

# 大規模分子シミュレーションによる生体分子の

## 反応機構の理論的解明

### Theoretical elucidation on the reaction mechanisms of biomolecules based on the large-scale molecular simulations

庄司光男

筑波大学計算科学研究センター

#### 1. 研究目的

酵素は生体内において化学反応を制御している。その効率的反応を解明することは、生化学分野において重要な分子論的基盤となるだけでなく、化学分野にとっても、重要な学術基盤となっている。酵素反応固有の優れた特異的反応は、エネルギープロファイルの制御のみならず、優れた基質選択性の上に成り立っており、関連分野（化学、生物、工学、医療）への応用が大変期待されており、本研究領域は現在非常に注目されている。生化学分野においては、実験的手法(X線自由電子レーザー、中性子散乱、クライオ電子顕微鏡などの構造解析手法)において著しい発展が見られているが、動的挙動や反応中間体、分子機構については未だ実験的手法のみでは決定が難しい。一方、分子シミュレーション法（古典分子動力学(CMD)、量子力学計算(QM, QM/MMを含む))ではこれらを詳細に解明できる可能性があるが、適切な計算モデルの評価には、膨大な計算コストがかかるため、より効率的な並列計算の実行やプログラム開発および環境整備が必要となっている。本研究課題ではスパコンを利用することで、生体分子の複雑な化学反応機構の統一的解明と星間空間における生体構成有機分子の生成・分解機構について理論解明する。

#### 2. 研究成果の内容

本研究では以下の3つの研究対象に対して主に理論解析を実施した。

##### (i) 光化学系 II 酸素発生中心(PSII-OEC)のプロトン移動反応の理論的解明

光化学系 II (PSII) では光エネルギーを利用して水分子を酸素分子に変換する反応( $2\text{H}_2\text{O} + 4h\nu \rightarrow 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- + \text{O}_2$ )を触媒しており、クリーンかつ効率的なエネルギー変換システムが非常に注目されている。2018年には時分割構造解析法(SFX)の発展により、触媒サイクル全ての反応中間体( $S_i, i=0-3$ )構造が解明され、反応過程の構造変化が直接観測できるようになった。そのため、我々は大規模 QM/MM モデル(QM Atoms=380)を作成し、各 S 状態における Mn クラスターの特徴的構造変化とプロトン化状態、周辺アミノ酸との相互作用について理論解析を進め、SFX 構造との構造比較を行った。その結果、Mn-Mn, Ca-Mn 距離については実験結果と良い一致が得られた。Mn-O や O5-O6 距離については未だ一致が良くない結果が得

られた。その理由として、電子状態の検討や状態混合、分解能の妥当性について考察を行った [出版論文 3]。

#### (ii) アミン酸化酵素の反応機構の理論的解明

銅含有アミン酸化酵素 (AGAO) では第一級アミン類の酸化的脱アミノ反応を触媒するが、反応サイクル中で大きな基質構造変化が見られている。大阪医科大学村川武志助教と大阪大学産業科学研究所岡島俊英准教授らが中性子散乱構造を取ることに成功し、活性中心における重要な残基のプロトン化状態を明らかにした。本結果をもとに、QM/MM 法を実施し、補酵素 (TPQ) と周辺アミノ酸の構造とプロトン化状態について網羅的に理論解析を実施し、実験結果の精密評価を行った。これまで TPQ はエノール型のみ取ると考えられていたが、ケト型も存在し得ることを QM/MM 計算から示した [出版論文 2]。

フラビンをもつアミン酸化酵素 (サルコシンオキシターゼ (MSOX)) についても反応機構を理論解析した。N-Cyclopropylglycine (CPG) は、反応機構解析におけるラジカル機構を証明するために実験的に用いられてきた基質であり、CPG との反応の解析から、single electron transfer (SET) 機構の重要な根拠となってきた。MSOX・CPG において理論解析を実施した結果、SET 機構ではなく、polar 機構であることを理論解明した。また、不活性中間種も新規に同定した。我々は以前の理論研究により、MSOX はサルコシン基質において HACET 機構であることを見出してきたが、本 polar 機構との類似点があることに気がつき、より普遍的な反応活性化機構を見出すことができた [出版論文 1]。

#### (iii) 星間空間における生体構成有機分子の生成・分解機構についての理論的解明

星間空間ではダスト上での表面反応が進行する。そのため、グラフェン表面で星間環境を模し、HCO+H 反応を第一原理分子動力学計算法で理論解析した。陽に時間発展を追うことで、吸着した基質が表面で化学反応を起こし、CO と H<sub>2</sub> に変換され、脱吸着する過程を得ることに成功した。気相反応と異なり、CH<sub>2</sub>O の生成は抑制されることも示された [出版論文 4]。

### 3. 学際共同利用が果たした役割と意義

生体分子は多自由度複雑系であり、蛋白質効果を適切に取り込んだ電子状態解析 (QM/MM 計算) が必要となるが、膨大な計算コストがかかる。また、様々な検討を行うためにも、プログラム開発環境の利用が不可欠である。学際共同利用で環境構築と計算機資源のサポートをして頂いたので、研究を進めることができた。

