

大規模分子シミュレーションによる構造変化と

反応機構についての理論的解明

Theoretical elucidation on the geometrical changes and reaction mechanisms on biomolecules 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

生体分子の構造変化や化学反応機構は、生化学における主要な分子論的解明であるため、学術研究の重要な研究対象となると共に、応用にとっても極めて有益である。中でも生体分子の特異的化学反应は遷移状態の安定化や基質認識において極めて優れている為に、多くの応用分野（化学、生物、工学、医療）に直結する非常に重要な課題であり、現在非常に活発に研究がなされている。生化学分野において、実験的手法(XFEL, クライオ電子顕微鏡など)は著しく発展がなされてきているが、動的挙動や反応中間体、遷移状態などの分子メカニズムについては実験的手法のみでは未だに難しいのも現状である。一方、分子シミュレーション法（古典分子動力学(CMD)、量子化学計算（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、大規模な計算モデルの実行には効率的な並列計算実行やプログラム開発が必要であり、多くの改善の余地がある。本研究課題ではスパコンを活用することで、生体分子の複雑な構造変化、化学反応機構の解明と星間ダスト上での分子生成機構について大規模分子シミュレーションから解明する。

2. 研究成果の内容

本研究報告では以下の3つの研究課題においてより詳しく研究結果について記述した。これら以外にもメタノールの光分解反応[2], 不凍タンパク質の氷結晶生成の抑制機構[4]について研究成果が得られた。

2.1 DNA と小分子との特異的結合過程についての理論的解明

DNAは2本の鎖状高分子による二重らせん構造をとっており、らせんの内側に向いている塩基が他方の鎖の塩基と水素結合を形成することによって構造を保っている。通常のDNAでは基本的にワトソン-クリック型の塩基対が形成されているが、遺伝子の損傷や複製エラーによりミスマッチ構造や、塩基が二重鎖から飛び出たバルジ構造が生じる。CAGの反復によるヘアピン構造中のCAG/CAG配列に特異的に結合する分子としてナフチリジン-アザキノロン(NA)が合成されており、DNAとの複合体構造がNMRによって解かれている。NA-CAG/CAG

複合体について形成ダイナミクスを検討し相互作用エネルギーや動的過程を解明することで、小分子-核酸相互作用に重要な因子を検討した。

高温の MD 計算における二重鎖間の水素結合数の時間変化から見積もった融解温度は、DNA 単体のモデルに対して DNA-CAG/CAG 複合体では 50 K ほど高くなっており、NA の結合によって DNA 二重鎖が大きく安定化した。DNA フラグメントの配列が短くなるほど融解温度が低くなることを再現できた。NA-CAG/CAG 複合体の平衡状態における MD 計算のトラジェクトリから、NA と塩基の間のスタッキングやワトソン-クリック型の結合を模した水素結合の他に、NA リンカー部とアデニンとの間に 2 本の水素結合が形成されていることが明らかになった。フリップアウトしているシトシンは DNA の主溝側で NA や DNA 二重鎖と相互作用しており、NA のリンカー部や主鎖のリン酸とそれぞれ水素結合を形成していることが分かった。また、中性溶液中でのプロトン化によって正電荷を持った NA が DNA 主鎖のリン酸アニオンとの静電相互作用によって大きく安定化していることを確認した。融解温度における NA-DNA 複合体の 10 本の独立な MD シミュレーションから、NA-CAG/CAG 複合体の解離過程について検討した。その結果、塩基配列の端に近い塩基とのスタッキングが先に失われることが分かった。NA-塩基間のスタッキング相互作用よりも NA-NA 間のスタッキング相互作用が長時間維持される結果から、NA が DNA に結合する際には二量体形成後に結合すると考えられる。

2.2 光化学系 II 酸素発生中心(PSII-OEC)における水分解反応機構の理論的解明[1,3,6,9,10]

光化学系 II (PSII) では光エネルギーを利用して水分解反応 ($2\text{H}_2\text{O} + 4h\nu \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$) を触媒している。本系は生体による効率的な光エネルギー変換システムとして極めて重要であり、現在、その反応機構の解明が非常に注目されている。

