

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21350010

研究課題名（和文） タンパク質・溶媒場における化学反応の自由エネルギー面

研究課題名（英文） Free energy surfaces of chemical reactions in solution and protein environments

研究代表者

山本 武志（YAMAMOTO TAKESHI）

京都大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：30397583

研究成果の概要（和文）：本研究では、溶液内やタンパク質における化学反応を自由エネルギー面に基づいて調べるための方法論の開発と応用を行った。まず自由エネルギー面を量子化学と統計力学に基づいて定量的に計算するための方法論の開発を行い、その精度と信頼性について検証した。得られた方法を溶液やタンパク質中の化学反応に適用し、分子環境が反応の自由エネルギー面に及ぼす影響について調べた。次に、凝縮相における光励起反応を自由エネルギー面における最低エネルギー円錐交差として調べる方法を提案し、溶液内光反応に応用した。さらに電子分極の効果を定量的に記述するため、タンパク質の新しい分極可能分子力場を構築した。また、溶媒の電子分極効果をあらわに取り込める効率的な QM/MM 自由エネルギー法を開発し、様々な系に応用することで、反応性に対する電子分極の効果を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：New methods have been developed to calculate the free energy surface of chemical reactions in solution and protein environments. Ab initio quantum chemistry and statistical mechanics have been combined to accurately evaluate the free energy of reactions at the molecular level. The obtained methods were applied to a variety of condensed-phase reactions to obtain physical insight into the environmental effects on chemical reactivity. A new method for locating conical intersection in solution have been proposed and applied to photochemical reactions in solution. Finally, the effect of electronic polarization was studied by developing a new polarizable molecular mechanical force field of proteins. An efficient QM/MM free energy method was also developed to take into account the electronic polarization effect of solvent.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2010 年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2011 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
年度			
総計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：溶液反応、酵素反応、励起状態、自由エネルギー、QM/MM 法

1. 研究開始当初の背景

凝縮相中の化学反応を量子化学や統計力学に基づいて定量的に調べることは、計算コストの問題から非常に困難な課題であった。このため、誘電体モデルのような簡単なモデルが用いられることが多かったが、反応系と環境の分子論的な相互作用が記述出来ないことから、定量的には不満が残るものであった。このため、溶媒やタンパク環境を分子レベルで記述し、かつ溶質を高精度な量子化学で扱える新しい自由エネルギー計算法が望まれていた。このような背景から、申請者らは溶液の積分方程式理論と溶質の電子状態理論をセルフコンシステントに組み合わせる方法 (RISM-SCF モデル) を開発し、様々な溶液反応に適用してきた。RISM-SCF 法は均一系反応では大きな成功を収めてきたが、酵素反応を含む不均一な系の反応に適用出来ないことや、光化学反応を調べることが出来ないなどの制限があるものであった。

2. 研究の目的

酵素反応をはじめとする生体内反応や溶液内での化学反応の機構とダイナミクスを解明することは、現在の理論化学研究の最も重要な課題の一つである。これら凝集系における化学反応の機構を論じるには、対象とする系の自由度が膨大な数になるため、反応場としての溶媒やタンパク質の熱揺らぎについて平均を取った自由エネルギー面の構築が不可欠である。また、反応速度や電子状態間の非断熱遷移を取り扱うためには、反応場の熱平衡分布から導かれる平衡自由エネルギー面だけではなく、非平衡分布に対応する自由エネルギー面を求めることも必要である。本研究課題では、申請者らがこれまで開発してきた溶液内化学反応の自由エネルギー面の構築法をさらに発展させ、酵素反応を含む不均一な系の化学反応・分子過程に応用出来る新しい方法を開発するとともに、様々な系への応用を通じて環境が反応系に及ぼす影響を調べることを目的としている。

3. 研究の方法

不均一な環境化での化学反応の自由エネルギー面を定量的に計算することを目的として、以下の方法を開発した。

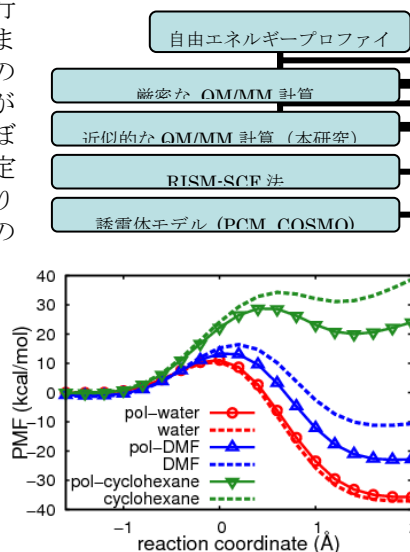
- (1) 自由エネルギーの変分法に基づいて QM/MM 自由エネルギーを効率良く計算するための方法の開発。
- (2) タンパク質の電子分極を顕わに記述するための新しい分子力場の開発。
- (3) 線形応答自由エネルギー法に基づいて、溶液中光化学反応の conical intersection を同定するための方法の開発。

