

## タイプI銅タンパク質の酸化還元電位に関する理論的研究

(金沢大理工研究域<sup>1</sup>・金城大学<sup>2</sup>) ○長尾秀実<sup>1</sup>, 杉森 公一<sup>2</sup>, Phung Thi Viet Bac<sup>1</sup>, 杉山歩<sup>1</sup>,  
齋藤大明<sup>1</sup>, 西川 清<sup>1</sup>

【序】銅タンパク質は、金属タンパク質の一種であり、その分光学的性質によって3種に分類される。特に銅一核のタイプI銅タンパク質は、592-625nm近傍に吸収スペクトルを持ち電子伝達の機能を持つ[1]。例えば、バクテリア *Pseudomonas aeruginosa* 由来のタイプI銅タンパク質であるアズリンは、高い酸化還元電位によってシトクロム *c* 酸化酵素への電子伝達を媒介している[2]。その活性部位は、銅イオンを中心に3~5個のアミノ酸残基が配位し、三方両錐型、四面体型、三配位平面型などの配位構造を取る(Figure 1)。タンパク質活性部位の構造変化に由来して、電子伝達特性を示す酸化還元電位や分光学的特性は様々に変化することが分かっている[3-5]。

以前我々は、密度汎関数法(DFT)と2-site Hubbard modelを用いて活性部位周辺環境と銅イオン上の on-site Coulomb potential との関係について明らかにした[6, 7]。また、分子動力学計算によってアズリン-シトクロム *c* 複合体の電子伝達特性について議論した[8]。本研究では、活性部位周辺の環境変化と酸化還元電位の関係に着目し、量子化学計算と実験との比較から理論モデルの構築を行う。

【計算方法】まず、28種のタイプI銅タンパク質のPDB構造から、銅イオンと周辺アミノ酸残基を含む活性部位で打ち切ったクラスターモデルを構築する。次にB3LYP/6-31G\*\*/IEFPCM計算により得られた真空中・溶媒中の電子エネルギーを求める。酸化型・還元型モデルについての熱力学サイクルから、Nernst式による酸化還元電位( $E_{RP}$ )を計算する。

$$E_{RP} = \Delta G / nF \quad (1)$$

$$\Delta G = \Delta E_v - \Delta E_s \quad (2)$$

ここで、 $n$ は酸化還元に関わる電子数、 $F$ はファラデー定数、 $\Delta G$ は式(2)による真空中での酸化型・還元型モデルのエネルギー差と溶媒中での酸化型・還元型モデルのエネルギー差である。量子化学計算にはすべて Gaussian03[9]を用いた。また、溶媒効果とプロトン付加の影響を調べるため、アズリンの銅イオン上および周辺アミノ酸残基のスピン密度を計算した。

【結果】量子化学計算による酸化還元電位の計算結果の一部を Table 1 に示した。実験値に対し計算値は過大評価したが、式(1)で振動エネルギーの寄与を無視していることと、基底関数系が小さいことが原因と考えられる。Figure 2 には、酸化還元電位の計算結果と実験値の散布図を示した。両者には相関が見られ、周辺残基の構造変化が銅イオン上のスピン密度や酸化型・還元型タンパク質間のエネルギー差に影響を与えていることが分かる。このことか

