

研究終了報告書

「量子シミュレーション技術による未知の生体電子移動/機能発現の探索」

研究期間：2017年10月～2021年3月

研究者：鬼頭 宏任

1. 研究のねらい

この研究の目標は、量子化学計算、反応速度理論、電荷移動シミュレーションを組み合わせた新しい手法を開発し、未知の生体電子移動を探索・発見することである。

蛋白質によって制御される生体の電子移動反応は、光合成やミトコンドリアの内呼吸における生体エネルギー変換、光センサーや概日時計、DNA 紫外線損傷修復など、様々な生体機能の発現に重要な役割を果たすことが知られている。一方、渡り鳥が弱い地球の磁場を感知するメカニズム(ラジカルペア磁覚仮説)や、嗅覚受容体が匂い分子を識別するメカニズム(非弾性電子トンネル移動仮説)にも、実態が不明な電子移動が深く関与していると信じられている。そこで、これら以外でも未知の生体電子移動が存在し、そこから多くの生体機能が生み出されている可能性が考えられる。

最近、バイオインフォマティクス結晶構造探索を用いた研究から、酸化還元酵素や加水分解酵素の多くが、蛋白質表面から活性中心に向けて3残基以上のチロシン(Tyr)やトリプトファン(Trp)が空間的に繋がった領域(Tyr/Trp 鎖)を持つことが発見された。特に、酸素分子を基質として使用する酵素では、約半数が Tyr/Trp 鎖を保持しており、遺伝的に高く保存されている。そこで、これらの芳香環側鎖を飛び石として、多段階トンネル過程で電子が移動することにより、触媒反応に使われなかった反応活性種(活性酸素など)を還元し、酸化損傷を防御しているという「未知の生体電子移動を利用した」仮説が提案され、大変注目を集めている。

また、これまで不明であった、ヘリオバクテリア、緑色硫黄細菌、アカリオクロリス生物などのI型光合成反応中心の結晶構造情報が初めて報告された結果、通常的光合成反応中心とは異なる電子移動経路を持っている可能性が明らかになってきた。

そこで、磁気応答に関与すると考えられるクリプトクロム、嗅覚受容体蛋白質、I型光合成反応中心などに対して、実態が不明な生体電子移動の探索・解析が行えるように、新たな電荷移動シミュレーション技術の開発を行った。この手法を適用し、酸化損傷防御・磁覚・嗅覚などの重要な生命現象のメカニズムを量子科学的に理解し、これまで観測されてこなかった新たな生命現象を発見することを目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

主な成果として、(テーマ A)電荷ホッピング移動積分の高精度・高効率な量子化学計算手法の確立、(テーマ B)ヘリオバクテリア反応中心の励起子結合強度解析、(テーマ C)生体電子トンネル移動現象の解析手法の確立、が挙げられる。

蛋白質中でトリプトファン(Trp)やチロシン(Tyr)が空間的に繋がった領域(Tyr/Trp 鎖)では、芳香環側鎖の π 軌道を飛び石と使用した多段階電荷ホッピング移動が起こっている可能性がある。テーマ A では、この電荷ホッピング移動の反応速度の支配因子である移動積分項

を、長距離補正(LC-)密度汎関数理論(DFT)法のフロンティア軌道相互作用として、高精度かつ効率的に計算する方法を提案した。公開されている移動積分ベンチマーク分子セットに対して我々の手法を適用したところ、他の論文報告結果を凌ぎ、最も良い精度が得られることが明らかになった。

ヘリオバクテリア反応中心(hRC)は、非酸素発生 I 型光合成反応中心として初めて、2017年に結晶構造が報告され、構造-(光捕集/電子移動)機能相関を議論することが可能になった。hRC はアンテナ・クロロフィル色素を 60 個しか持っておらず、電子移動鎖に関与すると考えられていたキノンが存在しなかった。テーマ B では、クロロフィル色素間の励起子結合強度計算を、hRC と酸素発生型シアノバクテリア光化学系 I(PSI)の両方で実行して比較することで、hRC の光捕集機構メカニズムとその後におこる電子移動反応の知見を得ることを目指した。