PSII の反応サイクルは 4 つの準安定 S 状態を経由すると考えられている。S₂→S₃ 遷移では基質水分子の 1 回目の結合過程を含む [1]。S₃→S₀ 遷移では酸素-酸素結合、酸素分子放出、基質水分子の Mn クラスターへの挿入、MnCaO₅ クラスター骨格の再構築が含まれ、非常に複雑な化学反応を伴う。高精度電子状態計算(QM/MM)により、S₃→S₀ 遷移に含まれる O-O 結合形成を検討し、2 つの新しい機構を提唱した [10]。非断熱電子移動(NA-OET)機構 [10] と非ラジカルカップリング(CBS)機構 [3, 6] である。酸素分子放出は水分子挿入と協奏過程であることを明らかにした [9]。また、Mn クラスターに存在する Ca イオンが水分子導入に重要な役目を果たしていることも明らかにした。複雑な化学反応を効率良く自動的に探索するアルゴリズムも新規に提案した [8]。

2.3 ビリルビンオキシダーゼの活性中心構造変化と触媒機構についての理論解明[5,7]

ビリルビンオキシダーゼ(BOD: Bilirubin Oxidase)は活性中心に 3 種類の Cu イオンを 4 原子 (Type 1 Copper(T1Cu)と Type 2 Copper(T2Cu)、Type 3 Copper(T3Cu)) 含有している。T1Cu 部位でビリルビンは酸化され、電子は T2Cu と 2 つの T3Cu で構成される三核銅中心(TNC: Trinuclear Copper Center)に移動し、O₂ を H₂O に 4 電子還元する。BOD は、触媒活性が安

定しているため、疾病の原因であるビリルビンに対する検査薬や酵素燃料電池の電極への応用研究がなされている。Cu イオンの配位子の違いにより、立体構造や酸化還元電位に顕著な違いが現れることについての理論解明を行った。野生型(WT: Wild type)と変異型 M467Q(Met467Gln)の高解像度の X 線結晶構造を基に、量子力学/古典力学混合(QM/MM)法を用いて、酸化還元電位の変化や反応中間体の同定についての理論的解明を行った。WT と変異型(Met467Gln: M469Q)の T1Cu 近傍の立体構造を再現できることを確認した[5]。

次に、4 電子還元過程による 4 個の Cu イオンの構造変化と電子状態の変化について理論解析した。触媒サイクル中の初期構造である RO(Resting Oxidized)状態では μ^2 -OH を持つ RO₁ 状態よりも μ^3 -oxo を持つ RO₀ の方が 24.9 kcal/mol も安定であった。NI 状態における Löwdin のスピン密度を解析すると、NI 状態は完全酸化型であるが $\rho(\text{T1Cu}) = 0.00$ であったことから、NI 状態にプロトン一つ加えた NI^{H+} 状態が安定な native intermediate の候補であると予測した。これらの触媒サイクルの中間体候補と、WT BOD と M467Q BOD の還元過程での分子軌道の変化を解析し、本論文で提案した新たな中間体候補を含む新しい触媒サイクルを解明した[7]。T1Cu 周囲の構造変化自体が非常に小さいことや、TNC を構成する T2Cu と T3Cu で作る距離は各中間体の構造で変化が大きいことに注目し、T2Cu と 2 つの T3Cu 原子によって形成される三角形の面積に比例する新しい指標 I を用いることで、それぞれの BOD の構造変化を特徴づけた。指標 I は、酸化型と還元型の構造を良く分離し、TNC の酸化状態の良い指標となることを示した[7]。

3. 学際共同利用として実施した意義

生体システムは特異的生体分子(タンパク質、核酸)によって制御されており、高効率、安定性、普遍性の観点において驚異的に優れている。そのため、生体分子の機能発現機構を解明することは生命現象の動作原理を解明することであるのみならず、化学合成や創薬、医療等の応用分野にも極めて重要である。現在、生物学では X 線や NMR によって多くの生体分子の立体構造が解明されてきているが、反応機構や動作原理については十分な解明がなされていない。生体分子は多自由度複雑系であり、理論解析をおこなうには膨大な計算量が必要である。そのため、COMA のような並列計算機をフルに活用する事で初めてリアリステックなシミュレーション(大サイズ、長時間、高精度)が可能となっている。古典力学/量子力学計算法(QM/MM)を利用することで、蛋白質効果を適切に取り込んだ電子状態解析が実施できた。

