

令和元年5月15日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2015～2018

課題番号：15KT0146

研究課題名(和文) 酵素特異反応における遷移状態支配因子の量子化学解明法の開発と反応経路制御への応用

研究課題名(英文) Quantum chemistry method to analyze important orbital interactions in enzymatic reactions for controlling their reaction path

研究代表者

折本 裕一 (ORIMOTO, YUICHI)

九州大学・グリーンアジア国際リーダー教育センター・助教

研究者番号：00398108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：酵素反応における「特異な遷移状態安定化」を軌道相互作用の観点から解明するための量子化学手法の構築を行った。軌道相互作用を定量評価できるスルースペース/ボンド(TS/TB)解析法を基盤として、遷移状態探索、振動解析、反応経路解析法と結合させた。さらに調整が必要だが、遷移状態構造・振動モード・反応経路への特定の相互作用の寄与を評価可能とした。巨大系への展開に向けO(N) Elongation法が生成する領域局在化分子軌道を基底としたTS/TB法を開発した。別途、メタロセンのモノマー選択性、セリンプロテアーゼのペプチド分解、リパーゼによるアルコール光学分割について遷移状態解析を行い知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電子相関効果を含めた相互作用解析法を基盤とした本手法は、遷移状態安定化や反応経路決定に重要な軌道相互作用を高精度に突き止める事ができる世界に類の無いアプローチである。超高精度O(N) ELG法との結合は開発中であるが、完成すれば酵素等の生体分子の遷移状態解析法として世界をリードできる。身近なPC上で酵素反応解析が可能となれば病気の原因解明や創薬の高速化、難病等に対してミクロな視点から解決の突破口となる事も期待できる。酵素反応に限らず、有機・無機の機能性高分子、触媒、レアメタルフリー材料等の開発における反応制御・設計に貢献でき、基礎研究から医薬学、産業分野の最前線まで広く波及効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：I aim to develop a new quantum chemistry method to estimate important orbital interactions in enzymatic reactions based on our developed through-space/bond (TS/TB) interaction analysis method. For the purpose, the TS/TB method was combined with methodologies for transition state search, frequency analysis and reaction coordinate analysis. Toward its application for larger systems, the RLMO-based TS/TB method was developed for analyzing interactions in the unit of region by using region localized molecular orbitals (RLMOs) generated during linear-scaling elongation method calculations. Separately, transition state analysis using model systems was performed to acquire knowledge on isoselectivity of metallocene, peptide-degrading serine protease, and enantioselective acyl-lipase.

研究分野：量子化学

キーワード：酵素触媒反応 遷移状態 軌道間相互作用 振動解析 反応経路解析 電子状態計算 スルースペース / ボンド相互作用 オーダーN Elongation法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酵素の触媒作用はその高い基質・反応特異性によって、生命維持に関わる複雑な化学反応を制御しており、酵素反応の理解は、難病や未知の伝染病等に対抗するために重要であり医薬学分野の緊急課題である。酵素反応は電子がつかさどる化学反応であり、その本質を知るには究極的には電子論からの視点が不可欠である。酵素と基質分子間の様々な軌道相互作用が複雑に絡み合った結果として「特異な遷移状態の安定化」、ひいては酵素反応の特異性が生み出されると考えられる。実験パラメータを用いず電子状態を厳密に求める非経験的方法 (ab initio 法) レベルで酵素反応を扱い、どのような軌道相互作用が反応特異性を生み出しているのかを明らかにできれば、課題解決に大きく貢献できる。しかし、反応解析に重要な電子相関効果を取り込みながら軌道相互作用を定量解析する方法は世界的にも確立していない。その上、非経験レベルの電子状態計算では系のサイズ N の 3~4 乗オーダー (手法によってはそれ以上) で爆発的に計算コストが増大するため、計算機の発達した現在においても酵素のような巨大系は扱えず、近似により精度を落とすしか方法がない。

このような状況の中、当グループでは非経験レベルの定量的軌道相互作用解析法として、ab initio Through-Space/Bond (TS/TB) 相互作用解析法 (引用文献) を開発してきた。人為的な基底関数の軌道収縮によって相互作用をカットしその寄与を定量評価する方法であり、電子相関効果を含めた解析法としては世界唯一の方法である。原子軌道 (AO) 積分レベルで相互作用をカットするため電子相関考慮時に相互作用カットの効果が正確に取り込まれ、また励起状態の解析も可能である。軌道の重なりによる空間的相互作用カットと同時に、軌道収縮で原子核上に局在化した点電荷が核電荷を遮蔽し、静電的相互作用についても適切にカットされる。