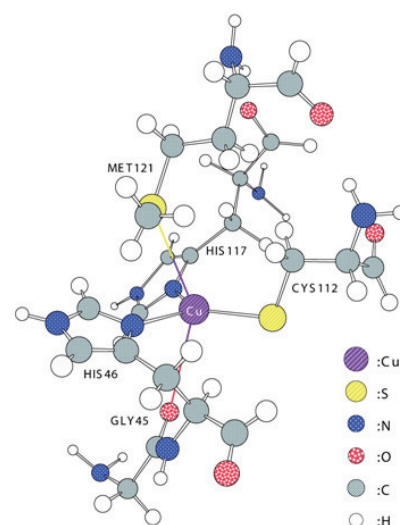
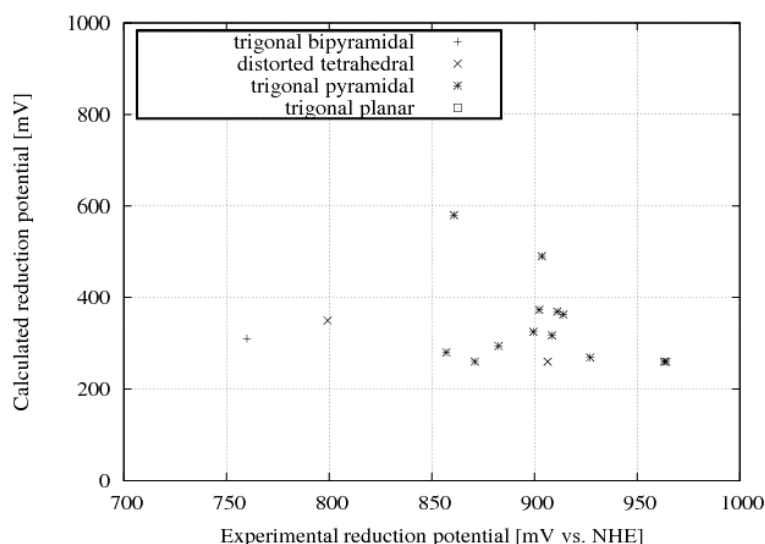


Figure 1. Active site of *P. aeruginosa* azurin (type I copper protein).

ら、以前提案した 3 電子系 Hubbard 模型[6]を適用すると、銅イオン上の部分スピン密度が減少し、強く配位するシステインの硫黄上の部分スピン密度が増加するにつれ、酸化還元電位が大きくなることを見出された。配位構造の変化を生体内での溶媒環境およびプロトン化構造を考慮したクラスターモデルの電子状態を詳細に論じることにより、銅タンパク質における電子伝達機構の理論的解釈が可能になる。



**Figure 2.** Calculated reduction potentials of the cluster models and experimental values of type I copper proteins [mV].

**Table 1.** Calculated reduction potential [mV] of type I copper proteins by B3LYP/6-31G(*d,p*) and Eq.(1).

Protein (PDB ID)	Coordination*	Calculated $E_{RP}$ [mV]	$E_{exp}$ [mV vs. NHE]
Azurin ( <b>4AZU</b> )	5 tb	760.01	310
Stellacyanin ( <b>1JER</b> )	4 dt	906.44	260
Nitrite reductase ( <b>1NDT</b> )	4 tpy	870.98	260
Ceruloplasmin ( <b>1KCW</b> )	3 tpl	1034.73	>1000

\*The number of coordinated ligands to Cu ion and coordination structures are presented as follows; tb (trigonal bipyramidal), dt (distorted tetrahedral), tpy (trigonal pyramidal), and tpl (trigonal planar).

### 【参考文献】

- [1] H. B. Gray, B. G. Malmström, R. J. P. Williams, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **5**, 551–559 (2000).
- [2] H. Nar, A. Messerschmidt, R. Huber, M. Van de Kamp, and G. W. Canters, *J. Mol. Biol.* **221**, 765–772 (1991).
- [3] E. I. Solomon, M. J. Baldwin; M. D. Lowery, *Chem. Rev.*, **92**, 521–542 (1992).
- [4] E. I. Solomon; R. K. Szilagy; S. D. George; L. Basumallick, *Chem. Rev.* **104**, 419–458 (2004).
- [5] E. I. Solomon, *Inorg. Chem.* **45**, 8012–8025 (2006).
- [6] T. Shuku, K. Sugimori, A. Sugiyama, H. Nagao, T. Sakurai, and K. Nishikawa, *Polyhedron* **24**, 2665–2670 (2005).
- [7] K. Sugimori, T. Shuku, A. Sugiyama, H. Nagao, T. Sakurai, and K. Nishikawa, *Polyhedron* **24**, 2671–2675 (2005).
- [8] A. Sugiyama, Y. Takamatsu, K. Nishikawa, H. Nagao, and K. Nishikawa, *Int. J. Quantum Chem.* **106**, 3071–3078 (2006).
- [9] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel et al. Gaussian 03, Rev. C.04, Gaussian, Inc., Wallingford CT (2004).