通常の蛋白質中の電子移動反応は、長距離電子トンネル移動でおこる。その際、蛋白質中に存在するヘムや鉄硫黄クラスターなどの遷移金属を含む補因子が酸化還元反応中心として働く。そこで、巨大な金属蛋白質の電子状態を考慮して、第一原理的に電子トンネル移動現象を高精度に理論解析することは難しい問題である。テーマ C では、フラグメント分子軌道(FMO)法に、DFT、可分極連続誘電体モデル、モデルコアポテンシャルなど量子化学計算手法を組み合わせることで、金属蛋白質などの電子トンネル移動現象を、汎用性が高く、高精度かつ効率的に計算する手法を開発することに成功した。

(2) 詳細

研究テーマ A「電荷ホッピング移動積分の高精度・量子化学計算手法の確立」(論文発表 1)

渡り鳥の磁気感知や酸化還元酵素の酸化損傷防御では、チロシン(Tyr)やトリプトファン(Trp)が空間的に繋がった領域で、それらの芳香環側鎖を酸化還元中心とした、多段階電荷ホッピング移動が関与していると考えられている。この電子移動を理論から見積もるには、分子間電荷移動積分やサイトエネルギーなどの主要な電荷移動パラメーターを、その側鎖が存在する分子環境や立体配置を考慮した電子状態から決定する必要がある。

この研究では、非経験的に距離分割パラメーターを最適化した(NET-)長距離補正(LC-)密度汎関数理論(DFT)法を用いて、電荷移動積分(H_{AB})が NET-LC-DFT の軌道相互作用として、低計算コストかつ高精度に求めることが可能であることを明らかにした。多参照摂動理論(MRCI+Q、NEVPT2)や結合クラスター法(SCS-CC2)などの計算負荷の非常に大きい高精度電子状態計算法によって作られた H_{AB} のデータセット(HAB11:11個のホール移動積分データ、HAB7-: 7個の電子移動積分データ)に、NET-LC-DFT を適用し、その精度を評価した。

図 1 では、HAB11 中の7種類のホモダイマーに対して NET-LC-DFT(青色)から H_{AB} を計算し、参照値(MRCI+Q 結果)からの誤差(mean relative unsigned errors, MRUEs)をプロットした。他の計算コストの高い手法(NEVPT2、EOMIP-CCSD)に比べ、良い結果になっている。

ることが分かる。一方、標準的な B3LYP 汎関数を用いた DFT 計算の精度は悪い。データセット全体で、NET-LC-DFT の参照値からの誤差は、HAB11 に対して 3.2%、HAB7- に対して 7.3%となった。これは他の手法を使った過去のベンチマーク計算と比較して、最も良い結果になっている。

低計算コストで高精度が得られる NET-LC-DFT 法を用いることで、蛋白質構造の揺らぎを露わに考慮しながら、Trp/Tyr 鎖領域の電荷ホッピング移動経路を探索することが可能になった。またこの手法は、DNA 中の核酸塩基間の電荷ホッピング移動や有機半導体中のキャリア移動の理論研究に対しても適用できる。

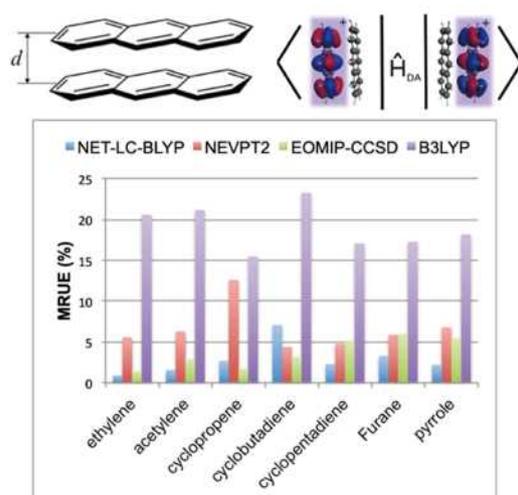


図 1. H_{ADB} ベンチマーク計算結果

研究テーマ B「ヘリオバクテリア光合成反応中心(RC)の励起子結合強度解析」(論文発表 2)

