Na<sup>+</sup>-binding cavity for dewetting of thrombin substrate-binding pocket

(Graduate School of Information Science, Nagoya University<sup>1</sup>, CREST-JST<sup>2</sup>)

○Ikko Kurisaki<sup>1,2</sup>, Masayoshi Takayanagi<sup>1,2</sup>, Chantal Barberot<sup>1,2</sup>, Masataka Nagaoka<sup>1,2</sup>

【序論】セリンプロテアーゼの一種であるトロンビンは、Na<sup>+</sup>特異的な酵素活性を示す[1]。このタンパク質はNa<sup>+</sup>結合能力を持つことから、Na<sup>+</sup>との部位特異的相互作用により酵素機能が活性化されると考えられてきた。ところが現在、トロンビンの基質認識ポケット(S1 ポケット)、Na<sup>+</sup>結合空洞および活性部位の構造は、Na<sup>+</sup>結合によりほとんど影響を受けないことが知られている(図 1A) [2]。さらに、トロンビンは Asp189 により基質の arginine (ArgP1) を認識するが、この ArgP1 と結合 Na<sup>+</sup>とは空間的に近いため、斥力相互作用を及ぼすことでトロンビン-基質複合体を不安定化する可能性がありうる(図 1B)。これらの事実は、部位特異的なトロンビン-Na<sup>+</sup>相互作用が、機能の活性化とは無関係で、むしろ複合体形成を阻害し、機能発現を抑制することを示唆している。それにも関わらず、実験の技術的制限から、この可能性についての議論はなされてこなかった。そこで、本研究では分子シミュレーションを用いトロンビン-基質複合体形成における Na<sup>+</sup>結合の影響を再検証した。

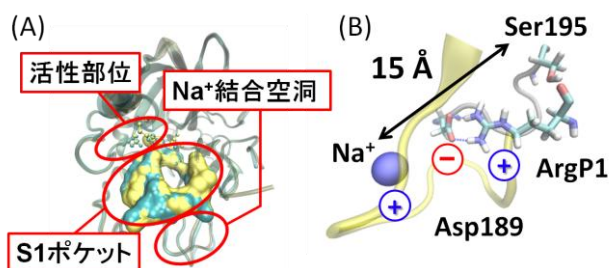


図 1. トロンビンの立体構造。(A)トロンビン(青)とトロンビン-Na<sup>+</sup>(黄)の構造比較。(B)トロンビンの活性部位および Na<sup>+</sup>結合空洞。

【方法】140 mM NaCl 水溶液中にトロンビン-Na<sup>+</sup>複合体と基質分子を配置した。基質のモデル分子として Ace-Pro-Arg-Nme を用いた。500 ns の分子動力学 (molecular dynamics: MD) シミュレーションを行い、トロンビン-基質複合体形成反応が自発的に起こる分子運動トラジェクトリーを得た。基質分子が S1 ポケットに侵入した時点の構造スナップショットを用いて、トロンビン-Na<sup>+</sup>-基質系とトロンビン-基質系をそれぞれ用意した。各々の系について、steered MD シミュレーションを 96 回繰り返して行い、トロンビン-基質複合体形成に必要な仕事を計算した。

【結果・考察】トロンビン-基質複合体形成に必要な仕事を計算したところ、 $\text{Na}^+$ 結合により、3 kcal/mol ほど増加することが分かった。この変化は、 $\text{Na}^+$ と ArgP1 の間に働く斥力相互作用に由来すると考えられる[3]。上記の予想通り、 $\text{Na}^+$ 結合は複合体形成を阻害すると結論した。

これを踏まえ、トロンビンの  $\text{Na}^+$ 結合空洞の役割を再検討することにした。基質分子の基質結合ポケットへの侵入直後では、ArgP1 と

Asp189 はポケット内の水分子により隔てられていた (図 2 左)。そのため複合体形成にはポケットの脱水和が伴う。一方、図 3 に示すように、S1 ポケットは  $\text{Na}^+$ 結合空洞および、他の2つの領域と隣接しており、チャンネルを形成している。このことから、S1 ポケットの脱水和に、このチャンネルが関与している可能性が考えられる。

そこで、トロンビン-基質複合体形成が起こるトラジェクトリーを用いて、Asp189 と基質分子の ArgP1 間の水素結合形成過程のメカニズムを解析した。まず、トロンビンのチャンネル内では、水分子の移動が定常的に起こっていることがわかった (表 1)。また、水素結合形成の直前に ArgP1 と Asp189 を隔てていた水分子は、シミュレーションの最初からその位置にあったわけではなく、系の時間発展に伴い溶媒からチャンネルの中に侵入し、これらの残基の間に移動していたことが確認された [4]。

さらに、脱水和でのチャンネルの役割を明らかにするため、ArgP1-Asp189 間の水素結合形成が起こる際、これらの水分子が ArgP1 と Asp189 の間から移動する経路を調べた。水分子はポケットから直接溶媒中へ移動するのではなく、 $\text{Na}^+$ 結合空洞などの他の空洞へ移動してから、溶媒中に放出されることが分かった (図 2 右)。このことは、基質結合ポケットの脱水和にチャンネルが関与していることを示している。以上の結果を踏まえると、 $\text{Na}^+$ 結合空洞の存在は、 $\text{Na}^+$ 結合能力よりも、むしろ、基質ポケットの脱水和を促進するためにあると考えられる。

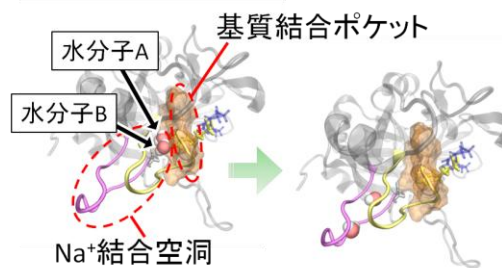


図 2. Asp189 と基質の Arg を隔てる水分子の移動

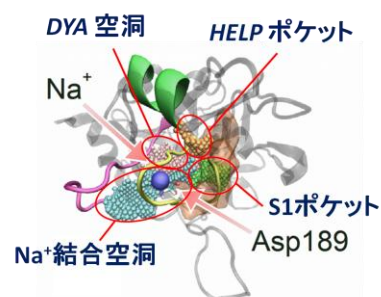


図 3. トロンビン分子内のチャンネルを形成する領域

表 1. チャンネルを形成する領域間での水分子の移動頻度

領域のペア	領域間における水分子の移動頻度 [ $\text{ns}^{-1}$ ]
S1ポケット vs $\text{Na}^+$ 結合空洞	12.51
S1ポケット vs HELPポケット	1.04
S1ポケット vs DYA空洞	53.03

【参考文献】 [1] Di Cera E., Page M. J., Bah A., Bush-Pelc L. A., Garvey L. C., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2007, **9**, 1292-1306; [2] Pineda A. O., Carrell C. J., Bush L. A., Prasad S., Caccia S., Chen ZW., Mathews F. S., Di Cera E., *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**, 31842-31853; [3] Kurisaki I., Takayanagi M., Nagaoka M., *J. Phys. Chem. B*, 2016, **120**, 4540-4547; [4] Kurisaki I., Takayanagi M., Nagaoka M., *J. Phys. Chem. B*, 2015, **119**, 15807-15812.

## 分子動力学シミュレーションによる Spt5-CTR 領域構造へのリン酸化の影響

(近畿大学 先端技術総合研究所) ○米澤 康滋

Molecular dynamics study on  
the phosphorylation effect of the CTR region of Spt5  
(Kindai Univ. Adv. Tech.) ◦Yasushige Yonezawa

## 【序】

DSIF は RNA ポリメラーゼ II (Pol2) に結合して転写過程に大きな影響を及ぼしている超分子集合体の一つである。DSIF を構成する因子の一つである Spt5 の C 末端近くに位置する CTR 領域は 7 アミノ酸残基が繰り返す Pol2 の CTD と同様に、特有のアミノ酸残基繰り返し配列を持ち Thr 残基の部位特異的なリン酸化に依存して様々な転写因子を結合することで RNA ポリメラーゼ II が関わる転写過程を制御する重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。様々な研究からリン酸化が CTR 構造・機能に大きな影響を与えているがその分子機構の詳細は明らかにされていない。CTR のリン酸化による転写因子認識機構を解明するために、我々は分子動力学シミュレーションを活用してリン酸化による CTR 構造変化のビックデータを構築し、さらに多変量解析の手法を駆使して詳細に研究した。その結果、リン酸化は CTR 構造を進展させる大きな効果を持つことを明らかにした。

## 【計算方法】

分子動力学シミュレーション計算に用いた CTR のリン酸化されていないアミノ酸配列 (47 アミノ酸残基) を以下に示す。

RTP MY GSQTP MYGS GSRTP MY GSQTP LQD GSRTP HY GSQTP LHD GSRTP

太い赤色で示した Thr 残基がリン酸化されることで CTR 領域の転写因子がリクルートされて転写過程を制御することが知られている。N 末端と C 末端が強く静電相互作用の影響を受けないように、メチル基でキャップした。初期状態は伸長型の主鎖骨格を持ち状態とし、周りに水分子モデル TIP4PD を配置した。TIP4PD モデルは IDP (Intrinsic Disorder Protein) の構造を再現する為に D.E.Shaw 等によって最近提案された新しい水モデルである。溶媒のイオン強度が 150mM になるように NaCl イオンをこの水分子モデルと入れ替え、周期的条件下に配置した。温度 310K、圧力 1 気圧まで平衡化を実施したのちに、2ps 毎に系のトラジェクトリーデータ (wCTR) を収集した。温度制御には Bussi-Parinello のランジュバン型熱浴を用い、圧力制御には Andersen の方法を用いている。分子動力学シミュレーションプログラムには、Gromacs4-5-5 を用いた。さらに Thr 残基がリン酸化された CTR ペプチドを中心に置く系 (pCTR) を同様に構築してデータ収集を実施した。

## 【結果】

図 1 に、wCTR と pCTR の 2 次構造の時間変化を示す。2 次構造は標準的に良く用いられている DSSP プログラムで決定した。

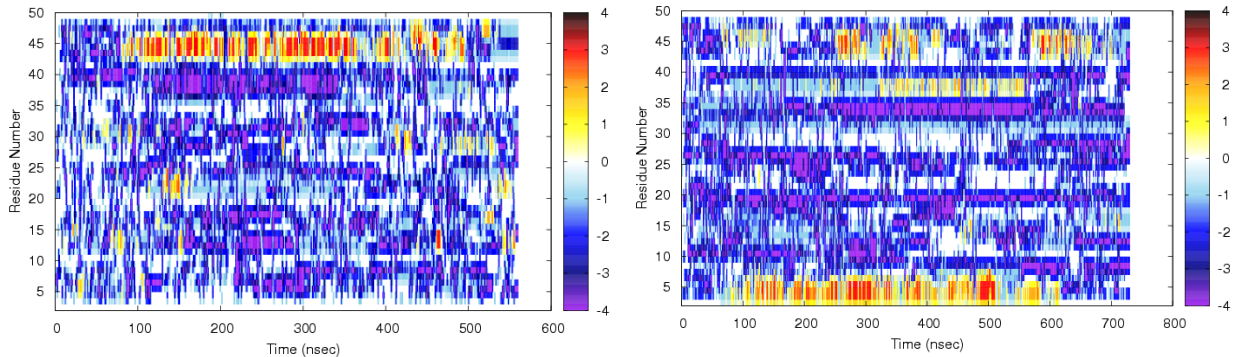


図 1 MD シミュレーションから得られた、wCTR (左) と pCTR (右) の 2 次構造の時間変化。縦軸はアミノ酸番号、横軸は時間 (単位 nsec) を示す。空色は、水素結合を形成するターン構造、青色は単独のシート構造、濃い青色は伸長 ( $\beta$ シート) 構造を示し、紫色はベント構造を示している。また黄色は  $\beta$  ヘリックス、オレンジ色は  $3_{-10}$  ヘリックス、赤色は  $\alpha$  ヘリックス構造を示している。

図 1 からは、wCTR と pCTR 共に特徴的な 2 次構造が形成されていることが分かる。pCTR ではその特異性が顕著である。すなわち Thr 残基リン酸化の影響によると思われる安定なベンド構造が、10 番目残基付近と 20 番目及び 25、35 番目残基付近に観測できる。このベント構造は対象となる転写因子の認識と結合に寄与していると考えられる。

wCTR から得られた構造アンサンブル空間分布 ( $d_{ij}^2$  行列; 500x500 次元) を、Multi-Dimensional Scaling Method (MDS) で 2 次元に次元圧縮した結果を図 2 に示す。構造ペア間の類似性は、各々のペプチドの Ca 原子間距離がどの程度変化したかの差に関する 2 乗平均値 ( $dRMSD$ ) を用いている。

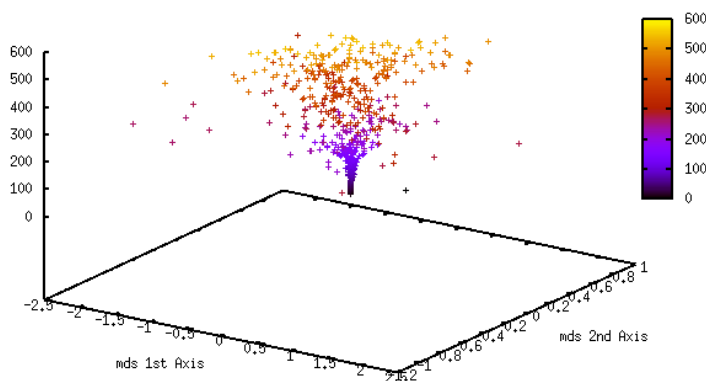


図 2 MDS による wCTR 構造アンサンブルの 2 次元に圧縮した結果。垂直軸は 2 次元分布の時間変化を示している。

詳細については発表時に解説・議論したい。



## 2P103

オルガネラ特異的イリジウム錯体を用いた細胞内酸素濃度測定

(群馬大学大学院理工学府)

○平野 翔太・高橋 一平・吉原 利忠・飛田 成史

Intracellular oxygen measurements using organelle-specific iridium complexes

(Graduate School of Science and Technology, Gunma University.)

○Shota Hirano, Ippei Takahashi, Toshitada Yoshihara, Seiji Tobita

【序】酸素は生命活動の維持に不可欠である。細胞内ではミトコンドリアが酸素のシンクとして働くため、酸素濃度勾配が生じると予想されるが、細胞内の酸素濃度は未だ不明な点が多く、解明が望まれている。細胞内の酸素濃度測定には分子の発光を用いた光学的測定が有用であり、本研究室では酸素によって顕著に消光するイリジウム錯体(Ir 錯体)のりん光を利用して、細胞内の酸素濃度計測に成功している[1]。

本研究では細胞内のライソソームに集積性を持つ BTQDM、小胞体集積性を持つ BTQSA、ミトコンドリア集積性を持つ BTQbpyDCM の3種類のオルガネラ特異的イリジウム錯体(Fig. 1)を用いて、それぞれのオルガネラの酸素分圧を測定し、生細胞(MCF-7 細胞)内における酸素濃度勾配について解明した。

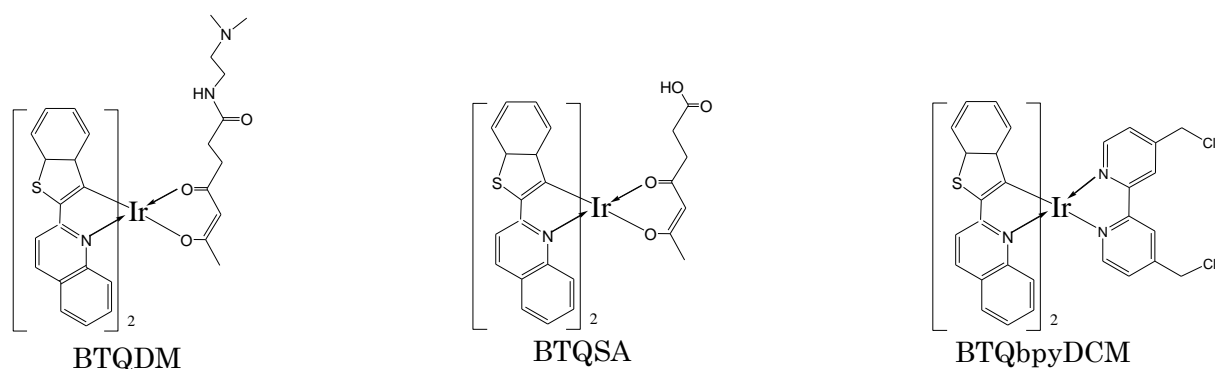


Fig. 1 イリジウム錯体の構造式

【実験】 Fig. 2 に細胞内に分布した Ir 錯体のりん光寿命を測定する装置の概略図を示す。光源には  $\text{Nd}^{3+}$ :YAG レーザーの第二高調波(532 nm、繰り返し: 20 kHz)、またはレーザーダイオード(488 nm、繰り返し: 18~40 kHz)を用いた。細胞内に取り込まれた Ir 錯体からの発光寿命は、時間相関単一光子計数法に基づいて測定した。培養器内の温度、酸素分圧は任意に変えることができ、測定時の培養器内の温度は 37°C とした。

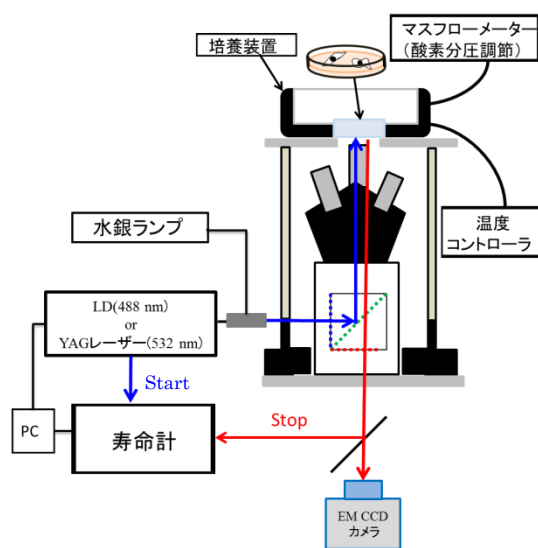


Fig. 2 培養細胞のりん光寿命測定システム

【結果・考察】溶液中でのりん光寿命( $\tau_p$ )と酸素分圧( $pO_2$ )の間には(1)式の関係が成り立つことが知られている。ここで $\tau_p^0$ は酸素分圧 0%でのりん光寿命、 $k_q$ はりん光消光速度定数を示す。

$$\frac{\tau_p^0}{\tau_p} = 1 + k_q \tau_p^0 pO_2 \quad \dots(1)$$

従って、あらかじめりん光消光速度定数 $k_q$ 及び $\tau_p^0$ を求めておくことで、細胞内のりん光寿命 $\tau_p$ を測定し、(1)式に代入することで細胞内の酸素分圧を求めることができる。細胞中の Ir 錯体のりん光減衰は、単一指数関数からはずれたため、double exponential function で解析し、平均寿命を求めて(1)式に基づく解析を行った。また、 $k_q$ を求める際には、細胞の呼吸の影響を除くため、呼吸阻害剤である Antimycin A を培地に加え、細胞呼吸を停止した状態でりん光寿命の calibration を行った。

Fig. 3 に  $pO_2$  に対する  $\tau_p^0/\tau_p$  のプロットを示す。このプロットを(1)式を用いて解析し、傾きから各プローブにおける $k_q$ 値をそれぞれ決定した (Table 1)。

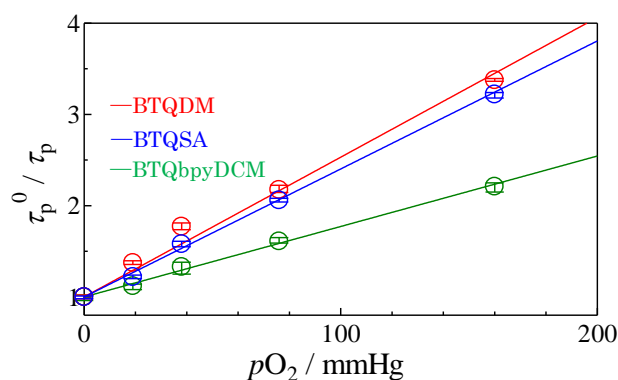


Fig. 3  $pO_2$  に対する  $\tau_p^0/\tau_p$  のプロット

Table 1 MCF-7 細胞中における各錯体の $k_q$ 及び $\tau_p^0$

Ir complex	$k_q / 10^3 \text{ mmHg}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$\tau_p^0 / \mu\text{s}$
BTQDM	5.41	2.83
BTQSA	4.99	2.81
BTQbpyDCM	1.66	4.65

各 Ir 錯体を用いて 21%  $O_2$  ( $pO_2 = 160 \text{ mmHg}$ ) 条件下における MCF-7 細胞中の各オルガネラでのりん光寿命を計測し、酸素分圧に変換することで、細胞内における酸素濃度勾配の有無について検討した。MCF-7 細胞中で各 12 回ずつりん光寿命を測定し、(1)式を用いて酸素分圧に変換した値の平均値を Fig. 4 に示す。ライソソーム、小胞体、ミトコンドリアの酸素分圧はそれぞれ、 $173 \pm 12$ 、 $154 \pm 12$ 、 $135 \pm 13 \text{ mmHg}$  であった。Fig. 4 より、細胞呼吸を担うミトコンドリアが最も低酸素であることが明らかとなった。以上の結果から、細胞内ではミトコンドリアでの呼吸によって酸素が消費され、細胞内に酸素濃度の勾配が生じ、ミトコンドリアに向かって酸素が拡散していることが明らかとなった。

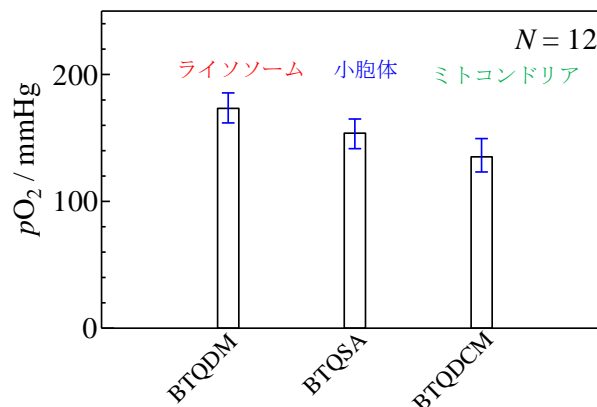


Fig. 4 MCF-7 細胞中の各オルガネラにおける酸素分圧

[1] Yoshihara, T. et al. *Anal. Chem.* **2015**, 87, 2710.