非経験レベルでの巨大系の電子状態計算について、1991 年より当グループで開発されてきた Elongation (ELG) 法 (引用文献) は、高分子の重合反応を計算機上で再現するように逐次的に電子状態を伸長する。精度を落とすことなく系のサイズ N の一次に正比例した計算時間で演算できる $O(N)$ 法であり、ランダム系、2~3 次元系にも適用できる (引用文献 (b))。ELG 法は従来法と比べて全エネルギーが $10^{-8} \sim 10^{-12}$ hartree/atom の誤差という超高精度演算を実現する。その上、超並列計算に頼ることなく 1 コアでも $O(N)$ を達成できる特長を持つ。

当該 TS/TB 解析法に遷移状態探索法、振動解析法、反応座標解析法を結合させ、さらに巨大系に向け ELG 法と結合できれば、酵素反応において着目している軌道相互作用がどのように遷移状態や反応経路に影響しているのかが定量的に分かるようになり、反応メカニズムの理解や反応制御につながると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、酵素反応を支配している軌道相互作用を明らかにする高信頼性・高効率な理論的遷移状態解明・反応設計手法の確立を目的とする (「酵素特異反応の遷移状態支配因子解明法」の開発)。具体的には、非経験レベルで軌道相互作用を定量評価できる TS/TB 解析法を遷移状態探索・振動解析・反応経路解析法と結合させ (TS/TB-Freq 法)、着目している相互作用をカットした仮想状態下における遷移状態構造・振動モード・反応経路等を得られるよう開発し、特定の相互作用の寄与を定量評価可能とする。さらに巨大分子へ展開するため、超高精度 $O(N)$ 法である ELG 法と結合させ (ELG-TS/TB-Freq 法)、本方法を酵素 - 基質反応系に適用可能にする。酵素をはじめとした生体分子における反応遷移状態と個々の相互作用の関係解析を誰もが身近なコンピュータ上で実行し、反応を支配している軌道相互作用 (支配因子) の解明を通して、病気の原因解明や創薬の高速化に貢献できる実用的量子化学的手法の構築を目指す。

3. 研究の方法

(1) TS/TB-Freq 法の開発 (反応遷移状態に対する軌道相互作用解析)

TS/TB 解析法を、遷移状態構造を探索するためのエネルギー勾配法 (上向きのエネルギー停留点探索) 振動解析法、固有反応座標 (IRC) 解析法と結合させる。これにより、特定の軌道相互作用をカットした状態下での遷移状態構造、振動モード、反応経路等を解析可能とし、着目している相互作用の寄与を定量評価できるよう開発する。モデル系による検証計算を行いつつ、軌道相互作用 遷移状態関係解析が可能となるよう開発する。

(2) ELG-TS/TB-Freq 法の開発 (巨大系への展開)

TS/TB-Freq 法をさらに巨大系に適用できるよう $O(N)$ ELG 法と結合させる。ELG 法は、重合反応のように逐次電子状態を伸長する方法であり、反応末端部に局在させた領域局在化分子軌道 (Active-RLMO) と付加モノマー間のみ計算に取り入れる。一方、モノマーからの相互作用が及ばない遠い領域に局在させた Frozen-RLMO は計算から外すが、相互作用が無い場合この操作は計算精度に影響しない。対角化問題に取り込む Active-RLMO は常にほぼ一定の大きさであり、 $O(N)$ 計算が実現する。一度 Frozen した部分に反応末端部が再接近した場合には Frozen 部を「再解凍 (reactivate)」することで、2、3 次元系も計算可能である。TS/TB-Freq 法との結合については、ELG 法から得た RLMO をもとに、TS/TB-Freq 法で用いる各種 AO 積分を RLMO ベースに変換することで、系全体の電子状態を考慮しつつその一部 (例えば酵素における“活性中心”) に対して、相互作用カット下の遷移状態の解析が可能となるよう開発する。具体的には、まず ELG 法で酵素分子の電子状態計算を行い、最終ステップで基質分子の活性中心への接近を考慮する。一度解き終えて Frozen している活性中心部を再解凍した上で、“活性中心 + 基質分

子”に対して相互作用カット下での振動解析・反応経路解析等を行うことで、酵素特異反応における特定の軌道相互作用の寄与を定量評価する。さらに、連続誘電体モデル PCM 法を ELG-TS/TB-Freq 法に導入し、溶媒効果を含めて解析可能にする。また、酵素反応に寄与する重要相互作用について自動探索の仕組みを作り、酵素反応を支配している相互作用を迅速に把握できるよう開発するとともに、触媒反応の制御・最適化に効果のあるパラメータを抽出可能とするなど、実用ツールとしての完成度を高めていく。