非酸素発生 I 型 RC として、初めて詳細な3次元構造情報が明らかになったヘリオバクテリア RC(hRC)には、アンテナ色素として 58 個のバクテリオクロロフィル-g(BChl-g)が、図 2 のように2回回転対称性を保つように配置されている。

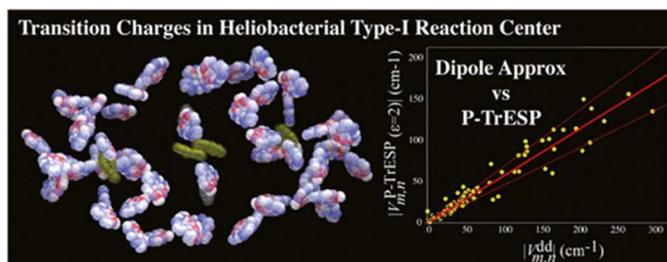


図 2. hRC 中の色素配置と励起子結合強度の計算結果

この研究では、hRC の持つ光捕集機構を調べる為、アンテナ色素間の励起子結合強度を計算し、シアノバクテリアが持つ酸素発生 I 型 RC(PSI)中のクロロフィル a(Chl-a)間励起子相互作用と比較した。従来の Förster 理論は、励起子結合強度計算に、遷移双極子-双極子相互作用近似(Dipole Approx.)を適用する。一方、hRC や PSI のように、アンテナ色素が密に会合している場合には、Dipole Approx.が成り立たなくなることが良く知られている。そこで、時間依存密度汎関数理論(TD-DFT)法によって各色素の遷移 ESP 電荷を求め、Poisson 方程式と組み合わせることで、蛋白質・溶媒の電子分極遮蔽効果も取り入れた、高精度な励起子相互作用計算(P-TrESP)を実行した。

P-TrESP 法の結果から、PSI では Dipole Approx.が成り立たないことが分かった。一方、図 2 のように hRC では Dipole Approx.結合強度と P-TrESP で求めた結合強度は良い相関を示した。この性質の違いの原因として、(1)BChl-g と Chl-a の遷移電荷分布の違い、(2)hRC と PSI の色素配置の違い、が考えられる。そこで、両 RC 間で仮想的な色素置換を行い、励起子相互作用変化を解析することで、上記の2つの要因の定量的な評価を行った。その結果、両方とも重要で、hRC の特有な色素配置に BChl-g を保有することによ

て、Dipole Approx.が適用し易い RC になっていることが明らかになった。

hRC に加え、緑色硫黄細菌 RC やアカリオクロリス生物 PSI などの I 型 RC でも、光捕集機構や電子移動経路は良く分かっていない。この研究で得られた励起子結合強度の性質の知見が、hRC が持つ特有の光捕集機能を理解するのに重要であると共に、その他の I 型 RC の光捕集機構や電子移動経路を探索する上でも役に立つと期待できる。

研究テーマ C「生体電子トンネル移動現象の解析手法の確立」(論文発表 3)

多くの生体電子移動は、5 Å 以上の長距離電子トンネル効果によっておこる。そのため、生体電子移動は、トンネル媒体として使用する蛋白質構造に大きく依存する。この研究では、フラグメント分子軌道(FMO)法を利用した生体電子トンネル移動現象の解析手法開発を行った。FMO 法では、巨大分子を小さなフラグメントに分割して、フラグメントの電子状態から全体の電子状態を近似することで、巨大蛋白質の電子状態計算コストを下げている。このフラグメント計算から得られた局在した分子軌道を利用することで、効率的な電子トンネル移動経路解析が実行できる。

