

平成 21 年 5 月 21 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18350088
 研究課題名（和文） 量子化学計算による生物無機化学の新たな展開
 研究課題名（英文） New Development of Bioinorganic Chemistry from Quantum Chemical Calculations

研究代表者

吉澤 一成（YOSHIZAWA KAZUNARI）
 九州大学・先導物質化学研究所・教授
 研究者番号：30273486

研究成果の概要：量子化学計算により金属酵素の構造と反応性について研究を行った。とくに、量子力学と分子力学を組み合わせ、いわゆる QM/MM 法により、チロシナーゼや B12 関連酵素、ピオチンカーボキシラーゼの全原子計算を行い、これらの酵素の反応機構を解明した。さらに、人工錯体による窒素分子の活性化の機構について研究を行い、これを明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	7,800,000	2,340,000	10,140,000
2007年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生物無機化学

キーワード：量子化学、生物無機化学、金属酵素、反応機構、密度汎関数法

1. 研究開始当初の背景

生物無機化学は酵素のモデル構造の合成とその反応性の研究に支えられてきた。これまで、この分野における理論研究の例はあまり多くなかった。最近の生物無機化学の研究では、酵素モデルを用いた研究から全タンパクを対象とした研究へと移行しつつある。本研究では活性中心に量子力学計算を割り当て、周辺タンパクに分子力学計算を割り当てることにより、数万原子からなる酵素反応の全原子シミュレーションを行う。酵素の活性構造と反応性の相関を解明するためには、実験的研究のみならず計算量子化学の果たす役割が重要であると認識されている。このような金属酵素全体の高精度計算シミュレ

ーションは世界的に見てもその実例は極めて少ない。この手法を用いれば X 線構造解析の行われていない酵素についても 3 次元構造を得ることができる。生物無機化学の更なる発展にとって、このような大規模理論計算から新たな研究の展開を計ることは有意義であると考えられる。

2. 研究の目的

生物無機化学は化学と生物学の境界に位置する最先端科学分野である。呼吸、代謝、窒素固定、光合成、発生、神経伝達、筋収縮、シグナル伝達、毒物に対する生体防御など、

重要な生体内化学反応には遷移金属イオンが多くの場合関与している。最近、量子化学計算から生物無機化学にアプローチすることが可能になりつつある。とくに、不安定な中間体や遷移状態に関する情報を実験から得るには困難を伴うことから、反応機構を論ずる上での量子化学計算の重要性は増していると言える。10年前から世界に先駆けてこれらの課題に取り組んできた我々の成果をますます発展させ、世界における量子生物無機化学の拠点形成のために本研究を立案するに至った。本研究の目的は酵素の全原子（～数万原子）を含む高精度の大規模量子化学計算を実行し、実験研究者と同じ視点から活性構造と反応機構に関する考察を行うことにある。

3. 研究の方法

世界に先駆けてこれらの課題に取り組んで得た、我々の成果はこの分野に少なからぬ影響を与えている。これまでは主として密度汎関数法を用いた大規模な高精度計算を行ってきたが、酵素は数万原子程度の大きな系であり、活性構造や化学反応経路の追跡を現実レベルで行うことは困難であった。酵素反応で重要な役割を果たす周辺環境の効果を見るために、本研究では量子力学/分子力学計算を用いる。

4. 研究成果

メラニン¹は生体内で紫外線を吸収し、細胞を保護する働きをする重要な色素である。このメラニン生成は、まず、チロシンがチロシナーゼ (EC 1.14.18.1) によりドーパキノンに転化されることで開始する。ドーパキノンは化学的反応性が高いので、酵素の力を借りる事なく次々と酸化、重合しメラニンとなる。このように、チロシナーゼはチロシンをドーパキノンに転化させる役割を持つメラニン合成に必要な酸化酵素である。最近、杉山らがチロシナーゼの結晶化に成功し、X線結晶構造の解析により酵素の三次元構造を明らかにした。これにより、チロシナーゼの精密なモデル化が可能となり、理論的解析へのアプローチが可能となった。本研究の目的は、チロシナーゼによるチロシン・ドーパキノン転化反応について、量子化学計算を用い理論的に解析することである。杉山らにより得られたチロシナーゼのX線結晶構造をもとに大規模な計算モデルを構築し、エネルギー論的に有利な反応経路の探索研究を行った。

チロシナーゼのX線結晶構造をもとに計算モデルを構築した。まず、酵素反応とは直接

関係しない ORF タンパクと硝酸イオンは除外した。次に、X線結晶構造には水素原子が含まれていないため、CHARMM プログラムを用いて水素の添加および構造緩和を行った。以上の方法で作成した酵素の原子数は約4300個であり、活性サイトの原子数は約100個である。酵素全体を、量子力学計算のみで計算するのは非常に困難である。そのため、量子力学計算(QM法)と分子力学計算(MM法)を組み合わせたQM/MM法²の一種であるONIOM法を用いた。MM領域の分子力場としてAmber力場を用い、QM領域はB3LYP法を用いた。