## 2P104

リボヌクレアーゼ A の安定性に対する電解質と分子混み合いの複合効果

(九大院理<sup>1</sup>, 大阪市大院理<sup>2</sup>) ○大内仁<sup>1</sup>, 関谷博<sup>1</sup>, 迫田憲治<sup>2</sup>

The synergetic effect of adding electrolytes and molecular crowders on the stability of ribonuclease A

(Kyushu Univ.<sup>1</sup>, Osaka City Univ.<sup>2</sup>)○Hitoshi Ouchi<sup>1</sup>, Hiroshi Sekiya<sup>1</sup>, Kenji Sakota<sup>2</sup>

【序】溶液中のタンパク質の安定性については、過去に多くの研究が報告されているが、それらの多くは、水溶液中または希薄な緩衝溶液中に低濃度のタンパク質が溶存した条件で行われている。しかし、実際にタンパク質が機能を発現する細胞内に目を向けると、タンパク質の他にも非常に多くの天然高分子が共存しており、その周囲には電荷を帯びた電解質が存在している。これらの溶存物質がタンパク質に対して与える影響について理解することは、生理環境におけるタンパク質の安定性のメカニズムを知る上で重要な課題の1つである。

タンパク質水溶液に対する電解質の影響については、古くからホフマイスター系列が知られている。タンパク質を塩析させる能力の大きな塩はコスモトロープと呼ばれ、逆にタンパク質を塩溶させる能力の大きな塩はカオトロープと呼ばれている。ホフマイスター系列はタンパク質の安定性に対する電解質の添加効果の系列として見出されたが、その後の研究によって、溶質分子が示す様々な物性や機能の変化に対しても同様の系列が成り立つことが明らかにされている。一方、高分子が高濃度に存在する溶液中では、生化学反応の速度や平衡に大きな変化が見られることがあり、この現象は分子混み合い効果として知られている。この分子混み合い効果に注目してタンパク質の安定性を調査した研究も近年行われるようになっていく。

生理環境にあるタンパク質は、電解質と混み合い分子が共存する溶液中に存在している。このような系におけるタンパク質の安定性は、電解質と混み合い分子の両者から影響を受けていることが予想される。しかしながら、タンパク質の安定性に対して、電解質と混み合い分子がそれぞれ独立に効果を及ぼすのか、あるいは両者が複合的に効果を及ぼすのかに関しては未だ解明されていない部分が多い。そこで、本研究ではリボヌクレアーゼ A (RNaseA) の水溶液に対する塩および混み合い分子の添加効果を調査し、両者の複合効果に注目して研究を行った。

【実験】286 nm における RNaseA 水溶液の吸光度を測定しながら温度を変化させると、構造転移温度において吸光度が減少する。このことを利用して、RNaseA 水溶液に混み合い分子 (ポリエチレングリコール[PEG])、NaF、NaCl、および NaSCN を添加したときの構造転移温度を測定した。

【結果と考察】RNaseA 水溶液の吸光度の温度変化の測定から転移温度曲線を作成し、天然-変性状態間の 2 状態転移モデルを適用して解析を行ったところ、63.5°C で構造転移が観測された (図 1)。この 63.5°C を基準に、塩および PEG を添加したときの転移温度変化  $\Delta T$  を求めた。

まず、RNaseA 水溶液の構造転移温度に対する塩および PEG 単体での添加効果を調べた。コスモトロープの NaF、カオトロープの NaSCN、ホフマイスター系列の中間付近に位置する NaCl の 3 種類の塩を添加した結果、塩の種類によって  $\Delta T$  が大きく変化したが (図 2 の白抜きのプロット)、PEG については分子量と添加濃度を変化させても転移温度はほとんど変化しなかった。次に、分子量 10000 の PEG を 100 mg/mL 添加した RNaseA 水溶液において、NaF、NaCl、NaSCN の

添加濃度を変化させることで、塩と混み合い分子が共存する場合について調査した。RNaseA 水溶液に PEG のみを加えても転移温度はほとんど変化しないにもかかわらず、PEG の有無によって、RNaseA の転移温度に対する塩の添加効果に変化が現れた (図 2)。このことは、電解質と混み合い分子が RNaseA の安定性に対して複合的に効果を及ぼしていることを表している。

ここで、電解質の添加と分子混み合いの複合効果について考察するため、ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) 水溶液に関する先行研究との比較を行う[1]。PNIPAM は溶液中でランダムコイル-グロビュール転移を起こすため、タンパク質の構造転移モデルの 1 つとして扱われており、PNIPAM 水溶液の転移温度変化はラングミュア型吸着式に線形項を加えた式で再現できることが明らかにされている。これと同じ以下の式(1)で、図 2 のプロットがよく再現できることが分かった (図 2 の実線および点線)。

$$\Delta T = m[M] + B_{\max}K_D[M]/(1 + K_D[M]) \quad (1)$$

[M]は塩濃度、 $m$ は塩の水和エントロピーに依存する係数、 $B_{\max}$ は塩の吸着率を転移温度変化に変換する係数、 $K_D$ は RNaseA と塩の解離定数である。右辺の第一項は線形項、第二項は非線形項でラングミュア型の吸着式と同じ形をしている。RNaseA 水溶液と PNIPAM 水溶液における NaSCN の添加効果について比較を行うと、両者とも混み合い分子との複合効果が観測されているが、RNaseA では PEG の有無による転移温度の違いが小さい (複合効果が小さい、図 2) のに対して、PNIPAM では PEG の有無による転移温度の違いが大きい (複合効果が大きい)。複合効果の小さい RNaseA 水溶液では、式(1)の第一項による寄与が大きいため、転移温度が塩の添加濃度に対して線形的に変化する効果が大きく、塩の吸着による影響 (式(1)の第二項) は小さい。逆に、複合効果の大きい PNIPAM では、式(1)の第二項による寄与が大きく、転移温度に対する塩の吸着の効果が大きいことが分かっている。さらに、今回測定した NaF と NaCl の場合でも、RNaseA の転移温度に対する塩の吸着の効果は小さく、混み合い分子との複合効果も小さい。これらのことから、高分子の構造転移温度の変化に対する塩添加と分子混み合いの複合効果は、高分子に対する塩の吸着に支配されており、複合効果の大小と塩の吸着の大小には正の相関があることが示唆された。

[1] K. Sakota, *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, **119**, 10334-10340, (2015).

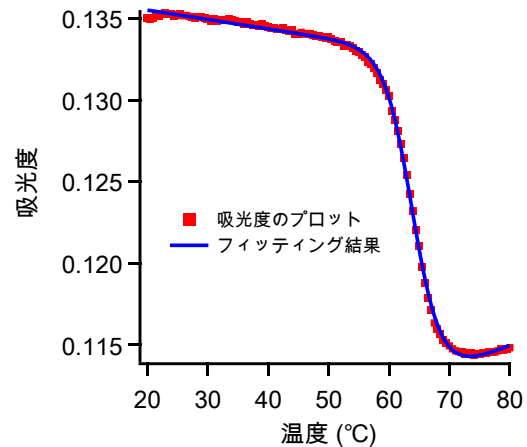


図 1. RNaseA 水溶液の構造転移温度曲線。

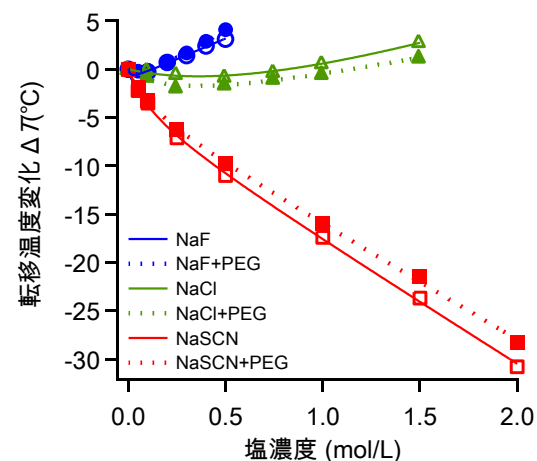


図 2. RNaseA 水溶液における構造転移温度の塩濃度依存性。



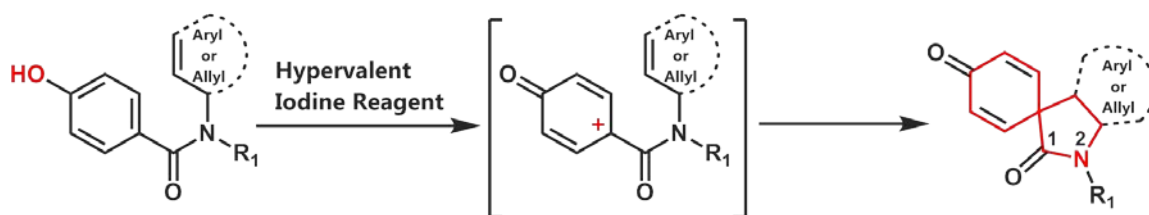
## 2-アザスピロ環化化合物の安定構造の理論的研究

(城西大理<sup>1</sup>, 城西大薬<sup>2</sup>) ○寺前裕之<sup>1</sup>, 林 浩輔<sup>2</sup>, 高山 淳<sup>2</sup>, 坂本 武士<sup>2</sup>

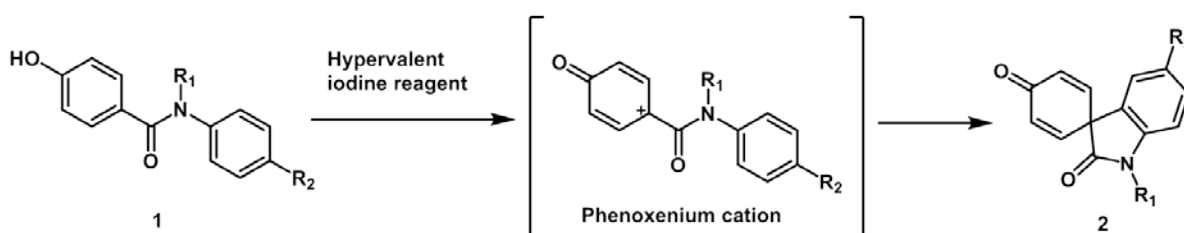
## Theoretical study on optimized structures of 2-aza-spiro ring compounds

(Faculty of Science<sup>1</sup> and Faculty of Pharmaceutical Sciences<sup>2</sup>, Josai University)○Hiroyuki Teramae<sup>1</sup>, Kousuke Hayashi<sup>2</sup>, Jun Takayama<sup>2</sup>, Takeshi Sakamoto<sup>2</sup>

【はじめに】 我々は、超原子価ヨウ素化合物を用いるベンズアニリド誘導体の酸化的脱芳香化反応によって、2-アザスピロ環の合成を行ってきた。本反応はアミド窒素上の置換基 ( $R^1$ ) によって収率が異なることがわかり、アミド窒素上の置換基効果についてより詳細に検討することにした。またN-メトキシベンズアミドの窒素にプレニル基を導入した化合物 ( $R^1 = \text{OMe}$ ) を出発物質として同様の環化反応を検討してきた。今回はこれらの環化反応を理論的に取り扱う。



近年、生理活性を有する2-アザスピロ環化合物が数多く発見されている。ナイトレニウムイオンを用いた1-アザスピロ環化合物の合成例は多数報告されているが、フェノール類の脱芳香型酸化反応を利用した2-アザスピロ環合成の報告例は少ない。そこで、比較的合成が容易であるアミド化合物を出発物質として、スピロ環化反応の検討が行われている[1]。



我々は、ベンズアニリド誘導体 **1** を出発物質とした酸化的脱芳香化反応においてアミド窒素上の置換基により環化体 **2** の収率が異なることを見出した。

*N*-アルキル体の反応は収率良く得られたが、*N*-メトキシ体では極端に収率が下がるのがわかった。*N*-フタロイル体では中程度の収率であった。

このように *N*-メトキシ体で極端に収率が下がる原因であるが、*N*-アルキル体では置換基が窒素-ベンゼン環と同一平面上にあるため *trans* 体・*cis* 体共に立体障害が起こらないが、*N*-メトキシ体では *cis* 体において立体障害があり、*trans* 体の方が安定になるためではないかと考えられる。

そこで本研究では、分子軌道法および高次元アルゴリズムを用いて、ベンズアニリド誘導体における、*cis-trans* 構造間のエネルギー差を計算することで、収率の差の原因を解明するこ

とを試みた。

### 【計算方法】

高次元アルゴリズムは一般的な最適化手法で、分子構造の最適化に応用した場合には擬似的な分子動力学法を用いた最適化手法となる。

汎用分子軌道計算プログラム GAMESS および Gaussian09 を使用し、高次元アルゴリズムで得られた HF/3-21G レベルの最適化構造を基にしてさらに MP2/6-31G\*\* レベルでの構造最適化を行った。高次元アルゴリズムの部分のプログラムはオリジナルコードで GAMESS プログラムと組み合わせて使用した。

### 【結果と考察】

Table 1 にベンズアニリド誘導体の cis および trans 構造のエネルギー差を示した。エネルギー値は MP2/6-31G(d,p)である。エネルギー最適化は行っているが、適当な構造からの最適化である。

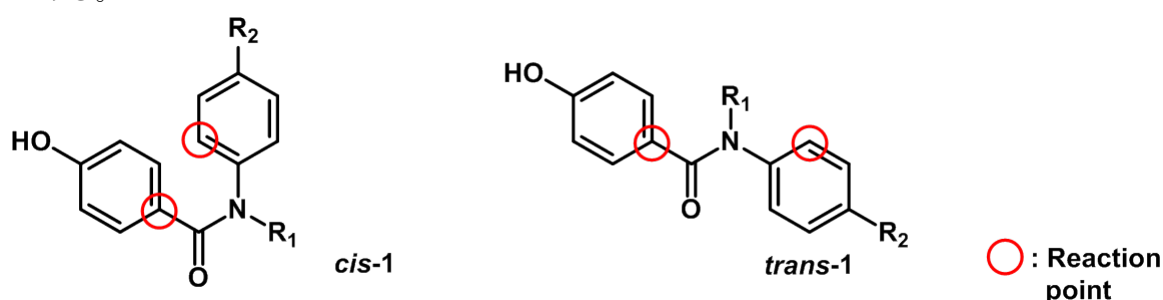


Table 1. MP2/6-31G(d,p)レベルでのベンズアニリド誘導体の cis および trans 構造のエネルギー差

entry	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	energy (a.u.)		$\Delta E$ (kcal/mol)	ratio at 300K (cis : trans)	yield of 2 (%)
			cis-1a	trans-1a	(trans—cis)		
1	-Me	-H	-744.305375	-744.298414	4.36	1 : 0.000665	81
2	-CH <sub>2</sub> -Ph	-H	-974.645940	-974.637055	5.57	1 : 0.0000873	75
3	-Me	-OEt	-897.695408	-897.688375	4.41	1 : 0.000612	91
4	-CH <sub>2</sub> -Ph	-OEt	-1128.036452	-1128.027030	5.91	1 : 0.0000494	83
5	-OMe	-OEt	-972.661310	-972.661707	-0.24	0.669 : 1	21
6	-Phth	-OEt	-1368.695258	-1368.694586	0.42	1 : 0.494	55

Table 1からわかるように、*N*-メトキシ体以外ではcis体のエネルギーがtrans体より低く安定であると計算された。Table 2には計算されたエネルギーとボルツマン分布による比も示した。室温では*N*-メトキシ体以外ではほぼcis-体のみが存在していることが示唆される。

高次元アルゴリズムを用いた最適化の結果や、その他の結果については当日発表予定である。

【参考文献】 [1] 島野 洋祐, 小玉 健太郎, 石原 友梨, 岩井 恵子, 玄 美燕, 高山 淳, 坂本 武史, 日本薬学会第134年会, 2014年 3月, 熊本

# ポリメタクリル酸メチルのラジカル重合反応シミュレーションによる立体規則性の解析

(名大院情報科学\*, CREST-JST\*\*, 京大 ESICB\*\*\*)

○高柳 昌芳\*,\*\*, 松本 健太郎\*, 長岡 正隆\*,\*\*,\*\*\*

## Analysis on the tacticity of poly(methyl methacrylate) by simulating radical polymerization process

(Graduate School of Information Science, Nagoya University\*, CREST-JST\*\*, ESICB, Kyoto University\*\*\*)

○Masayoshi Takayanagi\*,\*\*, Kentaro Matsumoto\*, Masataka Nagaoka\*,\*\*,\*\*\*

【背景】 ポリメタクリル酸メチル (poly(methyl methacrylate), PMMA) はメタクリル酸メチル (methyl methacrylate, MMA) 単量体の重合により生成される高分子であり、アクリルガラスとして日常的に利用されている。ラジカル重合は有用な PMMA 重合手法の1つであり、重合開始剤により生成されるラジカル炭素が MMA ビニル基の  $\beta$  炭素を攻撃することで成長反応が進行する (図1)。PMMA の立体規則性 (タクティシティ) はマクロな物性にも影響を与える重要な性質であり、高分子内で隣接する2つの不斉炭素の側鎖が同じ方向を向いている場合はメソ二連子、異なる方向を向いている場合はラセモ二連子と定義される (図2)。バルク重合により得られる PMMA の立体規則性はメソ比が約 20% (温度などに依存して数%変化する) であり、マクロな物性を改良することを目的として、立体規則性が大きく異なる PMMA を与えるラジカル重合手法が探索されている。有望な手法の1つとして、多孔性配位高分子 (PCP) あるいは有機金属錯体 (MOF) のナノサイズ細孔内部に単量体と重合開始剤を封入した上でラジカル重合を行う手法が提案されている[1,2]。温度 343 K において、バルク重合での PMMA のメソ比が 22% であるのに対し、一次元細孔を有する PCP である  $[Zn_2(BDC)_2TED]$  (BDC はテレフタル酸、TED はトリエチレンジアミン) 細孔内ラジカル重合でのメソ比は 28% に変化する[1]。さらに、BDC 配位子を他の配位子に変更することで、メソ比を 50% 以上に大きく変化させることにも成功している[2]。この立体規則性の変化は、側鎖が同じ側に存在することで断面積が狭くなるメソ体の方が、狭い PCP 細孔内では安定になるためと推測されているものの、BDC を異なる配位子に変更することによる立体規則性変化の機構を原子レベルから説明することは未だできていない。そこで我々は、バルク相および PCP 細孔内における PMMA ラジカル重合反応による立体規則性制御機構を原子レベルから理解することを目的として、混合モンテカルロ (MC) /分子動力学 (MD) 反応法[3]をバルク相ラジカル重合反応に適用することで、ラジカル重合における立体規則性制御機構の解析に着手した。

