

量子化学計算を用いたラマン光学活性による
 ポリ-L-アラニンの溶媒和二次構造の解析
 (関西学院大学*, 大阪大学**) ○古川達也*, 山本茂樹**, 尾崎幸洋*

Solvated Secondary Structure of Poly-L-Alanine
 Studied by Quantum Chemical Computation of Raman Optical Activity Spectra
 (Kwansei Gakuin University*, Osaka University**)
 ○Tatsuya Furukawa*, Shigeki Yamamoto**, Yukihiro Ozaki*

【序論】ラマン光学活性(Raman Optical Activity; ROA)分光法は左右円偏光に対する光学活性分子のラマン強度の差を測定する分光法である。キラルな分極率による信号を測定するため、無偏光ラマン分光と比較してタンパク質二次構造により鋭敏である。タンパク質の ROA バンドには、アミド I やアミド III バンドのようにすでに二次構造へ帰属されているものもあるが、 1340 cm^{-1} や 1300 cm^{-1} の正の ROA ピークのように、“水和 α ヘリックス”や“非水和 α ヘリックス”構造によるものと推測される帰属の不確かなバンドも存在する^[1]。溶液中ポリ-L-アラニン(PLA)の実験 ROA スペクトルの 1338 cm^{-1} と 1304 cm^{-1} の 2 つのバンドの相対強度は、溶媒に依存することが知られている^[2] (図 1)。これまでの研究では PLA の ROA スペクトルを良く再現することがまだ出来ていない。そこで、本研究では分子断片化法^[3]を用いた量子力学計算によって ROA スペクトルを再現することでバンドの帰属を行った。また、実験 ROA スペクトルの溶媒依存性を再現する為に、ペプチド主鎖のねじれ角および溶媒の誘電率を独立に変化させて計算を行い、実験スペクトルと比較した。

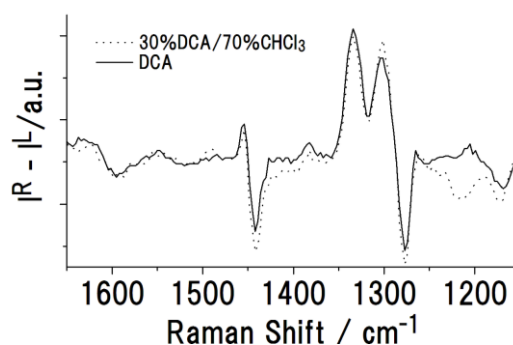


図 1 PLA の実験 ROA スペクトル(上:ジクロロ酢酸中(DCA), 下:ジクロロ酢酸/クロロホルム混合溶液中 (30% DCA / 70% CHCl₃)^[2]

【計算方法】分子断片化法^[3]の手順について説明する。最初に α ヘリックス構造をとった (Ala)₁₈ と (Ala)₄ の分子モデルを作製し、(Ala)₄ を基準振動座標において構造最適化した。この時、(Ala)₄ の構造が α ヘリックスから大きく変化しないように 300 cm^{-1} 以下の基準振動を固定した。力場(振動数)、ラマン、ROA の分極率微分のテンソルを計算し、CCT プログラムを用いて計算された (Ala)₄ のテンソルを (Ala)₁₈ に原点依存性を考慮して転写した。アミノ酸を 1 残基ずつ回転させながら、全部で 15 回転写を行った。転写が重なっている部分のテンソルを加重平均した。 α ヘリックス構造を含む 35 種類のタンパク質の X 線構造解析結果^[4]から、結晶中において α ヘリックスの主鎖が溶媒分子と水素結合を形成していない場合のペプチド骨格ねじれ角は $(\phi, \psi) = (-59^\circ, -44^\circ)$ (以後、非水和構造と呼ぶ)、水素結合を形成している場合は $(\phi, \psi) = (-66^\circ, -41^\circ)$ (以後、水和構造) となることが明らかとなっている。我々は、これら 2 つ

のペプチドねじれ角をとる(Ala)₁₈について計算を行った。また、溶媒を考慮する場合はCPCM(Conductor like Polarizable Continuum Model)を用いた。

