

博士論文審査報告書

論文題目

第一原理計算からのユーマラニンの構造解析
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

2009年 2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、紫外～可視の波長領域で光をよく吸収し、かつその強度は地表面での太陽光線スペクトルに合わせるごとく波長に対して単調に減少するという光学的特性によって、生体の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となり、それらがさまざまな比率で重合して生成されると考えられている。その過程に関しては、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。また、光学的特性を説明するためのモデルとして、半導体モデルや化学的無秩序モデルなどが提案されている。しかし、ユーメラニンはあらゆる溶媒に不溶であることが実験による直接的な解析を困難なものとし、どのモデルが妥当であるかについては未だ未解明な状態にある。

本論文は、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た重合過程ならびに構造についての研究結果をまとめたものである。第一原理計算は実験が困難な分子の性質解明や新規機能を有する分子設計に有用なツールである。申請者は、高次構造を知る手がかりを得る手段として、特定されている前駆分子の反応性を調べることで重合過程を推定する手法を提案している。化学反応を第一原理から取り扱うことは、非常に難しい問題である。申請者は、Anderson らが提案した比較的簡便ではあるが物理化学的な本質を踏まえている汎用反応性指標が、問題としている系に適用可能であることを確認し、利用している。DHI に関しては二量体から四量体まで、DHICA に関しては二量体、さらに両者のヘテロ二量体の重合機構解明に成功している。一方で、申請者は、構造の情報を実験から得ることも目標を達成するには不可欠であると認識している。化学的に安定な DHICA から合成されたユーメラニンの構造を、中赤外吸収スペクトル計測と第一原理計算とを組み合わせる手法を利用して推定している。

本論文は全 5 章から構成されている。以下に各章ごとの概要を述べ評価を加える。

第 1 章では、これまでのユーメラニンに関するさまざまな分野における研究を整理することで、研究の背景を述べるとともに本研究の目的を明確にしている。

第 2 章では、DHI の二量体までの反応性を解析し、四量体までの DHI 多量体生成機構を理論的に調べた結果を述べている。DHI の重合反応は、DHI とその二電子酸化体の求核-求電子反応であると考えられている。この描像が妥当であることを、DHI の配座異性体、DHI 二電子酸化体の互変体についての HOMO、LUMO エネルギーの比較から理論的に確認している。また、反応中

に移動する電子の数を見積もることで、この求核-求電子反応は電子移動の極限での反応であることを明らかにしている。汎用反応性指標から各分子の反応点を推測し、求核分子と求電子分子間の結合位置を特定している。その結果は、これまでに実験的に単離された二量体の結合位置とよく一致している。この過程で、汎用反応性指標だけでなく、反応分子のラジカルイオンにおける反応点の有効点電荷も、二量体化機構を説明するのに適していることを発見している。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が、それは金属イオンが負の電荷を持つ反応点の反応性を低下させる結果生じると解釈可能であることを明らかにしている。

単離されている DHI の三量体・四量体において、その重合過程も電子移動による反応であること、結合位置は理論的に説明できることも明らかにしている。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ている。

DHI ホモ四量体までの重合機構を理論的に明らかにしたのは本研究が初めてであり、DHI 由来ユーメラニンに対する平面か非平面かという構造モデルの妥当性を検討する糸口を与えたと言う意味で、評価できる。

第 3 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について述べている。DHICA は酸性度定数が近年求められている。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必要がある。申請者は、反応時の 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、それと求核試薬の 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種を特定している。反応に関与する分子を求める方法以外は前章と同様の方法を用いている。汎用反応性指標から予測された反応生成物と従来の合成実験の結果はかなり良く一致している。一部の不一致の原因は、汎用反応性指標には反応分子への溶媒の pH 値や金属陽イオン存在の影響は考慮されていないことに起因する、と推論している。

DHI-DHICA ヘテロ二量体は、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を理論的に裏付けている。

DHICA と関連酸化体の反応性を明らかにしたことはもとより、第 2 章と第 3 章を通じて、複雑な分子間の反応を調べるときにも汎用反応性指標が適用可能であることを示すとともに、その適用限界についても考察していることは評価に値する。

第 4 章では、実験室で合成された DHICA と DHICA 二量体と DHICA 由来ユーメラニンの中赤外スペクトルを調べた結果について述べている。実験には、KBr 法を用いた顕微フーリエ赤外分光法が用いられている。第一原理計

算は、真空中の分子を仮定して実行されている。まず、DHICA に関する実験と理論の比較から、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ている。光吸収ピーク波数の位置は、 $1000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ の波数域で一部を除いて良い一致を示している。実験結果と理論値の不一致の原因は、理論計算では分子間水素結合を無視したことにあると指摘している。

単量体と二量体のスペクトルの比較から、二量体の構造に関して、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が結論されている。

DHICA 由来ユーメラニン $1000\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ 領域のスペクトルが単量体や二量体のそれと概形が極めて似ていることを見出している。一方で、 $1600\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ の波数領域では、単量体と二量体に存在しない吸収ピークが出現していることを発見している。そのようなスペクトルを呈する構造を第一原理計算から探っている。DHICA 由来ユーメラニンの構造には酸化重合中に少なくとも多量体の両端付近においてインドールの六員環が酸化開裂して生じるピロール酸が存在することが知られているが、ピロール酸に付随する C=O 基による光吸収では 1600 cm^{-1} 台の吸収ピークは説明しきれないことを明らかにしている。その吸収ピークを説明するには、インドール六員環の酸化開裂にともない隣接分子を結合する箇所にケトン基が生じると仮定することが合理的であると推論している。

合成するには比較的長い酸化重合時間が必要な DHICA 由来ユーメラニンにおいて、ケトン基の存在を実験と理論両面から示唆したことは評価できる。

第 5 章では本論文のまとめと今後展開されるべき研究の方向性を明示している。

以上を要するに、申請者は、生体の光保護作用をつかさどるユーメラニンの構造を解明するための理論的研究に先鞭をつけた。本研究成果はユーメラニンの進化過程解明に新たな視点を与えたと評価でき、応用分光学分野のみならず色素細胞研究分野に対して大きな貢献をなすものと認められる。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。

2009 年 2 月

審査員（主査）	早稲田大学教授	工学博士（早稲田大学）	宗田 孝之
	早稲田大学教授	工学博士（早稲田大学）	梅津 光生
		医学博士（東京女子医科大学）	
	藤田保健衛生大学教授	理学博士（名古屋大学）	伊藤 祥輔
		医学博士（藤田保健衛生大学）	
	早稲田大学教授	理学博士（東京大学）	伊藤 紘一
	早稲田大学教授	工学博士（東北大学）	堀越 佳治
	早稲田大学教授	工学博士（慶應義塾大学）	武田京三郎