4. 研究成果

(1) 自由エネルギーの変分法に基づいて QM/MM 自由エネルギーを効率良く計算するための方法の開発と応用。

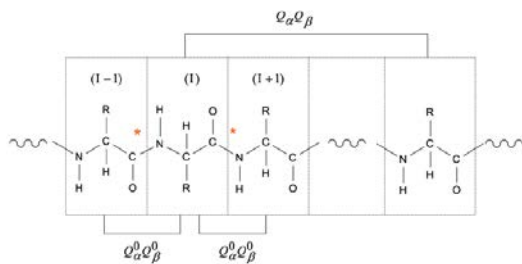
凝縮相反応の自由エネルギーを QM/MM 法で計算したいとすると、溶媒の様々な配置に対して溶質の電子状態計算を繰り返し行わなければならない、計算コストが非常に大きい。この問題を緩和するために、自由エネルギーの変分原理を用いて、QM/MM 自由エネルギーを効率よく求めるための方法論を開発した。この方法では、溶質の電子状態計算を溶媒の各配置について行う代わりに、溶媒が作る平均的な場のもとで溶質の電子状態計算を行う。また、これに対応して溶媒の分布を再計算し、溶質の電子状態と溶媒の分布がセルフコンシステントになるようにする。この方法では、電子状態計算の回数はたかだか数十回で済むため、厳密な QM/MM サンプリング(数万回の電子状態計算を必要とする)に比べると、計算コストが格段に小さくなる。また、ベンチマーク系を用いたテスト計算から、得られる自由エネルギー曲面は厳密な QM/MM 計算の結果と非常によく一致することを示すことが出来た。概念的には、上の方法は厳密な QM/MM 法と従来の近似的な方法(誘電体モデルや RISM-SCF 法など)の中間的な方法と言える。必要な電子状態計算の回数が少ないことから、より信頼性の高い電子状態理論(MP2法や CCSD(T)法など)を用いて自由エネルギー計算を行うことが出来る。このような特性を生かして、従来計算が困難であった溶液中リン酸エステルの反応自由エネルギーなどの計算を行なった。また、溶媒の電子分極が反応に及ぼす影響を定量的に取り込むための

方法を
開発し、
様々な
溶媒中
での反
応に適
用した。



(2) Charge Response Kernel (CRK)を用いたタンパク質の分極可能分子力場の構築

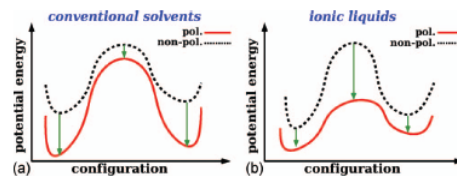
電子分極の効果を分子力場に含めるための方法の一つとして Charge Response Kernel (CRK)モデルがある。本研究では、ポリペプチドやタンパク質を記述するための分極可能分子力場を CRK モデルに基づいて構築した。20種類のアミノ酸残基に対して MP2 レベルの電子状態計算を行い、対応する CRK 行列(部分電荷の外場に対する応答を記述する行列)を精度良く求めた。こうして得られた各アミノ酸の CRK 行列を、既存の AMBER99 (non-polarizable) force field の非静電的ポテンシャル項と組み合わせることによって、タンパク質の分極可能力場を構築した。その際、2面角のパラメタについて再調整を行った。得られた分極可能力場を用い、溶液中における alanine tetra・penta peptide の分子動力学計算を行った。また、赤外スペクトルを計算し、実験結果との比較を行った。さらに、Met-Enkephalin 分子の水中における自由エネルギー計算を行い、extended form と compact form を結ぶ自由エネルギーバリアが電子分極によって低下することを示した。



