

博士論文概要

論文題目

第一原理計算からのユーマメラニンの構造解析

Structural Analysis of Eumelanin from ab Initio
Calculations

申請者

奥田	英和
Hidekazu	Okuda

生命理工学専攻 応用分光学

2008 年 10 月

メラニンとは動植物に広く存在する色素であり、光の吸収・散乱、カモフラージュ、熱の散乱など多様な機能を持つことが知られており、脊椎動物では体表に存在することが多い。メラニン色素は黒色～黒褐色のユーメラニンと赤褐色～黄色でアルカリ可溶性のフェオメラニンからなる。中でもユーメラニンは、ヒトでは主に皮膚に存在し光保護を担う重要な分子である。ユーメラニンは 5,6-dihydroxyindole (DHI)、5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) 及びそれらの酸化体が前駆分子であり、これら前駆分子がさまざまな比率で重合して構成されることが知られている。しかし、ユーメラニンはあらゆる溶媒に不溶性を示すことが知られており、そのため実験による解析は一般的には困難である。

ユーメラニンは紫外～可視の波長領域で光をよく吸収し、その強度は波長に対して単調に減少する。この特徴を説明するために半導体モデル、化学的無秩序モデルなど複数の構造モデルが提案されているが、ユーメラニンの構造は未解明である。三次元構造に関しても平面モデル、非平面モデルと呼ばれる 2 つのモデルが提唱されているがどちらが妥当か決着していない。

本研究では、ユーメラニンの構造を解明することを目指し、主に第一原理計算に基づいて解析を行う。第一原理計算はユーメラニンのように実験が困難な場合に特に有用なツールである。ユーメラニンは前駆分子が特定されているので、それらがどのように重合していくかを調べれば、ユーメラニンの構造を知る手がかりができると考えた。さらに、ユーメラニンを合成し構造そのものの情報を得ることも、目標を達成するには不可欠であると考えた。そこで、第一原理計算から DHI 及び DHICA の反応性を調べ、単離されている多量体の重合機構を反応性の観点から説明することを試みる。また一方で、分子の三次元構造を反映する中赤外吸収スペクトルを DHICA 単量体と DHICA 二量体と DHICA 由来ユーメラニンに関し調べ、三次元構造に対する知見を得ることを試みる。中赤外吸収スペクトルは、第一原理計算結果と比較し、振動モードを同定することで三次元構造の予測に利用できることが知られている。

本論文は全五章から構成される。以下に各章の概要を記す。

第一章では、現在までに行われたユーメラニンに関する研究を網羅し、本研究の背景を述べ、研究目的を明確にする。

第二章では DHI の二量体までの反応性を明らかにする。ユーメラニンの構造を解析するために、イタリア Naples 大学のグループが DHI 及び DHICA の多量体を合成・単離してそれらの構造を調べている。本章では彼らによって単離された四量体までの DHI 多量体生成機構を理論的に調べる。分子の反応性は Anderson らが提案した汎用反応性指標を用いることで評価された。DHI の重合反応は、DHI とその酸化体の求核-求電子反応であると考えられている。まず、DHI の配座異性体・DHI の酸化体の互変体の 300 K での存在確率を計算し、反応に関与する分子を特定した。同時に、HOMO・LUMO のエネルギーから確かに DHI が求核性を、

DHI の酸化体が求電子性を持つことを確認した。反応中に移動する電子の数から求核-求電子反応は電子移動の極限における反応であることが示唆された。正の電荷を持つ反応点と負の電荷を持つ反応点が反応することが分かった。また DHI 二量体を合成するとき金属イオンの有無によって異なる二量体が合成されることが知られている。この原因が金属イオンによって負の電荷を持つ反応点の反応が妨げられることにあることを示した。一方、汎用反応性指標だけでなく、反応分子のラジカルイオンの有効点電荷も二量体化機構を説明するのに適していることも示した。以上の二量体の合成機構を説明した方法で、単離されたすべての三量体・四量体も説明可能であることが分かった。すなわち、DHI 多量体の合成は電子移動による反応である。三量体が合成される過程では、反応分子の HOMO エネルギーが極めて近い場合は反応が起こらず、その結果二量体-二量体反応が可能になり四量体が合成されることが示された。本章で、現在までに単離されている DHI のホモ多量体のすべての合成機構が説明することに成功した。

