

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05390

研究課題名(和文) 線形応答関数に基づく反応場計算スキームの開発と酵素の高効率化への応用

研究課題名(英文) Development of a computational method to design catalytic fields based on linear response function and its application to enzymes

研究代表者

山中 秀介 (Yamanaka, Shusuke)

大阪大学・理学研究科・准教授

研究者番号：10324865

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：結合次数の線形応答関数に基づいた全く新しい反応場設計法を開発した。具体的には、結合次数の線形応答関数に基づく新たな変分問題を提案し、基質内の形成もしくは解離させたい結合の結合次数を最大にするような外場を計算する方法を開発した。そして安息香酸の酸解離反応、プロテアーゼの加水分解反応、N-アセチルグルコサミン転移反応などの反応系に応用した。また、その過程で必要となった自由エネルギーの遷移状態を計算できる新たな方法も開発した。さらに、特定の結合の結合次数の増減を最大にする反応場だけでなく、基質を最も有効にトラップする反応場との重ね合わせが、酵素の高効率な触媒能の源であるという重要な知見を得た。

研究成果の概要(英文)：We developed a new method to design catalytic fields, which is based on linear response function of bond-order. Concretely, we proposed a new variational problem using linear response function of bond-order. By solving the problem, we can obtain the effective field which maximizes the deviation of the bond-order of a specific bond in the target substrate. We then applied the method to the acid dissociation reaction of benzoic acids, a hydrolysis reaction of a protease, and a transfer reaction of N-acetyl glucosamine. For the purpose, we have also developed a new method to determine transition states along the free-energy landscapes. Further, we have a clue to understand of fundamental understanding of enzyme mechanisms: the most effective fields in enzymes are the superpositions of the two fields, one to maximize the deviation of the bond-order, and another to trap the substrate.

研究分野：理論化学

キーワード：線形応答関数 反応場設計 結合次数 酵素 遷移状態

1. 研究開始当初の背景

ここ 10 年ほどで量子古典ハイブリッド分子動力学計算の発展もあり、実在系に近いモデルでの酵素反応シミュレーションが行われるようになってきた。しかし、モデルを実在系に近づければ近づけるほど計算コストが膨大なものとなり、実際、実在系志向で重要な成果をあげる計算の中には、京などスパコンを利用した計算が多く見られるようになってきた。もちろんスパコンなどの計算資源が、あまねく計算を行う研究者に利用可能な状況であれば良いのだが、現実はそうではない。一般の理論研究者に必要とされるのは、高精度高コスト実在系計算だけでなく、簡便に酵素を取り扱える方法であった。私の提案した結合次数の線形応答関数に基づく酵素反応場の設計という理論は、その端緒となるものと自負している。

2. 研究の目的

上述の通り、必要なのは簡便な酵素シミュレーション法である。特に酵素機構の解明と高効率化までがそのターゲットとなるような方法は、実在系志向シミュレーション花盛りの現在においても、そのサポートあるいは土台となりうると考えられる。ただ計算コストに関しては、極論としては、ノートパソコン 1 台でできる方法が理想である。この為、実在系志向を一旦捨て去り、基質にのみ依存した方法(周囲の環境は計算条件に含めない)を選択しなければならない。ただし、周囲の環境は、陰に(implicit に)計算に含めなければ、反応場(触媒)との相互作用による反応機構の理解や、反応場の設計はできない。そこで私は、結合次数の線形応答関数という、「implicit な外部からの摂動に対する基質の結合次数の揺らぎ」を表す量を定義し、それを外場をパラメータにし最大化する事で、反応を促進する場を計算する方法を開発した。

3. 研究の方法

結合次数の線形応答関数自体が第一原理計算では、これまで計算されてこなかった量であるので、それ自体もいくつか試行錯誤した。詳細は成果の論文(12), (19)参照。また、設計する外場としては、分子表面の閉曲面を採用した(下記研究成果に記載)。以上の方法を GAMESS に搭載し、各種化学反応の遷移状態の構造を対象に、その遷移状態で、反応を促進する場を計算した。ここで遷移状態をどう決めるか、が重要な問題となった(下記【研究の副産物的成果】参照)が、X 線構造、これまでに報告されている ab initio 計算による構造を当初用いて計算を進めた。

