

大規模分子シミュレーションによる化学反応の理論解明

Theoretical elucidations of chemical reactions by using 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

原子、電子レベルでの化学反応の解明は、化学分野のみならず生化学、物理学（宇宙化学）において重要な研究対象であるのみならず、工学や医療分野にまで役立つ、究極的に重要な課題であり、現在非常に注目されている。生化学分野では実験手法（X線結晶構造解析（XRD）、クライオ電子顕微鏡など）が著しく進展を見せており、高分解能構造や時分割構造、複合体構造が解明できるようになってきたが、動的挙動や反応中間体、遷移状態など、反応機構については実験的手法のみでは未だ解明が難しい。一方、分子シミュレーション法（古典分子動力学法(CMD)、量子力学計算法(QM, QM/MM))では、詳細に反応機構が検証できる。しかしながらリアリステックなモデルを利用するには計算量が膨大になるため、効率的な並列計算や演算加速、実行環境整備が不可欠である。本研究課題ではCygnusのGPU加速を活用することで、生体分子（酵素）における複雑な化学反応の反応機構の解明を実施する。

本研究では、以下の研究課題について理論解析を進める

- (1) 光合成光捕集タンパク質 C-フィコシアニン(CPC)における光吸収機構
- (2) 銅含有アミン酸化酵素(CAO)のプロトン化状態についての理論的解明
- (3) サルコシンオキシダーゼ(MSOX)における反応機構

これらは生化学、産業利用上重要な酵素であるが、その機構は解明が十分なされていない。特に構造変化の複雑さのみならず電子状態も複雑であり、詳細な反応解析が必要となっている。実験グループと研究連携しており、早期解明が望まれている。大規模計算による迅速な理論解明を実施する。

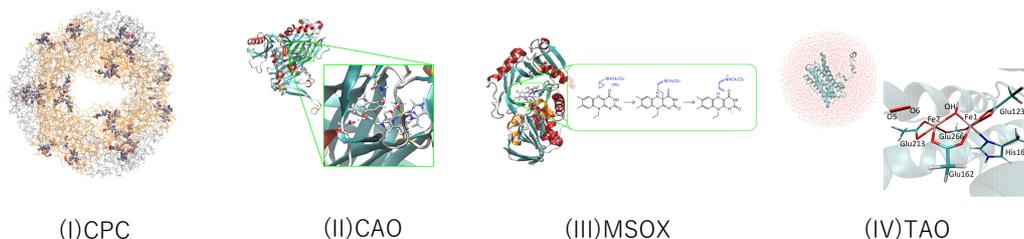


図1. 2020年度の学際共同利用によって理論解析した酵素群

2. 研究成果の内容

(1) 光合成光捕集タンパク質 C-フィコシアニン(CPC)における光吸収機構

CPC は3つの異なる配置のフィコビリן色素を持っている。それぞれ、第5励起状態まで密度汎関数法で構造最適化して構造比較したところ、側鎖プロピオン酸残機のコンフォメーションが励起状態の構造変化に大きく寄与することを見出した[1.3]。今後解明がなされるであろう結晶構造との比較や色素間のエネルギー移動ダイナミクスについての理論研究に発展させる。

(2) 銅含有アミン酸化酵素(CAO)のプロトン化状態についての理論的解明

CAO は種々の生理活性アミン類の酸化的脱アミノ反応を触媒しており、動植物や微生物に広く存在している。活性中心にトパキノンと銅イオン補因子を有している。反応機構を解明するためには、プロトン化状態を決定する必要があるが、近年、村川らにより中性子構造が得られ、水素原子位置が明らかになった[1.5]。Asp のプロトン化や TPQ のプロトン化が特殊であることが判明した。よって、プロトン化状態について量子古典混合計算(QM/MM)法を用いて理論解析を実施した。Asp はカルボニル基部分に回転自由度が存在することを示し、構造解析で見られた特殊な水素原子の帰属について理論的考察を行なった[1.2]。

(3) サルコシンオキシダーゼにおける反応機構

サルコシンオキシダーゼ(MSOX)はサルコシン(N-methylglycine)やアミノ酸を酸化的に分解する役目を担っており、微生物が持つ代謝作用に深く関わっている。MSOX は活性中心にフラビンを持っており、産業利用(診断薬用途)が進んでいるが、反応機構の詳細については不明な点が多かった。これまで、single electron transfer (SET), polar, hydride transfer (HT)が提唱されてきているが、基質によって反応機構は代わりうることもされてきた。SET 機構はシクロプロピルグリシン(CPG)において最も妥当とされてきたが、QM/MM 法を用いて、MSOX の CPG 基質に対する反応機構を詳細に理論検証したところ、polar 機構であることが判明した。反応中間体は可視紫外吸収スペクトル計算で帰属することができた [1.4]。

