

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26810012

研究課題名(和文)ヘムの面外振動変位と酸化還元電位の相関の算出

研究課題名(英文)A Computational study on the correlation between out-of-plane mode of heme and redox potential

研究代表者

松井 亨(MATSUI, Toru)

筑波大学・数理物質系・准教授

研究者番号：70716076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：呼吸など重要な役割を果たすヘムにおいて、電子を運ぶ能力を示す酸化還元電位の計算を行った。ヘムはポルフィリン環を持っているが、我々が開発した正確な計算スキームを用いることでこのポルフィリンの動き方によって酸化還元電位を制御しているということが分かった。また、周囲の環境(水が入らない有機溶媒のような環境か水が周辺にある環境か)によって大きく酸化還元電位が変化することが分かり、こういった変化が生物の身体の中で起きていることが予想される。

研究成果の概要(英文)：I have computed the redox potential, an ability to transfer the electron, of a heme compound. A heme has a porphyrin ring which can control the redox potential of the heme by the molecular vibration. In this study, I have confirmed the phenomenon with more accurate computational schemes that I had proposed. Moreover, I found that the surroundings (hydrophobic or hydrophilic) could control the redox potential. Such a change can occur in any living things.

研究分野：計算化学

キーワード：酸化還元電位 密度汎関数理論 ヘム 溶媒和モデル 面外振動

### 1. 研究開始当初の背景

生物物理化学において着目される現象は構造、機能、輸送の3つに分けられており、これらにも相互関係がある。特に近年、分子の動きに伴う構造や機能の発現が注目を浴びており、計算においてもこれらの問題に取り組める手法が求められている。

ヘム分子は酸素運搬のみならず、電子を伝達する機能を持ち物質の酸化還元反応を司る生命化学の中でも非常に重要な物質の一つである。ヘム構造を持つ分子はP450を始め様々な形で存在し、その酸化還元電位は-500mVから+500mVに至るまで多様に变化して電子の授受を制御している。

電位を制御できるメカニズムとして、周りの極性アミノ酸の効果であることは示唆されている一方で、アミノ酸から生じる水素結合かアミノ酸が形成する反応場のような効果によるものか、或いはヘムの持つポルフィリン環が制御に関わっているのか等諸説がある。

特にポルフィリン環の歪みには大きく分けて6種類があり、中でもrufflingと呼ばれる動き(モード)は、歪みに必要なエネルギーが比較的小さいにも関わらず、酸化還元電位を下げる役割を持つとされている。

また、主にrufflingが起こっているとされるウマ心臓シトクロムc酸化酵素(図2参照)においては周りのタンパク質によってポルフィリン環が歪められていることが分かっている。そういったポルフィリンの歪みにより生じるエネルギーの不安定性は周囲のアミノ酸との水素結合でコントロールされていることが考えられているが、どの程度の寄与によるものかは不明である。

### 2. 研究の目的

ヘムcの酸化還元電位が調整されるメカニズムを正確な酸化還元電位の算出スキームにより明らかにする。特に実験での追跡が難しいヘムの面外振動の変位と酸化還元電位の相関を明らかにすることで、rufflingと呼ばれるモードが酸化還元電位の減少に貢献することを示す。また、ポルフィリン環の歪みの変位と電位の相関から、周囲のアミノ酸が与える効果やヘム本体が実際に動くことにより、酸化還元電位が変化の様子を分子動力学計算によって明らかにすることを最終目標とする。

### 3. 研究の方法

PCIS法を基盤とした新しいベンチマークの方法により、金属錯体の酸化還元電位において0.1V以下の誤差に抑えることを目指す。その方法を使用してヘムcに対してポルフィリン環の歪みの平面構造からの変位と酸化還元電位の相関を算出する。その後、系を拡大して、QM/MM計算を行うことにより、歪みがどのように生じているか、それによってどれくらい酸化還元電位が変化するかを見積

もり、ヘム周辺のアミノ酸が酸化還元電位に与える影響を明らかにする。

### 4. 研究成果

(1) 密度汎関数の選定による酸化還元電位計算の高精度化

長距離補正(LC)を加えたDFTで、我々が新しくパラメータを改善したBOP12(LC-BOP12)汎関数を用いることによって、平均誤差はさらに160mVに改善された。

また、今回はヘムの計算であって、鉄錯体の還元電位を再現すれば良いことから、元々用いていた実験値のデータセットのうち、鉄を含む錯体のみを用いて再度フィッティングしたところ、誤差が100mV以内に収まった。また、構造最適化をLC-BOP12/6-31G(d)で行い、得られたエネルギーが極小となる構造においてLC-BOP12/6-31+G(d)の計算を行っても、酸化還元電位をよく計算できることも一連の計算でわかり、今後の計算ではこの計算手法を用いていくこととする。