FMO 法を用いて電子トンネル移動現象を計算する際の問題として、共有結合を切り離してフラグメント化する部分に主要な電子トンネル移動経路が存在すると、精度が悪くなるがあった。また、生体電子移動反応の酸化還元反応中心には、遷移金属を持つことが多く、電子相関や内殻電子の取り扱いが重要となる。蛋白質表面では、溶媒効果も重要となる。

そこで、共有結合を切り離す原子(BDA)にのみ、最小基底関数(MINI)を使うことで、フラグメント化の影響を抑えることを試みた。また FMO 計算に、DFT 法、モデルコアポテンシャル(MCP)法、可分極連続誘電体近似(PCM 法)を組み合わせること

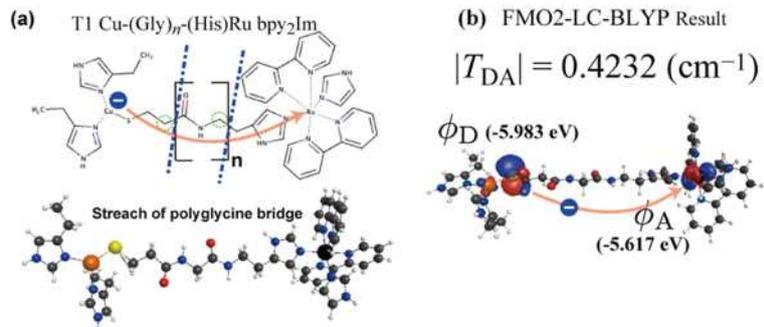


図 3. FMO 法を用いた銅蛋白質アズリン・モデル系の電子トンネル移動解析

で、電子トンネル移動解析に電子相関、遷移金属の内殻電子効果、溶媒効果などを新たに取り込んだ。この手法を、Ru 錯体修飾した銅蛋白質アズリンのモデル系(図3)など、幾つかの電子移動系に適用した。その結果、主要な電子トンネル移動経路上に FMO 法の BDA が存在している場合や、酸化還元中心に遷移金属が存在する場合でも、電子トンネル行列要素(T_{DA})や、電子トンネル移動経路が、第一原理計算精度を保って計算できることを確かめた。

3. 今後の展開

最近の研究から、クリプトクロム・DNA 光回復酵素スーパーファミリーの中で、クリプトクロム 4(Cry4)が、渡り鳥などの磁気受容を担う蛋白質の第一候補であることが明らかになった。また、

鳩 Cry4 に関しては X 線結晶構造が報告され、Cry4 の遺伝子配列から予想された通り、従来の Trp-triad では無く、一つ Trp が多い4つ組み Trp(Trp-tetrad)を形成していた。今後は、この Cry4 構造情報を基に磁気応答の理論研究が進むと考えられる。磁気応答のラジカル・ペア仮説は、Trp-triad を想定して構成されており、ラジカルペアの量子コヒーレンスと3番目 Trp からの電荷再結合反応速度が同程度であることを前提条件としている。一方 Cry4 では、4番目 Trp からの電荷再結合速度は、距離が遠くなることで Trp-triad の場合よりも遅くなり、ラジカルペア仮説の前提条件が成り立たない。そのため、Cry4 の Trp-tetrad では、Trp-triad とは異なる特異的な電荷移動が起こっている可能性がある。

この理論研究を行う際、本さがけ研究で開発した電荷移動積分の高精度・高効率計算手法が有効である。Trp-tetrad の多段階電荷ホッピング移動は数百ピコ秒と高速で起こると予想され、蛋白質の遅いモードは多段階の電荷移動に追従して緩和することが出来ない。そこで、この中間状態の非平衡性を考慮した電荷移動シミュレーションと電荷移動積分手法を組み合わせ、Cry4 の Trp-tetrad 電荷移動機構の研究を進める予定である。