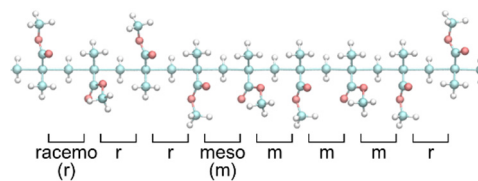
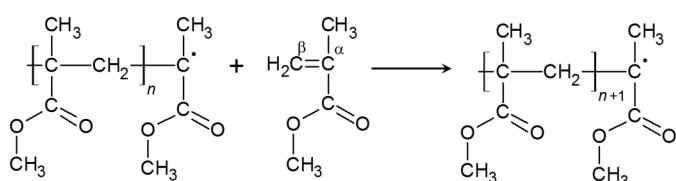


図1. PMMA ラジカル重合における成長反応

図2. PMMA の立体規則性

【計算手順】 MD 計算は AMBER 14 pmemd ソルバにより実行した。バルク重合の実験条件[1,2]と同じ温度 343 K、圧力 1 atm における温度、圧力一定条件を課した。MMA 単量体の力場は、以前報告したものを利用した[4]。PMMA ラジカル力場は、DFT 計算による分子内回転障壁を再現するようにパラメータを決定した。1 分子の MMA 二量体ラジカル分子の周囲に 158 分子の MMA 単量体を配置することで、バルク相 MMA 重合系を作成した。混合 MC/MD 反応法における MC 法で取り扱う化学反応は、ラジカル重合成長反応 1 種類のみとした。反応条件は、PMMA ラジカル末端のラジカル原子と、MMA 単量体ビニル基  $\beta$  炭素間の距離が 3.5 Å 以内と設定した (図 3)。混合 MC/MD 反応シミュレーション

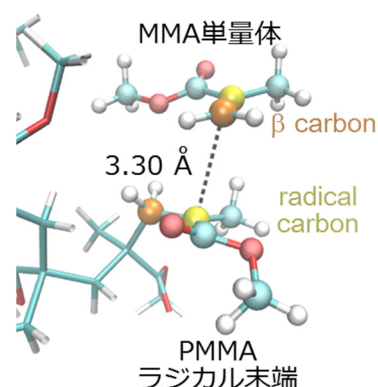


図 3. 成長反応条件を満たすスナップショット例

の 1 サイクルは以下の手順とした。(1) 20 ps の MD 計算実行。(2) 反応条件を満たす反応候補の探索、見つかった場合はラジカル炭素と  $\beta$  炭素間に結合を生成、見つからなかった場合はサイクル終了。(3) 反応部位の構造緩和、平衡化 MD 計算 10 ps を実行。(4) 反応前後のエネルギー差に対しメトロポリス法判定、棄却の場合は成長反応前 (1) 終了時点) に戻る。以上の MC/MD 反応サイクルを実行可能な混合 MC/MD 反応プログラムを新規に開発し、100 サイクルを実行した。

【結果】 初期の MC/MD サイクルでは、ラジカル末端への MMA 単量体の接近は容易であり、ほぼ全てのサイクルで成長反応が進行した。反応が進行するに従い、伸長した PMMA が周期境界ボックス内を占める割合が増大することでラジカル末端への単量体接近が阻害され、成長反応頻度は低下した。100 サイクル終了時には、PMMA は 50 量体にまで成長した (図 4)。成長反応条件を満たした PMMA ラジカル末端と MMA 単量体の配座の解析により、メソおよびラセモ二連子を与える成長反応の頻度因子の比はおおよそ 1 : 1 である結果を得た。当日は、立体規則性を決定するもう一つの重要な要因である成長反応活性化障壁も含めて、微視的な立体規則性制御機構について報告する。

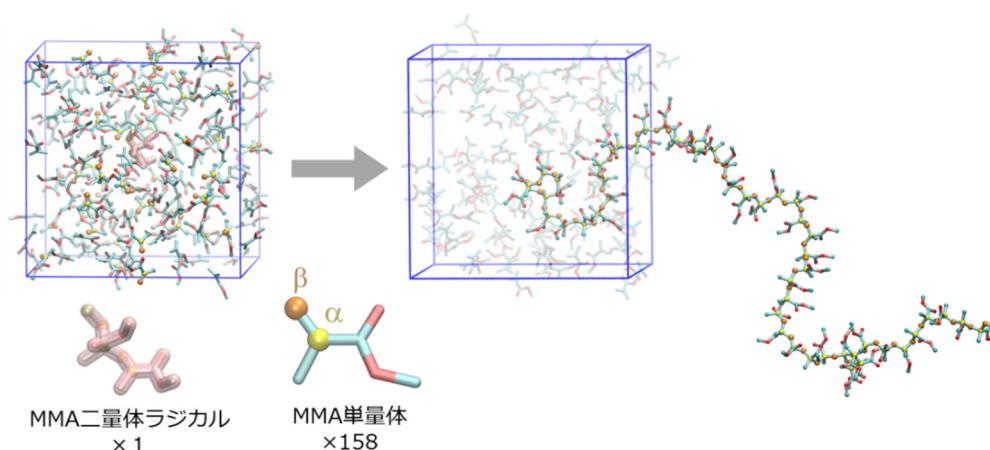


図 4. 混合 MC/MD 反応シミュレーション 100 サイクル実行により得た PMMA 50 量体

【参考文献】 [1] Uemura, T.; Ono, Y.; Kitagawa, K.; Kitagawa, S., *Macromolecules* **2008**, *41*, 87–94. [2] Uemura, T.; Ono, Y.; Hijikata, Y.; Kitagawa, S., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4917–4924. [3] Nagaoka, M.; Suzuki, Y.; Okamoto, T.; Takenaka, N. *Chem. Phys. Lett.* **2013**, *583*, 80–86. [4] Takayanagi, M.; Pakhira, S.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 27291–27297.



## メソポーラスシリカ白金触媒による

## エチレンの酸化メカニズムに関する理論的研究

(<sup>1</sup>北大院 総合化学, <sup>2</sup>北大 触媒研) ○宮崎 玲<sup>1</sup>, 中谷 直輝<sup>2</sup>, 横谷 卓郎<sup>1</sup>, 中島 清隆<sup>2</sup>, 福岡 淳<sup>2</sup>, 長谷川 淳也<sup>2</sup>

### Mechanism of ethylene oxidation by Pt catalyst supported on mesoporous silica: a theoretical study

(<sup>1</sup>Graduate School of Chemical Sciences and Engineering, Hokkaido Univ., <sup>2</sup>Institute for Catalysis, Hokkaido Univ.) ○Ray Miyazaki<sup>1</sup>, Naoki Nakatani<sup>2</sup>, Takuro Yokoya<sup>1</sup>, Kiyotaka Nakajima<sup>2</sup>, Atsushi Fukuoka<sup>2</sup>, Jun-ya Hasegawa<sup>2</sup>

#### 【研究背景・目的】

北大・福岡グループにより、白金ナノ粒子をメソポーラスシリカ(多孔質の二酸化ケイ素)の孔内に導入したメソポーラスシリカ白金触媒が報告された[1]。本触媒を用いると、0°C付近の低温でもエチレンを水と二酸化炭素に完全酸化可能である。しかしながら、金属担持型の固体触媒上では複雑な表面化学反応が起きており、本触媒においても詳細な反応機構や、反応に対する担体の効果は未解明であった。このような背景から、本研究では理論化学計算を用い、メソポーラスシリカ白金触媒上での詳細なエチレンの酸化反応機構の解明と、反応に対するシリカ担体の電子的な効果の解析を行った。

#### 【研究方法】

本研究では反応系の重要な一部分を切り出してモデル化する、クラスターモデル法を用いた。具体的には、以下の4つのモデルを構築し、密度汎関数法(DFT)による計算を行った(図1)。(a) Pt<sub>7</sub>モデル: 白金ナノ粒子の(111)表面を、白金原子7個で表現したモデル。(b) Pt<sub>2</sub>モデル: Pt<sub>7</sub>モデルのエッジ部分を白金原子2個で表現したモデル。(c) Pt<sub>2</sub>-SiO<sub>4</sub>モデル: シリカ担体の最小構成ユニットであるSiO<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>に、Pt<sub>2</sub>モデルを担持したモデル。(d) Pt<sub>2</sub>-Si<sub>surf</sub>モデル: 31ユニットのSiO<sub>2</sub>からなるシリカ担体モデルにPt<sub>2</sub>モデルを担持したモデル。DFT計算の汎関数にはB3LYPを選択した。基底関数は、Stuttgart/Dresden (611111/22111/411) ECP60MWBを白金原子に、6-31G\*をその他の原子に使用した。計算プログラムにはGaussian09を用いた。

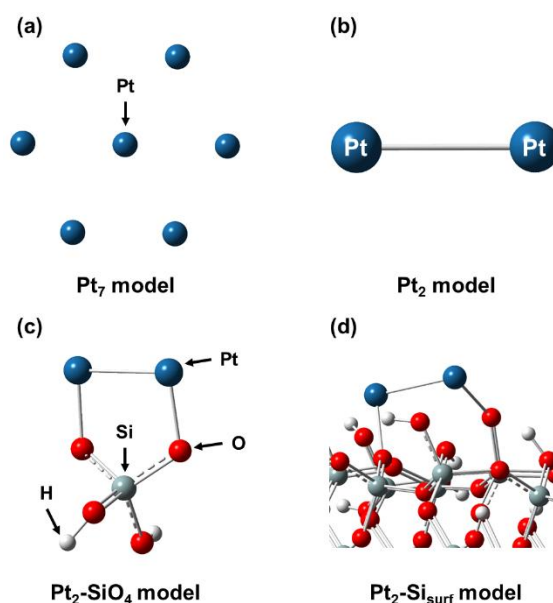


図1 モデル反応系

## 【結果と考察】

はじめに Pt<sub>7</sub> モデルを用いて、白金ナノ粒子表面の端の部分(エッジ部分)と、間の平らな部分(テラス部分)における反応性の違いを検証した。どちらの位置においても、白金に吸着した2個の酸素原子とエチレンが結合したエチレンジオキسد中間体を経て、ホルムアルデヒドへと酸化される経路が見出された(図2)。その際の活性化障壁はテラス部分では+87.5(kcal/mol)、エッジ

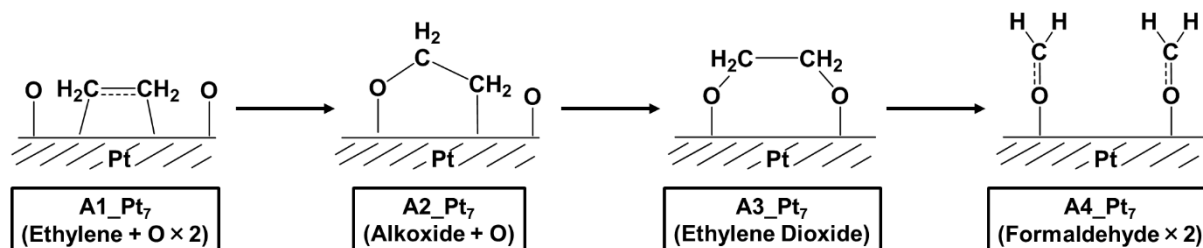


図2 計算で得られた反応機構

部分では+49.2(kcal/mol)と計算された。この結果から、活性化障壁の低い白金ナノ粒子のエッジ部分でエチレンの酸化反応は進行しやすいことが明らかとなった。また、Pt<sub>7</sub>モデルのエッジ部分においてホルムアルデヒドから、一酸化炭素を経て二酸化炭素が生成する経路も見出した。これは赤外分光法等の実験結果から予想されていた反応機構と一致しており、エッジ部分におけるエチレンの完全酸化反応経路を見出したと言える。

次に、Pt<sub>7</sub>モデルのエッジ部分を切り出した Pt<sub>2</sub>モデル系を用いて、シリカ担体の電子的な効果を解析した。Pt<sub>2</sub>モデル、Pt<sub>2</sub>-SiO<sub>4</sub>モデル、Pt<sub>2</sub>-Si<sub>surf</sub>モデルのいずれにおいても、エチレンジオキسد中間体を経由する Pt<sub>7</sub>モデルと同様の酸化反応機構が見出された。また、Pt<sub>2</sub>モデルでは活性化障壁が+35.5(kcal/mol)と計算されたのに対し、Pt<sub>2</sub>-SiO<sub>4</sub>モデルでは+13.1(kcal/mol)と計算され、シリカ担体により反応の活性化障壁が大きく低下する効果が見出された。さらに3つのモデルにおいて、エチレンジオキسد中間体からC-C σ結合が解裂してホルムアルデヒドが生成する際の障壁を比較した。Pt<sub>2</sub>モデルでは障壁が+34.9(kcal/mol)であったのに対し、Pt<sub>2</sub>-SiO<sub>4</sub>モデルでは+6.4(kcal/mol)、Pt<sub>2</sub>-Si<sub>surf</sub>モデルでは+4.5(kcal/mol)と計算された(図3)。この結果から、実験結果と同様にシリカ担体があるモデルではC-C σ結合解裂の障壁が大きく低下することが明らかとなった。自然軌道解析や分子軌道図の解析の結果、シリカ担体によって白金の δ\*軌道の電子の占有数が減少し、δ軌道による結合性相互作用を遷移状態が受けることでその障壁が低下する効果が明らかとなった。

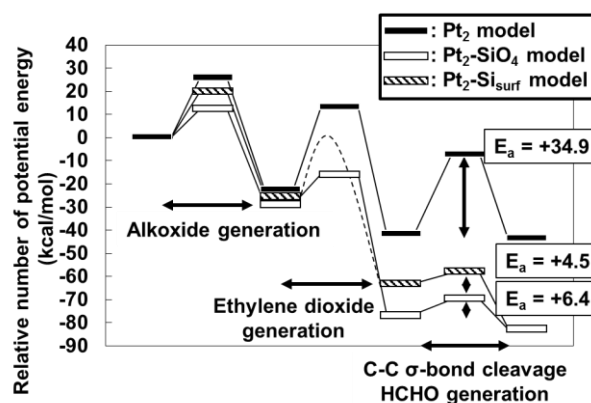


図3 シリカ担持による C-C σ結合解裂の障壁の低下

## 【参考文献】

[1] C. Jiang, K. Hara, A. Fukuoka, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52, 6265-6268

## 分子間相互作用による電子状態変化の差密度行列解析

(高度情報科学技術研究機構 (RIST)) ○山木大輔

Difference density matrix analysis of effects of intermolecular interactions on electronic structures

(Research Organization for Information Science and Technology (RIST)) ○Daisuke Yamaki

**【序】** 計算機の発展により電子状態計算の対象分子はどんどん巨大化している。こういった分子の比較や解析には、分子軌道等の微小な差異を一つ一つ比較する方法は事実上実行不可能である。この事態を解決するため、我々は電子状態の変化のみを抽出し、最小限の情報を可視化できる差密度行列解析法を提案してきた。

この解析法は、当初、密度汎関数法・Hartree-Fock(HF)法等の、単一行列関数由来の密度行列間の比較・解析向けであったが、前回、非整数の固有値を持つ密度行列向けに拡張し、post-HF 法向けにも適用可能とした。ここでは、この解析法を、フェノール分子と水分子からなる系等、分子間相互作用で結合した系に適用し、分子間相互作用による電子状態変化の解析を示す。

### 【差密度行列解析】

本手法では、2つの異なる分子（対象分子1と基準分子0）を比較するため、次式の縮約密度行列の差 $\Delta\rho$ の自然軌道 $|i\rangle$ と固有値 $\lambda_i$ を利用する<sup>1</sup>。

$$\Delta\rho = \rho^1 - \rho^0 = \sum \lambda_i |i\rangle\langle i| \quad (1)$$

(1)HF 法など単一行列関数由来の密度行列間の比較の場合、固有値 $\lambda_i = \pm 1$ の成分を、解析に重要でない、基準分子部分と相互作用のない成分（非相互作用成分）、

$$\rho_{\text{non-interact(oid)}} = \mathbb{F}_{\lambda_i = \pm 1}[\Delta\rho] = \sum_{\lambda_i = \pm 1} \lambda_i |i\rangle\langle i| \quad (2)$$

として解析から排除する。ここで、関数 $\mathbb{F}_X[\Delta\rho]$ は、 $\Delta\rho$ の固有値分解のうち固有値がXである成分の部分和を表す。残りの自然軌道の成分を活性成分 $\Delta\rho_{\text{active(oid)}}$ として、絶対値 $|\lambda_i|$ の大きい主要な自然軌道から解析する。また、固有値について、単一行列関数の場合は正負の固有値は厳密に一致するため、電子状態変化は負の固有値の軌道から対応する正の固有値の軌道への電子移動として解釈することができる。

(2)電子相関手法による密度行列間の比較の場合、元の密度行列の固有値が非整数であるため、元の分子の密度行列で一旦規格化して非相互作用成分を抽出する。まず、 $\Delta\rho$ を正負の固有値成分 $\Delta\rho = \rho^+ - \rho^-$ に分割する。次に、正負の成分を、それぞれ、分子1、分子0の密度行列で規格化し、固有値1の非相互作用成分を抽出する。そして、規格化の逆変換を行う。正の成分 $\rho^+$ の非相互作用成分は次式のように表される：

$$\rho_{\text{non-interact(new)}}^+ = (\rho^1)^{1/2} \cdot \mathbb{F}_{\lambda=1} \left[ (\rho^1)^{-1/2} \cdot \rho^+ \cdot (\rho^1)^{-1/2} \right] \cdot (\rho^1)^{1/2} \quad (3)$$

この電子相関手法向けの方法の場合、非相互作用成分を除去した活性成分、

$$\Delta\rho_{\text{active(new)}} = \Delta\rho - \rho_{\text{non-interact(new)}} = \Delta\rho - (\rho_{\text{non-interact(new)}}^+ - \rho_{\text{non-interact(new)}}^-) \quad (4)$$

<sup>1</sup> D. Yamaki, Mol. Phys. 113, 342 (2015). (DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/00268976.2014.951702>)

は、元の  $\Delta\rho$  と固有値・自然軌道を共有しないため、改めて対角化し、解析用の固有値と自然軌道を計算する必要がある。なお、単一行列式関数由来の密度行列に、電子相関手法向けの方法を適用しても、単一行列式関数向け方法と同一の結果を与える。また、電子相関の効果を含む場合は、正負の固有値の一対一対応の関係は消滅する。

**【フェノールの水素結合（水分子の付加）による変化の解析】** 水素結合を供与した場合（図1）と受容した場合（図2）の電子状態変化を、フェノール-水結合体と孤立フェノール分子の密度行列の差を利用して解析した。密度行列は、電子相関を含む手法(CCSD/6-31G\*)により計算し、上記の手法(2)で解析を行った。

図1にフェノールが水素結合供与する場合の差密度行列解析の結果を示す。近似的に正負の固有値は対応していることから、負の固有値の軌道から正の固有値の軌道への電子移動として電子状態変化を解釈した。

水素結合を供与した場合の最大の変化は、水酸基の水素から酸素への電子移動（図1(a)：移動電子数： $0.050 \times 2 \approx 0.10$  個）であり、水分子の酸素に押された効果と考えられる。2番目以降の効果として、その影響による分子内電子移動（図1(b),(c)）が見られる。

図2にフェノールが水素結合受容した場合の結果を示す。最大の変化は、反結合性軌道から結合性軌道への電子移動を示しており、これはフェノールが電子を供出し水素結合の生成に寄与していることを示している（図2(a)：関与電子数： $0.073 \times 2 \approx 0.15$  個）。2番目以降の変化として、水素結合生成の影響による分子内電子移動（図2(b),(c)）が見られる。

正負の固有値の絶対値の差  $\Delta|\lambda|$  は、状態変化における電子相関の寄与を示していると考えられるが、今回示したフェノールの水素結合供与・受容の場合、それぞれ電子移動数の9%、5%程度と小さく、電子状態の差自体は概ね軌道概念下で解釈することができた。他の結果については、当日発表する。

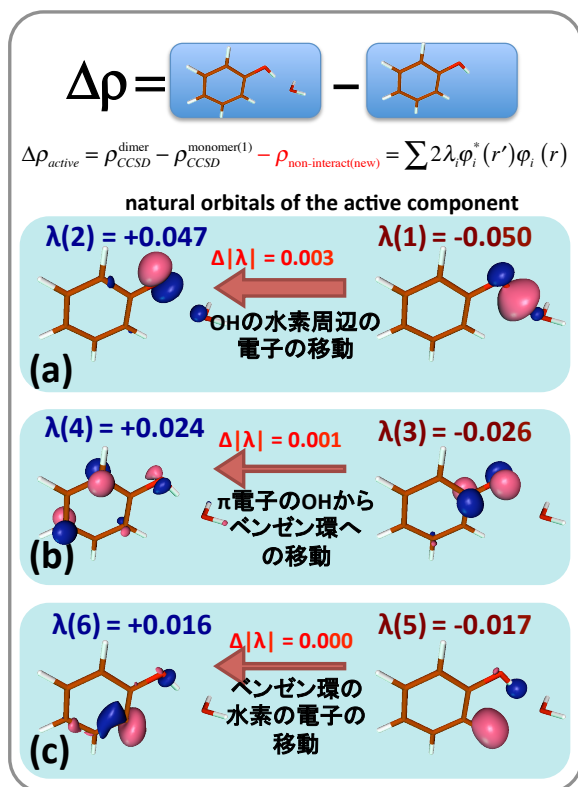


図1 フェノールの水素結合供与による電子状態変化(CCSD/6-31G\*)