(2) 環境の変化によるヘムの酸化還元電位の変化

A. プロピオン酸のプロトン化状態による違い

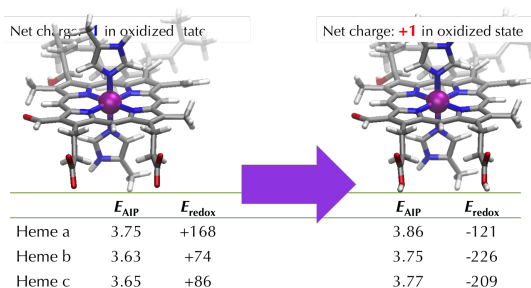


図1: ヘムa, b, cにおけるプロピオン酸の有無による酸化還元電位の違い

まずは、プロトンの有無により生じる系がもつ電荷による還元電位の違いを議論する。通常、プロピオン酸はpHが7程度となっているタンパク質中ではプロトンが外れていることが多い。一方で、プロピオン酸のpKaは5程度と高く、周囲の状況によってはプロトンが付くことも十分想定される。そのような環境となった場合の酸化還元電位を算出している。結果、通常の場合では $E_{AIP}$ (構造緩和のみを含めたイオン化ポテンシャル)のみを考えるため、プロトンが付くことにより電位が上がると解釈されそうだが、PCIS法で見ると逆になっていることが分かる。このように電荷が与える影響は100mV単位となっていて、誤った結果を与えかねないこととなることに注意が必要である。

また、ヘムの種類ごとに見ると、aが最も高く、b, cの順に高くなっていてbとcについては大きな差は見られないことが分かった。

## B. 配位する His のフリップによる効果

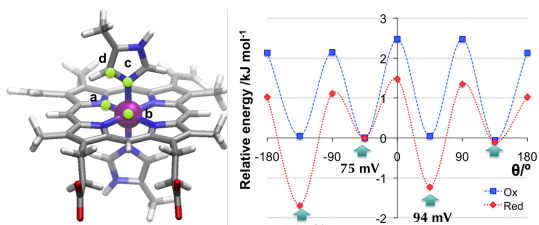


図2：ヘムbに配位したHisのフリップが各状態に与える影響と酸化還元電位の変化

ヘムの鉄イオンに配位するアミノ酸の多くはヒスチジンである。また、そのヒスチジンはイミダゾールであり、イミダゾール環のフリップ(回転)によって、周辺の配位子場が影響を受けることが予想される。実際に、PCIS法を用いて計算を行い、酸化状態と還元状態でポテンシャルエネルギー曲面を描いたところ、還元状態の方がフリップの影響を受けやすく結果として最大で20 mV程度の違いが生じるということが分かった。量としては大きくないが、ここで初めて定量性に踏みこむことができた研究と考えられる。

## C. 周囲の環境による酸化還元電位の変化

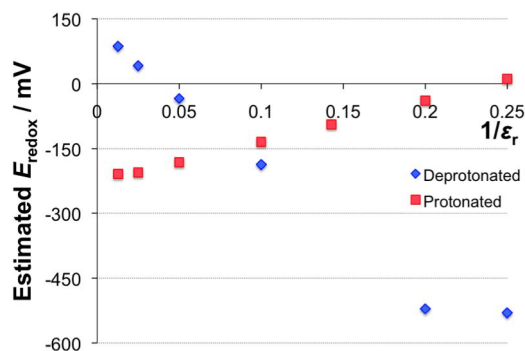


図3：周囲の誘電率の逆数に対するヘムの酸化還元電位の変化

タンパク質の周囲からの効果としては、疎水・親水による誘電率の違いが挙げられる。ここでは、誘電率によって酸化還元電位がどのように変化するかを検証し、結果を図3に示す。ここで、赤で示したプロトン化状態では、 $1/\epsilon_r$ が大きくなる(疎水性が強くなる)に連れて、電位が上昇して、最終的にはプラスに転じる。一方で、脱プロトン化したものについては、 $1/\epsilon_r = 0.25$ の時の値を除いて大きく下がっていることが見て取れる。いずれの場合でも、電位の変化が $1/\epsilon_r$ と線形関係にあることが分かり、電位の変化から周囲の環境がどうなっているかを見積もるための手段の一つとして応用が期待される。

### (3) 面外振動によるヘムの酸化還元電位の変化

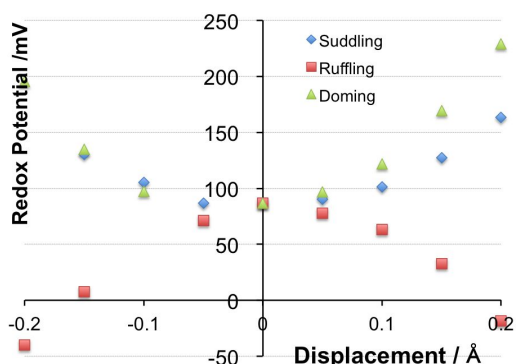


図4：面外振動の各モードでの変位と酸化還元電位の相関

鉄イオンの酸化還元電位の計算に特化したパラメータの元で、ヘムの基準振動(振動数が最も低いもの)から生じる面外振動のモードに沿って、ヘムcのポルフィリン環を動かした場合の酸化還元電位の変化を計算した。実際に振動数が低い順に3つ取り出すと、saddling, ruffling, domingと呼ばれるモードが取り出せた。面外振動にはその他3つが存在するが、元々の振動数が大きく、エネルギー変化が大きくなるために今回は考慮しないこととする。