I 型光合成反応中心(RC)についても、ヘリオバクテリア RC(hRC)の X 線結晶構造解析に加え、アカリオクロリス光化学系 I(AmPSI)や緑色硫黄細菌 RC(gRC)のクライオ電子顕微鏡構造が報告された。これで、全種類の RC 構造が分かり、その機能・構造相関を理論的に議論することが可能になった。特に I 型 RC では、電子移動鎖を形成する補因子の種類や立体配置が、互いに顕著に異なっている。hRC や gRC の結晶構造には、キノンが含まれておらず、その電子移動経路も問題となる。さがけ研究期間では、hRC とシアノバクテリア PSI の光捕集機構を解析し、その違いを明らかにすることができた。今後、この知見を生かし、他の I 型 RC の光捕集機構の解析をすすめるとともに、その後の電子移動反応についても研究を発展する予定である。

生体電子トンネル移動現象については、このさがけ研究にて、第一原理電子状態計算精度で効率的に解析する手法が完成できた。この手法は、遷移金属を含む場合や、溶媒効果が重要な系、主要電子移動経路がアミノ酸主鎖、側鎖、水素結合を使う場合など、任意の生体電子移動系に対しても適用できる。

最近、超高分解能な X 線結晶構造解析が報告され始め、外殻電子密度の可視化できるようになった。今後は、酸化還元タンパク質の超高分解能構造情報から、生体電子トンネル移動経路の理論計算結果を、実験的に検証できる可能性があり、開発した理論解析手法の重要性が増していくと期待している。また、未知な生体電子トンネル移動経路の探索候補として、嗅覚受容体にこの手法を適用することで、議論の多い非弾性電子トンネル機構を利用した嗅覚の振動仮説を、理論的に検証できると考えている。

4. 自己評価

このさがけ研究期間内に、生体電子移動反応における電荷ホッピング移動シミュレーション法と電子トンネル移動経路探法の開発については、ほぼ目標を達成することが出来た。また、I 型光合成反応中心の電子移動においても、電子移動前段階の光捕集機構の研究を実行することが出来た。本研究の理論手法を用いて、量子性が顕著に現れる電子ホッピング/トンネル移動を、第一原理的に検証することが可能になった。

一方、本研究期間内に、「開発した手法を用いて新たな生体電子移動経路を探索する」、という目標は達成出来なかった。研究期間後半で、磁気応答に関与すると考えられるクリプトクロム4の X 線結晶構造や、アカリオクロリス・光化学系 I と緑色硫黄細菌反応中心のクライオ電子顕微鏡・結晶構造など、重要な電子移動蛋白質の立体構造が次々と明らかになった。そこで今後は、これらの構造情報に対して、本研究で開発した手法を適用する予定である。

磁気応答、嗅覚、光合成エネルギー変換、酸化損傷防御などの生体機能を模したデバイス開発は、世界的に重要な課題として取り組まれている。それらの生体機能の全てで、電子移動とそれに伴う量子性が機能発現に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究期間の後半で、他のグループからも、新しい生体電荷移動経路探索法が提案され始めた。このさきがけ研究で得られた成果を生かし、応用研究を進めることで、生体電子移動の量子性を利用したデバイス開発という革新的技術開発に繋げることが、今後の大きな目標となる。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数:4件

1. Hiroataka Kitoh-Nishioka and Koji Ando. “Calculation of Charge-Transfer Electronic Coupling with Nonempirically Tuned Range-Separated Density Functional”. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2019, Vol. 123, (No.18), pp. 11351-11361.

