

プラストシアニンの配位子金属間電荷移動励起ダイナミクスに関する理論的研究

(京大院・理) ○安藤 耕司

【序】 プラストシアニンはタイプ I に属する銅タンパク質であり、光合成系において電子伝達の役割を果たす。酸化還元中心である銅イオンには、システイン (Cys)、メチオニン (Met)、2個のヒスチジン (His) が配位している (図1)。酸化状態における 600 nm 近辺の強い光吸収は、Cys から Cu(II) への配位子金属間電荷移動 (LMCT) 励起に起因すると考えられている。この電荷移動励起により、形式的に Cu(II) から Cu(I) へ還元されると見なせることから、励起に伴う分子運動が酸化還元反応においても関与すると予想され、多くの分光学的研究が行われてきた。本研究では、近年報告された超高速時間分解ポンブプローブ分光と共鳴ラマン散乱の実験結果に触発され、非経験的分子軌道計算と分子動力学シミュレーションを組み合わせた微視的解析を行った。特に、Edington ら [1] により示唆された失活経路 (LMCT 状態から d-d 励起状態を経て基底状態に緩和する)、分子内またはタンパク質環境の速い緩和 (ホールバーニングの不在)、中島ら [2] により見出された約 33 cm^{-1} のコヒーレントな大振幅振動に着目し、これらの微視的機構の解明を目指した。

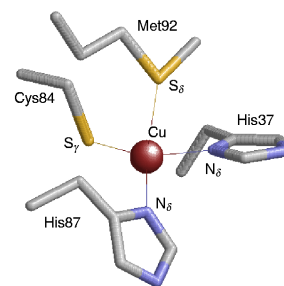


図 1: 酸化還元中心

【方法】 まず、銅イオンと4つのアミノ酸配位子を切り出したモデル錯体について密度汎関数法による電子状態計算を行い、Natural Bond Orbital 解析を行ったところ、Cu-S(Cys) 間に高い共有結合性が見いだされ、他の配位子は静電的な配位子場を与えるものと見なせることが分かった。そこで、Cu-Cys 系に他の配位子からの有効点電荷 (PDCNP [3]) による静電場を加えたモデル系について、MCSCF-ORMAS (Occupation Restricted Multiple Active Space) 法により、基底状態、LMCT 状態、配位子場分裂した銅 3d-3d 軌道間励起 (d-d 励起) を含む6つの励起状態のポテンシャル面の計算を行った (図2) [4]。これらのポテンシャル関数を分子動力学シミュレーションプログラム (PEACH3.8 [5]) に組み込み [6]、複数の電子状態間の非断熱遷移を記述するための基本量である垂直エネルギーギャップ座標の平衡および非平衡動力学を計算し解析を行った (図3)。