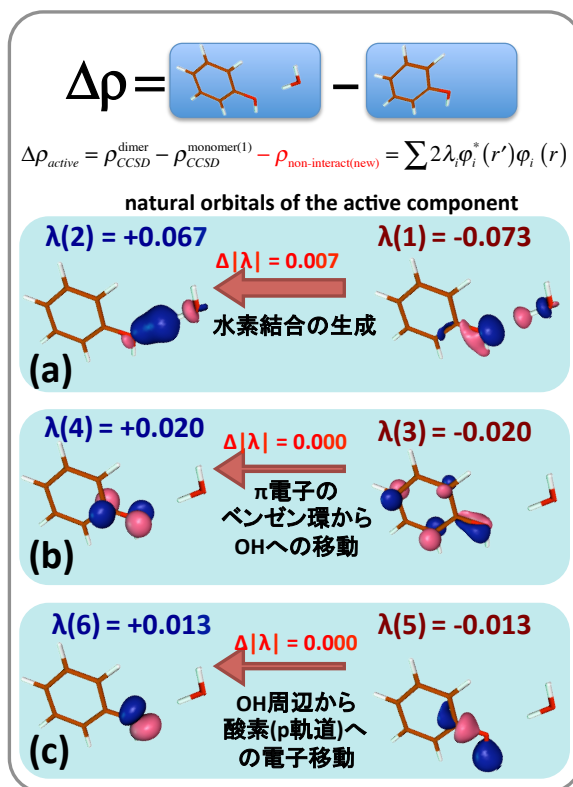


図2 フェノールの水素結合受容による電子状態変化(CCSD/6-31G\*)



## 2P109

### CSF ベースハミルトニアン行列エネルギー表式生成プログラムの開発

(九大・情基センター<sup>a</sup>, JST-CREST<sup>b</sup>)

○本田 宏明<sup>a,b</sup>, 野呂 武司

### Development of CSF based Hamiltonian Matrix Energy Expression Generation Program

(Kyushu Univ.<sup>a</sup>, CREST-JST<sup>b</sup>)

○Hiroaki Honda<sup>a,b</sup>, Takeshi Noro

#### 【はじめに】

現在標準的に利用されている種々の分子軌道法計算プログラムでは、SCF から電子相関計算に至るまでの様々な物性計算が利用可能である。しかしながら全体で数百万行に達するプログラムも有り、内部実装の詳細なドキュメントが公開されていない場合が多い。そのためプログラムソース中にもみ記述されている各種データの構造や定義箇所、変更箇所やその条件を正確に把握する事が難しく、密度行列やフォック行列といった基本的なデータについても利用方法を独習し自身のアイデアを実装することは困難であることが多い。このような状況において、実装コード量の減少を期待した Python プログラミング言語による実装 [1,2] も既に公開されており、分子軌道法プログラムの実装学習のための書籍も [3] も出版されているが、ユーザが自身の手による SDCI 等の電子相関計算を容易に開発可能であるとはいえないのが現状である。

これまで我々はスクリプト言語の一つである Ruby を利用し、逐次実行においては SCF ならびに明示的にハミルトニアン行列を生成する Second-order CI が計算可能であり、並列計算については計算機センターでも利用可能な分子軌道法プログラムを開発してきた [4]。しかしながらこれまでの実装では、1. CSF 生成が Distinct Row Table (DRT) の方法に限定されており、CSF 対を直接指定する方法がサポートされていない。2. 大規模 CI 計算を対象とする場合にはエネルギー表式生成部分の実行時間が大きい。といった問題があった。

そこで本研究では以下の 2つの方法により現状のプログラムの改良を図った。1. Genealogical な CSF 表現によるユーザインターフェースをサポートし、これらの CSF 対をユーザが直接指定することにより、個々のハミルトニアン行列要素のエネルギー表式生成を可能とした。2. 生成対象の Second-order CSF の External 部分については Symbolic な表式 [5] に基づくアルゴリズムを利用することで、大規模 CI のためのハミルトニアン行列生成に対する高速化を試みた。

#### 【CSF 指定方法の拡張】

我々の CSF ベースのハミルトニアン行列エネルギー表式生成プログラムは Sasaki による Tensor-recoupling 法 [6] に基づいている。この方法では、第 2 量子化された生成消滅の Spherical-tensor 演算子のカップリング表式を用い、1 軌道に対するスピン状態の変化ならびに電子占有数の特徴を持つ計 4 状態を記述する。CSF はこの 1 軌道状態の積により求められ、Genealogical な表現と呼ばれる。また、演算子についても同様に Spherical-tensor 演算子の積に基づき記述されるため、ハミルトニアン行列要素は Wigner 係数を利用したりカップリングの方法により 1 軌道積分の積に簡約され計算される。計算対象の行列要素における CSF 対について、この Genealogical な表現による入力方法を利用し実装することで、エネルギー表式を個別に生成可能とした。

#### 【Symbolic な CSF 表現によるエネルギー表式生成】

従来の我々の実装では、ハミルトニアン行列生成の際の CSF スペースの選択のため Frozen, Internal, Active, External, Discarded からなる SCF 軌道数と、Internal, External について各

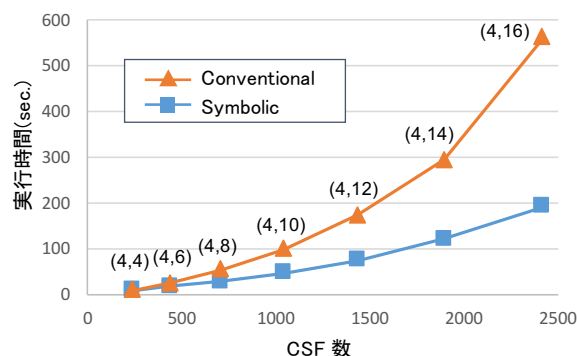


図 1: SDCI ハミルトニアン行列エネルギー表式の生成実行時間の比較

グループにおける電子占有数を指定可能としている。これにより、現状のプログラムにて **First-order CI** ならびに **Second-order CI** に対応した選択が可能である。この指定方法自身については変更を加えず、エネルギー表式生成の実装方法において **External** 部分の取り扱いに対し新たに **Symbolic** な表式に基づく方法の実装を行なった。この方法では、**Internal, Active, External** の分類において同一の励起タイプのエネルギー表式の係数は個々の軌道番号によらず同じとなる特徴を利用している。具体的には、**External** が 4 軌道より多い場合の (**Internal, Active, External**) の軌道数組に対し、(**Internal, Active, 4**) なる小規模の DRT に基づく通常のエネルギー表式生成を実施する。次に、目的となる軌道数組について DRT のみの生成を行ない、小規模 DRT のエネルギー表式結果の軌道番号の読替えを行なうことで目的の CSF スペースにおけるエネルギー表式を求めている。

**実行時間測定** 図 1 に、従来の計算方法と今回の **Symbolic** な表式を利用した場合の SDCI 計算のためのハミルトニアン行列エネルギー表式生成の実行時間を示す。CSF 対はそれぞれ 1 重項であり 4 電子の相関を考慮している。図中のかっこ内はそれぞれ **Active** 軌道数と **External** 軌道数を示しており、**Internal** 軌道数 = 0 としている。**External** の軌道数が増加するに従い、実行時間の増加傾向が増している。軌道を全て考慮する従来方法に比較し **Symbolic** な表現に基づく方法では実行時間が大きく減少しており、(**Valence, External**)=(4,16) では、およそ 1/3 程度となっており、高速化が達成されている。

プログラムの開発の進捗ならびに種々の **Second-order** の CSF スペースに対する大規模 CI 計算における実行時間測定等については当日報告する。

### 【謝辞】

本研究の一部は文科省の科研費 (16K05660) の助成、ならびに JST-CREST の研究課題「省メモリ技術と動的最適化技術によるスケーラブル通信ライブラリの開発」の支援を受けております。

### 【参考文献】

- [1] “HOLTON,” [On line]. Available: (<https://github.com/theochem/horton>).
- [2] “PyQuante: Python Quantum Chemistry,” [On line]. Available: (<http://pyquante.sourceforge.net/>).
- [3] 日野, 実践 量子化学計算プログラミング, アドバンスソフト, 2010.
- [4] 本田 他, 分子科学討論会 2015, 3P090.
- [5] B.Liu *et al.*, *J.Chem.Phys.*, Vol.74, pp.612-616, 1981.
- [6] F.Sasaki *et al.*, *MOTECC-90*, IBM, pp.181-234.

光捕集複合体サブユニット B820 の  
構造および自己組織化過程の理論的解明

(琉大院理<sup>1</sup>, 分子研<sup>2</sup>, 総研大<sup>3</sup>, 琉大理<sup>4</sup>) ○山内真梨江<sup>1</sup>, 斉藤真司<sup>2,3</sup>, 東雅大<sup>4</sup>

Theoretical understanding of the self-organization process and structure of B820  
subunits of light-harvesting complexes

(University of the Ryukyus<sup>1</sup>, IMS<sup>2</sup>, SOKENDAI<sup>3</sup>)

○Marie Yamauchi<sup>1</sup>, Shinji Saito<sup>2,3</sup>, Masahiro Higashi<sup>1</sup>

【序】

光捕集複合体LH1やLH2は紅色細菌の光合成において、光エネルギーを集める役割を担う。このLH1やLH2は、 $\alpha$ と $\beta$ の2種類のポリペプチドとバクテリオクロフィル(BChl) *a*を構成分子とし、高い自己組織能力を持つ。例えば、界面活性剤の濃度を調節することによって基本ユニットB777からサブユニットB820へ、B820から高次会合体B873へと再構成が可能である(図1)。このうち、2種類のポリペプチドと2つの色素からなるサブユニットB820の構造や物性は、光捕集複合体の自己組織化過程を理解するために古くから研究されてきた。その結果、B820の再構成において、特にN末端のアミノ酸残基が重要と考えられている[1]。また、LH1由来の $\alpha$ ポリペプチドとLH2由来の $\beta$ ポリペプチドのように、異なる光捕集複合体由来のB777間や、ポリペプチドの一部を削除、変異させたB777間でもB820を形成することが知られている[1,2]。しかし、現在においてもB820の構造の詳細や形成過程はよく分かっていない。そこで本研究では、分子動力学(MD)シミュレーションによりLH1、LH2由来のサブユニットB820並びにこれらの混成体と変異体の構造の同定を行う。さらに、B820の結合自由エネルギーや形成過程も計算し、実験結果と比較検討することで、どのアミノ酸残基がサブユニットB820の安定化や形成過程に重要か明らかにする。

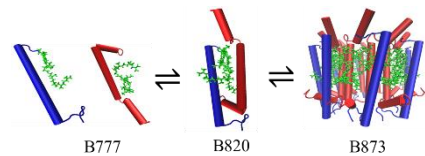


図 1. LH 複合体の会合状態

【計算詳細】

まず、LH2由来のB820の初期構造は *Phaeospirillum molischianum* 由来のLH2複合体のX線結晶構造(PDB code: 1LGH)から作成した。過去の実験結果[1,3]から示唆されるようにBChl *a*のring IIIとVが重なる形でBChl *a* 2分子と $\alpha$ ポリペプチドと $\beta$ ポリペプチドを取り出し、これを初期構造とした。次に、作成したLH2のB820のアミノ酸配列を *Rhodospirillum rubrum* 由来のLH1の配列に変更してLH1由来のB820の初期構造を作成した。また、LH1 $\alpha$ とLH2 $\beta$ により構成される混成体のB820も作成した。周囲の環境としてはPOPC二重膜を用い、全原子数は約100,000原子となった(図2)。分子力場として、ポリペプチドにAmber ff99SBildn、BChl *a*にAmber GAFF、POPCにはAmber LIPID14を用いた。計算プログラムはAmber 14を用いた。

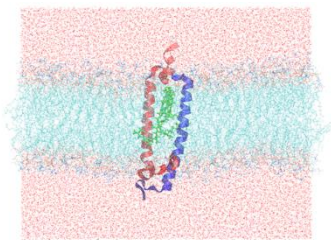


図 2. POPC 中の B820

## 【結果と考察】

まず、B820 の構造を明らかにするため、LH2 由来、LH1 由来とこれらの混成体である 3 種類の B820 に対して 300 ns の MD シミュレーションを行った。ポリペプチド間の相互作用エネルギーの 50 ns の移動平均の時間変化を図 3 に示す。3 種類の B820 において、250 ns から 300 ns にかけて安定した構造が得られた。その構造を解析したところ、LH2 複合体の結晶構造と比較して、ポリペプチド間にはより多くの水素結合が生成されることが確認された。また、相互作用エネルギーの大きさは LH2 由来、LH1 由来、混成体の B820 の順に小さくなり、結合自由エネルギーの実験値の順序と一致した。さらに、相互作用エネルギーを各アミノ酸残基に分解したところ、N 末端側のアミノ酸が安定化に大きく寄与していることがわかった(図 4)。また、どの B820 においても、 $\beta$  ポリペプチド中の BChl *a* と結合したヒスチジンから C 末端側に 7 つ離れた残基が安定化に寄与していることもわかった。これらの結果もまた、実験結果と一致した。

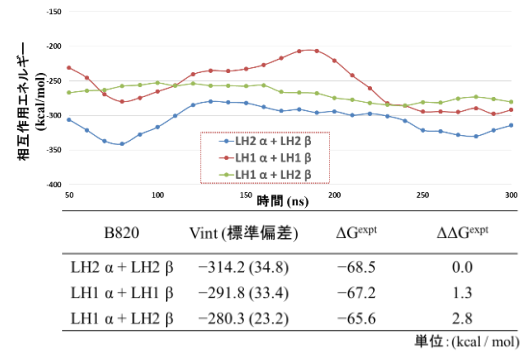


図 3. 計算による平均相互作用エネルギーと結合自由エネルギーの実験値[1,2]

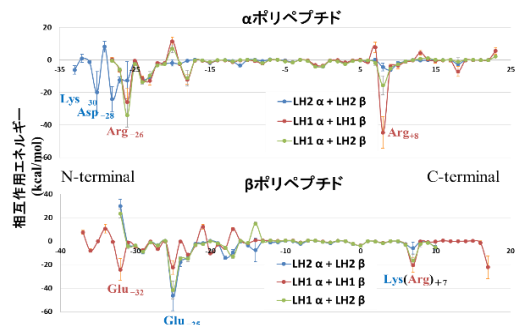


図 4. 各アミノ酸残基の相互作用エネルギー

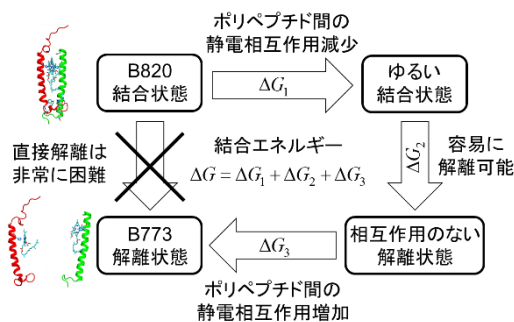


図 5. Decharging を用いた結合自由エネルギー計算法

次に、タンパク質の会合において重要な物理量である結合自由エネルギーの計算を試みた。しかし、従来用いられるアンブレラサンプリング法では、ポリペプチド間の強固な水素結合により、B820 が解離するより前にヘリックスが崩壊してしまい、結合自由エネルギーを適切に計算できないと判明した。

そこで、現在はポリペプチド間の安定化に寄与する静電相互作用を減衰させたのち、アンブレラサンプリング法を用いる手法で B820 の結合自由エネルギーを計算中である(図 5)。また、B820 の変異体の構造と、B777 から B820 への再構成過程も解析中である。詳細は当日議論する予定である。

## 【謝辞】

本研究は日本化学協会の笹川科学研究助成(研究番号: 28-224)の支援により行いました。ここに感謝いたします。

## 【参考文献】

- [1] Pamela S. Parkes-Loach et al. *Biochemistry* **2004**, 43, 7003-7016.
- [2] John B. Todd et al. *Biochemistry* **1998**, 37, 17458-17468.
- [3] Zheng-Yu Wang et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1072-1078.



## 2P111

### 時間解像度に依存した反応ネットワークの階層的变化とその予測手法の開発

(<sup>1</sup>ジョン・ホプキンス大, <sup>2</sup>北大院理, <sup>3</sup>北大 電子研)

永幡 裕<sup>1</sup>, 前田 理<sup>2</sup>, 寺本 央<sup>3</sup>, 武次 徹也<sup>2</sup> ○小松崎 民樹<sup>3</sup>

#### Development for predicting hierarchical changes of reaction network in various time-resolutions

(Johns Hopkins Univ.<sup>1</sup>, Faculty of Science, Hokkaido Univ.<sup>2</sup>, Research Institute for Electronic Science, Hokkaido Univ.<sup>3</sup>)

Yutaka Nagahata<sup>1</sup>, Satoshi Maeda<sup>2</sup>, Hiroshi Teramoto<sup>3</sup>, Tetsuya Taketsugu<sup>2</sup>, ○Tamiki Komatsuzaki<sup>3</sup>

**【序】** 観測する時間解像度によっては素早く進行する反応は見えなくなり、反応過程は単純化されて見える。近年開発された反応経路自動探索アルゴリズム[1]を用いれば、電子状態計算と遷移状態理論を使って反応全体を構成する詳細な素反応を得ることができるが、時間解像度に依存して単純化される反応過程を得るためには、さらなる理論開発が必要である。多段階・逐次的に反応が進行する場合、律速段階に着目し迅速平衡近似や定常状態近似を用いて素過程を単純化する方法がある[2]。反応過程が網目状になった、より複雑な反応過程では、平衡化している部分空間をまとめて一つの状態とみなす一般化迅速平衡近似[3]や、ある種の粗視化が可能かどうかを検証する Exact Lumping 法[4]があるが、与えられた系に対して自然な近似を提示する手法ではない。他方で可視化法として、エネルギー面の地形[5]、平衡でのネットワーク上の律速段階(「反応速度の総和」が最小となるネットワークの分割面) [6]、著者らが開発した平衡分布下での反応のしにくさ[7]などに基づく可視化法が提案されているが、いずれもネットワーク上でのダイナミクスを反映した方法ではない。

**【理論】** 本発表では、観測の時間解像度に応じた見え方の階層を可視化し、第一原理計算と実測結果を橋渡しする解析法を提案する。一次反応の速度式を次のように与える

$$d[X]/dt = M[X]$$

ここで、化学種 $j$ から $i$ への反応の速度定数 $k_{ij}$ に対して、 $M := K - \text{diag}[\mathbf{1}^T K]$ ,  $K := (k_{ij})$ とする。ただし、 $\text{diag}[\mathbf{v}]$ はベクトル $\mathbf{v}$ を対角成分にもつ対角行列、 $\mathbf{1} := (1, \dots, 1)^T$ である。この式の解は、

$$[X](t + \Delta t) = \exp[\Delta t M] [X](t)$$

と書けるが、 $\exp[\Delta t M]$ は $\Delta t M$ の指数行列であり、時間間隔 $\Delta t$ での遷移確率 $p_{\Delta t}[i|j]$ を成分に持つ行列 $\exp[\Delta t M] = (p_{\Delta t}[i|j])$ であることを示すことができる[7]。本発表では、この行列の列ベクトル成分 $p_{\Delta t}[\cdot | j]$ に着目する。厳密には、 $\det M \neq 0$ ならば有限の $\Delta t$ に対して全ての $p_{\Delta t}[\cdot | j]$ は互いに線形独立であるが、 $\Delta t \rightarrow \infty$ で平衡分布 $\boldsymbol{\pi}$ に、またその途中でも $p_{\Delta t}[\cdot | i] \cong p_{\Delta t}[\cdot | j]$ となる $\Delta t$ が存在する。この $\Delta t$ を得るため、 $p_{\Delta t}[\cdot | j]$ の対(ついで)に対して次の様な類似度を表す関数 $f_{ij}(\Delta t)$ を定義する:

$$f_{ij}(\Delta t) := \max_k \max \left\{ \frac{p_{\Delta t}[k|i]}{p_{\Delta t}[k|j]}, \frac{p_{\Delta t}[k|j]}{p_{\Delta t}[k|i]} \right\}$$