4. 研究成果

結合次数の線形応答関数に基づいた全く新しい反応場設計法を開発した。具体的には、結合次数の線形応答関数に基づく新たな変分問題を提案し、基質内の形成もしくは解離させたい結合の結合次数を最大にするような外場を計算する方法を開発した。基礎となる方法は課題申請時にすでに開発済みであ

ったが、反応場として、基質の基底関数展開を利用したものから、基質を囲む閉曲面上の場、という形に大幅に変更を行った。具体的には量子化学の誘電体近似に用いられる閉曲面上を我々のコードに搭載し、その閉曲面のプラスマイナスのクーロン場の大きさを、結合次数の変化が最大になるように決定するプログラムとして、GAMESS に搭載した。

応用計算としては、安息香酸の酸解離反応、プロテアーゼの加水分解反応、N アセチルグルコサミン転移反応などの反応系に応用した。また、その過程で必要となった自由エネルギーの遷移状態を計算できる新たな方法も開発した(安息香酸の酸解離反応のみ metadynamics と半経験的方法を組み合わせ描いた自由エネルギーの解離プロファイルから構造を決定したが、他は X 線構造や、さらにそこから第一原理計算を行い決定された他の研究者による構造を採用していた)。さらに、特定の結合の結合次数の増減を最大にする反応場だけでなく、基質を最も有効にトラップする反応場との重ね合わせが、酵素の高効率な触媒能の源であるという重要な知見を得た。

【残された課題】

ただ実は大きな問題も 2 点残っている。1 つは、上記研究成果にあげた(特定の結合の結合次数の増減を最大にする反応場)と(基質を最も有効にトラップする反応場)の重ね合わせこそが有効な酵素反応場であるという事実はまだ知見として確立するには多数の例証が必要な段階である。

また 2 つ目の残された問題は酸化還元反応であり、実際、酸化還元反応系の応用計算は完成していない。この理由は 2 つあり、当初予定していたグランドカノニカルアンサンブル法に基づく結合次数の線形応答関数が、基質の計算から反応場を計算するには適していなかった事、そして下記副産物的成果の研究に力をさいた事である。前者に関しては、いわば電子浴につけた基質の、電子数不定条件下での、結合次数の線形応答関数の開発には成功したのだが、それは異方も構造もない電子浴と、基質の HOMO/LUMO が電子を授受し合うという描像の関数であったので、分子系の酸化還元反応に特有な電子の授受の分子構造上のチャンネルが再現できなかった為であると考えられる。また酸化還元反応の遷移状態についてもその多くが遷移金属を含む触媒サイトとの相互作用によって決まる遷移構造でありエントロピーの効果も抜け落ちたものであり、構造信頼性の問題もあった。これについては下記方法で自由エネルギーの遷移状態構造を決定する事が可能になったので早期に解決を試みる。

【研究の副産物的成果】

また、上記との関連で非常に重要な副産物を得たというのも本研究課題の成果と言える。つまり、簡単に「酵素反応の基質の遷移状態構造」と言っても、それは実験的には

検出困難な構造であり、我々は既存の第一原理計算の結果などを参照しながら研究を行うほかなかった。しかしながら、そのような第一原理計算の結果はエントロピーの効果が含まれていない熱力学で言えば、自由エネルギーではない内部エネルギーの多次元構造での遷移状態である事が普通であり、上記酵素反応の本質を見極めるのにも、ちゃんと現実の、すなわち自由エネルギー(Potential Mean Force: PMF)の多次元空間内の遷移構造を使う必要があった。ところがそれ自体が未だ確立した方法がなかった為、我々は、具体的にはアンブレラ積分という自由エネルギー(PMF)の局所勾配、局所曲率が求められる方法と、前田・大野らが開発した絶対温度ゼロ度での反応経路自動探索法(GRRM 法：例えば S.Maeda et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 15, 3683 (2013))と組み合わせた、自由エネルギーでの反応経路自動探索法の開発を行った(下記「5. 主な発表論文」の論文 (1)と(2))。これは単独でも非常に重要な成果であると確信している。無論、今後も本研究課題を進展させていく(上記の解決など)にあたり、この方法は協力的な足場となる事は間違いない。

