

## Theoretical Studies on Redox Potential of Molecules by Molecular Dynamics Simulation

金沢大学大学院自然科学研究科  
博士後期課程 3年数物科学専攻  
岩山 将士*abstract*

The goal of this study is to estimate redox potential of molecules including proteins and to elucidate the mechanism of the electron transfer reaction between the molecules. The purpose of this thesis is to present a simple calculation method to evaluate the redox potential of the molecules by sampled configurations obtained from molecular dynamics (MD) simulation in order to estimate the redox potential including the fluctuation of conformation in long time order. For the MD simulation, optimized structures of simple small organic molecules, acetone and 3-pentanone, in the neutral and radical cationic states and the force field parameters have determined by density functional theory (DFT) calculations with high level basis set. From the MD simulations and the free energy calculations by the energy representation (ER) method, the structure and hydration properties of these organic molecules are investigated in the neutral and radical cationic states. These results show that the ionization effect of these molecules on the estimation of excess chemical potential is significant in both of molecules. The redox potential of the molecules calculated by the present calculation method have been discussed in relation to the difference of the redox potentials. The different value of the redox potentials between the acetone and 3-pentanone is in agreement with the experimental value within the standard deviation. These results suggest that the redox reaction with electron transfer between molecules by using the present computational method might be discussed from the viewpoint of the difference of the redox potential.

【緒言】生体系の酸化還元反応は光合成、代謝、細胞内シグナル伝達等の生命現象に密接に関与している。これらの酸化還元反応は電子の移動を伴っており、電子移動反応のメカニズムの理解は生物学的な生体機能発現の原理の究明に極めて結びつきが強い。電子移動を伴う酸化還元反応の研究では、電位差、電子の移動方向、及び反応経路の情報を含む酸化還元電位を詳細に解析することが重要である。酸化還元電位を理論的に求める上で、酸化還元反応の自由エネルギー変化を求めるために、熱力学サイクルモデルを用いて気相中のイオン化自由エネルギー、及び溶媒和自由エネルギーを分子軌道法、及び密度汎関数(DFT)法のような量子化学計算や、分極連続体モデル(PCM)を用いて評価されている。近年では溶媒和の寄与が、量子力学/古典力学(QM/MM)的手法と分子動力学(MD)法のカップリングをベースとした熱力学的積分法やエネルギー表示(ER)法を用いた顕な取り扱いが行われるようになってきている。しかしながら、これらの計算手法では、タンパク質を含む大規模系の酸化還元電位を実験値に対して正確に見積もることは容易では無い。PCM では溶媒を連続体として扱われるため、水中における溶媒和効果や、分子の熱揺らぎシミュレーションにて反映することができないからである。また QM/MM-MD カップリング手法では、電子状態を逐次計算するために、非常に精度の高いシミュレーションが可能であるが、計算コストが著しく高いため、タンパク質等を取り扱うには十分な熱揺らぎを含めた上での計算が不可能であるため、適用する分子には制限がある。これらの理由から、生体分子を対象とした酸化還元電位を計算するための理論的計算手法の改善は、現在も挑戦的課題の一つになっている。

本研究では、分子の酸化還元電位を評価するために、従来からよく使用される熱力学サイクルモデルを酸化還元反応に適用する。一方でタンパク質の酸化還元電位を計算することを目指し、計算コストの低減、十分な熱揺らぎを考慮した計算が可能になるように分子動力学法をベースとしたある種のハイブリッド計算手法を新たに提案する。本計算手法では、溶液中の MD 計算からサンプリングされた構造に対して、DFT 法、及び QM/MM 法等による気相中のイオン化自由エネルギー、エネルギー表示法(ER)等を用いて過剰化学ポテンシャルの平均値を計算する。これらの計算結果から、分子の酸化還元電位を計算する。また本研究では酸化還元電位の計算値を分子間の酸化還元電位の差を計算し実験値と比較することで、本計算手法の有用性を議論する。

【手法】酸化還元電位  $E^\circ$  は Nernst の式に従い、酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$  から計算される。酸化反応の自由エネルギー変化  $\Delta G$  は、図 1 に示す熱力学サイクルモデルを