$f_{ij}(\Delta t) = 1 + \varepsilon$ となる時間間隔を $\Delta t_{ij}^\varepsilon$ (注:  $\Delta t_{ij}^0 = \infty$ )とする。この $\varepsilon = 0.1$ における類似性を、 $\Delta t$ を増やすにつれて二体間類似度が全て閾値以下になった集合を順にまとめるアルゴリズムで拡張し、観測される

化学種の集合 $V^{(k)} := \{s_1^{(k)}, \dots, s_{n-k}^{(k)}\}$ とその時間スケールの組の列を得た。この時の遷移確率は、次の式

$$p_{\Delta t} [s_j^{(k)} | s_i^{(k)}] := \frac{\sum_{l \in s_j^{(k)}, m \in s_i^{(k)}} p_{\Delta t}[l|m] \pi[m]}{\sum_{m \in s_i^{(k)}} \pi[m]}$$

を使って求め、これを用いて一般化迅速平衡近似が可能かどうかを得られた階層で検証した。

**【結果と考察】** 本方法を、計算レベル CCSD(T)/jun-cc-pVTZ//M062X/6-311+G(2d,p)で GRRM 法を用いて得たアリルビニルエーテルの Claisen 転位反応における異性化反応ネットワークに適用した。結果を図1に示す。縦軸が各化学種の構造番号、横軸が観測時間間隔、(a), (b), (c) はそれぞれ平衡、2状態、3状態とみなせる階層の時間間隔の最小値を示す。図2に構造番号、分子構造、階層(円弧)を並べて示した。解析した結果、(b)では一般化迅速平衡近似が良い近似値を与えるが(c)ではそうではないことを縮約した遷移確率行列を速度式の係数行列に戻し比較することで確認した。階層をなしている構造番号①から⑤、⑥から⑩、⑪から⑮が類似した(つまり安定な)部分構造を持つことを、内部座標を比較することで示すことができた。

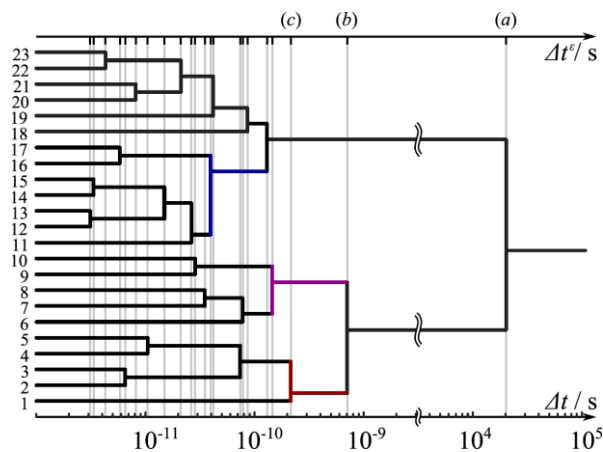


図 1 得られた階層とその時間間隔

開発したアルゴリズムは、4倍精度以上での対称行列の対角化計算 $O(N^3)$ が必要で、ここに最も計算コストが掛かる。既に5万次の対称な正方行列の対角化が128コア6時間(20813秒)で得られたという報告[8]があり、電子状態計算から得られる反応経路のノード数(多くても数千)を十分に上回っていることから、実際の化学反応に応用可能な手法と考えている。今後は計算パッケージを開発し、さらに類似部分構造の列挙アルゴリズムを開発することを計画している。

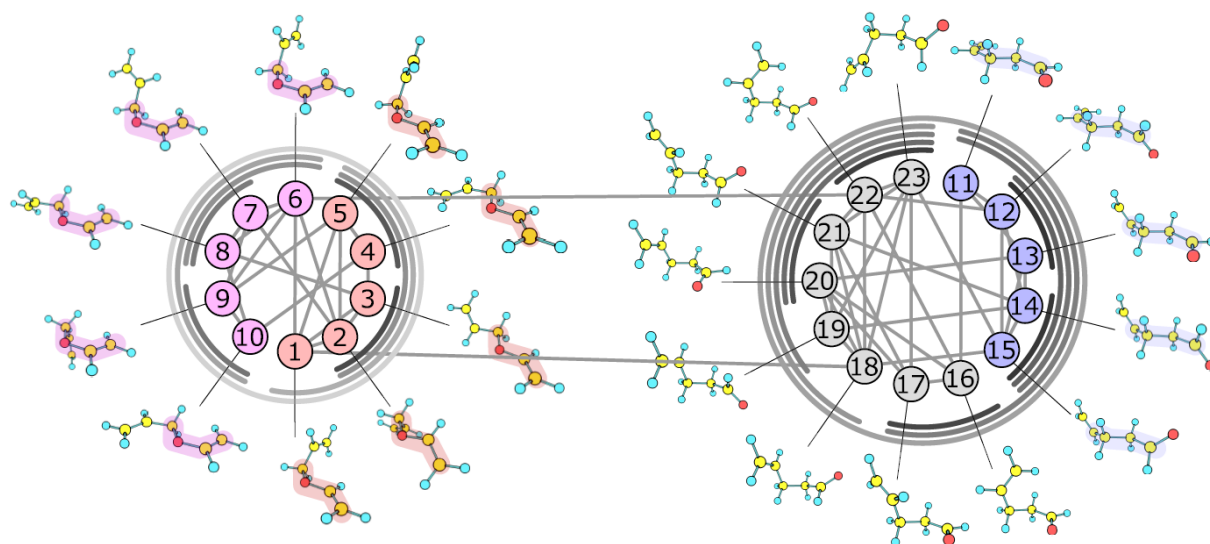


図 2 AVE クライゼン転位反応の構造番号、構造、階層、反応経路

### 【参考文献】

- [1] S. Maeda, K. Ohno, and K. Morokuma, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 3683 (2013).
- [2] P. Atkins and J. de Paula, *Atkins' Physical Chemistry*, 10th ed. (OUP Oxford, 2014)
- [3] M. Rae and M. N. Berberan-Santos, *J. Chem. Educ.* **81**, 436 (2004).
- [4] J. Wei and J. C. W. Kuo, *Ind. Eng. Chem. Fundam.* **8**, 114 (1969).
- [5] O. M. Becker and M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **106**, 1495 (1997).
- [6] S. V. Krivov and M. Karplus, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 14766 (2004).
- [7] YN, S. Maeda, H. Teramoto, T. Horiyama, T. Taketsugu, and T. Komatsuzaki, *J. Phys. Chem. B* **120**, 1961 (2016).
- [8] <http://ccse.jaea.go.jp/ja/download/software.html>

結合次数の線形応答関数を用いた置換安息香酸の酸性度の評価法とその改善  
 ( 阪大院理 ) ○鈴木那由太 , 山中秀介 , 宮川晃一 , 満田祐樹 , 川上貴資 , 奥村光隆  
 Evaluation method of acidity of substituted benzoic acids with linear response  
 function of bond-order and its improvement

( Grad. School of Science , Osaka Univ. ) ○Nayuta Suzuki , Shusuke Yamanaka ,  
 Miyagawa Koichi , Yuki Mitsuta , Takashi Kawakami , Mitsutaka Okumura

【序論】

溶液や界面、タンパク場など巨大な系中にある分子のシミュレーション手法として、量子古典ハイブリッド分子動力学法 (QM/MM-MD) がある。この手法は実験の反応解析や触媒・酵素の改変設計の強力な理論化学的手法として確立されつつある。この手法の利点として広い環境効果を古典的な相互作用の効果として取り込むことができる。一方で巨大系の熱揺らぎを効果的に取り込むためには膨大な計算ステップが必要となる点は解決すべき問題となっている。

我々のグループは、QM/MM-MD の膨大な計算量を避けるため、分子 (間) の特性の解析により化学反応を簡便に取り扱うための研究を行ってきた[1,2]。その中で結合次数の線形応答関数という新しい指標を導入し、様々な置換安息香酸分子において、図 1 に示すようなプロトンに対する摂動に対する O-H 結合次数の応答がハメット定数[3]と良い相関を持つ事、摂動を加えた原子を変えるとその相関が変化する事から、酸解離反応機構を陰に含んでいる事を示した。しかしながら、分子上の O-H の酸素原子上の電荷や酸解離結合次数それ自体に比べてハメット定数との相関がやや劣るという問題点があった。そこで本研究では、(i) 連続誘電体モデルで酸解離反応の溶媒効果、及び、(ii) 密度汎関数理論 (DFT) の汎関数依存性を吟味した。

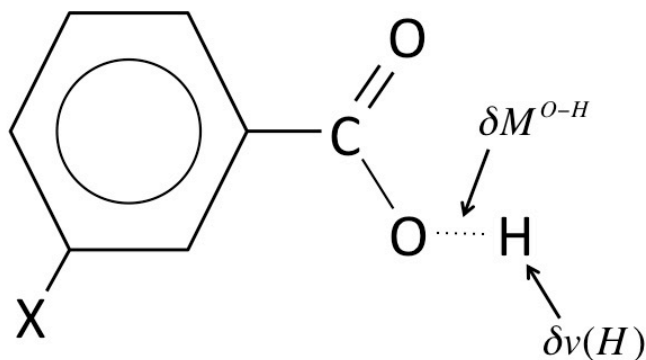


図 1 メタ置換安息香酸の酸解離結合次数の線形応答関数の模式図 (解離プロトンに摂動を加えた場合)

【計算方法】

汎関数依存性に BLYP, B3LYP, PBE を吟味し、それぞれ PCM の有無に対する計算結果を行った。基底関数は 6-311G\*\*を採用した。計算対象の置換安息香酸の構造としては評価に用いる計算条件 (汎関数および PCM の有無) と同じ計算条件を採用し最適化した構造を用いた。結合次数の線形応答関数に関しては、ほぼ[2]と同様の計算を行ったが、ある原子 L に対する仮想摂動は[2]では原子軌道展開形式を採用していたが、今回は次式のような、該当原子 L の Becke Fuzzy セルにわたる数値積分を用いて計算した：

$$\left(\frac{\delta M^{\text{II}}}{\delta v(L)}\right)_N = \int^L dr \left(\frac{\delta M^{\text{II}}}{\delta v(\mathbf{r})}\right)_N$$

なお使用プログラムとしては、構造最適化には Gaussian09、結合次数の線形応答関数にはオリジナルモジュールを搭載した GAMESS[4]を用いた。

### 【結果と考察】

カルボキシル基の解離プロトンに摂動を加えた値が  $\sigma$  と良い相関を示し、値の大きさも化学結合の切断に対して十分な値であった。図2は B3LYP/6-311G\*\*で計算を行った結果で、左図が PCM 無し、右図が PCM 有りのものである。図から分かるように PCM モデルを用いて計算することで、決定係数が向上した。

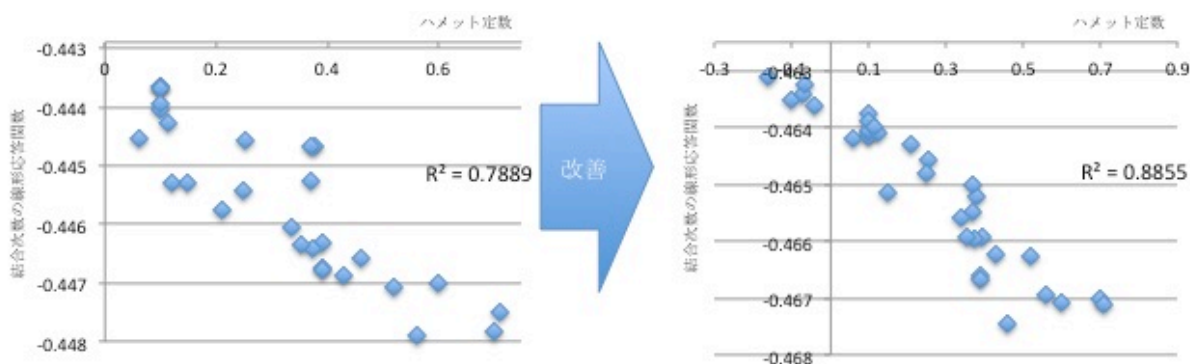


図2：メタ置換安息香酸体の相関の改善（パラ体も同様の改善を示した）  
左図はPCM無し、右図はPCM有りでの計算結果。

この結果から、結合次数の線形応答関数の計算に用いる最安定構造を、反応が起こる系中で想定されるものとしてふさわしい構造を選ぶことで、酸性度の予測精度をより改善できることが分かった。この結果は、酸解離反応のシミュレートする際には、汎用プログラムに実装されている連続誘電体モデル程度の近似で、十分よい精度の結果が得られることを示唆している。また、DFTの汎関数を BLYP と PBE で計算した結果でも、B3LYP での値と同様、置換安息香酸の酸解離結合次数の線形応答関数と Hammett 定数は十分良い相関を示した。詳細は当日発表する。

### 【参考文献】

- [1] S. Yamanaka et al. Mole.Pyhs. 113,944 (2015).
- [2] N. Suzuki et al. to be published.
- [3] D. H. McDaniel, H. C. Brown, J. Org. Chem. 23, 420 (1958).
- [4] <http://www.msg.ameslab.gov/gamess>

## 2P113

細胞質ダイニンの歩行運動メカニズムに関する分子シミュレーション研究  
(京都大学 理学研究科) ○久保 進太郎, 高田 彰二

Molecular simulation study on the walking mechanism of cytoplasmic dynein  
(Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ.) ○Shintaroh Kubo, Shoji Takada

### [序]

細胞内には多様な物質が点在しており、その配置は細胞が機能する上で重要な役割を果たす。細胞内には微小管というレールが張り巡らされており、ダイニンという分子モーターはその上を ATP の加水分解のエネルギーを用いて歩行運動することで細胞の内側(一般に微小管のマイナス端方向)に向けて物質輸送を行うことが知られている。(図 1)

しかし、ダイニンはその構造や機能メカニズムなど多くの未解決な問題が存在している。ダイニンが未だに多くの問題を抱える理由の一つとして、その巨

大さが挙げられ、ダイニンの全長の内、加水分解を行う AAA+リングから末端に至るまでの部分を特にダイニンのモータードメインと呼び、歩行運動における中心的役割を担うのだが、この部分のみで分子量 500 kDa 以上、大きさは約 25 nm である。本研究では、この 25 nm も離れた AAA+リングと微小管結合ドメイン(通称: MTBD)がどのようにカップリングしているのかに関する解析を行う。

### [研究手法]

当研究室の開発した一つのアミノ酸を 1 粒子とする粗視化モデルを用いた分子シミュレーションパッケージ CafeMol を用いて理論計算を行う[1]。計算に用いる結晶構造は 2 種類用意し、加水分解の前後で pre 構造と post 構造と呼ぶ[2],[3]。一般に pre 構造は AAA+リングの N 末端に位置するリンカーと呼ばれる部位が大きく折れ曲がっており、MTBD の微小管親和性は弱く、一方 post 構造のリンカーは真っ直ぐに伸び、MTBD の微小管親和性は強い事が知られている。この 2 構造について各状態を行き来できるようなポテンシャルを用意する事で pre→post, post→pre の構造変化時におけるドメイ

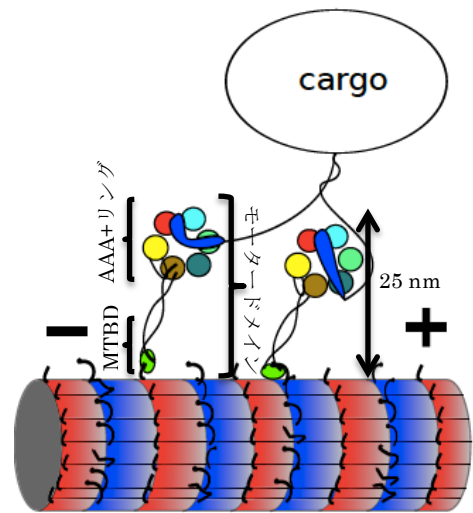


図 1, ダイニンの概略図

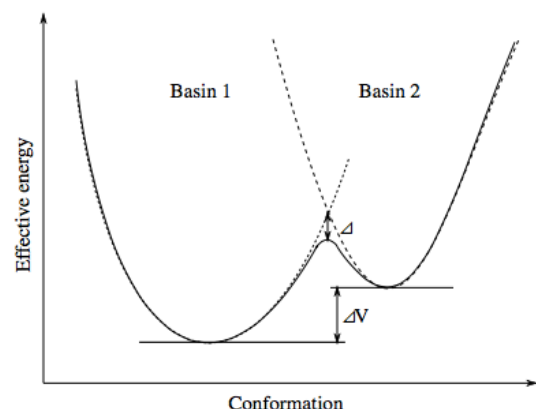


図 2, Multiple-Basin-potential



ン毎の優先順位や相関関係についての解析を行う。このポテンシャルは Multiple-Basin-potential といい、複数の状態を持つポテンシャルの最低エネルギーの差とエネルギー障壁の高さを調整する事が可能である[4]。(図 2)

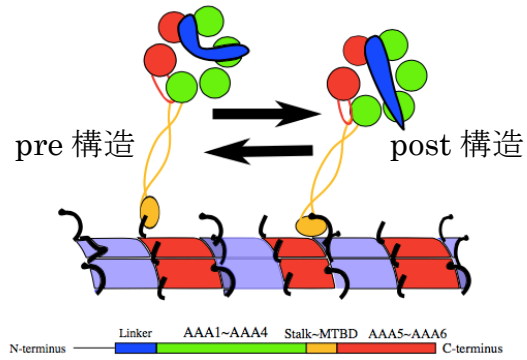
今回、構造・機能の両面から考え、モータードメインを 4 分割し、それぞれに対応するポテンシャルを用意した。(図 3)

[結果と考察]

pre から post へ構造変化をする際、まずは Linker が単独で変化を起こした。その後、AAA+リングが連なって変化した。この事から Linker の変化を引き金として、AAA+リングの構造変化、つまりは ATP の加水分解が誘因される事が推察される。その後、MTBD も変化を起こしたが、他のドメインとは異なり変化前の状態も取りうる事が観察された。(図 4)

一方、post から pre へ構造変化する際、AAA5~AA6 と Stalk~MTBD が先立って構造変化を起こし、次いで AAA1~AAA4 が変化した。最後に Linker が構造変化を起こした。これは、現時点では構造情報の獲得されていない AAA6 の C 末端がリンカーの構造変化を誘因するという仮説の一つに則る結果となった。(図 5)

今回の計算系はモータードメイン単独で行われており、現実のダイニンとは微小管が存在していない点で異なる。この違いは特に微小管と接する MTBD の変化に大きく影響する事が予想されるため今後は微小管を含めた計算に取り組む。現時点の計算では未だ統計的に不十分のためここに述べる結果は一例でしかないが、本研究の方向性が AAA+リングと MTBD の長距離カップリングの仕組みを明らかにする手法の一つとして有用であると言える。



System ID	Multiple Basin pair
1	Linker Linker/AAA1~AAA4
2	AAA1~AAA4 AAA1~AAA4/AAA5~AAA6
3	Stalk-MTBD Stalk-MTBD/AAA1~AAA4 Stalk-MTBD/AAA5~AAA6
4	AAA5~AAA6 Linker/AAA5~AAA6

図 3, 各ドメインとポテンシャルの関係

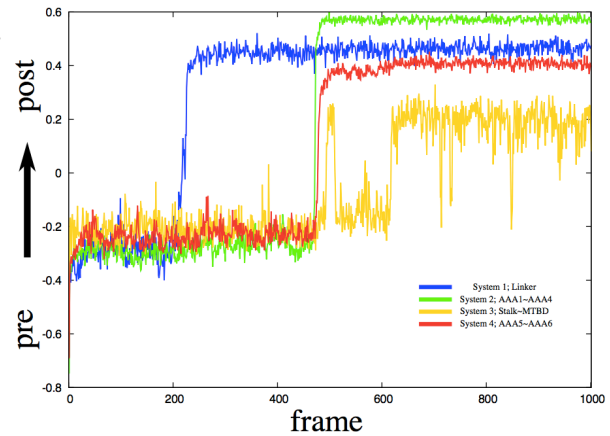


図 4, pre から post への変化の軌跡

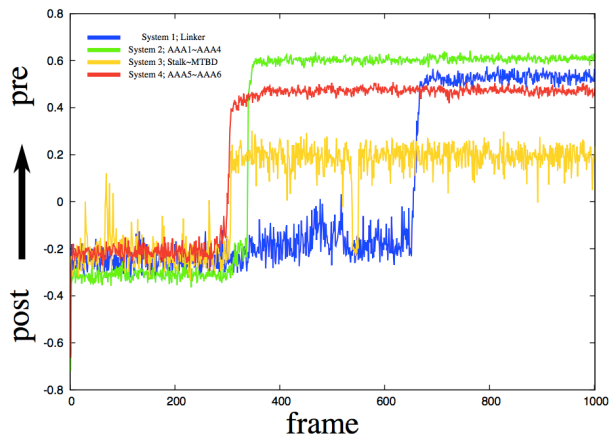


図 5, post から pre への変化の軌跡

[1]Kenzaki et al., JCTC (2011) [2]Schmidt et al., Nature (2015) [3]Kon et al., Nature (2012) [4]Okazaki et al., PNAS (2006)