(3) 通常液体とイオン液体における電子分極効果の系統的研究

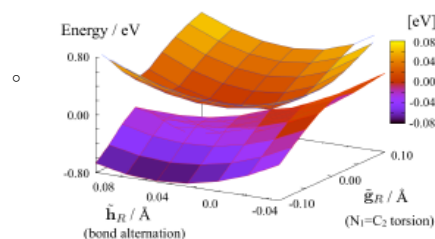
定性的に異なる液体に対して、電子分極がどのような影響を与えるかを系統的に調べた。ここではプロトン性溶媒として水とメタノール、非プロトン性溶媒としてアセトニトリル、イオン液体としてイミダゾール系のものを扱った。電子分極を含める方法としては Charge Response Kernel (CRK)モデルを用いた。中性分子から成る溶媒(水など)の分子動力学(MD)計算では、電子分極を含めると分子の運動が遅くなった。これは局所的な双極子相互作用や水素結合が電子分極のない場合に比べて強くなるためと理解出来る。一方で、イオン液体の MD 計算では、電子分極を含めるとイオンの運動が速くなった。これは、イオン上の部分電荷が電子分極によって配置することにより、局所的な電荷の中性化

が進むためと考えられる。この現象をより詳しく見るため、電子分極のエネルギーを分子ごとに実効的に分解し、その統計分布をプロットし、局所的なポテンシャル曲面が電子分極によってどのように変化するかを調べた。その結果、中性分子からなる溶媒では、ポテンシャルの低い部分が電子分極でより安定化され、分子運動のエネルギー障壁が正味でより高くなること、一方イオン液体の場合には、ポテンシャルの高い部分が電子分極で安定化され、イオン運動のエネルギー障壁が正味でより低くなることが分かった。これは、分子動力学計算で見た分子・イオンの加速・減速のパターンと定性的によく一致している。



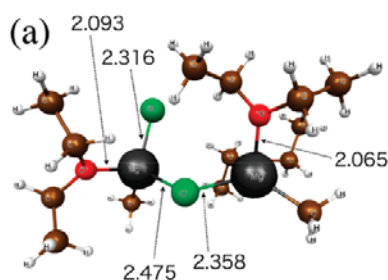
(4) 溶液中円錐交差を求める方法の開発とプロトン化シッフ塩基への応用

溶液中の光化学反応では、溶媒の配置によって溶質の MECI の位置は統計的に揺らいでいる。本研究では、そのような統計的に揺らぐ MECI を、各電子励起状態に付随する非平衡自由エネルギー曲面間の MECI を通じて特徴づけることで、溶液中励起分子の失活過程を調べた。励起状態では動的電子相関の効果が非常に大きい場合があるため、ここでは MS-CASPT2 レベルで非平衡自由エネルギー曲面間の MECI を求めるための方法を開発した。また解析的な自由エネルギー微分と interstate coupling vector を導出した。次に、この方法をメタノール中プロトン化シッフ塩基の cis-trans 光異性化反応に適用した。その結果、動的電子相関によって S1 状態のポテンシャル面が大きく下がること、溶液中では末端 CN2 重結合がねじれることによって MECI が強く安定化されること(気相中では不安定)などが分かった。



(5) ジエチルエーテル中 Grignard 反応のメカニズム

Grignard 試薬である CH_3MgCl および CH_3MgBr のジエチルエーテル溶液中での平衡およびアセトンとの反応について理論的に調べた。溶液中における反応自由エネルギー曲面の計算には、Reference interaction site model self-consistent field with 2nd-order Moller-Plesset perturbation (RISM-MP2)法を用いた。この方法は、従来の RISM-SCF 法を拡張したものであり、動的電子相関の効果を 2 次の摂動論のレベルで取り込んでいる。また、森によって開発された RISM-MP2 法の解析的自由エネルギー微分を用いて、自由エネルギー面における構造最適化を行った。ジエチルエーテル溶媒は金属マグネシウムに非常に強く配位するため、反応基質に加え、マグネシウムに配位する溶媒まで量子化学計算に含めるクラスターモデルを採用した。溶媒のマグネシウムへの配位エネルギーは MP2 レベルで 50 kcal/mol、Hartree-Fock レベルで 40 kcal/mol 程度と非常に大きいため、これらの溶媒分子は量子化学的に取り扱う必要がある。溶液中での平衡を調べたところ、従来考えられていた cyclic dimer よりも linear dimer の方がより安定であり、monomer pair と同程度の割合で溶液中に存在することが示唆された。Grignard 試薬とアセトンの反応については、monomer, linear dimer, cyclic dimer を経由する反応経路を調べた。その結果、反応エネルギーバリアは linear dimer を経由する経路で最も低くなることが分かった。



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)

① H. Nakano, T. Yamamoto,
"Accurate and Efficient Treatment of Continuous Solute Charge Density in the Mean-Field QM/MM Free Energy Calculation", Journal of Chemical Theory and Computation,

9, 188-203 (2013) 査読有
dx. doi.org/10.1021/ct300831t

② H. Nakano, T. Yamamoto,
"Including charge penetration effects into the ESP derived partial charge operator", Chemical. Physics. Letters. 546, 80-85 (2012) 査読有
dx. doi.org/10.1016/j.cplett.2012.07.046