用いて次式で与えられる。

$$\Delta G = \Delta E + (\Delta\mu_{(N-1)} - \Delta\mu_{(N)}) \quad (1)$$

ここで  $\Delta E$  はイオン化自由エネルギーであり、 $\Delta E = E_{(N-1)} - E_{(N)}$  を示す。 $E_{(N-1)}$ 、及び  $E_{(N)}$  は酸化型、及び還元型分子の全エネルギー、 $\Delta\mu_{(N-1)}$ 、及び  $\Delta\mu_{(N)}$  は酸化型、及び還元型の過剰化学ポテンシャル、 $N$  は分子の価数を示す。 $\Delta E$  は溶液中の MD 計算から得られた分子構造を用いて、有機化合物は B3LYP/6-31+G(d,p) を用いた DFT 計算、ブルー銅タンパク質は DFT-B3LYP/6-31G(d,p) を用いた QM/MM 計算により全エネルギーの平均値から算出する。 $\Delta\mu$  は MD 計算をベースとした ER 法を用いて計算する。

【計算】酸化型、及び還元型各々の分子の水溶液中における熱平衡化 MD 計算を実行する。MD 計算は Langevin 熱浴による 300 K の温度制御、及び 1 atm の圧力制御を施す。溶媒には TIP3P を使用し、力場には AMBER force field 03 (parm99) を使用する。但し、有機化合物、及びブルー銅タンパク質の含金属活性部位には、伸縮振動、変角振動、及び原子電荷について DFT 計算により求めた力場パラメータを使用する。長距離相互作用には Particle Mesh Ewald (PME) 法を用い、カットオフを 12 Å とする。時間積分の刻みを 2 fs とする。DFT 計算には Gaussian 03、MD 計算には AMBER 11 を用いる。有機化合物については、10 ns の十分な熱平衡化 MD 計算が実行されており、温度、圧力、及び重原子の根平均二乗偏差 (RMSD) の収束をもとに、溶質の熱による構造緩和が確認されている。まず、 $\Delta E$  の平均値はこれらの熱平衡状態にある系から得られた 400 個のサンプル構造をもとに計算する。 $\Delta\mu_{(N-1)}$ 、及び  $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値は ER 法に従い、熱平衡化 MD 計算から得られたサンプル構造をもとに ERMOD を用いて計算する。ER 法では、サンプル構造についての溶液系、及び純溶媒系への溶質挿入に伴う溶質-溶媒間のエネルギー分布関数を求める必要がある。エネルギー分布関数を計算するために、溶液系では溶質座標を固定した 300 ps の MD 計算から 30,000 個のスナップショットを用意し、純溶媒系では 100 ps の MD 計算で平衡状態にある純溶媒に対し、1,000 回の溶質挿入を行い計 100,000 個のサンプルを用意する。これらの計算を 400 個のサンプル構造に対して実行し、分子の過剰化学ポテンシャルの平均値を算出する。本研究ではこれらの計算手法・条件を用いて、有機化合物のアセトン、及び 3-ペンタノンの酸化還元電位を計算する。

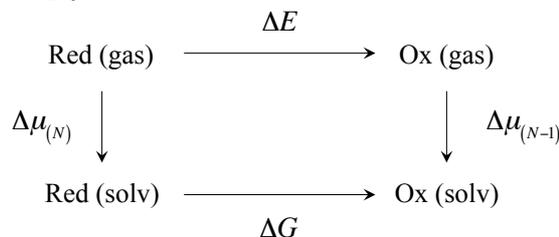


図 1. 酸化反応の熱力学サイクルモデル

【結果】表 1 に分子のイオン化自由エネルギー  $\Delta E$ 、及び酸化型、還元型の過剰化学ポテンシャル  $\Delta\mu_{(N-1)}$ 、 $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値と標準偏差を示す。これらの標準偏差の値は構造の熱揺らぎから生じており、十分な統計平均がなされている。 $\Delta E$  の平均値は断熱イオン化ポテンシャルの実験値と比較すると、アセトンで -2.2 kcal/mol、3-ペンタノンで -3.8 kcal/mol であり、気相中の構造に近い値を示している。一方で  $\Delta\mu_{(N)}$  の平均値は実験値と比較すると、アセトンで +1.5 kcal/mol、3-ペンタノンで +3.0 kcal/mol である。これらの計算値から式(1)より酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$ 、及び酸化還元電位  $E^\circ$  を計算する。 $E^\circ$  の計算結果はアセトン、及び 3-ペンタノンで 3.7 V、3.5 V であり、標準偏差は 0.1 V、0.2 V である。実験値の 0.16 V (アセトン)、0.14 V (3-ペンタノン) と比較すると、3.54 V、3.36 V の差があるが、これらの差は酸化型の系の過剰化学ポテンシャルの計算過程により生じるものと思われる。この詳細については学位論文付録 B にて説明している。