図1にQM/MM計算から求められた反応過程を示す。まずはじめに、チロシンからプロトン移動が起こって活性サイトに結合し、その後、O-O結合の開裂が起こるこの過程が反応の律速段階になると予想される。さらに生じたフェノキシラジカルと架橋酸素が結合しC-O結合ができる。最後にプロトン移動がヒスチジン配位子を介して起こり、ドーパキノンが生成する。

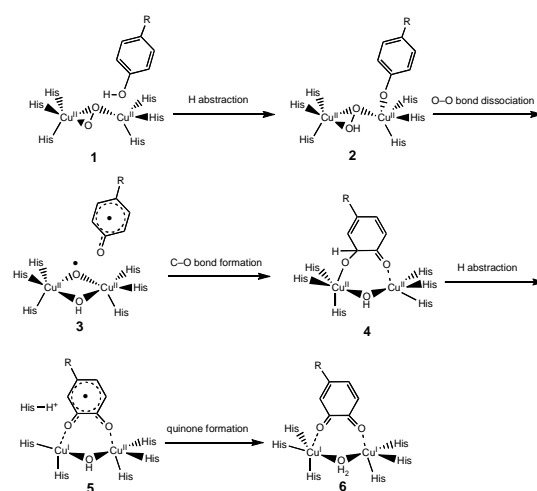


図 1. 量子化学計算により求めたチロシナーゼの反応機構。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 19件)

"Theoretical Analysis of the Reaction Mechanism of Biotin Carboxylase"
Y. Ito, H. Kondo, Y. Shiota, and K. Yoshizawa,
Journal of Chemical Theory and Computation,
4, 366-374(2008)

"Synthesis and Characterization of Novel Ferrocene-Containing Pyridylamine Ligand and Their Ruthenium(II) Complexes: Electronic Communication through Hydrogen-bonded Amide Linkage"

T. Kojima, D. Noguchi, T. Nakayama, Y. Inagaki, Y. Shiota, K. Yoshizawa, K. Ohkubo, and S. Fukuzumi, *Inorganic Chemistry*, 47, 886-895 (2008)

"Silicon-Carbon Unsaturated Compounds. 74. Thermal Behavior of 1-Silacyclobut-3-enes Generated from the Reaction of Acylpolysilanes with tert-Butylacetylene"

A. Naka, S. Motoike, N. Senbu, J. Ohshita, A. Kunai, K. Yoshizawa, and M. Ishikawa, *Organometallics*, 27, 2750-2755 (2008)

"DFT Study on Chemical N₂ Fixation by Using a Cubane-Type RuIr₃S₄ Cluster: Energy Profile for Binding and Reduction of N₂ to Ammonia via Ru-N-NH_x (x = 1-3) Intermediates with Unique Structures"

H. Tanaka, H. Mori, H. Seino, M. Hidai, Y. Mizobe, and K. Yoshizawa, *Journal of the American Chemical Society*, 130, 9037-9047 (2008)

"Rutenium-Catalyzed Selective and Efficient Oxygenation of Hydrocarbons with Water as an Oxygen Source"

Y. Hirata, T. Kojima, Y. Mizutani, Y. Shiota, K. Yoshizawa, and S. Fukuzumi, *Angewandte Chemie International Edition*, 47, 5772-5776 (2008)

"Orbital Views of the Electron Transport in Molecular Devices"

K. Yoshizawa, T. Tada, and A. Staykov, *Journal of the American Chemical Society*, 130, 9406-9413 (2008)

"Mechanism and Kinetics of Cyanide Decomposition by Ferrate"

T. Kamachi, T. Nakayama, and K. Yoshizawa, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 81, 1212-1218 (2008)

"Theoretical Study of Long-Range Electron Transport in Molecular Junctions"

D. Nozaki, Y. Girard, and K. Yoshizawa, *Journal of Physical Chemistry C*, 112, 17408-17415 (2008)

"Combined Experimental and Theoretical Approach to Understand the Reactivity of a Mononuclear Cu(II)-Hydroperoxo Complex in

Oxygenation Reactions"

T. Kamachi, Y.-M. Lee, T. Nishimi, J. Cho, K. Yoshizawa, and W. Nam, *Journal of Physical Chemistry A*, 112, 13102-13108 (2008)

"Quantum Chemical Approach to the Mechanism for the Biological Conversion of Tyrosine to Dopaquinone"