③ H. Nakano, T. Yamamoto,
"Variational calculation of quantum mechanical/molecular mechanical free energy with electronic polarization of solvent", The Journal of Chemical Physics, 136, 134107 (2012) 査読有
doi: 10.1063/1.3699234

④ T. Inagaki, T. Yamamoto, S. Kato,
"Proton-Coupled Electron Transfer of the Phenoxy/Phenol Couple: Effect of Hartree-Fock Exchange on Transition Structures", Journal of Computational Chemistry, 32, 3081-3091 (2011) 査読有
DOI: 10.1002/jcc.21892

⑤ Y. Ogihara, T. Yamamoto, S. Kato,
"Ab Initio Trajectory Study on Triplet Ketene Photodissociation via Statistical Sampling of the Crossing Seam", Journal of Chemical Theory and Computation 7, 2507-2519 (2011) 査読有
DOI: 10.1021/ct200367y

⑥ Y. Ogihara, T. Yamamoto, S. Kato,
"Multireference coupled cluster calculation of the dissociation energy profile of triplet ketene", Chemical. Physics. Letters. 511, 28-32 (2011) 査読有
DOI: 10.1016/j.cplett.2011.05.067

⑦ S. Aono, T. Yamamoto, S. Kato,
"Solution reaction space Hamiltonian based on an electrostatic potential representation of solvent dynamics" The Journal of Chemical Physics, 134, 144108 (2011) 査読有
DOI: 10.1063/1.3572057

⑧ K. Ando, S. Hayashi, S. Kato,
"A theoretical study on excited state double proton transfer reaction of a 7-azaindole dimer: an ab initio potential energy surface and its empirical valence bond model", Physical Chemistry Chemical Physics, 13, 11118-11127 (2011) 査読有
DOI: 10.1039/c1cp20420c

- ⑨ K. F. Wong, J. L. Sonnenberg, F. Paesani, T. Yamamoto, J. Vanicek, W. Zhang, H. B. Schlegel, D. A. Case, T. E. Cheatham, W. H. Miller, G. A. Voth, "Proton Transfer Studied Using a Combined Ab Initio Reactive Potential Energy Surface with Quantum Path Integral Methodology", *Journal of Chemical Theory and Computation*, 6, 2566–2580 (2010) 査読有 DOI: 10.1021/ct900579k
- ⑩ Y. Ogihara, T. Yamamoto, S. Kato, "Quantum Mechanical Reaction Probability of Triplet Ketene at the Multireference Second-Order Perturbation Level of Theory", *Journal of Physical Chemistry A*, 114, 9981–9990 (2010) 査読有 DOI: 10.1021/jp104089m
- ⑪ H. Nakano T. Yamamoto, S. Kato, "A wave-function based approach for polarizable charge model: Systematic comparison of polarization effects on protic, aprotic, and ionic liquids", *The Journal of Chemical Physics*, 132, 044106 (2010) 査読有 DOI: 10.1063/1.3298873
- ⑫ S. Aono, N. Minezawa, S. Kato, "Electronic spectra of coumarin-151 in polar solvents: Linear response free energy approach", *Chemical Physics Letters*, 492, 193–197 (2010) 査読有 DOI: 10.1016/j.cplett.2010.04.045
- ⑬ S. Aono, S. Kato, "Proton Transfer in Phenol-Amine Complexes: Phenol Electronic Effects on Free Energy Profile in Solution", *Journal of Computational Chemistry*, 31, 2924–2931 (2010) 査読有 DOI: 10.1002/jcc.21588
- ⑭ T. Mori, K. Nakano, S. Kato, "Conical intersections of free energy surfaces in solution: Effect of electron correlation on a protonated Schiff base in methanol solution", *The Journal of Chemical Physics*, 133, 064107 (2010) 査読有 DOI: 10.1063/1.3472033
- ⑮ Y. Nishihara, S. Kato, S. Hayashi, "Protein Collective Motions Coupled to Ligand Migration in Myoglobin", *Biophysical Journal*, 98, 1649–1657 (2010) 査読有 DOI: 10.1016/j.bpj.2009.12.4318