(3) 酵素反応、触媒反応に関する量子化学計算

特異的触媒反応の支配因子解明にあたっての知見を得るべく、別途、モデル系を用いた遷移状態計算を行う。触媒反応の例としてメタロセンのイソ選択的オレフィン重合反応、酵素反応の例として、セリンプロテアーゼのペプチド分解反応、リパーゼによるアルコール光学分割反応などを調べる。

4. 研究成果

(1) TS/TB-Freq 法の開発

本研究で目指す「酵素特異反応の遷移状態支配因子解明法」の基盤技術となる TS/TB 相互作用解析法が、様々なモデル分子や多様な軌道相互作用のカットに対して安定的に解析可能かどうかの検証から始めた。本解析法では、人為的な軌道収縮により分子内の特定の軌道間相互作用をカットし、カット前後の比較から注目している相互作用の寄与を非経験レベルで定量評価するが、検証の中でこれまでに取り扱ったことのない種のモデルや相互作用カットの仕方の一部で異常な挙動やエラー等不具合が発生することが新たに分かった。本 TS/TB 解析法の安定動作は研究計画全体の根幹であるため、特に慎重を期してプログラムの見直し、修正等を行い、個々の問題解決を行った。これにより研究課題を進めるに当たって重要な基盤技術の問題の洗い出しができたものと考えている。

次に、反応遷移状態と軌道相互作用の関係解析が可能となるよう、TS/TB 解析法を遷移状態探索法(鞍点探索)振動解析法、および反応経路解析法(IRC)と結合させた(TS/TB-Freq 法)。さらなる調整とテストが必要ではあるが、これによって遷移状態構造/振動モード/反応経路について個々の軌道相互作用の寄与を解析可能とした。別途、金属含有酵素の解析に向け、TS/TB 法と有効内殻ポテンシャル(ECP)法との結合についても実施し、完了した。また、基盤となる TS/TB 法のレベルでは溶媒効果導入のための PCM 法との結合はすでに行っていたが、TS/TB-Freq 法開発過程で PCM 法との結合部分についてプログラムの調整が必要となったため修正を行った。

(2) ELG-TS/TB-Freq 法の開発

TS/TB-Freq 法について、巨大系への適用のため ELG 法との結合を進めた。ELG 法では、反応末端に局在させた RLMO とモノマーユニット間のみ解くことで高精度かつ高速演算を実現するが、TS/TB-Freq 法との結合の第一歩として、ELG 法演算中に逐次発生する特定領域に局在させた RLMO をベースとした TS/TB 解析法を開発した(RLMO-based-TS/TB 法)。本開発手法を結合モデル系・非結合モデル系に適用して手法検証を行った。さらなる検証と改良が必要ではあるが、これによって、例えばタンパク質の特定のアミノ酸の間の相互作用解析など、特定の領域間の解析が可能となり、巨大系適用に向けた重要なステップとなった。現在、本手法を軸に ELG 法との本格的な結合作業を進めているが、TS/TB 法と ELG 法の基本骨格の違いからその結合について想定外の課題や試行錯誤が必要となり、現在も開発中である。

(3) 酵素反応、触媒反応に関する量子化学計算

上記と並行して、特異的触媒反応の支配因子解明にあたっての知見を得るため、いくつかのモデル反応系に対する遷移状態計算を実施した。

メタロセンのイソ選択的オレフィン重合反応

メタロセン触媒によるプロピレン重合は高いイソ選択性を示す。当該重合反応は移動挿入反応によって進むが、モノマー選択への助触媒や成長ポリマーの影響を遷移状態計算により調べた。得られた活性化エネルギーから特定の反応経路が優先的に選ばれることを確認し、反応物から遷移状態に至る際の構造変化との関連性を明らかにした。助触媒等の効果は限定的ではあるが、活性中心付近の電子状態に無視できない影響を与えていることも分かった。(当該内容は国際誌にて論文審査中)さらに詳細を調べるため、今後 TS/TB 解析を適用する。

セリンプロテアーゼのペプチド分解反応

キモトリプシンをはじめとするセリンプロテアーゼのペプチド分解反応は酵素反応の中でも最も研究が進んでおり、各反応段階における結合生成・解離過程に軌道相互作用の1つである立体電子効果が関与していることがその説明に使われてきた。この立体電子効果について定量解析を目指し、まずは活性中心周辺でペプチド分解反応に影響のあるアミノ酸残基を確認するため、各種モデル分子に対する遷移状態計算を行い知見を得た。今後、TS/TB 解析に展開予定である。