概要) 本研究では、長距離補正密度汎関数理論(DFT)の距離分割パラメータを、有機半導体の構成分子に対して非経験的に最適化することで、分子間の電子・ホール移動積分を DFT の軌道相互作用として、高精度かつ効率的に求めることができることを提案した。ホール/電子 移動積分データセットである HAB11 と HAB7-に対して今回の提案した手法を検証したところ、非常に時間がかかる結合クラスター法や多参照摂動理論法を用いた過去の文献結果を超えて、トップのベンチマーク計算精度が得られた。

2. Hiroataka Kitoh-Nishioka, Yasuteru Shigeta, Shigeru Itoh, and Akihiro Kimura. “Excitonic Coupling on a Heliobacterial Symmetrical Type-I Reaction Center: Comparison with Photosystem I”. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2020, Vol. 124, (No.2), pp. 389-403.

概要) 本研究では、非酸素発生 I 型光合成反応中心(RC)であるヘリオバクテリア RC (hRC)の光捕集機構を調べるため、2017 年に初めて報告された結晶構造を基に、色素間の励起子結合強度計算を行った。その結果、好熱性シアノバクテリアが持つ同タイプ酸素発生 RC、光化学系 I(PSI)のものと異なる励起子結合強度分布を持つことが分かった。hRC と PSI の持つ色素を仮想的に置換することで、hRC が持つ特殊なクロロフィル(BChl-g)の電子状態とその空間的配置の2つの要因が、結合強度分布の違いを生み出すことを明らかにした。

3. Hiroataka Kitoh-Nishioka, Yasuteru Shigeta, and Koji Ando. “Tunneling matrix element and tunneling pathways of protein electron transfer calculated with a fragment molecular orbital method”. *The Journal of Chemical Physics*. 2020, Vol. 153, pp.104104 (14 ページ).

概要) 本研究では、蛋白質中の電子移動反応に対し、電子トンネル行列要素と電子トンネ

ル移動経路を、フラグメント分子軌道(FMO)法を用いて、高精度で効率的に計算する新手法を提案した。密度汎関数理論法、連続誘電体モデル、モデルコアポテンシャルなどの量子化学計算手法を FMO 法と組み合わせて使用することで、電子相関、溶媒効果、酸化還元反応中心の遷移金属などが、蛋白質中電子移動に及ぼす影響を解析することが可能であることを、モデル系に対するベンチマーク計算で明らかにした。

4. Akihiro Kimura, [Hiroataka Kitoh-Nishioka](#), Yasuteru Shigeta, and Shigeru Itoh “Comparison between the Light Harvesting Mechanisms of Type-I Photosynthetic Reaction Centers of Heliobacteria and Photosystem I: Pigment Site Energy Distribution and Exciton State”. *The Journal of Physical Chemistry B*. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c09400

概要) 構造情報を基にしたサイトエネルギー計算など、2 のヘリオバクテリア反応中心についての研究を進展させ、線形吸収スペクトル、円二色性スペクトル、時間分解蛍光スペクトルなどを再現する励起子ハミルトニアン作成に成功した。これらの計算から、シアノバクテリア光化学系 I との光捕集過程の違いや、カロテノイドによる過剰光エネルギー散逸機構についての議論を行った。

(2) 特許出願

該当無し。

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. Hiroataka Kitoh-Nishioka, Hiroaki Umeda, and Yasuteru Shigeta, “Chapter Title: Open-Architecture Program of Fragment Molecular Orbital Method for Massive Parallel Computing (OpenFMO) with GPU Acceleration” (in Book “Recent Advances of the Fragment Molecular Orbital Method” Y. Mochizuki et al. (eds.), © Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2021) in press.

2. Hiroataka Kitoh-Nishioka, Ryuma Sato, Yasuteru Shigeta, and Koji Ando. “Chapter Title: Linear Combination of Molecular Orbitals of Fragments (FMO-LCMO) Method: Its Application to Charge Transfer Studies” (in Book “Recent Advances of the Fragment Molecular Orbital Method” Y. Mochizuki et al. (eds.), © Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2021) in press.