## 短鎖 DNA の鎖切断機構：ポテンシャルエネルギー評価と動力学シミュレーション

(東北大院理<sup>1</sup>、東北大多元研<sup>2</sup>)

○菱沼直樹<sup>1</sup>、及川啓太<sup>1</sup>、菅野学<sup>1</sup>、木野康志<sup>1</sup>、秋山公男<sup>2</sup>、河野裕彦<sup>1</sup>

### Strand break mechanism of small DNAs: Potential energy calculation and reaction dynamics simulation

(Dept. Chem., Grad. Sch. Sci., Tohoku Univ.<sup>1</sup>; IMRAM, Tohoku Univ.<sup>2</sup>)

○Naoki Hishinuma<sup>1</sup>, Keita Oikawa<sup>1</sup>, Manabu Kanno<sup>1</sup>,  
Yasushi Kino<sup>1</sup>, Kimio Akiyama<sup>2</sup>, Hirohiko Kono<sup>1</sup>

【序】DNA は細胞分裂時の正しい複製によって細胞間の遺伝情報を共有する重要な物質である。DNA に放射線が照射されると鎖が切断され、塩基配列が正しく転写されず、人体へ発ガンなどの悪影響を与えることが知られている。近年、様々なアプローチにより DNA 鎖切断機構の解明が試みられている。近紫外線をマトリックス (プロトン供与体) に照射して、オリゴデオキシヌクレオチド (短い DNA 一本鎖) の塩基にプロトンを付加させた場合、図 1 に示した①と②が切断されるという実験結果が報告されている<sup>[1]</sup>。また、数 eV 程度の低エネルギー電子付加で鎖切断が誘起されるという機構が提案された<sup>[2]</sup>。その後の様々な研究から、図 1 に示した①~③の 3 箇所での切断が示唆されている<sup>[3]</sup>。鎖切断に関与する結合切断を探索し、その機構を明らかにするために、本研究では放射線照射によって励起した電子が緩和した後の高振動励起状態を仮定し、DNA に高い熱を与えた化学反応動力学 (MD) シミュレーションを行った。その結果を電子移動と振動エネルギー移動の観点から解析し、DNA 鎖切断の機構を分子論的に考察した。

【モデル・手法】4~12 の塩基対からなるモデル DNA を用いて、真空条件下および溶媒存在下でシミュレーションを行い、それぞれの条件における鎖切断機構を検証した。電子状態計算には、密度汎関数法に近い精度で高速計算が可能な密度汎関数強束縛(DFTB)法を用いた。真空条件下では、Kohn-Sham エネルギーを電荷揺らぎの 2 次まで展開した DFTB2 (Self-consistent charge DFTB)<sup>[4]</sup> を、溶媒存在下では 3 次まで展開した DFTB3<sup>[5]</sup>を用いた。得られた鎖切断の素過程を Mulliken 電荷とエネルギー移動の観点から解析した。なお、エネルギー移動の解析には、分子の全ポテンシャルエネルギーと運動エネルギーを各構成原子に分配する手法 (原子分割エネルギー法) を用いた。これによって、各原子が持つエネルギーを定量化し、反応素過程に関わる原子や原子団のエネルギー変化を追跡することが可能となる。

【真空中の鎖切断】まず、4 つのアデニン-チミン塩基対と、それらを架橋するリンカーからなる小規模で扱いやすいモデル DNA<sup>[6]</sup> (図 2) を用いた。構造最適化した系に対し、リンカー以外の鎖部分へ 1 原子当たり 0.3 ~ 0.4 eV の高い熱エネルギーが与えられたとして、MD 計算を行った。そ

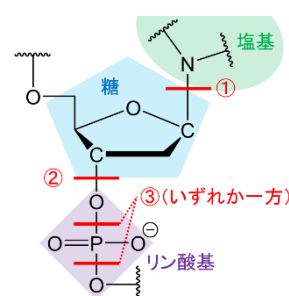


図 1 先行研究から示唆されている DNA の結合切断部位。②と③は鎖切断に相当する。

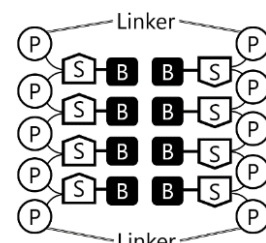


図 2 4 塩基対で構成されるモデル DNA の構造。B = 核酸塩基、S = 糖、P = リン酸基、Linker = hexaethylene glycol

の結果から、アデニン側の鎖はほとんど切れず、鎖切断はチミン側で起こりやすいことが判明した。主な鎖切断過程は、糖からリン酸基への水素移動を引き金として①C-Nの切断が起きて塩基が脱離し、その後②C-Oの鎖切断が生じる(図3)であった。この一連の過程は初期時刻から10ピコ秒程度で進行した。また、他のヌクレオチドを巻き込んだ広域の電子・エネルギー移動が鎖切断を誘発していることが明らかになった<sup>[7]</sup>。

【溶媒中の鎖切断】 X線結晶構造が既知である12塩基対からなるDNA(蛋白質データバンクPDB ID: 355D<sup>[8]</sup>)を対象として、溶媒や金属イオン以外の部分に真空中と同様の熱エネルギーを与えて計算を行った。結果として、溶媒中のNa<sup>+</sup>がリン酸基と中間体(Na<sup>+</sup>-O-P-Oの四角形構造)を形成し、③P-Oの切断が誘発されることがわかった(図4; 詳細は口頭発表<sup>[9]</sup>)。

【②C-Oと③P-Oの解離エネルギー評価】 チミン塩基をもつチミン2つをリン酸基で結んだ構造(TpT)をモデルとして用いた。水素移動・塩基脱離が起こった後の構造であるTpT'(図5左)と、Na<sup>+</sup>を配位させた構造であるTpT-Na(図5右)も対象とした。C-OやP-Oの結合長をパラメーターとして、周囲の原子を再度構造最適化して各結合の解離エネルギー曲線を評価した(図6)。TpTとTpT'を比較するとTpT'は、②の解離に必要なエネルギーが大きく下がっているが、逆に③の解離に関しては大きく上がっている。このため、水素移動と塩基脱離を前過程としても真空条件下での鎖切断は、②の切断が多くみられたと推察される。次に、TpTとTpT-Naを比較すると、②の切断はNa<sup>+</sup>の寄与が小さいのに対し、③の切断は溶媒中のNa<sup>+</sup>によって1 eV以上のポテンシャルエネルギーの低下が見られる。このことから、Na<sup>+</sup>が③P-O切断の触媒のような働きをしていることが判明した。

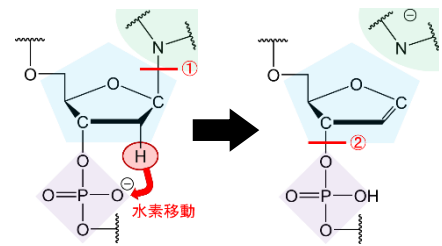


図3 真空条件下でのモデルDNAの主な鎖切断過程。

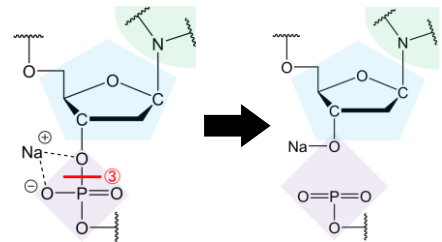


図4 Na<sup>+</sup>が関与する溶媒存在下DNAの主な鎖切断過程。

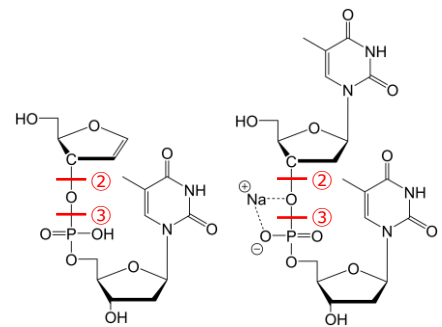


図5 TpT(左)とTpT-Na(右)の構造。

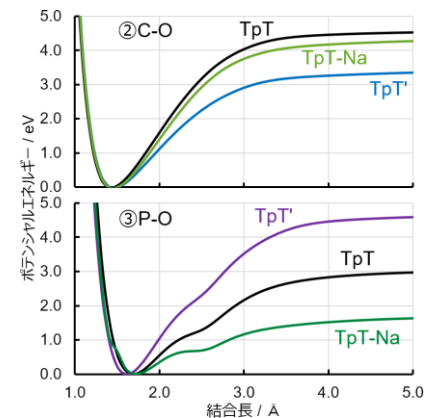


図6 最安定構造での値を0としたTpT、TpT'とTpT-Naの解離エネルギー曲線。

[1] L. Zhu, G. R. Parr, M. C. Fitzgerald, C. M. Nelson and L. M. Smith, J. Am. Chem. Soc. **117**, 6048 (1995).

[2] B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. A. Huels, L. Sanche, Science. **287**, 1658 (2000).

[3] J. Rak, M. Kobylecka and P. Storonik, J. Phys. Chem. B **115**, 1911 (2011).

[4] M. Elstner, D. Porezag, G. Jungnickel, J. Elsner, M. Haugk, T. Frauenheim, S. Suhai and G. Seifert, Phys. Rev. B **58**, 7260 (1998).

[5] M. Gaus, Q. Cui, and M. Elstner, J. Chem. Theory Comput. **7**, 931 (2011).

[6] M. McCullagh, L. Zhang, A. H. Karaba, H. Zhu, G. C. Schatz and F. D. Lewis, J. Phys. Chem. B **112**, 11415 (2008).

[7] ○菱沼直樹, 菅野学, 木野康志, 秋山公男, 河野裕彦, 第9回分子科学討論会, 口頭発表 2E10.

[8] X. Shui, L. McFail-Isom, G. G. Hu, and L. D. Williams, Biochemistry **37**, 8341 (1998).

[9] ○及川啓太, 菱沼直樹, 菅野学, 木野康志, 秋山公男, 河野裕彦, 第10回分子科学討論会, 口頭発表 3G09.

【序】DNA 塩基対に紫外線を照射すると多重水素移動反応が起こり遺伝子の突然変異や癌を誘発することが知られている。DNA には AT 塩基対と GC 塩基対があるが、この内 AT 塩基対は水素結合が 2 つで反応障壁も高いため、水素移動反応が起こりにくいとされている。一方、GC 塩基対には水素結合が 3 つあり、水素移動反応も AT 塩基対に比べて起こりやすいので幅広く研究が行われており、その多重水素移動反応の生成物として 2 つの異性体構造が報告されている。しかしそれらの研究では反応経路を求めるときに分子構造の変化に恣意的に制限を加えており、詳細な反応メカニズムについては解っていない。そこで本研究では、DNA・GC 塩基対の基底状態および電子励起状態における多重水素移動反応の反応メカニズムを分子軌道法と反応曲面を用いて理論的に解析することを目的とする。

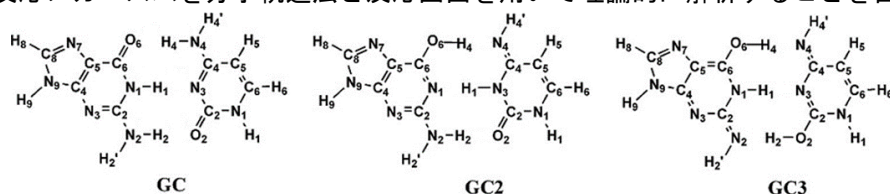


図 1.GC 塩基対の安定構造

【計算法】電子励起状態の計算には Hartree-Fock 法および 1 電子励起 CI 法を用い、基底関数には 6-31G(d,p)を用いた。定常点と反応経路の探索には、制限付き Newton 法、Steepest Descent 法、Gradient Extremal 法を併用した。また、水素移動反応の記述には図 2 のように r1~r6 の内部座標を定義した。このように定義すると GC から r2 と r3 が大きくなると GC2 が生成し r2 と r5 が大きくなると GC3 が生成する。したがって、GC-GC2 間の反応では反応座標に r2 と r3 をとり、GC-GC3 間の反応には反応座標に r2 と r5 をとった。反応座標以外の自由度については、エネルギーが最小になるように適宜分子構造を最適化し、ポテンシャルエネルギー曲面(PES)を作成した。

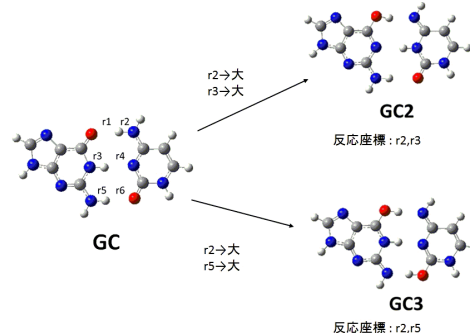


図 2.反応座標の定義

### 【結果と考察】

以下、基底状態の解析結果について記す。

#### 1. 安定構造の探索

まず GC 塩基対の異性体構造の探索を行なった。これには 3 つの水素がそれぞれグアニン側かシトシン側のどちらかによった  $2^3=8$  通りの初期構造を仮定し、風潰しに異性体構造の存在を調べた。その結果、過去の研究と同様、異性体構造として 2 つの水素が移動した構造である GC2 と GC3 の構造のみの存在が確認された。



## II. GC-GC2 間の反応の PES

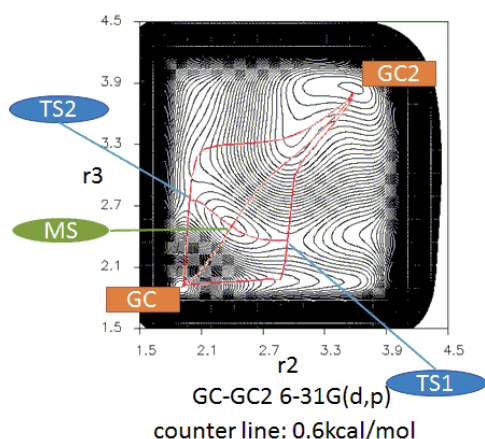


図 3.GC-GC2 間の PES

図 3 は、GC-GC2 間の反応に対応した PES と反応経路を表したものである。この反応では、異なる遷移状態を経由する 3 本の反応経路が見つかった。しかしこれら 3 本の反応経路の遷移状態付近のエネルギー差は小さく、3 個の遷移状態を結ぶ稜線上は非常にフラットとなる。従って実際の反応過程は、個々の反応経路にはとらわれず、この稜線上一帯のどこかを經由した量子論的確率過程となることが予想される。

## III. GC-GC3 間の反応の PES

図 4 は GC-GC3 間の反応に対応した PES と反応経路を表したものである。この反応では 1 本の反応経路が見つかった。r2 の値が増加した後 r5 の値が増加しているため、この反応経路では水素が非同期的に移動することがわかる。この反応経路に沿った分子のエネルギー変化をグラフにすると図 5 のようになる。このグラフを見てもわかる通り遷移状態(TS)と生成物(GC3)が異常に近い。また、このグラフには反応物(GC)と TS の間で特に安定点でもないところで段差ができています。この段差は PES ではちょうど反応経路の線が折れ曲がっているところに対応しており、その点は r2 に対応する水素が移動しきったところの構造である。

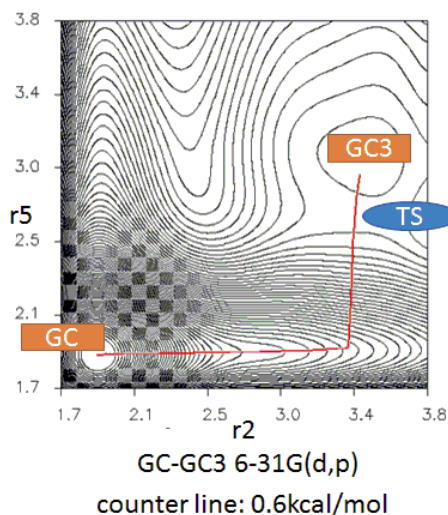


図 4.GC-GC3 間の PES

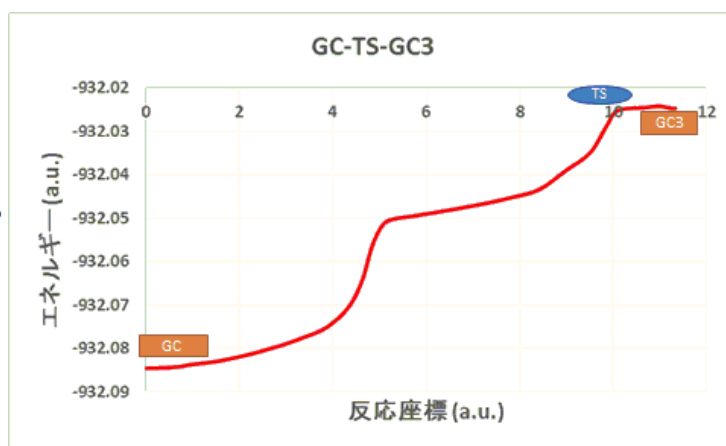


図 5.GC-GC3 間の反応経路に沿った分子のエネルギー変化

これらの解析結果の詳細、および電子励起状態の解析結果については当日報告する。



## 2P116 エクストラジオールジオキシゲナーゼの活性状態での酸素活性化に対する水素結合の役割についての理論的研究

(名工大院・工<sup>1</sup>、スタンフォード大・化<sup>2</sup>、岐阜大・地域科学<sup>3</sup>)

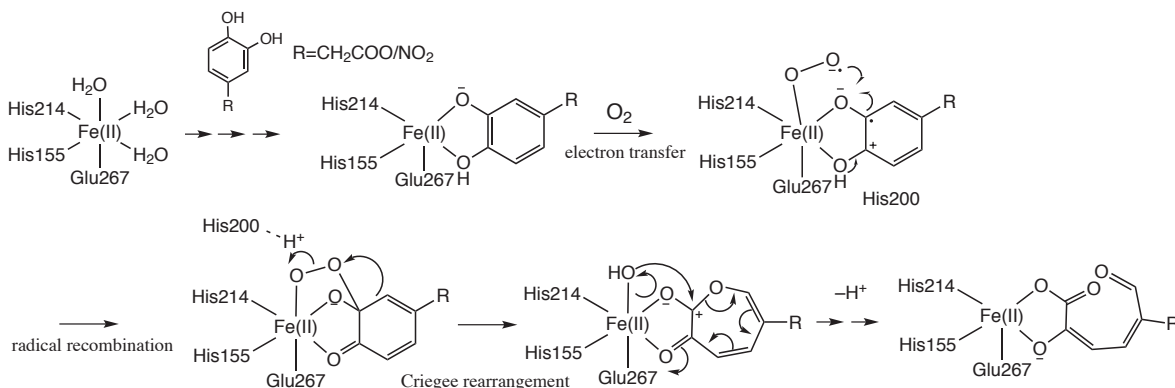
○和佐田 (筒井) 祐子<sup>1</sup>、Kyle David Sutherlin<sup>2</sup>、和佐田 裕昭<sup>3</sup>、Edward I. Solomon<sup>2</sup>

Density functional study of an important role of H-bond network playing in the O<sub>2</sub> activation of extradiol-cleaving dioxygenase in the active state

(Nagoya Inst. Tech.<sup>1</sup>, Stanford Univ.<sup>2</sup>, Gifu Univ.<sup>3</sup>)

○Yuko Wasada-Tsutsui<sup>1</sup>, Kyle David Sutherlin<sup>2</sup>, Hiroaki Wasada<sup>3</sup>, Edward I. Solomon<sup>2</sup>

**【はじめに】** エクストラジオールジオキシゲナーゼ homoprotocatechuate 2,3-dioxygenase (HPCD, EC 1.13.11.15) は土壌中での芳香族化合物の生分解過程の途上で、ジヒドロキシベンゼンを二つの水酸基の外側の C—C 結合で開環して直鎖カルボン酸を生成する酵素である。酵素活性中心には、Fe(II) に二つのヒスチジン残基と一つのグルタミン酸残基が配位した 2-His-1-carboxylate facial triad と呼ばれる類縁の酵素に特徴的な構造がある。スキーム 1 に示すように、反応は基質と酸素の付加で始まり、酸