リパーゼによるアルコール光学分割反応

アシル化リパーゼは光学中心を持つアルコールに対してエナンチオ選択性を示し、その光学分割に利用されている。一方でそのメカニズムの解明は限定的なものである。本研究ではモデル分子を使用した遷移状態計算によって、R 体と S 体の活性化エネルギーを調べ、さらに TS/TB 解析を適用することで遷移状態における立体電子効果が活性化エネルギーや反応選択性に影響することを定量的に示すことができた。ELG-TS/TB-Freq 法完成後は、活性ポケット以外も含め

たより現実に近い系に対して適用し、解析を行う予定である。

研究期間中に間に合わなかった ELG 法との結合や遷移状態を支配する重要相互作用の自動探索法の開発など、引き続き方法論の完成を目指して研究を進めていく。

<引用文献>

(a) A. Imamura, H. Sugiyama, Y. Orimoto, and Y. Aoki, "Ab Initio Through Space/Bond Interaction Analysis on the Stereoelectronic Effect by Modifying the Exponents of the Basis Set", *Int. J. Quantum Chem.*, 74, 761-768 (1999); (b) Yuuichi Orimoto, Kazunari Naka and Yuriko Aoki, "NBO-Based CI/MP Through-Space/Bond Interaction Analysis and its Application to Stereoelectronic Effects in S_N2 Reactions", *International Journal of Quantum Chemistry*, 104, 911-918 (2005).

(a) A. Imamura, Y. Aoki and K. Maekawa, "A Theoretical Synthesis of Polymers by Using Uniform Localization of Molecular Orbitals: Proposal of an Elongation Method", *J. Chem. Phys.*, 95, 5419-5431 (1991); (b) Y. Aoki and F. L. Gu, "An elongation method for large systems toward bio-systems", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 14, 7640-7668 (2012).

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

Yuuichi Orimoto, Yuriko Aoki, and Akira Imamura, "Extraction of One-Handed Helical Frontier Orbital in Even [n]Cumulenes by Breaking Mirror Images of Right- and Left-Handed Helical Orbitals: Theoretical Study", *J. Phys. Chem. C*, 査読有り, 123 巻, pp.11134-11139 (2019) [DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b01829].

Y. Aoki, Y. Orimoto, and A. Imamura, "One-handed Helical orbital in conjugated molecules", *ACS Cent. Sci.*, 査読有り, 4 巻, pp.664-665 (2018) [DOI: 10.1021/acscentsci.8b00228].

Yuuichi Orimoto, Kosuke Ishimoto, and Yuriko Aoki, "Role of Pyridinium Groups and Iodide Ions in Photoelectrochromism in Viologen-Based Ion-Pair Charge-Transfer Complexes: Molecular Orbital Analysis", *The Journal of Physical Chemistry C*, 査読有り, 122 巻, pp.4546-4556 (2018) [DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b10281].

Yuuichi Orimoto, Kohei Kato, and Yuriko Aoki, "Importance of Through-Space Interaction of [2,2]-Paracyclophane-oligo(p-phenylenevinylene) Molecular Wires for Photovoltaic Application and Effective Wire Design by Chemical Substitution", *The Journal of Physical Chemistry C*, 査読有り, 121 巻, pp.17703-17711 (2017) [DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b05730].

Yuuichi Orimoto, Kohei Otsuka, Kazuma Yagyu, Hiroshi Tochiyama, Takayuki Suzuki, and Yuriko Aoki, "Theoretical Study of Cu Intercalation Through a Defect in Zero-Layer Graphene on SiC Surface", *The Journal of Physical Chemistry C*, 査読有り, 121 巻, pp.7294-7302 (2017) [DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b00314].

Yuuichi Orimoto and Yuriko Aoki, "Computational study of Cu-containing artificial DNA: twist angle dependence of magnetism", *ChemistrySelect*, 査読有り, 1 巻, pp.5521-5529 (2016) [DOI: 10.1002/slct.201600940].

Yuuichi Orimoto and Yuriko Aoki, "Automated property optimization via ab initio O(N) elongation method: application to (hyper-)polarizability in DNA", *The Journal of Chemical Physics*, 査読有り, 145 巻, 024107 (2016) [doi: 10.1063/1.4956456].

[学会発表](計 18 件)

Yuuichi Orimoto, Anna Pomogaeva, Ayaka Yano, Kazuhiko Nakatani, Yuriko Aoki, "High throughput molecular design/exploration for DNA bulge/mismatch recognition: computational approach by elongation method", *The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC2018)*, Kyoto(JAPAN), November 8, 2018.