T. Inoue, Y. Shiota, and K. Yoshizawa, *Journal of the American Chemical Society*, 130, 16890-16897 (2008)

"Theoretical Study of the Direct Synthesis of H₂O₂ on Pd and Pd/Au Surfaces"

A. Staykov, T. Kamachi, T. Ishihara, and K. Yoshizawa, *Journal of Physical Chemistry C*, 112, 19501-19505 (2008)

"Comparison of the Reactivity of Bis(μ -oxo)Cu^{II}Cu^{III} and Cu^{III}Cu^{III} Species to Methane"

Y. Shiota and K. Yoshizawa, *Inorganic Chemistry*, 48, 838-845 (2009)

"Photochemical Reversibility of Ring-Closing and Ring-Opening Reactions in Diarylperfluorocyclopentenes"

A. Staykov and K. Yoshizawa, *Journal of Physical Chemistry C*, 113, 3826-3834 (2009)

"Orbital View Concept Applied on Photoswitching Systems"

Y. Tsuji, A. Staykov, and K. Yoshizawa, *Thin Solid Films*, in press (2009)

"DFT Study on the Mechanism of N-N Bond Cleavage by a Bis(μ -hydrido)diniobium Complex"

H. Tanaka, Y. Shiota, T. Matsuo, H. Kawaguchi, and K. Yoshizawa, *Inorganic Chemistry*, 48, 3875-3881 (2009)

"What is the Identity of the Metal Ions in the Active Sites of Coenzyme B₁₂-Dependent Diol Dehydratase? A Computational Mutation Analysis"

T. Kamachi, M. Takahata, T. Toraya, and K. Yoshizawa, *Journal of Physical Chemistry B*, 113, in press (2009)

"Bistability of Magnetization without Spin-Transition in a High-Spin Cobalt(II) Complex due to Angular Momentum Quenching"

G. Juhász, R. Matsuda, S. Kanegawa, K. Inoue, O. Sato, and K. Yoshizawa, *Journal of the American Chemical Society*, 131, 4560-4561

(2009)

"Catalytic Mechanism of Fluoroacetate Dehalogenase: Computational Exploration of the Biological Dehalogenation"

T. Kamachi, T. Nakayama, O. Shitamichi, K. Jitsumori, T. Kurihara, N. Esaki, and K. Yoshizawa, *Chemistry-A European Journal*, in press (2009).

「人工変異酵素の設計と機能制御を目指して」吉澤一成、触媒、50(7)、608-613 (2008) .

[学会発表](計30件)

"量子化学計算による酵素化学反応へのアプローチ"
九州大学情報基盤センターセミナー、2008年4月25日、福岡 .

"Quantum Chemical Approach to Bioinorganic Chemistry: Structure-Reactivity Relationship in Enzymatic Reactions"
The 2nd International Symposium on "Molecular Theory for Real Systems", Aug. 4-6 2008, Okazaki, Japan.

"Computational Mutation Analysis of Coenzyme B₁₂-Dependent Diol Dehydratase"
The Eighth Triennial Congress of the World Association of Theoretical and Computational Chemists (WATOC 2008), September 14-19, 2008, Sydney, Australia.

"量子輸送現象における軌道理論"
分子科学討論会、2008年9月24-27日、福岡 .

"QM/MM Study of the Catalytic Mechanism of Tyrosinase"
The Fourth Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC IV), November 10-13, 2008, Jeju, Korea.

"Quantum Chemical Study on the Biological Conversion of Tyrosine to Dopamine"
The IUMRS International Conference in Asia 2008, December 9-13, 2008, Nagoya, Japan.

"QM/MM Study of Tyrosinase: Structure and Catalytic Mechanism"
International Symposium of Chemistry of Reductases II, January 14-16, 2009, Nagoya University, Japan .

"量子輸送現象における軌道理論"
大学間連携事業シンポジウム、2009年1月23-24日、名古屋大学 .
その他 22件

[図書](計1件)

Yoshizawa, K. Methane Hydroxylation by First Row Transition Metal Oxides
Morokuma, K.; Musaev, D. G. Ed.; Computational Modeling of Principles and Mechanisms of Transition Metal-Based Homogeneous Catalytic Processes; Wiley-VCH, 2008.

[その他]

ホームページ等
<http://trout.scc.kyushu-u.ac.jp/yoshizawaJ/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉澤 一成 (YOSHIZAWA KAZUNARI)
九州大学・先導物質化学研究所・教授
研究者番号：30273486

(2) 研究分担者

塩田 淑人 (SHIOTA YOSHIHITO)
九州大学・先導物質化学研究所・助教
研究者番号：70335991

(3) 連携研究者

蒲池 高志 (KAMACHI TAKASHI)
九州大学・先導物質化学研究所・学術研究員
研究者番号：40403951