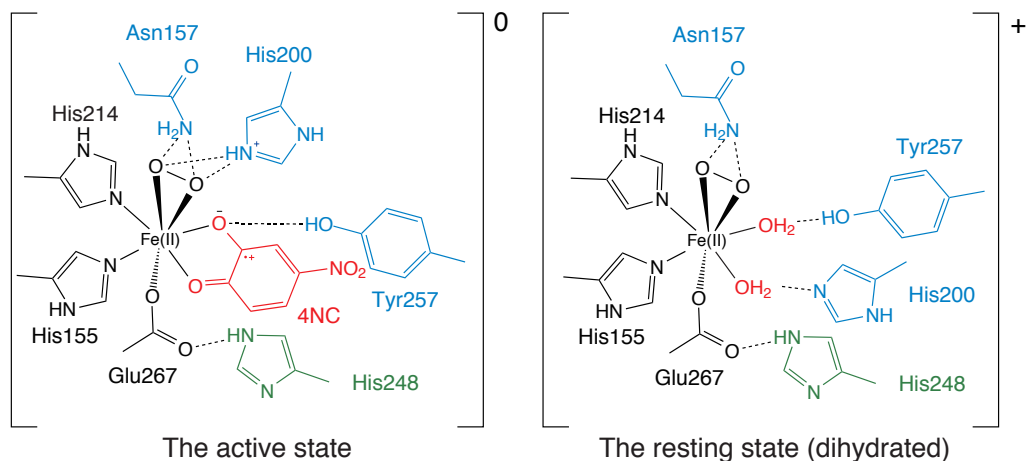
スキーム 1 カテコール誘導体の酸化開環過程の推定反応機構<sup>1)</sup>

素の架橋に続いて Criegee 転位が起こったのち、加水分解反応でムコン酸アルデヒドに開環する<sup>1)</sup>。酸素付加では Fe(II) イオンに基質が付加したのち酸素が付加することが各種実験から知られている<sup>2)</sup>。

本研究では、エクストラジオールジオキシゲナーゼにおける基質と酸素の付加の順序が、活性中心の第二配位圏にある His248 のプロトン化状態や Asn157 の水素結合に依存することを示し、酸素付加に及ぼす影響について考察する。

**【方法】** スキーム 2 に示すように、酵素活性中心について、第一配位圏および第一配位圏との水素結合がある第二配位圏のアミノ酸残基からなる、ペプチド鎖を省略したクラスターモデルを用いた。モデル中の反応が遅い基質 4-nitrocatechol(4NC) は pH 7.5 の溶液中ではモノアニオンとして存在するとした。結晶構造<sup>3)</sup>のアミノ酸の β-炭素を固定して、密度汎関数法により構造最適化した。

基質が 4NC のときの結晶構造では、酸素が中心 Fe(II) イオンに side-on 結合していることが示唆されている。<sup>3)</sup> この構造の安定性を確認して電子状態を解明するために、酸素が end-on および side-on 配位した構造を S=2 および 3 について確認した。また、反応が観測される pH7.5 では、ヒスチジンはプロトン化しないものの、結晶構造の Arg293 のペプチド結合とプロトン化 His248 との間の水素結合を否定できないので、His248 のプロトン化の影響を評価した。



スキーム2 クラスターモデルの構成。青は第二配位圏、緑は His248 である。His248 のプロトン化では、窒素にプロトンが付加して、各モデルの電荷が1ずつ増える。

最適化構造における酸素付加エネルギーを、基質が結合した活性状態と二個の水分子が配位した休止状態について、反応(1)および反応(2)で計算し、基質が酸素付加反応を促進するか否かを確認した。

○活性状態



○休止状態



**【結果および考察】** クラスターモデルの最適化構造では、結晶構造とよく似たアミノ酸残基の配向の最適化構造とともに結晶構造からかなりずれたより安定な最適化構造が得られた。結晶構造では、休止状態および活性状態、酸素付加状態、後続の酸素架橋状態で、カテコールと酸素の間のプロトン移動を担っている His200 を除くと、活性中心周辺のアスパラギンやヒスチジンの配向にほとんど変化がなく、さらに外側の配位圏のアミノ酸残基との水素結合距離が維持されている。このように、現実の活性中心の構造は、周囲のアミノ酸との水素結合で作られられた比較的堅固で特殊な環境であると考えられた。酵素活性を議論するには、Asn157-His214 間などのアミノ酸残基間に結晶構造で実在しない水素結合が形成された人工的な安定最適化構造を排除する必要がある。

人工的な安定最適化構造以外についての酸素付加エネルギーから、結晶構造で見られる活性状態の side-on 構造が end-on 構造よりも不安定であることが示された。このことから、結晶構造で観測される side-on 構造は反応の不安定中間体が反応せずに捕捉されているものと考えられた。また、基質付加時に酸素付加しやすくなるのは、His248 がプロトン化されていないときであり、His248 がプロトン化されているときには逆に、休止状態の方が酸素付加しやすいことが示された。このことから、活性中心の His248 は pH から予想されるように、プロトン化されていないと考えられる。プロトン化による配位子上の負電荷の中和が期待できない活性中心では、配位酸素と基質の負電荷と中心イオンの正電荷の分離により、イオン結合で強く結合していると考えられる。

#### 【参考文献】

- 1) M. M. Mbughuni, *et al. Biochemistry* **50**, 10262-10274, 2011.
- 2) H. H. Tai, C. J. Sih *J. Biol. Chem.* **245**, 5072-5078, 1970.
- 3) E. G. Kovaleva, J. D. Lipscomb *Science* **316**, 453-457, 2007.

## グルコースとトレハロースの構造に関する理論化学的研究

(広島大院理<sup>1</sup>, 広島大 QuLiS<sup>2</sup>) ○吉川 太基<sup>1,2</sup>, 赤瀬 大<sup>1,2</sup>, 相田 美砂子<sup>1,2</sup>

### Ab initio conformational study of glucose and trehalose

(Grad. Sc. Sci.,<sup>1</sup> QuLiS,<sup>2</sup> Hiroshima Univ.)

○Taiki Yoshikawa,<sup>1,2</sup> Dai Akase,<sup>1,2</sup> Misako Aida<sup>1,2</sup>

#### 【諸言】

グルコース (glucose) は  $C_6H_{12}O_6$  で示される単糖 (図 1) であり、6 員環構造であるピラノース型で存在している。グルコースには C1 の不斉炭素原子における立体配置の違いがあり、アノマー ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) とよばれている。一方、トレハロース (trehalose) は  $C_{12}H_{22}O_{11}$  で示される非還元性の二糖類 (図 3) であり、2つの $\alpha$ -グルコースが C1 位同士でグリコシド結合した構造である。トレハロースにも立体異性体があり、その中に多くの配座が存在している。その配座は OH 基の二面角だけでなく、グリコシド結合の二面角や  $CH_2OH$  の二面角によっても異性体を区別することができる。気相中の糖類の配座の安定性には分子内水素結合が大きく影響する。本研究では気相中のグルコースとトレハロースの構造を明らかにする。計算には Gaussian 09 プログラムを用いた。

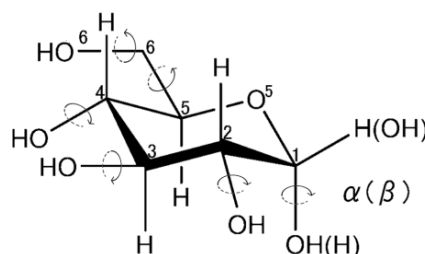


図 1. グルコースの構造

#### 【計算方法-1 (グルコース)】

グルコースは  $CH_2OH$  の二面角と OH 基の二面角を考えて作ったコンフォーマー合計 24 ( $\alpha \times 12$ ,  $\beta \times 12$ ) の初期構造を MP2/aug-cc-pVDZ で構造最適化し、22 ( $\alpha \times 11$ ,  $\beta \times 11$ ) の安定構造を得た。

#### 【結果と考察-1 (グルコース)】

グルコースのコンフォーマーの相対エネルギーとそれぞれで最も安定なコンフォーマーの構造を図 2 に示す。計算したコンフォーマーの中では、 $\beta$ -グルコースより $\alpha$ -グルコースのコンフォーマーの方が安定であることが見出された。また、OH基は分子内水素結合ネットワークを形成しており、その向きが時計回り方向 (c) よりも反時計回り方向 (r) に向いている方が安定であることが見出された。

O5-C5-C6-O6 の二面角	C5-C6-O6-H の二面角
m: $\sim -60^\circ$	g: $\sim \pm 60^\circ$
p: $\sim +60^\circ$	a: $\sim 180^\circ$
t: $\sim 180^\circ$	

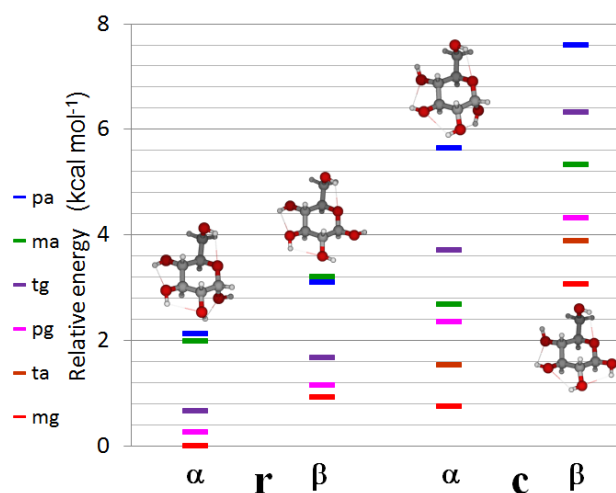


図 2. グルコースの相対エネルギー

### 【計算方法-2 (トレハロース)】

トレハロース (図3) は  $\text{CH}_2\text{OH}$  の二面角と OH 基の二面角の他にグリコシド結合の二面角を考え、135 のコンフォマーを初期構造とした。それらの初期構造を MP2/6-31G\* で構造最適化し、負の振動数がないことを確認した。それら構造最適化された構造を MP2/aug-cc-pVDZ で一点計算をすることで相対エネルギーを算出した。

### 【結果と考察-2 (トレハロース)】

トレハロースのコンフォマーの相対エネルギーとグリコシド結合の結合角を図4に示す。2つの6員環の OH 基の水素結合ネットワークは、それぞれの環で時計回り方向 (c) よりも反時計回り方向 (r) に向いている方が安定であることが見出された。

$\text{CH}_2\text{OH}$  基の二面角はグルコースと同様に3つに区別した。また、グリコシド結合の二面角によりコンフォマーを区別した。得られたトレハロースの最安定なコンフォマーは、グリコシド結合が GG、 $\text{CH}_2\text{OH}$  基が m、その他の OH 基が r の rmGGmr (図4、図5の①) である。これは2つの $\alpha$ -グルコースの最安定なコンフォマーがグリコシド結合した構造である。

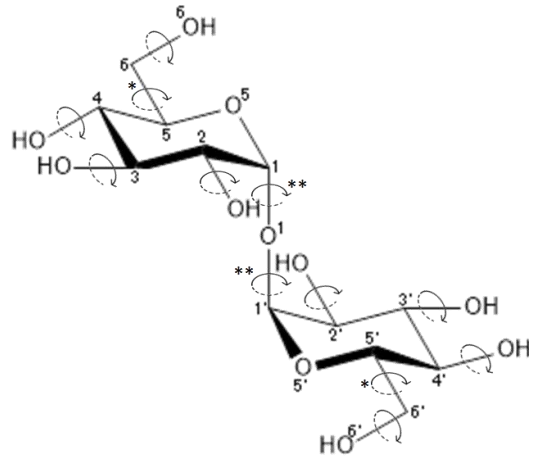


図3. トレハロースの構造

O5-C5-C6-O6 の二面角*	O5-C1-O1-C1' の二面角**
m: $\sim -60^\circ$	G: $\sim -60^\circ$
p: $\sim +60^\circ$	R: $\sim +60^\circ$
t: $\sim 180^\circ$	T: $\sim 180^\circ$

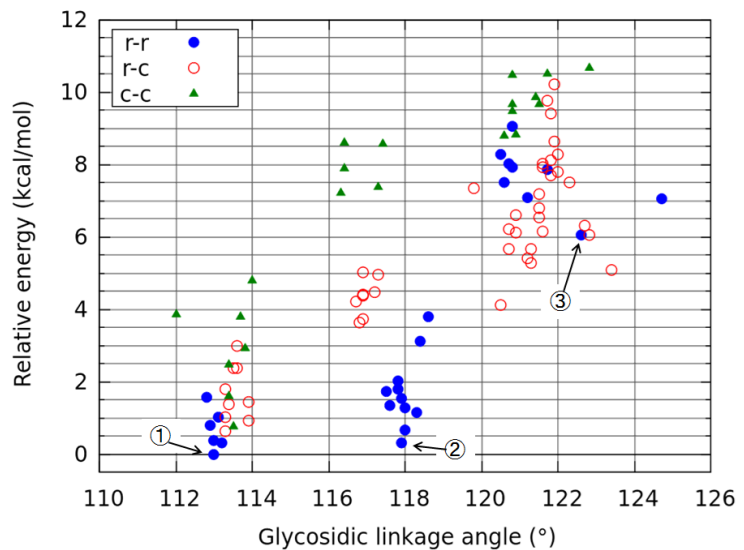


図4. トレハロースの相対エネルギー

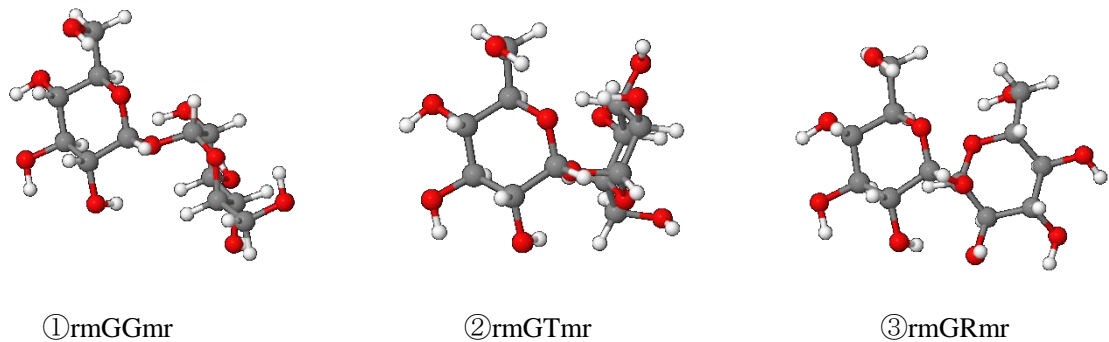


図5. トレハロースのコンフォマー

2P118

再構成ミオグロビンにおける  $\text{CH}_3\text{-Co(III)}$  結合の生成と  
メチル転移反応の理論的研究

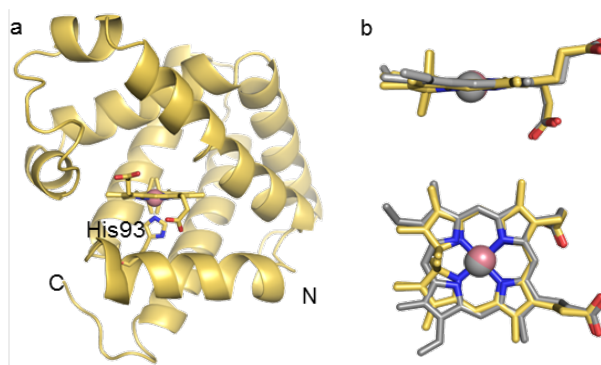
(九大先導研<sup>1</sup>・阪大院工<sup>2</sup>) ○澤田明純<sup>1</sup>・蒲池高志<sup>1</sup>・  
森田能次<sup>1</sup>・大洞光司<sup>2</sup>・林高史<sup>2</sup>・吉澤一成<sup>1</sup>

Theoretical study on the formation of a  $\text{CH}_3\text{-Co(III)}$  bond and reaction  
mechanism of transmethylation in reconstituted myoglobin

(IMCE, Kyushu Univ.;<sup>1</sup> Graduate school of Engineering, Osaka Univ.<sup>2</sup>)

○SAWADA, Akiyoshi;<sup>1</sup> KAMACHI, Takashi;<sup>1</sup> MORITA, Yoshitsugu;<sup>1</sup> OOHORA, Koji;<sup>2</sup>  
HAYASHI, Takashi;<sup>2</sup> YOSHIZAWA, Kazunari<sup>1</sup>

【序】金属酵素は、種々の金属錯体あるいは金属イオンを補欠分子として、水中、常温、常圧という温和な条件下で、高効率に様々な物質変換を行う。なかでも、生体内で安定なコバルト-炭素結合を生成するコバラミンを補欠分子として有するコバラミン依存型酵素は、代謝に関わるメチル基転移反応を加速する触媒である。メチル基転移酵素に分類されるメチオニン合成酵素は、メチルコバラミンを補欠分子として、ホモシステインからメチオニンへの分子変換の触媒として働く。この触媒反応では、コバルト1価種とメチルコバラミンが重要な中間体として知られている。しかしながら、コバルト1価種は、非常に反応性が高く、X線結晶構造解析は達成されておらず、また酵素が関与するメチル基転移反応のメカニズムはまだ不明瞭な点が残されている。そこで酵素モデルとしてコバルトテトラデヒドロコリン (Co(TDHC)) を含む再構成ミオグロビンが構築された (Figure 1)。<sup>1</sup> ヘムポケット中では  $\text{Co}^{\text{I}}(\text{TDHC})$  と  $\text{CH}_3\text{I}$  が反応しメチル錯体が生成し、タンパク質内でメチル基転移反応が観測された。有機溶媒中では同様の反応が進行しないことからタンパク質マトリクス効果が示唆された。そこで本研究では、酵素モデルのヒスチジン軸配位子(His93)に着目し、 $\text{CH}_3\text{-Co}$  結合の生成とメチル基転移反応のメカニズムについて密度汎関数法を用いて理論的に考察した。



**Figure 1.** (a) Crystal structure of rMb( $\text{Co}^{\text{II}}(\text{TDHC})$ ). (b) Superimposed structures (top and side views) of the cofactors in rMb( $\text{Co}^{\text{II}}(\text{TDHC})$ ) (yellow stick) and native myoglobin (PDB ID: 2V1K) (gray stick).

【計算方法】計算モデルとしては、 $\text{Co}(\text{TDHC})$  の側鎖の置換基を水素に置換した  $\text{Co}(\text{TDHC}')$  を用いた (Figure 2)。計算プログラムに Gaussian09 を使い、計算レベルは BP86 とした。今回は全ての原子に 6-31G\*基底を用いて構造最適化を行った。構造最適化後に行う振動解析では、遷移状



態に虚の振動数がひとつ存在することを確認した。続いて、最適化構造での一点計算によりエネルギープロファイル作成のためのエネルギーを算出した。計算レベルではBP86として、基底関数には全ての原子に6-31G\*基底を用いた。全ての反応熱および活性化エネルギーには零点エネルギーによる補正を加えた。

一点計算においてはタンパク質環境の溶媒効果の影響を調べるために気相中とタンパク質中の場合において、反応熱および活性化エネルギーを求めた。タンパク質中の溶媒効果は、TURBOMOLEプログラムのconductor-like screening model49 (COSMO)により取り込み、計算レベルはBP86/SV(P)を用いてエネルギーを求めた。また、タンパク質中の誘電率はこれまでの研究で一般的に使用されている $\epsilon = 4.0$ とした。

【結果と考察】 His93 軸配位子 (イミダゾール) が配位した場合と配位していない場合の  $\text{CH}_3\text{-Co}^{\text{III}}(\text{TDHC}')$  錯体の不均一結合解離エネルギー (BDE) を求めた。メチル化された  $\text{Co}(\text{III})$  錯体の BDE はイミダゾールが配位することで増加した。このことから、ミオグロビン中の His93 配位子が  $\text{CH}_3\text{-Co}(\text{III})$  種の安定化に寄与していると考えられる。

次にメチル基転移反応に関して、軸配位子が解離しながらメチル基が転移する協奏的な反応機構と、まず軸配位子が外れ、5配位のメチル錯体中間体を経てメチル基が転移する段階的な反応機構について、DFT 計算により比較検討した

(Figure 2)。各段階の構造を最適化し、メチル基転移反応のエネルギーダイアグラムを得た。協奏的な反応機構のエネルギー障壁は 20.2 kcal/mol であった。一方、段階的な反応機構では、まずコバルトに配位したイミダゾールが比較的小さなエネルギー障壁 (4.9 kcal/mol) を超え、中間体である 5 配位メチル錯体が生成する。次に、メチル基が上側のイミダゾールへと転移する。この時のエネルギー障壁は 13.6 kcal/mol であり、協奏的な反応機構と比べると活性化エネルギーが小さくなることが明らかとなった。以上の計算結果より、His 軸配位が外れることでメチル基転移反応が促進されることが支持された。<sup>2</sup>

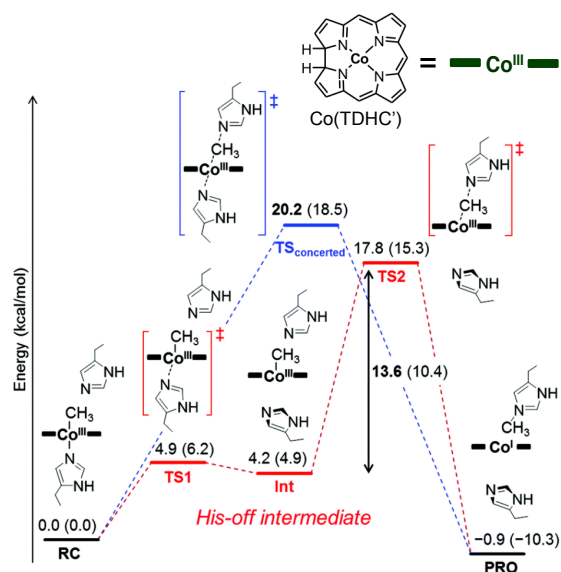


Figure 2. Energy diagrams for the transmethylation by  $\text{Co}(\text{TDHC}')$ . The relative energies in parentheses include the effect of a dielectric constant of 4.0.