【結果・考察】(Ala)₁₈のペプチド主鎖のねじれ角(ϕ, ψ)が非水和構造または水和構造である

二つの場合についてそれぞれCPCM溶媒モデルを真空, クロロホルム(CHCl₃, 誘電率, $\epsilon=4.71$), ジクロロエテン(DCE, $\epsilon=9.20$)と変えてスペクトル計算を行った(図2)。水和構造についての計算ROA

スペクトルは1359 cm⁻¹と1327 cm⁻¹のバンドの形状が実験スペクトルの1338 cm⁻¹と1304 cm⁻¹のバンドの形状と近くなるが、非水和構造についての計算ROA

スペクトルの1367 cm⁻¹と1328 cm⁻¹のバンドは実験スペクトルと異なる形状をとることが分かる。このことから、PLAは溶液中では主にペプチドねじれ角が(ϕ, ψ)=(-66°, -41°)となる水和構造をとることが考えられる。実験スペクトルの1304 cm⁻¹と1338 cm⁻¹の2つのバンドは、水和 α -ヘリックス構造をとるPLA計算スペクトルの1327 cm⁻¹と1359 cm⁻¹のバンドと帰属できる。これら2つのバンドはどちらもC α -H変角振動であり、水素原子の振動方向は1304 cm⁻¹のバンドにおいてはN-C α 軸に平行、1338 cm⁻¹においてはC α -C軸に平行に振動していることが確認された。表1に、これら二つのバンドの強度比(高波数側ピーク/低波数側ピーク)を実験および計算スペクトルについてまとめた。実験スペクトルで見られた溶媒依存性を、CPCMを用いた計算によって初めて再現することが出来た。溶媒の誘電率が高くなることで、実験スペクトルのピーク強度(1338 cm⁻¹/1304 cm⁻¹)が大きくなったと考えられる。

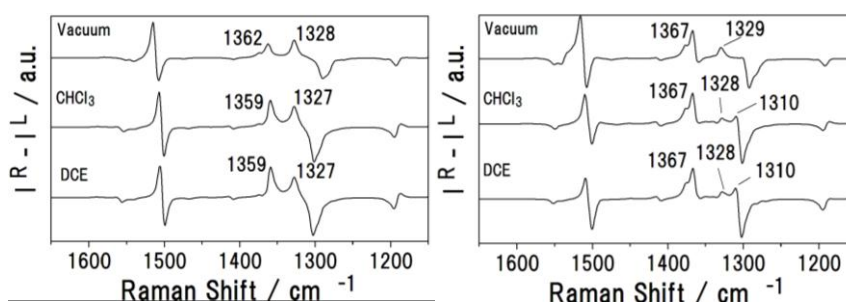


図2 水和(左)と非水和(右)構造のPLAの計算ROAスペクトル(上:真空中(Vacuum), 中:クロロホルム中(CHCl₃), 下:ジクロロエテン中(DCE))

表1 実験スペクトル^[2]と計算スペクトルの誘電率の違いによるピーク強度比の変化

溶媒 (誘電率 ϵ)	実験スペクトル		計算スペクトル	
	30% DCA / 70% CHCl ₃ ($\epsilon=5.72$)	100% DCA ($\epsilon=8.08$)	CHCl ₃ ($\epsilon=4.71$)	DCE ($\epsilon=9.20$)
ピーク強度比 (高波数側のピーク/低波数側のピーク)	1.05	1.26	1.30	1.52

[1] Iain H. McColl, Ewan W. Blanch,† Lutz Hecht, and Laurence D. Barron, *J. AM. CHEM. SOC.* **2004**, *126*, 8181-8188.

[2] Schellman, J. A., Schellman, C., *The Proteins*, Second Edition; Neurath, H., Ed.; Academic Press: New York, **1964**, 1-132.

[3] Bourř, P.; Sopková, J.; Bednářová, L.; Malonř, P.; Keiderling, T. A. *J. Comput. Chem.* **1997**, *18*, 646-659.

[4] Sundaralingam, M.; Sekharudu, Y. C. *Science* **1989**, *244*, 1333-1337.