結果を図4に示す。このように ruffling のみが電位を下げている一方で、saddling や doming は電位を上げている。これは分子軌道から解釈すると、ruffling のみが HOMO の順位が上がっていることが一因として挙げられる。(他のモードでは逆に下がっている) また、この電位の変化は必ずしも左右対称ではないことに注意が必要である。(ヘムcの非対称性に起因している)

計算結果から見ると、振動なしの場合は+86 mVであったヘムcの電位は0.2動かすと、saddlingでは+161 mV, domingでは+233 mV, rufflingでは-21 mVとなっており、およそ100 mV以内の変化となっている。一方、この変位を達成するために必要なエネルギーは高々10 kcal/mol程度であり、温度によっては十分到達可能なものとなっている。

さらに、これらの振動モードはほぼ線形独立している(モード間でのカップリングによる影響は小さい)ため、単純に saddling と ruffling による影響は足し算によって得られることも追加計算の結果から判明した。

### (4) 総括

一連の研究により、ヘムの酸化還元電位を算出するためのツールができ、面外振動や環境(今回では電荷や静電場)が電位へ与える影響を計算により求めることができた。

一方で、ヘムの動きから電位を予測する方法についてはまだ十分とは言えない。AMBERなどの動力学計算を用いたテスト計算の結果から、面外振動だけでなく面内振動も影響を与えていることがわかり、対象とするものだけでは不十分であった。そのため、再現性

の担保が取れず、今後さらなる工夫が必要であることが分かった。

#### 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 8 件)

\* すべて査読あり

1. Y. Kitagawa, M. Asaoka, Y. Natori, K. Miyagi, R. Teramoto, T. Matsui, Y. Shigeta, M. Okumura, M. Nakano, "Theoretical study on relationship between spin structure and electron conductivity of one-dimensional tri-nickel(II) complex", Polyhedron, 2017, in press.
2. T. Oshiyama, N. Yasukawa, H. Kita, T. Matsui, M. Sumita and K. Morihashi\*, "A Theoretical Guideline for Designing Effective Host Materials Based on 4, 4-bis (9-carbazolyl)-1, 1-biphenyl Derivatives for Blue Phosphorescent Devices", Bulletin of the Chemical Society of Japan, 90, 195-204 (2017).
3. T. Matsui, A. Kiyari, M. Shoji, and Y. Shigeta (2016) "プロトンの水和自由エネルギー: 酸解離定数および標準水素電極電位の高精度計算"(in Japanese), Journal of Computer Chemistry, Japan, 15, pp.184-191.
4. K. Aikawa, T. Matsui and K. Morihashi, "Theoretical Estimation of Effect of Conjugation Length and Side Chain in Charge Recombination Process in Poly (para-phenylenevinylene)", Chemistry Letters, 45, 628-630 (2016).
5. Y. Kitagawa, M. Asaoka, K. Miyagi, T. Matsui, M. Nihei, H. Oshio, M. Okumura and M. Nakano, "DFT and TD-DFT studies of electronic structures and one-electron excitation states of a cyanide-bridged molecular square complex", Inorganic Chemistry Frontiers, 2, 771-779 (2015).
6. T. Matsui, Y. Imamura, I. Osaka, K. Takimiya and T. Nakajima, "Analyses of Thiophene-Based Donor-Acceptor Semiconducting Polymers toward Designing Optical and Conductive Properties: A Theoretical Perspective", The Journal of Physical Chemistry C, 120, 8305-8314 (2016).
7. T. Matsui, Y. Kitagawa, M. Okumura, and Y. Shigeta, "Accurate Standard Hydrogen Electrode Potential and Applications to the Redox Potentials of Vitamin C and NAD/NADH", The Journal of Physical Chemistry A, 119, 369-376 (2015).
8. T. Baba, T. Matsui, K. Kamiya, M.

Nakano, and Y. Shigeta, "A density functional study on pKa of small polyprotic molecule", International Journal of Quantum Chemistry, 114, 1128-1134 (2014).

[学会発表](計 3 件)

- (1) 松井 亨, "有機薄膜太陽電池の設計に向けた軌道エネルギー計算法の提案", 次世代耐油電池の動向と展望, 2015年9月29日, 首都大学東京秋葉原キャンパス(東京都千代田区)(招待講演).
- (2) T. Matsui, J.-W. Song, K. Hirao, T. Nakajima, "Computational Scheme for Redox Potential with Long-range Corrected Density Functional Theory", 2015年3月29日, 日本化学会第95春季年会, 日本大学(千葉県船橋市).
- (3) T. Matsui, "A novel computational scheme to estimate the redox potential of metal complex", the 64<sup>th</sup> Japanese Society of Complex Chemistry, Conference Symposium, September 18, 2014, Chuo University (Bunkyo-ku, Tokyo) (Invited)

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

松井 亨 (MATSUI, Toru)

筑波大学・数理工学系・准教授

研究者番号: 70716076