他にも、代替酸化酵素(AOX)の非ヘム鉄酵素、Trypanosome Alternative Oxidase

(TAO) の酸素基質結合状態についても理論解析を進めた。X 線構造解析において、酸素結合はサイドオン型に帰属されていたが、計算ではエンドオン型が安定となった。この不一致は構造解析の分解能に問題がある可能性を指摘した。酸素分子以外にも小分子結合について理論検討を行なったところ、 H_2O_2 は阻害剤となりうることを理論的に指摘した。実験で活性測定を行い、 H_2O_2 の阻害活性を検証した[1.1]。

3. 学際共同利用が果たした役割と意義

量子化学計算（DFT 構造最適化、励起状態計算、物性量計算）は膨大な計算資源が必要であり、計算遂行には学際共同利用による計算機資源の利用が研究遂行に不可欠となっている。Gaussian は Cygnus の GPU（V100）を利用できるため、Cygnus は理想的な計算実行環境となっている。理論解析が迅速にできたことで、実験グループとの共同研究を進めることができた。今後も迅速に研究を推進していきたい。

4. 今後の展望

2020年度の研究成果をもとに、さらに CPC のエネルギー移動解析や CAO の反応機構解明について研究を進めていく計画である。

5. 成果発表

(1) 学術論文

- [1.1] *Yamasaki S, *Shoji M, Kayanuma M, Sladek V, Inaoka D K, Matsuo Y, Shiba T, Young L, Moore A L, Kita K, Shigeta Y, Weak O₂ binding and strong H₂O₂ binding at the non-heme diiron center of Trypanosome Alternative Oxidase, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1862, 148356-9 (2021).
- [1.2] *Shoji M, Murakawa T, Boero M, Shigeta Y, Hayashi H, Okajima T, Unique Protonation State of Aspartate and Topaquinone in the Active Site of Copper Amine Oxidase, *RSC Advances*, 10, 38631-38639 (2020).
- [1.3] *Mishima K, *Shoji M, Umena Y, Boero M, Shigeta Y, Role of the Propionic Acid Side-Chain of C-Phycocyanin Chromophores in the Excited States for the Photosynthesis Process, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 93(12), 1509-1519 (2020).
- [1.4] *Shoji M, *Abe Y, Boero M, Shigeta Y, Nishiya Y, Reaction Mechanism of Monomeric Sarcosine Oxidase with N-Cyclopropylglycine, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22, 16552-16561 (2020).
- [1.5] *Murakawa T, Kurihara K, Shoji M, Shibazaki C, Sunami T, Tamada T, Yano N, Yamada T, Kusaka K, Suzuki M, Shigeta Y, Kuroki R, Hayashi H, Yano T, Tanizawa K, Adachi M, *Okajima T, 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*, 117(20), 10818-10824 (2020).

(2) 学会発表

- [2.1]○庄司光男, 村川武志, 重田育照, 林秀行, 岡島俊英, 銅含有アミン酸化酵素のプロトン化状態についての QM/MM 解析, 量子生命科学会第 2 回大会, 2020/12/23 (口頭発表、優秀発表賞)。
- [2.2]○庄司光男、QM/MM 法による銅含有アミン酸化酵素のプロトン化状態についての理論解析、第 34 回分子シミュレーション討論会、on line, 2020/12/15 (ポスター発表)。
- [2.3]○庄司光男、”QM/MM で見えてきた酵素反応の特徴”、高速分子動画領域会議、兵庫県、淡路市、淡路夢舞台国際会議場, 2020/10/20 (口頭発表、招待)。
- [2.4]○庄司光男、村川武志、重田育照、林秀行、岡島俊英、”Theoretical analyses on the protonation states of copper amine oxidase”、高速分子動画領域会議、兵庫県、淡路市、淡路夢舞台国際会議場, 2020/10/19 (ポスター発表)。
- [2.5]○M.Shoji, "Recent Progress in the Reaction Mechanism of Water-Splitting in Photosystem II", 70th JSCC, on line, 2020/9/28 (oral, invited)。
- [2.6]○M.Shoji, T.Murakawa, Y.Shigeta, H.Hayashi, T.Okajima, "QM/MM study for the protonation states of copper amine oxidase", The 58th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, on line, 2020/9/16 (poster)。
- [2.7]○庄司光男、サルコシンオキシダーゼにおけるシクロプロピルグリシンの反応機構についての理論的解明、第 93 回日本生化学学会年会, 2020/9/14, on line(招待、口頭)。
- [2.8]○庄司光男、構造探索手法(GLAS)による酵素反応機構の解明、SRPS2020, 2020/9/13, on line (招待、口頭)。

(3) その他

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	○	45,000	0
Oakforest-PACS			
※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。			