以上、当初の研究計画のうち酸化還元反応も含めた包括的な取り扱いには至らなかったという不足な点と、逆に副産物的成果として、自由エネルギー空間での遷移状態構造を効率的に探索する方法の確立という非常に大きな成果も得た。本テーマに関しては方法論の確立と反応場計算への応用まで完成しており、副課題に分割すると各々過不足はあるが、全体としては、概ねプロジェクトとして十二分な成果をあげたといえよう。

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) Automated Search of Minimum Free-Energy Path by Umbrella Integration, Yuki Mitsuta, Takashi Kawakami, Shusuke Yamanaka, Mitsutaka Okumura, J. Comp. Chem. in press. (査読あり)
- (2) Automated Exploration of Free Energy Landscapes Based on Umbrella Integration, Yuki Mitsuta, Takashi Kawakami, Mitsutaka Okumura, Shusuke Yamanaka, Int. J. Mol. Sci. 19 (2018) 937 (1-15). (査読あり)
- (3) Theory of chemical bonds in metalloenzymes XXI. Possible mechanisms of water oxidation in oxygen evolving complex of photosystem II, Kizashi Yamaguchi, Mitsuo Shoji, Hiroshi Isobe,

Shusuke Yamanaka, Takashi Kawakami, Satoru Yamada, Michio Katouda, Takahito Nakajima, Mol. Phys. 116 (2018) 717-745. (査読あり)

(4) Dielectric Jump and Negative Electrostriction in Metallosupramolecular Ionic Crystals, Satoshi Yamashita, Yasuhiro Nakazawa, Shusuke Yamanaka, Mitsutaka Okumura, Tatsuhiro Kojima, Nobuto Yoshinari, Takumi Konno, Sci. Rep. 8 (2018) 2606(1-8). (査読あり)

(5) Effects of halogens on interactions between a reduced TiO₂ (110) surface and noble metal atoms: A DFT study, K. Tada, H. Koga, A. Hayashi, Y. Kondo, T. Kawakami,

S. Yamanaka, M. Okumura, App. Surf. Sci. 411 (2017) 149-162. (査読あり)

(6) UNO DMRG Full Valence CI calculations of meta-benzynes. Revisit of seamless continuation from broken-symmetry to symmetry- adapted models for strongly correlated electron systems, T. Kawakami, T. Saito, S. Sharma, S. Yamanaka, S. Yamada, T. Nakajima, M. Okumura, K. Yamaguchi, Mol. Phys. 115 (2017) 2267-2284. (査読あり)

(7) Density functional study of the magneto-structural correlations of manganese complexes, [Mn₂O₂Hn(salpn)₂]⁺⁽²⁻ⁿ⁾ (n=0-2) from the viewpoint of the protonation modes of the bridging oxygen anions, K. Miyagawa, K. Komi, J. Ohnari, S. Maruyama, S. Yamanaka, T. Saito, T. Kawakami, K. Yamaguchi, M. Okumura, Polyhedron 136 (2017) 102-109. (査読あり)

(8) Assessment of semi-empirical molecular orbital calculations for describing magnetic interactions, T. Saito, T. Kitagawa, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura, Y. Takano, Polyhedron 136 (2017) 52-57. (査読あり)

(9) Quantum mechanics study on synthetic model of copper containing quercetin 2,4-dioxygenase, T. Numata, T. Saito, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura, Polyhedron 136 (2017) 45-51. (査

読あり)