Yuuichi Orimoto, Satoru Shirane, and Yuriko Aoki, "Ab initio MO study of propylene polymerization by zirconocene/borate catalyst", *16-th V.A. Fock Meeting on Theoretical, Quantum and Computational Chemistry*, Sochi(Russia), October, 1-5, 2018.

折本裕一、白根聡、青木百合子、"メタロセン触媒の高イソ選択的オレフィン重合反応の量子化学的機構解明 - 遷移状態構造における歪と緩和 -"、シンポジウム「化学反応経路探索のニューフロンティア 2018」, 福岡、2018年9月14日。

青木百合子、折本裕一、"ナノリボン末端修飾による構造転移に関する量子化学的研究 - 有機太陽電池ワイヤー設計に向けて -"、シンポジウム「化学反応経路探索のニューフロンティア 2018」, 福岡、2018年9月14日。

Pomogaeva Anna, 折本 裕一, 青木 百合子, “高精度かつ効率的ナノチューブ表面反応の電子状態解析法”, 第12回分子科学討論会、福岡、2018年9月13日.

汐見 彩花, 折本 裕一, 青木 百合子, “リパーゼのエナンチオ選択性の発現に関する量子化学的反應機構解析”, 第12回分子科学討論会、福岡、2018年9月12日.

折本 裕一, Pomogaeva Anna, 矢野 綾香, 中谷 和彦, 青木 百合子, “多階層 Elongation 構造最適化法による DNA バルジノミスマッチ認識分子の効率探索と理論設計”, 第12回分子科学討論会、福岡、2018年9月11日.

石本 晃佑, 折本 裕一, 青木 百合子, “光学スイッチ設計に向けたビオロゲン含有ポリマーのフォトエレクトロクロミズムに関する量子化学的研究”, 第12回分子科学討論会、福岡、2018年9月10日.

Yuriko Aoki, Anna Pomogaeva, Yuuichi Orimoto, “Development of efficient elongation method toward locally perturbed aperiodic nano/bio systems”, 7th JCS SYMPOSIUM, PRAGUE (Czech Republic), May 21, 2018.

Yuriko Aoki, Wataru Mizukami, Ikuko Okawa, Yuuichi Orimoto, “Elongation method for efficient quantum chemistry calculations toward functional designs of bio/nano materials”, 第一回九州大学女性研究者ダイバーシティシンポジウム、福岡、2018年3月8日.

Yuuichi Orimoto, Satoru Shirane and Yuriko Aoki, "Mechanism of highly selective olefin polymerization by metallocene catalyst: computational approach", IRCCS-JST CREST Joint Symposium, Fukuoka(Japan), January 25, 2018.

Satoru Shirane, Yuuichi Orimoto and Yuriko Aoki, “Selectivity of olefin polymerization with metallocene catalyst and the effects of produced polymers on its mechanism”, The 19th Cross Straits Symposium on Energy and Environmental Science and Technology (CSS-EEST19), Fukuoka(Japan), November 30 (2017).

Yuuichi Orimoto and Yuriko Aoki, “Computational design of DNAs: property control via elongation method”, The 44th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC2017), Tokyo(JAPAN), November 15, 2017.

折本 裕一、汐見 彩花、青木 百合子, “生体分子の反応機構解明と機能設計を目指した量子化学的手法開発とその応用”, 第11回分子科学討論会、仙台、2017年9月16日.

青木 百合子、水上 涉、伊藤 正浩、折本 裕一, “Elongation 法による生体高分子の効率的構造最適化および反応解析法”, 第11回分子科学討論会、仙台、2017年9月16日.

白根 聡、折本 裕一、青木 百合子, “メタロセン触媒重合の構造制御機構の解明と超効率的計算手法によるポリマー特性の解析”, 第11回分子科学討論会、仙台、2017年9月16日.

Yuuichi Orimoto and Yuriko Aoki, “Theoretical approach to the property and reaction design of DNA/proteins by through-space/bond interaction analysis and elongation method”, The 43th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (ISNAC2016), Kumamoto(JAPAN), September 28, 2016.

折本 裕一、青木 百合子, “酵素反応機構解明のための軌道相互作用解析法の開発と応用”, 第10回分子科学討論会、神戸、2016年9月13日.

[図書](計 1 件)

Yuriko Aoki, Yuuichi Orimoto and Akira Imamura, “Quantum chemical approach for organic ferromagnetic material design”, SPRINGER BRIEFS IN MOLECULAR SCIENCE, ELECTRICAL AND MAGNETIC PROPERTIES OF ATOMS, MOLECULES, AND CLUSTERS, Springer International Publishing, 138 ページ (2017) [ISBN: 978-3-319-49827-0].

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。