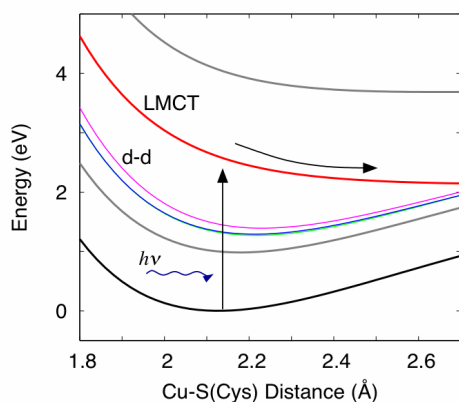


図 2: ポテンシャルエネルギー曲線

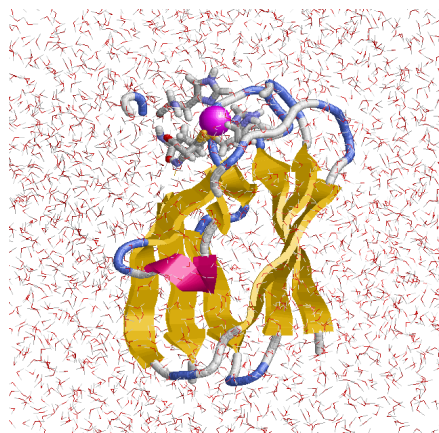


図 3: シミュレーションのスナップショット

【結果】 計算結果は以下のように要約される。

1. 基底状態における熱平衡動力学シミュレーションにより、LMCT 励起状態と基底状態と間の垂直エネルギーギャップ座標と銅イオン中心周辺の構造パラメータの揺らぎの時間相関関数、パワースペクトルおよび相互コヒーレンススペクトルを計算したところ、Cu-S(Cys) 伸縮振動、N(His)-Cu-N(His) 変角振動、S(Cys)-Cu-N(His)₂ ピラミッド構造の屈曲振動の3つの分子運動が、基底状態から LMCT 状態への励起に最も強く結合する。
2. LMCT 状態への励起直後の非平衡動力学シミュレーションによると、励起後 70~80 フェムト秒で、LMCT 状態と d-d 励起状態および第1励起状態との間でポテンシャル交差が起こる。このときの Cu-S(Cys) 間距離は 3.0-3.2 Å であり、蛋白質環境の影響により、モデル錯体のポテンシャル関数から予想された値よりも 0.3-0.5 Å 長い。
3. LMCT 状態と基底状態とのエネルギーギャップは、平均において約 8 kcal/mol よりも近付くことはなく、光励起状態からの失活は、まず d-d 励起状態とその下の第1励起状態を経てから、基底状態へ緩和すると予想される。これは、超高速ポンプ・プローブ分光から示唆された結果と整合している。
4. 上記の 70~80 フェムト秒における弾道的 (ballistic) なポテンシャル交差の後、約 500 フェムト秒でコヒーレントな回帰が見られ、再度交差点に近づく。ここでコヒーレントと称したのは、400 本の非平衡動力学計算のアンサンブル平均を取っても明確に残るとい意味である。この動的振舞いは、Cu-S(Cys) 結合の開裂とそれに伴う N(His)-Cu-N(His) 構造の反作用的応答と最もよく相関する。
5. 約 500 フェムト秒以後は、エネルギーギャップの動力学は乱雑化され、統計平均は平坦な経時変化を示す。しかしながら、平均を取る前の個々の軌道には、ポテンシャル交差を何度も引き起すに十分な大きさの揺らぎが見られる。すなわち、弾道的な交差とコヒーレントな回帰交差が起こった後の時間領域では、ランダムな熱揺らぎによって非断熱遷移による失活が続くことが示唆される。

【考察】 計算により得られた 100~400 cm⁻¹ 領域のピーク群は、共鳴ラマン散乱によって観測されたものと良い一致を示す。一方、時間依存ポンプ・プローブ分光データのフーリエ変換では、上記に加え、約 33 cm⁻¹ を中心とする幅広いピークが見出されている。これは約 500 フェムト秒の半周期に相当する。この低振動数の運動が、電子移動反応に寄与する大きなタンパク質ドメイン運動に起因すると推論されていたが、我々の計算は、N(His)-Cu-N(His) 部位の応答がこの時間スケールの運動を表す主要な分子運動であることを示している。今後は、この配位子部位の局所的な運動が、タンパク質ドメインの大きな運動や、周囲の溶媒水分子の運動とどのように相関・結合しているかを解析する必要がある。また、実際の生理的酸化還元反応では、LMCT 励起に伴う Cu-S(Cys) 結合の開裂のような大きな運動は誘起されないことが、占有されるべき分子軌道の性質から予測される。一方、ヒスチジン配位子の重要性は、酸化還元反応でも同様と考えるのが妥当である。よって、これらの過程を比較しながら配位子やタンパク質ドメインの動的結合を解析することで、銅イオンを活性中心とする電子移動タンパク質の構造機能相関の理解が進むことが期待される。

【文献】

1. Edington, M. D.; Diffey, W. M.; Doria, W. J.; Riter, R. E.; Beck, W. F. *Chem. Phys. Lett.* **1997**, *275*, 119.
2. Nakashima, S.; Nagasawa, Y.; Seike, K.; Okada, T.; Sato, M.; Kohzuma, T. *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *331*, 396.
3. Ando, K.; *J. Chem. Phys. B* **2004**, *108*, 3940.
4. 電子状態計算には GAMESS を用いた。
5. Komeiji, Y.; Uebayasi, M.; Takata, R.; Shimizu, A.; Itsukashi, K.; Taiji, M. *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 1546.
6. 活性中心以外のタンパク質力場は AMBER 99、約4千個の溶媒水には flexible SPC モデルを用いた。