4. 今後の展望

現在の NWChem 利用では COMA の Intel Xeon CPU を利用した時が最も速くなるため、COMA での実施が最適であった。平成 28 年度 CCS 学際共同利用により、OFP でも NWChem を実行できるようになったことで (サポートして頂いたために)、平成 31 年度からは OFP を活用して NWChem 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,* H. Isobe, K. Miyagawa, K. Yamaguchi,* Possibility of the right-opened Mn-oxo intermediate (R-oxo (4444)) among all nine intermediates in the S3 state of the oxygen-evolving complex of photosystem II revealed by large-scale QM/MM calculations, *Chem. Phys.*, 518, 81-90(2019).
<https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2018.11.003>
- [2] M. Kayanuma,* M. Shoji, K. Furuya, Y. Aikawa, M. Umemura, Y. Shigeta, *Chem. Phys. Lett.* 714, 137-142 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2018.10.077>
- [3] M. Shoji,* H. Isobe, K. Yamaguchi, Concerted bond switching mechanism coupled with one-electron transfer for the oxygen-oxygen bond formation in the oxygen-evolving complex of photosystem II, *Chem. Phys. Lett.*, 714, 219-226 (2019).<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2018.10.041>
- [4] M. Kimatsuka,* R. Sato, R. Harada, M. Shoji, Y. Shigeta, Effects of Antifreezing Protein from *Rhagium inquisitor* Binding on Ice Growth: A Molecular Dynamics Study, *Chemistry Letters*, 48(3), 223-226 (2019). <https://doi.org/10.1246/cl.180963>
- [5] M. Akter, T. Tokiwa, M. Shoji, K. Nishikawa, Y. Shigeta, T. Sakurai, Y. Higuchi, Kunishige Kataoka, Naoki Shibata, Redox Potential Dependent Formation of an Unusual His-Trp Bond in Bilirubin Oxidase, *Chemistry A European Journal*, 24(68), 18052-18058(2018). <https://doi.org/10.1002/chem.201803798>
- [6] K. Yamaguchi,* M. Shoji, H. Isobe, K. Miyagawa, K. Nakatani, Theory of chemical bonds in metalloenzymes XXII: a concerted bond switching mechanism for the oxygen-oxygen bond formation coupled with one electron transfer for water oxidation in the oxygen-evolving complex of photosystem II, *Mol. Phys.* 2018, 1-35.
- [7] T. Tokiwa*, M. Shoji*, V. Sladek, N. Shibata, Y. Higuchi, K. Kataoka, T. Sakurai, Y. Shigeta, F. Misaizu, Structural Changes of the Trinuclear Copper Center in Bilirubin Oxidase upon Reduction, *molecules*, 24(1), 76-87, 2019.
DOI:10.3390/molecules24010076
- [8] M. Shoji*, M. Kayanuma, Y. Shigeta, A practical approach for searching stable molecular structures by introducing repulsive interactions among walkers, *The Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 191(10), 1465-1473 (selected paper).
DOI:10.1246/bcsj.20180122
- [9] M. Shoji*, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima, K. Yamaguchi*, Concerted mechanism of water insertion and O₂ release during the S₄ to S₀ transition of the oxygen-evolving complex in photosystem II, *The Journal of Physical Chemistry B*, 122 (25),

pp 6491-6502 (2018). DOI:10.1021/acs.jpccb.8b03465

- [10] M. Shoji*, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima, K. Yamaguchi*, Nonadiabatic one-electron transfer mechanism for the O-O bond formation in the oxygen-evolving complex of photosystem II, *Chemical Physics Letters*, 698, 138-146 (2018). DOI:10.1016/j.cplett.2018.02.056

