

3E09

ヘムに配位するシアニドの ^{13}C NMR 常磁性シフトにおける 周辺タンパク質の効果の解析

(首都大院・理工¹, CREST²) ○山木 大輔^{1,2}, 波田 雅彦^{1,2}

【序】ヘムタンパクはヘム周辺環境の違いで多様な反応性を示す。ヘム鉄周辺の配位環境を研究する上で常磁性 NMR は極めて有効な観測方法である。このような常磁性シフトと電子状態や分子構造の対応を考察するには量子化学計算とその解析が不可欠である。シアニドイオンはこのヘム鉄に強く結合するが、藤井らはこのシアニドの ^{13}C -NMR シフトが周辺環境に大きな影響を受けることをしめした。(図1) その研究を受け、我々は、ヘム鉄に配位したヒスチジンの先の水素結合を再現したモデル (図2内(B)) について量子化学計算をおこない、常磁性シフトの解析をおこなった。結果、水素結合の相手がこの常磁性シフトの全体の傾向を決めていることがわかった。

(図2) 一方で、ヘモグロビン (Hb) とシトクロム C (Cyt-c) など、同一の水素結合相手でありながらシフトが大きく異なる系があり、タンパク質に囲まれることによる構造の変化・他の近接残基等の考慮の必要性があきらかになった。

本研究では、他の近接残基の影響を解析するために、ヘム鉄の周辺のカバーした複数のモデルについて量子化学計算により常磁性シフトを計算し、差密度行列解析等により、これらのモデルを比較し、常磁性シフトへの影響を解析する。

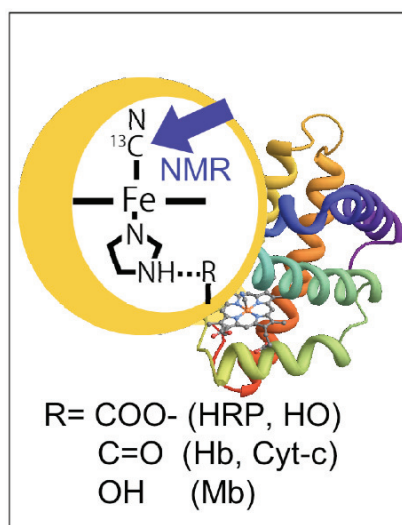


図1 ヘムタンパク質

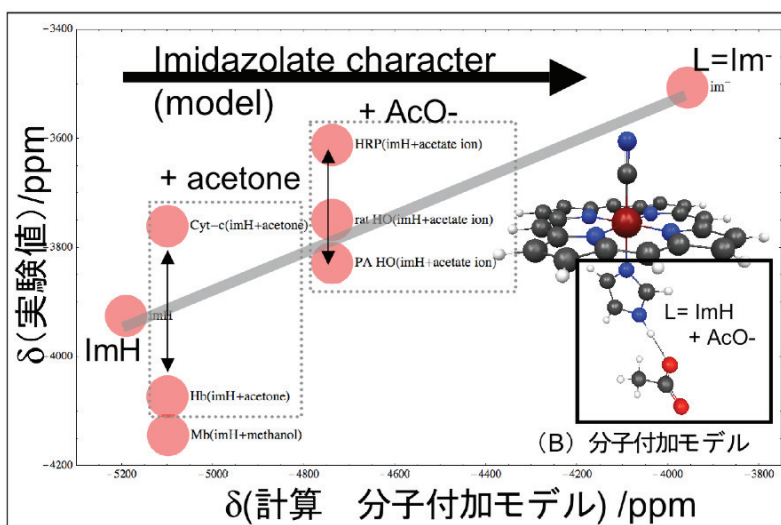


図2 常磁性シフトの実験値(縦軸)と計算値(横軸)

【モデル分子】 シトクロム C (Cyt-c) のモデルを図3に示す。シアニドイミダゾール鉄ポルフィリンを共通の本体 (モデル1) とし、これまでの同様に水素結合を考慮するためプロリンの一部を考慮する系 (モデル2)、シアニドの上部のチロシンの一部を考慮した系 (モデル3)、そして、比較用にモデル1から脱プロトン化した系 (モデル4) を構築し、それぞれを比較した。