[1] T. Hayashi, Y. Morita, K. Oohora, *et al.*, *Chem. Commun.*, **2014**, 50, 12560.

[2] Y. Morita, K. Oohora, A. Sawada, K. Doitomi, J. Ohbayashi, T. Kamachi, K. Yoshizawa, Y. Hisaeda, and T. Hayashi, *Dalton Trans.*, **2016**, 45, 3277.

## 窒素含有鉄オキソ錯体を触媒とする

## メタン C—H 結合活性化に関する速度論的同位体効果

(京工繊大院<sup>1</sup>・同志社大院<sup>2</sup>・九大先導研<sup>3</sup>) ○松井美咲<sup>1</sup>、湯村尚史<sup>1</sup>、  
若杉隆<sup>1</sup>、人見穰<sup>2</sup>、塩田淑仁<sup>3</sup>、吉澤一成<sup>3</sup>

## Kinetic isotope effects of methane C—H bond activation by iron-oxo complexes bound by nitrogen-containing ligands

(<sup>1</sup>Kyoto Institute of Technology; <sup>2</sup>Doshisya Univ.; <sup>3</sup>Institute of Materials Chemistry and Engineering, Kyushu Univ.) ○Misaki MATSUI,<sup>1</sup> Takashi YUMURA,<sup>1</sup> Takashi WAKASUGI,<sup>1</sup> Yutaka HITOMI,<sup>2</sup> Yoshihito SHIOTA,<sup>3</sup>

Kazunari YOSHIKAWA<sup>3</sup>

【緒言】現在のメタンからメタノールへの変換方法は、合成ガスを経由する間接的なプロセスであり大量のエネルギーを必要とする。そのため、メタンの直接酸化を行う触媒の開発が急務となっている。この目的のため、四座配位子もしくは五座配位子を有する窒素含有鉄オキソ錯体が合成されており、この錯体におけるアルカン酸化反応に関する研究が行われている。例えば、アルカンの C—H 結合活性化の律速段階を調べるため、速度論的同位体効果 (KIE:  $k_H/k_D$ ) が測定されている [1]。しかし、アルカンの酸化反応を制御する因子に関する情報は得られていないのが現状である。そこで本研究では、四座配位子もしくは五座配位子を有する窒素含有鉄オキソ錯体によるメタン酸化反応のプロセスを解明するとともに、メタン C—H 結合活性化における速度論的同位体効果に関する知見を得るために密度汎関数法計算を行った。

【計算方法】窒素含有鉄オキソ錯体によるメタン酸化反応のプロセスを調べるため、B3LYP 汎関数を用いた密度汎関数法計算を行った。窒素含有鉄オキソ錯体として、四座配位子を有する  $[\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{OH})((\text{S},\text{S},\text{R})\text{-MCP})]^{2+}$  と  $[\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{OH})((\text{S},\text{S})\text{-PDP})]^{2+}$  と  $[\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{OH})(\text{PyTACN})]^{2+}$ 、五座配位子を有する  $[\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{DPAQ})]^{2+}$  と  $[\text{Fe}^{\text{V}}(\text{O})(\text{PaPy}_3)]^{2+}$  を作成し、構造最適化を行った。ここで、鉄錯体のスピン状態として、二重項、四重項及び六重項を考えた。基底関数として、Fe 原子に 6-311G\*基底、C, H, N, O 原子に 6-31G\*\*基底を用いた。また、メタン C—H 結合活性化を行う遷移状態における KIE を、遷移状態理論に基づき算出した [2]。

【結果・考察】メタンの直接酸化反応における反応スキームを Fig. 1 に示す。この反応の第一段階はラジカル性を有するオキソ種とメタン (始状態, I) が反応することにより、メタンの C—H 結合が活性化する遷移状態 (TS1) に至る。このプロセスによりメチルラジカルと水酸基が生成するラジカル中間体 (R) に変換する。ここで始状態とラジカル中間体の相対エネルギー ( $\Delta E = E_{\text{total}}(\text{R}) - E_{\text{total}}(\text{I})$ ) に注目したところ、四重項状態での  $\Delta E$  は正の値 (吸熱) をとり、二重項および六重項での  $\Delta E$  は負の値 (発熱) になった。次に、メチルラジカルは水酸基にリバウンドすることによりメタノール錯体が生成した。その後、メタノールが離脱することで反応は終了する。密度汎関数法

計算の結果、いずれの窒素含有鉄オキソ錯体によるメタン酸化反応においても、オキソ錯体によりメタン C-H 結合が活性化されメチルラジカル種が生成する段階が律速であることがわかった。

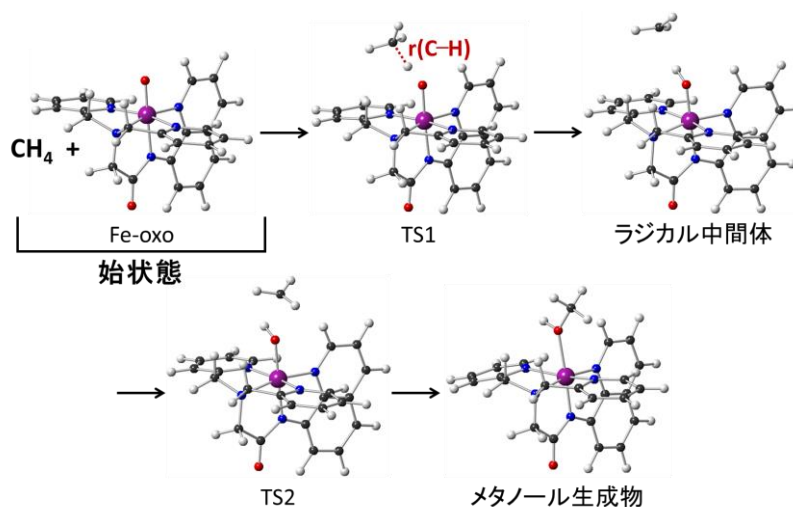


Fig. 1 DPAQ 錯体におけるメタン→メタノール転移機構

次に、メタン C-H 結合が活性化される遷移状態 (TS1) における KIE 値の算出をした。その結果、KIE 値は 7.4~14.4 と大きな幅を持つことがわかった。四座配位子錯体では多重度によって KIE 値にばらつきがみられたが、五座配位子錯体では多重度による KIE 値の顕著な違いはみられなかった。さらに興味深いことに、KIE 値は活性化されるメタン C-H 結合の結合長  $r(\text{C-H})$  に強く依存することがわかった。つまり、遷移状態の構造が始原系に近いほど KIE 値は小さく、生成系 (ラジカル中間体) に近いほど KIE 値は大きい。Hammond 則によれば、吸熱 (発熱) 反応の遷移状態の構造は、生成 (始原) 系に類似していることが予想される。このため、 $\Delta E$  値と KIE 値との間の関連性に注目した。その結果、KIE 値が点線より大きい場合吸熱反応であり、KIE 値が点線より小さい場合発熱反応であることがわかった。また、点線より上部の場合、KIE 値の  $r(\text{C-H})$  に対する傾きは小さいものの、点線より下部では傾きが大きくなることもわかった。密度汎関数法計算の結果から、KIE 値は  $\Delta E$  の符号に依存することが示唆されるため、KIE の測定は律速段階における発熱・吸熱を判断する指標になることが予測される。

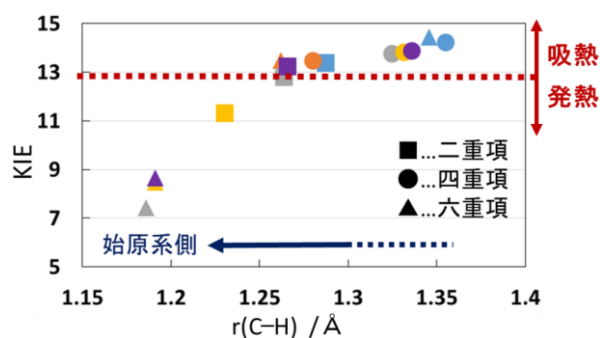


Fig. 2 KIE と活性化されるメタン C-H 結合長  $r(\text{C-H})$  との関係。(青: DPAQ, 橙: PaPy<sub>3</sub>, 灰: PyTACN, 黄: PDP, 紫: MCPP)

#### 【参考文献】

- [1] Y. Hitomi, K. Arakawa, M. Kodera, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 14697–14701.  
 [2] K. Yoshizawa, T. Yumura, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2347–2358.

## QM/MM-ER 法による光化学系 II の Mn クラスターにおける S<sub>1</sub>→S<sub>2</sub> 遷移の酸化還元電位の計算

(東北大院・理<sup>1</sup>、京都大学 ESICB<sup>2</sup>) ○鈴木大樹<sup>1</sup>、高橋英明\*<sup>1</sup>、森田明弘<sup>1,2</sup>

QM/MM study on redox potential of Mn cluster in PSII during the S<sub>1</sub> → S<sub>2</sub> transition  
(Tohoku Univ.<sup>1</sup>, ESICB Kyoto Univ.<sup>2</sup>) ○Daiki Suzuoka<sup>1</sup>, Hideaki Takahashi\*<sup>1</sup>, Akihiro Morita<sup>1,2</sup>

【はじめに】 酸素発生型光合成における水分解反応は、光化学系 II (PSII) に含まれる Mn クラスター (酸素発生複合体; OEC) が触媒して進行することが知られている。実験により 4 回の光照射によって 1 分子の酸素分子が合成されることが示されており、OEC の酸化状態の変化に対応した 5 つの状態 (S<sub>i</sub> (i = 0-4) 状態) を循環する S 状態モデルが提案されている。しかし、その反応機構は解明されておらず、光合成における最重要課題の一つとして理論・実験の両面から精力的に研究が行われている。

我々は、この問題に取り組むため、PSII の単量体を頭に扱った QM/MM シミュレーションを実行した。この時、OEC 及びその近傍を量子力学的に記述し、周辺のペプチド鎖やリガンド分子は古典力場を用いて表す。これにより、PSII タンパク質や水分子が作る電場を考慮する自由エネルギー計算が可能になる。本研究では、QM/MM シミュレーションの妥当性を検証するため、X 線結晶構造解析[1]によりその構造がほぼ確定している S<sub>1</sub> 状態に注目した。具体的には、S<sub>1</sub> 状態が酸化されて S<sub>2</sub> 状態に至る際の自由エネルギー変化を計算し、実験から得られている S<sub>1</sub>→S<sub>2</sub> 遷移の酸化還元電位と比較する。また、気相中での OEC の酸化還元電位と比較し、PSII タンパク質の溶媒効果について考察する。本検証の後、酸素発生の直前の状態である S<sub>3</sub> 状態に注目し、酸素発生の鍵を握る O-O 結合の形成過程の解析を計画している。

【理論と方法】 本研究では、OEC の一電子酸化に伴う自由エネルギー変化  $\Delta G_{\text{redox}}$  を、垂直遷移の酸化自由エネルギー  $\Delta G_{\text{vert}}$  と酸化後の構造緩和による寄与  $\Delta G_{\text{relax}}$  に分割して計算を行った (図 1)。

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{redox}} &= \Delta G_{\text{vert}} + \Delta G_{\text{relax}} \\ &= \left( G[n_{N-1}, \mathbf{R}_{S_1}] - G[n_N, \mathbf{R}_{S_1}] \right) + \left( G[n_{N-1}, \mathbf{R}_{S_2}] - G[n_{N-1}, \mathbf{R}_{S_1}] \right) \end{aligned} \quad (1)$$

ここで、 $\mathbf{R}$  は QM 原子の座標を集散的に表したものである。また、 $N$  は S<sub>1</sub> 状態における QM 系の全電子数であり、 $n_N$  は電子数  $N$  の時の QM 系の電子密度である。垂直遷移の寄与  $\Delta G_{\text{vert}}$  は、QM/MM-ER 法[2]における多体相互作用の寄与の計算と同様の枠組みで計算できる。具体的には、次式で定義されるエネルギー座標  $\eta$  を導入する。

$$\eta = E_{\text{tot}}[n_{N-1}, \mathbf{X}] - E_{\text{tot}}[n_N, \mathbf{X}] \quad (2)$$

ここで、 $\mathbf{X}$  は溶媒の構造を表し、 $E_{\text{tot}}$  は QM/MM 法における全系のエネルギーである。式(2)から明らかなように、エネルギー座標  $\eta$  は、

QM/MM シミュレーションで得られた構造  $\mathbf{X}$  における、 $N-1$  電子系 (酸化系) 及び  $N$  電子系 (還元系) の全エネルギーの差で定義される。酸化系及び還元系における  $\eta$  についての分布関数  $\rho$  及び  $\rho_0$  を用いて、 $\Delta G_{\text{vert}}$  は次の汎関数で表すことができる。

$$\Delta G_{\text{vert}} = \int d\eta \left( k_B T \ln \left( \frac{\rho(\eta)}{\rho_0(\eta)} \right) - \eta \right) W(\eta) \quad (3)$$

ここで、 $k_B$  はボルツマン定数、 $T$  は絶対温度であり、 $W$  は任意の規格化された重み関数である。QM/MM シミュレーションから  $\rho$  及び  $\rho_0$  を構築し、これらを式(3)に代入することで  $\Delta G_{\text{vert}}$  が計算できる。また、

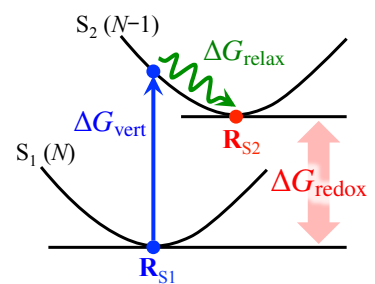


図 1. 酸化自由エネルギーの分割。

$S_1 \rightarrow S_2$  遷移に伴う OEC の構造変化は小さいため、構造緩和の寄与  $\Delta G_{\text{relax}}$  は少数の中間状態を導入することで自由エネルギー摂動法を用いて計算可能である。

【計算条件】 計算を行う系 (図 2) として、PSII (PDB id: 4UB6) の単量体の周囲に脂質分子及び溶媒水を付加し、約 15 万原子から成る液滴モデルを構築した。OEC 及び 7 つの第一近接残基を formic acid または imidazole として簡略化したものを QM 系とし、さらに OEC 近傍の 4 つの水分子をこれに加えた。OEC の構造は [3] で報告されたモデルを採用し、QM/MM 境界は H 原子による Link Atom で表現した。QM 系の電子状態は実空間グリッドを基底とした Kohn-Sham の DFT 法によって決定し、交換相関エネルギーは BLYP 汎関数で評価した。ただし自由エネルギー計算では、ONIOM 法に基づき、B3LYP 汎関数による QM エネルギー補正を行った。MM 力場には、タンパク質に charmm22、その他の分子に GAFF を採用し、水分子には TIP3P モデルを用いた。時間刻みは 1 fs とし、半径 78.0 Å の液滴構造を保持した、300 K における *NVT* アンサンブルの QM/MM シミュレーションを実行した。

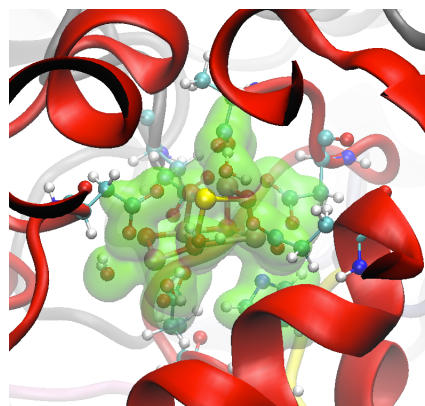


図 2. 系のスナップショット。QM 系に含まれる分子及び残基のみ原子を明示し、併せて電子密度を表示している。

【結果と考察】 まず、OEC の Mn 原子のスピンドensityを Fuzzy Cell 法によって計算し、酸化数を見積もった。OEC の酸化数に対応するスピンドensityが B3LYP 汎関数に近い精度で得られ、BLYP 汎関数による QM/MM 計算において QM-MM 間相互作用が良好に記述できることが確認できた。次に、式(1)の  $\Delta G_{\text{vert}}$  を考える。図 3 に、式(2)のエネルギー座標についての、酸化系及び還元系における分布関数  $\rho$  及び  $\rho_0$  を示す。構造  $\mathbf{X}$  の変化がエネルギー座標上において調和振動的に振る舞うと仮定し、エネルギー分布関数をガウス関数で fitting した。これらの分布関数を式(3)に代入して得られた値 (84.2 kcal/mol) に ONIOM 法による B3LYP 補正 (+31.4 kcal/mol) を加えることで、 $\Delta G_{\text{vert}}$  が 115.6 kcal/mol と計算された。本研究では簡便のため、 $S_1$  状態での QM/MM シミュレーションにおける電子密度を平均電子密度  $\bar{n}_V$  に固定している。したがって、 $S_1$  状態での電子密度揺らぎによる安定化を考慮すれば、 $\Delta G_{\text{vert}}$  はこの値より大きくなる。一方、外場なしの QM 系の  $\Delta G_{\text{vert}}^{\text{gas}}$  は 172.5 kcal/mol と計算された。このことから、PSII タンパク質が作る外場が酸化状態を相対的に安定化し、酸化自由エネルギーを大幅に減少させていることが示された。次に、構造緩和の寄与  $\Delta G_{\text{relax}}$  について考察する。PSII タンパク質中では、 $\Delta G_{\text{vert}}$  が  $\Delta G_{\text{redox}}$  の実験値 (120.6 kcal/mol [4]) に近いことから、 $\Delta G_{\text{relax}}$  は小さな値になることが予想される。一方で、気相中での  $\Delta G_{\text{relax}}^{\text{gas}}$  の値は -30.4 kcal/mol ( $\Delta G_{\text{redox}}^{\text{gas}} = 142.1$  kcal/mol) と計算された。これらのことから、PSII タンパク質の溶媒効果が、OEC の構造緩和によるエネルギー損失を抑制し、酸化反応のエネルギー効率を向上させる可能性が示唆される。現在、図 3 の  $\rho$  及び  $\rho_0$  の統計量を増やすと共に、 $\Delta G_{\text{relax}}$  の計算を準備しており、この推測を検証する予定である。

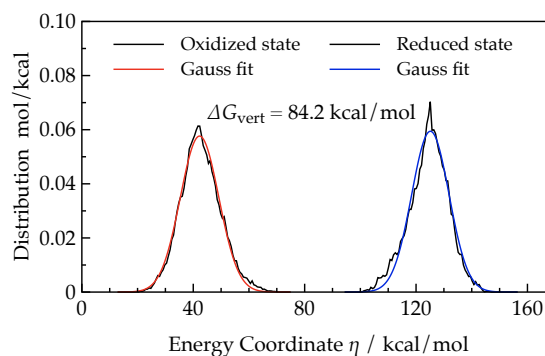


図 3. 酸化系及び還元系のエネルギー分布関数  $\rho$  及び  $\rho_0$ 。統計量は、酸化系が 40 ps で還元系が 20 ps である。赤線及び青線は、それぞれ  $\rho$  及び  $\rho_0$  をガウス関数で fitting したものである。

【参考文献】 [1] Y. Umena, *et al.*, *Nature* 473, 55 (2011). [2] H. Takahashi, *et al.*, *J. Chem. Phys.* 136, 214503 (2012). [3] H. Isobe, *et al.*, *Dalton Trans.* 41, 13727 (2012). [4] F. Rappaport, *et al.*, *Coord. Chem. Rev.* 252, 259 (2008).