### 4. 今後の展望

OFP の利用は NWChem を用いていたが、最近の Gaussian のリリース (Revision C) で、GPU 利用がより可能になった。そのため、調査も兼ねて、Cygnus を利用した QM 計算お

よび QM/MM 計算を実施する計画である。

## 5. 成果発表

### (1) 学術論文

1. M.Shoji\*, Y.Abe\*, M.Boero, Y.Shigeta, Y.Nishiya, Reaction mechanism of Monomeric sarcosine oxidase with N-cyclopropylglycine, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, DOI: 10.1039/D0CP01679A.
2. T.Murakawa\*, K.Kurihara, M.Shoji, C.Shibazaki, T.Sunami, T.Tamada, N.Yano, T.Yamada, K.Kusaka, M.Suzuki, Y.Shigeta, R.Kuroki, H.Hayashi, T.Yano, K.Tanizawa, M.Adachi, T.Okajima\*, Neutron crystallography of copper amine oxidase reveals keto/enolate interconversion of the quinone cofactor and unusual proton sharing, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2020, doi.org/10.1073/pnas.1922538117
3. M.Shoji\*, H.Isobe, J.-R.Shen, M.Suga, F.Akita, K.Miyagawa, Y.Shigeta, K.Yamaguchi\*, Elucidation of the entire Kok cycle for photosynthetic water oxidation by the large-scale quantum mechanics/molecular mechanics calculations: comparison with the experimental results by the recent serial femtosecond crystallography, *Chemical Physics Letters*, 730, 416-425 (2019), doi:10.1016/j.cplett.2019.06.026
4. M.Kayanuma\*, M.Shoji, K.Furuya, K.Kamiya, Y.Aikawa, M.Umemura, Y.Shigeta, First-Principles Study of the Reaction Mechanism of CHO + H on Graphene Surface, *J. Phys. Chem. A*, 123 5633-5639 (2019), doi.org/10.1021/acs.jpca.9b02345
5. A. Kyan, M. Kayanuma\*, M. Shoji, Y. Shigeta, Reaction mechanism of non-enzymatic stereoselective formation of wine lactone, *Chemical Physics Letters*, 725, 114-118 (2019), doi.org/10.1016/j.cplett.2019.04.01

### (2) 学会発表

1. 庄司光男, 光合成水分解反応の反応機構についての理論的探求, ミニシンポジウム 『生命科学と物質科学の融合による新規エネルギー・物質変換技術の創造をめざして』, 2019/5/18, 大阪大学基礎工 (口頭, 招待).
2. Mitsuo Shoji, Water-Splitting Reactions in the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II Revealed by QM/MM calculations, International Conference on Photocatalysis and Photoenergy 2019, 2019/5/22, Incheon, Korea (oral, invited).
3. Mitsuo Shoji, Spin States and O-O bond formation mechanisms in the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II, Awaji Island Conference on Electron Spin Science & Technology 2019, 2019/6/17, Awaji Yumebutai International Conference Center (oral, invited).
4. 庄司光男, 磯部寛、重田育照、中嶋隆人、山口兆, 光化学系 II 酸素発生中心における水分解反応機構についての理論解析, 第 4 6 回生体分子科学討論会, 2019/6/22, 筑波大学学生会館 (口頭).
5. Mitsuo Shoji, Catalytic Reaction Mechanisms Found by using the GLAS Algorithm, ICPAC 2019, 2019/8/7, Rose Garden Hotel, Yangon, Myanmar (oral, invited).
6. 庄司光男, 光合成酸素発生機構の分子メカニズム, 筑波大プレ戦略研究会「生命から学ぶ」プログラム, 2019/10/10、筑波大学自然科学棟 B (口頭).

7. Mitsuo Shoji, Reaction mechanisms of water splitting in Photosystem II revealed by QM/MM calculations, 11th CCS International Symposium, 2019/10/15, 筑波国際会議場 (oral, invited).
8. Mitsuo Shoji, Elucidation of the Entire Kok Cycle of the Photosynthetic Water Oxidation Using QM/MM Calculations, 3rd International Solar Fuels Conference (ISF-3) and International Conference on Artificial Photosynthesis-2019 (ICARP2019), 2019/11/24, Hiroshima Convention Hall (oral).

(3) その他

1. 7 機関共同プレスリリース, 宙に浮く水素イオン?!—大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界—, 2020/4/28。
2. 電子書籍出版、庄司光男、Gaussian16 で始める量子化学超入門、Amazon Kindle direct publishing, ASIN: B0824KP51T, 2019/11/29.

使用計算機	使用計算機 に○	配分リソース*	
		当初配分	追加配分
Cygnus	-	-	-
Oakforest-PACS	○	75600	0
※配分リソースについてはノード時間積をご記入ください。			