これらのエラーを相殺するために、次の式に示すようにそれぞれの分子の酸化還元電位  $E^\circ$  の差  $\Delta E^\circ$  を計算する。

$$\Delta E^\circ = \Delta(\Delta G) / F \quad (2)$$

$$\Delta(\Delta G) = \Delta G_{\text{acetone}} - \Delta G_{\text{3-pentanone}} \quad (3)$$

ここで  $\Delta G_{\text{acetone}}$ 、及び  $\Delta G_{\text{3-pentanone}}$  は、アセトン、及び 3-ペンタノンの自由エネルギー変化である。 $\Delta(\Delta G)$ 、及び  $\Delta E^\circ$  の計算結果は 4.6 kcal/mol、0.2 V であり、標準偏差は 4.6 kcal/mol、0.2 V である。これらの値は実験値 0.4 kcal/mol、0.02 V との比較から、標準偏差内で一致することが示される。これらの結果から、分子間の電子移動を伴う酸化還元反応を、酸化還元電位の差から議論できる可能性を示唆している。本研究手法はタンパク質に実際に適用可能かを調査するために、学位論文付録 A ではブルー銅タンパク質を用いて同様の解析を行っている。

る。一方で、これらの酸化還元電位の計算値、及び酸化還元電位の差の計算値に関する実験値とのエラーの原因にも興味がある。そこで本手法の発展した計算モデル、及びアセトンに適用した計算結果については学位論文付録 C に示す。

表 1. 酸化型/還元型の全エネルギー  $E_{(N-1)}/E_{(N)}$ 、イオン化自由エネルギー  $\Delta E$ 、酸化型/還元型の過剰化学ポテンシャル  $\Delta\mu_{(N-1)}/\Delta\mu_{(N)}$ 、及び酸化反応のギブス自由エネルギー変化  $\Delta G$  を示す。単位は kcal/mol であり、( ) の数値は標準偏差を示す。

molecular	$E_{(N-1)}$	$E_{(N)}$	$\Delta E$	$\Delta\mu_{(N-1)}$	$\Delta\mu_{(N)}$	$\Delta G$
acetone	-120,996.4 (0.9)	-121,217.2 (1.0)	220.8 (1.4)	-34.8 (2.6)	-2.3 (0.2)	188.3 (3.0)
3-pentanone	-170,348.0 (1.3)	-170,559.2 (1.4)	211.2 (1.9)	-27.9 (3.0)	-0.4 (0.2)	183.7 (3.5)

## 学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

Theoretical Studies on Redox Potential of Molecules by Molecular Dynamics Simulation

(分子動力学シミュレーションによる分子の酸化還元電位に関する理論的研究)

2. 論文提出者 (1) 所属 数物科学 専攻  
(2) 氏名 岩山 将志

3. 審査結果の要旨（600～650字）

当該学位論文に関して、各審査員が個別に検討し面接調査を行った後、論文内容を詳細に検討した。その後平成27年2月4日に行われた口頭発表の後に審査委員会を開き、協議の結果以下のように判定した。

本論文は全原子分子動力学シミュレーションを用いて分子の酸化還元電位の数値評価に関する理論的研究を行っている。生体系ではタンパク質や生体物質間での電子授受が生命活動で重要な役割を担っており、酸化還元電位は分子間の電子授受を定量的に評価する尺度となり得る。一般的に電子は酸化還元電位の高い方から低い方に移動する。この電子授受の指標となる酸化還元電位を数値予測することは理学や医学分野においても意義深い。しかしながら分子の酸化還元電位の高精度数値予測は非常に大規模な計算が必要となるために容易ではない。岩山氏は従来の酸化還元電位計算手法に比べより簡便な全原子分子動力学法と量子計算を用いたハイブリッド法を新たに提案した。その計算手法を用いてアセトンなどの有機分子の酸化還元電位を評価した。得られた結果は、実験値に比べ過剰評価しているが、計算で得られた酸化還元電位の相対値は実験結果と良く一致していることを見いだした。また、溶媒中のイオンが酸化還元電位に影響を与えることも見いだした。この一連の研究結果は先行研究とも矛盾せず、提案した新しい計算手法の有効性を示すと共に、今後の理論や実験研究にも多くの寄与をもたらすものである。

以上により、この論文は博士（理学）に値するものと判断した。

4. 審査結果 (1) 判定（いずれかに○印） 合格 ・ 不合格  
(2) 授与学位 博士（理学）