第三章では DHICA の単量体の反応性を計算し、反応性の観点から DHICA の二量体の合成機構および DHI-DHICA ヘテロ二量体化機構を調べている。前章の方法でこれらの重合機構も説明できれば、ユーメラニン前駆分子の重合機構が反応性の観点から説明可能ということになる。DHICA は酸性度定数が近年求められており、その値と、過去に行われた DHICA の二量体合成実験が中性に近い溶液中で行われていることを考慮すると、DHICA の二量体化機構を考える場合、前駆体である DHICA の単量体がイオン化することも考慮に入れるべきである。DHICA は Naples 大学のグループにより四量体までが合成・単離されているが、イオン化している分子も考える必要があり、考慮すべき分子の数が非常に多くなる。ここでは、DHICA に関しては二量体化機構にのみ焦点を当てた。pH を 7.0 で固定して、中性・一価イオン・二価イオンの存在比を計算した。それら存在比と求核試薬の HOMO エネルギーと求電子試薬の LUMO エネルギーから、反応に関与する分子を特定する手法を用いた。反応に関与する分子を求める方法以外は前章と全く同様の手法を用いた。反応性から予測された反応生成物と過去の合成実験の結果はかなり良く一致した。存在する不一致の原因は、注目する分子の反応性が反応時の環境に敏感であるからと考えられる。DHI-DHICA のヘテロ多量体に関しては、1 種類の二量体のみが現在までに単離されているが、先行研究での指摘どおり、求核試薬としての DHI が DHICA の酸化体と反応することによって生成されることが分かった。

第四章では DHICA と DHICA 二量体と DHICA 由来ユーメラニンの構造を中赤外分光法を用いて調べる。試料は藤田保健衛生大学から提供を受けた。KBr 法を用いた顕微フーリエ赤外分光法で試料の中赤外吸収スペクトルを測定した。DHICA に関して、測定した中赤外吸収スペクトルと、第一原理計算から求めた中赤外吸収スペクトルとを比較することで $1000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ 波数領域での主たる中

赤外吸収バンドの振動モードを同定することに成功した。2つの中赤外吸収スペクトルは広い波数域で一部を除いて良い一致を示した。実験と理論にずれが生じた原因は、理論計算では真空中の DHICA 一分子のみを考え、分子間水素結合を無視したことにありと考えられる。DHICA 二量体に関して、実験結果は DHICA 単量体と中赤外吸収スペクトルが大きく異なる波数領域は非常に狭く、DHICA 単量体の三次元構造があまり変化せずに重合していることを示唆している。理論的に DHICA 二量体の中赤外吸収スペクトルを計算したところ、実験と同じく単量体からあまり変化しないことが分かった。DHICA 由来ユーメラニンの中赤外吸収スペクトルは DHICA の中赤外吸収スペクトルと $1000\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ 領域は概形が極めて似ていることが分かった。これから DHICA 由来ユーメラニン中に存在するであろうインドール骨格の三次元構造は、DHICA 単量体からあまり変化していないと考えられる。 $1600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ の波数領域では DHICA 由来ユーメラニンの中赤外吸収スペクトルは DHICA にも DHICA 二量体にも似ていないことが分かった。DHICA の単量体と二量体では $1600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ の波数領域には C=O 基の伸縮振動によるバンドは1つしか現れないにもかかわらず、DHICA 由来ユーメラニンでは同領域に2つ現れた。このバンドはユーメラニンの三次元構造を特定するための鍵であると考えている。先行研究に従って多量体の両端において DHICA の六員環が開裂したピロール酸の存在を考慮した分子を想定して、その中赤外吸収スペクトルを第一原理計算から求めた。この種の分子は $1600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ の領域に C=O 基の伸縮振動によるバンドを2つ持つことが分かった。この結果はユーメラニン中のピロール酸の存在を理論的にはじめて予言するものである。

第五章では本論文のまとめと展望を述べる。現在まで、ユーメラニンの構造解析は化学的手法に頼ってきたが、第一原理計算から得られる知見もユーメラニンの構造を解明する上で大きな役割を果たすと考えられる。また、中赤外分光法と第一原理計算を組み合わせた手法もユーメラニンの構造解析を行う上で新しい知見を得るのに役立つことが分かった。