(2) 学会発表

- [11] ○ Mitsuo Shoji, "Glycine Formation Reactions via Non-Radical and Radical Processes in Interstellar Medium", 2019/3/26, Life3E'2019, Quy Nhon, Vietnam (oral).
- [12] ○ 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 Ca イオンの役割についての QM/MM 解析", 2019/3/17, 第99回日本化学会春季年会、甲南大学 岡本キャンパス 神戸市 兵庫県 (口頭).
- [13] ○ Mitsuo Shoji, "Water Insertion Reactions of the Oxygen-Evolving Complex of Photosystem II Revealed by QM/MM", 2019/2/14, Theoretical Chemistry Symposium 2019 (TCS2019), Birla Institute of Technology and Science, Pilani, Rajasthan, India (Oral, invited).
- [14] ○ Mitsuo Shoji, "A new approach for searching reaction pathways applicable to quantum mechanical calculations", 2018/12/4, CCS - EPCC Joint Workshop, Edinburgh Parallel Computing Centre (EPCC), University of Edinburgh (Oral).
- [15] ○ 庄司光男、村川武志、重田育照、岡島俊英, "銅含有アミン酸化酵素におけるセミキノンラジカル生成機構についての理論的解明", 2018/11/30, 第32回分子シミュレーション討論会、産業技術総合研究所、つくば、茨城 (ポスター)。
- [16] ○ 山崎笙太郎、宮川晃一、木間塚政人、庄司光男、原田隆平、重田育照、堂野主税、中谷和彦, "DNA-小分子複合体の構造安定性", 2018/11/29, 第32回分子シミュレーション討論会、産業技術総合研究所、つくば、茨城 (ポスター)。
- [17] ○ 常盤恭樹、庄司光男、柴田直樹、樋口芳樹、片岡邦重、重田育照、美齊津文典, "QM/MM法によるビリルビンオキシダーゼの三核銅中心における構造変化に関する理論的研究", 2018/11/29, 第32回分子シミュレーション討論会、産業技術総合研究所、つくば、茨城 (ポスター)。
- [18] ○ M. Shoji, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima, K. Yamaguchi, "Water insertion reactions in the oxygen-evolving complex of photosystem II revealed by QM/MM calculations" 2018/10/31, ICPAC Langkawi 2018, Langkawi Island, Malaysia (oral invited).
- [19] ○ M. Shoji, H. Isobe, Y. Shigeta, T. Nakajima, K. Yamaguchi, "QM/MM study on the O₂ formation and O₂ release mechanism in the oxygen-evolving complex of photosystem II" 2018/9/16, the 56th Annual Meeting of The BioPhysical Society of Japan, Okayama University, Okayama (oral).

- [20]○M.Shoji, H.Isobe, Y.Shigeta, T.Nakajima, K.Yamaguchi,"QM/MM study on the S state transitions of the oxygen-evolving complex in photosystem II" 2018/8/3, the 43rd International Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), Sendai, Miyagi (oral invited).
- [21]○庄司光男、分子構造および反応機構探索アルゴリズムの新展開、第18回日本蛋白質科学会年会、2018/6/26、新潟、新潟（ポスター）。○M.Shoji, M.Kayanuma, Y.Shigeta, "A new algorithm searching stable molecular structures and reaction pathways by introducing repulsive interactions among walkers" 2018/6/20, ICQC 2018, Menton, France (Poster).
- [22] ○ M.Shoji, M.Kayanuma, H.Kitoh-Nishioka, Y.Shigeta, "A new approach for searching stable molecular structures by introducing repulsive interactions among walkers", 7thJCS, 2018/5/21-24, Prague, Czech Republic (Poster).
- [23]○庄司光男、常盤恭樹、山崎笙太郎、栢沼愛、重田育照、"分子構造探索および反応経路探索のための新手法(GLAS 法)の提唱"、2018/5/16、第21回理論化学討論会、岡崎カンファレンスセンター、岡崎（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
COMA	○	104,000	95,040
Oakforest-PACS	○	107,160	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。