【差密度行列解析】 NMR 常磁性シフトの場合、フェルミ接触項 σ_A^{FC} が遮蔽定数の主要な項である。この項は原子核近辺の電子スピン密度に依存し、この分子間の差 $\Delta\sigma_A^{FC}$ は、2つの分子のスピン密度差 $\Delta\rho_s$ で表される。本研究では、非対角部も含めた差スピン密度行列 $\Delta\rho_s$ の自然軌道 φ_i を用いることにより、次式のように遮蔽定数の差 $\Delta\sigma_A^{FC}$ を軌道の寄与に分解する。

$$\Delta\sigma_A^{FC} \propto \text{tr}[\delta_A \Delta\rho_s] = \sum_i \varepsilon_i \langle \varphi_i | \delta_A | \varphi_i \rangle = \sum_i \sigma_i$$

これにより、モデル間の電子状態の差のみに注目し解析することができる。

【結果と考察】 図3右にモデル1-4の図と常磁性シフトの計算値を示す。モデル1を基準として、モデル2は下部配位子の水素結合1の効果のため、スピン密度が減少しシフトの絶対値が 140ppm 減少し、水素結合の強い極限のモデル4の方向へ値が移動する。シアニド側の残基の一部を取り入れ水素結合2を考慮したモデル3では、さらに 350ppm シフトが抑制され、図2に示す Cyt-c の実験値 (縦軸) の傾向に対応した結果になっている。差密度行列解析等、計算結果の詳細は当日に報告する。

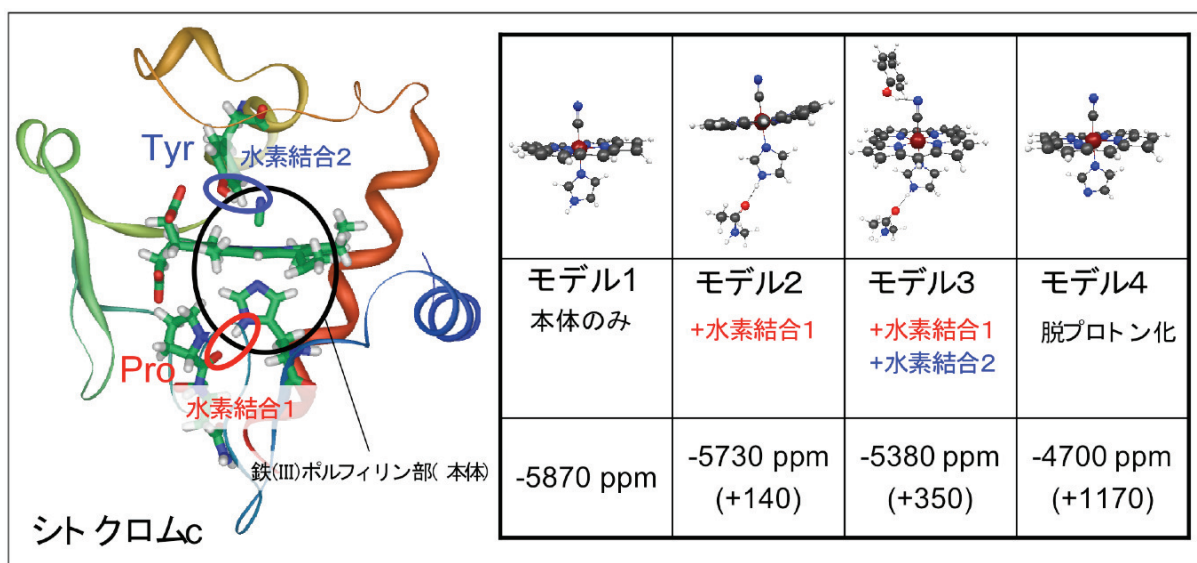


図3 シトクロムcの構造とモデル分子および常磁性シフトの計算値