

氏 名	ひがし 東 まさ 雅 ひろ 大
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3158 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Combined Quantum Mechanical and Molecular Mechanical Studies on Free Energy Surfaces of Chemical Reactions in Solution and Enzyme (溶液及び酵素内の化学反応における自由エネルギー面に関する Quantum Mechanical/Molecular Mechanical 法を用いた研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 加 藤 重 樹 教 授 谷 村 吉 隆 教 授 寺 嶋 正 秀

論 文 内 容 の 要 旨

化学反応において化学結合の生成・消滅に関与する部分を量子力学的 (QM) に取り扱い、残りを分子力場 (MM) で扱う Combined Quantum Mechanical/Molecular Mechanical (QM/MM) 法は、溶液内やタンパク質内での反応過程を記述する方法として広く用いられている。しかし、この QM/MM 法を用いて化学反応の経路を調べる際、反応系の自由度の数が非常に大きいためポテンシャルエネルギー面上に多数の極小点が存在し、反応物、遷移状態、生成物をつなぐユニークな経路が求まらない場合が多くある。申請者は、このような困難を克服するため、MM 部分の熱揺らぎの効果を取り込んだ自由エネルギー面を定義し、それに基づいて反応経路を求める新しい方法の開発を行った。具体的には、QM-MM 間の相互作用に対して線形応答を仮定することによって、簡易に自由エネルギーを計算する方法、及びその自由エネルギー面上で構造を最適化する方法を開発した。QM 部分の電荷の変化に応答するポテンシャルの変化を得るために必要な共分散行列は分子動力学 (MD) シミュレーションを行うことで計算し、電子状態計算と組み合わせた。また、基準となる電荷をゼロの状態とするか (LRFE(I))、ある一定の値とするか (LRFE(II)) で二つの自由エネルギー汎関数の提案を行った。

申請者は、まず、この方法を水溶液中でのメンシュトキン反応に適用した。反応経路に沿って自由エネルギーを求めたところ、熱力学的摂動法で得られたものと比較して LRFE(I) では、QM-MM 間の相互作用が強くなるにつれエネルギーが異なってくることが明らかとなった。これは、LRFE(I) に対する線形応答関係式が、QM-MM 間の相互作用が強くなると成り立たなくなることによって困っている。一方、LRFE(II) によって得られた自由エネルギー曲線は熱力学的摂動法によって得られたものとほぼ一致した。また、この方法をアリルビニルエーテルのクライゼン転位反応に対しても適用し、活性化エネルギーや反応における同位体効果を計算した。実験値や他の方法と比較したところ、LRFE(II) の方がより実験に近い値を与えることが分かった。これらの結果から LRFE(II) の方が LRFE(I) よりも自由エネルギーを計算するにあたって優れた方法であることが明らかになった。

申請者は、次に、LRFE(II) を用いて、酵素コリスメートミューターゼ内でのコリスメートのクライゼン転位反応の活性化自由エネルギーの計算を行った。また、比較のために水溶液中での同じ反応の活性化自由エネルギーも計算した。得られた活性化自由エネルギーは水中、酵素内でそれぞれ 28.4 kcal/mol と 16.8 kcal/mol であった。これは実験から見積もられる値 24.5 kcal/mol と 15.4 kcal/mol にほぼ一致する。また、反応熱に対してもほぼ実験値と一致した。更に、この水溶液中と酵素内での活性化自由エネルギーの差の由来を調べたところ、遷移状態の静電安定化が主な理由ではなく、酵素反応が起きやすいような配位構造体で反応物を取り込んで酵素基質複合体を形成するためであることがと分かった。また、アリルビニルエーテルの場合と同様に反応における同位体効果についても調べた。酵素内の反応については基質が酵素に取り込む過程も考慮に入れたところ、結果は実験値とよく一致した。

以上のことより、申請者が開発した方法は、溶液中だけでなく、酵素内での化学反応の自由エネルギープロファイルを求

める上で極めて有効であることが分かった。

論文審査の結果の要旨

化学反応において化学結合の生成・消滅に関与する部分を量子力学的 (QM) に取り扱い、残りを分子力場 (MM) で扱う Combined Quantum Mechanical/Molecular Mechanical (QM/MM) 法は、溶液内やタンパク質内での反応過程を記述する方法として広く用いられている。しかし、この QM/MM 法を用いて化学反応の経路を調べる際、反応系の自由度の数が非常に大きいためポテンシャルエネルギー面上に多数の極小点が存在し、反応物、遷移状態、生成物をつなぐユニークな経路が求まらない場合が多くある。申請者は、この困難を克服するため、MM 部分の熱揺らぎの効果を取り込んだ自由エネルギー面を定義し、それに基づいて反応経路を求める新しい方法の開発を行っている。具体的には、QM-MM 間の相互作用に対して線形応答を仮定することによって、電子状態計算と分子動力学計算を結合させて自由エネルギーを計算する方法、及びその自由エネルギー面上で構造を最適化する方法の開発を行っている。また、参照電荷をゼロの状態とするか (LRFE(I))、ある一定の値とするか (LRFE(II)) で二つの自由エネルギー汎関数を提案している。

申請者は、まず、この方法を水溶液中でのメンシュトキン反応に適用している。反応経路に沿って LRFE(I)、LRFE(II) の二つの方法により自由エネルギーを求め、熱力学的摂動法で得られたものと比較し、LRFE(II) によって得られた自由エネルギー曲線は熱力学的摂動法によって得られたものとほぼ一致することを見いだしている。また、この方法をアリルビニルエーテルのクライゼン転位反応に対しても適用し、活性化エネルギーや反応における同位体効果の計算を行っている。実験値や他の方法と比較したところ、LRFE(II) の方がより実験に近い値を与えるという結果を得ている。

申請者は、次に、LRFE(II) 法を用いて、酵素コリスメートミューターゼ内でのコリスメートのクライゼン転位反応の活性化自由エネルギーの計算を行っている。また、比較のために水溶液中での同じ反応の活性化自由エネルギーも計算している。得られた活性化自由エネルギーは水中、酵素内でそれぞれ 28.4 kcal/mol と 16.8 kcal/mol であり、実験から見積もられる値 24.5 kcal/mol と 15.4 kcal/mol にほぼ一致している。また、反応熱に対してもほぼ実験値と一致している。更に、この水溶液中と酵素内での活性化自由エネルギーの差の由来を調べたところ、遷移状態の静電安定化が主な理由ではなく、酵素反応が起きやすいような配位構造体で反応物を取り込んで酵素基質複合体を形成するためであることを明らかにしている。また、アリルビニルエーテルの場合と同様、反応における同位体効果についても調べ、酵素内の反応については基質が酵素に取り込む過程も考慮に入れることにより、実験値を良く再現することを見いだしている。

以上、申請者は、QM/MM 法に基づく反応の自由エネルギー面上での反応経路を提案、開発し、溶液内反応、酵素反応に適用することにより、この方法の有用性を明らかにしている。申請者の提案した方法は、酵素反応の速度過程の理論的研究のための有力な方法の一つとして発展することが期待される。よって本論文は、博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認められた、また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認められた。