- (10) Theoretical clarification of the co-existence of Cl effects on Au/TiO₂: The interaction between Au clusters and the TiO₂ surface, and the aggregation of Au clusters on the TiO₂ surface, K. Tada, H. Koga, A. Hayashi, Y. Kondo, T. Kawakami, S. Yamanaka, M. Okumura Bull. Chem. Soc. Jpn. 90 (2017) 506-519. (査読あり)
- (11) On the guiding principles for understanding of geometrical structures of the CaMn₄O₅ cluster in oxygen-evolving complex of photosystem II. Proposal of estimation formula of structural deformations via the Jahn-Teller effects, K. Yamaguchi, M. Shoji, H. Isobe, S. Yamanaka, Y. Umena, K. Kawakami, N. Kamiya, Mol. Phys. 115 (2017) 636-666. (査読あり)
- (12) Linear response function of bond-order, N. Suzuki, Y. Mitsuta, M. Okumura, S. Yamanaka, Int. J. Mol. Sci. 17 (2016) 1779(1-15). (査読あり)
- (13) 有限系における Nearsightedness of electronic matter, 満田祐樹、奥村光隆、山中秀介, アンサンブル, 18 (2016) 68-73. (査読なし)
- (14) Nearsightedness-related indices of finite systems based on linear response function: one-dimensional cases, Yuki Mitsuta, Shusuke Yamanaka, Toru Saito, Takashi Kawakami, Kizashi Yamaguchi, Mitsutaka Okumura, Haruki Nakamura, Mol. Phys. 114 (2016) 380-388. (査読あり)
- (15) Theoretical Investigation for Hetero-junction Effects in Polymer-stabilized Au Nano-cluster Catalysis: Difference in Catalytic Activity between Au:PVP and Au:PAA, Kohei Sakata, Yoshinori Atao, Kohei Tada, Hiroaki Koga, Shusuke Yamanaka, Takashi Kawakami, Toru Saito, Mitsutaka Okumura, Chem. Lett. 45 (2016) 344-346. (査読あり)
- (16) Theoretical Investigation on the Au-Anchor Site in Phosphate-Doped Au/Al₂O₃ Catalysts, Kohei Tada, Hiroaki Koga, Kohei Sakata, Atsushi

Oguni, Toru Saito, Takashi Kawakami, Shusuke Yamanaka, Mitsutaka Okumura, e-J. Surf. Sci. Nanotech. 13 (2015) 380-384. (査読あり)

- (17) Computational Study of Catalytic Reaction of Quercetin 2,4-Dioxygenase, Toru Sato, Takashi Kawakami, Shusuke Yamanaka, Mitsutaka Okumura, J. Phys. Chem. B, 119 (2015) 6952-6962. (査読あり)
- (18) On the guiding principles for lucid understanding of the damage-free S1 structure of the CaMn₄O₅ cluster in the oxygen evolving complex of photosystem II, Mitsuo Shoji, Hiroshi Isobe, Shusuke Yamanaka, Michihiro Suga, Fusamichi Akita, Jian-Ren Shen, Kizashi Yamaguchi, Chem. Phys. Lett., 627 (2015) 44-52.
- (19) Linear response function of the Mayer bond order: an indicator to describe intrinsic chemical reactivity of molecules, Shusuke Yamanaka, Yuki Mitsuta, Mitsutaka Okumura, Kizashi Yamaguchi, Haruki Nakamura, Mol. Phys. 113 (2015) 336-341.

〔学会発表〕(計6件)

- (1) Shusuke Yamanaka, Development of a new approach to design of catalytic fields, The 11th Japanese-Russian Workshop on “Open Shell Compounds and Molecular Spin Devices, 2017年11月14日, Awaji Yumebutai International Conference Center (招待講演)
- (2) Shusuke Yamanaka, How to model transition metal complexes for QM/MM calculations, International Conference of Molecular Based Magnets, 2016年09月06日 仙台区国際センター (ポスター発表)
- (3) Shusuke Yamanaka, Development of a new computational method to design catalytic fields, Japan-France-Spain Joint-Symposium on Theoretical and Computational Science of Complex Systems, 2016年10月26日, 京都大学 福井研究センター (招待講演)

(4) Shusuke Yamanaka, A new method for designing effective fields that mimic catalytic fields based on linear response function of bond order, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), 2015年12月18日, Hawaii (USA) (ポスター発表)

(5) Shusuke Yamanaka, Linear response function of bond-orders: An intrinsic property to describe chemical reactivities of molecules, 6th JCS International Symposium on Theoretical Chemistry, 2015年10月14日, Smolenice (Slovakia), (招待講演)

(6) 山中秀介, 結合次数の線形応答関数とその応用, 分子科学討論会, 2015年09月15日, 東京工業大学(東京都目黒区), (口頭発表)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山中 秀介 (Yamanaka, Shusuke)
大阪大学・理学研究科・准教授
研究者番号：10324865

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：

(4) 研究協力者 ()