- ⑯ T. Mori, S. Kato, "Dynamic electron correlation effect on conical intersections in photochemical ring-opening reaction of cyclohexadiene: MS-CASPT2 study", *Chemical Physics Letters*, 476, 97–100 (2009) 査読有 DOI: 10.1016/j.cplett.2009.05.067
- ⑰ T. Mori, S. Kato, "Grignard Reagents in Solution: Theoretical Study of the Equilibria and the Reaction with a Carbonyl Compound in Diethyl Ether Solvent", *Journal of Physical Chemistry A* 113, 6158–6165 (2009) 査読有 DOI: 10.1021/jp9009788
- ⑱ M. Isegawa, S. Kato, "Polarizable Force Field for Protein with Charge Response Kernel", *Journal of Chemical Theory and Computation*, 5, 2809–2821 (2009) 査読有 DOI: 10.1021/ct900295u
- ⑲ J. Tsutsumi, H. Yoshida, R. Murdey, S. Kato, N. Sato, "An Accurate Calculation of Electronic Contribution to Static Permittivity Tensor for Organic Molecular Crystals on the Basis of the Charge Response Kernel Theory", *Journal of Physical Chemistry A*, 113, 9207–9212 (2009) 査読有 DOI: 10.1021/jp903420w

[学会発表] (計 15 件)

- ① T. Inagaki and T. Yamamoto, "Large tunneling effects in hydrogen transfer reaction: Antioxidant reaction of ubiquinol and vitamin E", *International Symposium "The Advent of quantum and classical dissipative theory"* Institute of Molecular Science, Okazaki, Japan (March 7, 2013)
- ② 稲垣泰一、山本武志
「溶液内水素移動反応のトンネリング効果: ユビキノール-ビタミンEの抗酸化反応」
第6回分子科学討論会2012 (東京、2012年9月)
- ③ T. Inagaki, T. Yamamoto
"Large tunneling effects in solution-phase H transfer reaction: Antioxidant reaction of ubiquinol and vitamin E derivative", 14th International

Congress of Quantum Chemistry (Colorado, USA, 2012, June)

④ 山本武志、中農浩史

「MF-QM/MM 法による化学反応の自由エネルギー計算と溶液・酵素反応への応用」
第6回分子科学討論会 2012 (東京、2012年9月)

⑤ 中農浩史、山本武志

「QM/MM 計算における波動関数の統計揺らぎの効果と平均場近似の妥当性の検証」
第6回分子科学討論会 2012 (東京、2012年9月)

⑥ 中農浩史、山本武志

「平均場 QM/MM 法のより正確な計算手法の開発」第5回分子科学討論会 2011 (札幌、2011年9月)

⑦ 稲垣泰一、山本武志

「溶液内におけるフェノール誘導体の電子・プロトン移動反応の理論的研究」
第5回分子科学討論会 2011 (札幌、2011年9月)

⑧ 中野勝博、森俊文、林重彦、加藤重樹

「MS-CASPT2 法を用いたピリジンの超高速緩和過程についての理論的研究」
第5回分子科学討論会 2011 (札幌、2011年9月)

⑨ T. Inagaki, T. Yamamoto

“Free energy profile for the hydrogen transfer reaction of ubiquinol complex in ethanol”, 2011 KAIST-Kyoto University Chemistry Symposium (Korea, 2011)

⑩ 中農浩史、山本武志

「分極可能場と組み合わせた平均場 QM/MM 法による化学反応の自由エネルギー計算」
第4回分子科学討論会 2010 (大阪 2010年9月)

⑪ 稲垣泰一、山本武志、加藤重樹

「ユビキノール-トコフェロール間における水素移動反応の理論的研究」第4回分子科学討論会 2010 (大阪 2010年9月)

⑫ 安藤耕平、加藤重樹

「7-アザインドール二量体の励起状態ダブルプロトン移動反応における反応ダイナミクスの量子動力学法を用いた解析」
第4回分子科学討論会 2010 (大阪 2010年9月)

⑬ 中野勝博、森俊文、加藤重樹

「気相中におけるピリジンの超高速緩和過程についての理論的研究」第4回分子科学討論会 2010 (大阪 2010年9月)

⑭ 中農浩史、山本武志

「分極可能場と組み合わせた平均場 QM/MM 法による化学反応の自由エネルギー計算」
第13回理論化学討論会 (北海道、2010)

⑮ K. Ando, S. Kato

“Construction of The Potential Function for The Excited State Double Proton Transfer Reaction in 7-Azaindole Dimer”
XIIIth International Congress of Quantum Chemistry (Helsinki, 2009, June)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/riron/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 武志 (YAMAMOTO Takeshi)
京都大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号: 30397583

加藤 重樹 (KATO Shigeki)
(旧・研究代表者。2010年に逝去されたため、研究分担者であった山本が研究代表者を引継いだ。)
京都大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号: 20113425

(2) 研究分担者: なし

(3) 連携研究者: なし