

MD 法と QM/MM 計算によるブルー銅タンパク質の酸化還元電位に関する理論的研究

(金沢大院・自然*, 金沢大・大教センター**) ○岩山将士*, 齋藤大明*, 杉森公一**, 川口一朋*, 長尾秀実*

Theoretical studies on redox potential of blue copper proteins by MD and QM/MM calculations

(Nat.Sci. Kanazawa Univ.*, RCHE. Kanazawa Univ.***) ○Masashi Iwayama*, Hiroaki Saito*, Kimikazu Sugimori**, Kazutomo Kawaguchi*, and Hidemi Nagao*

【序】タンパク質の酸化還元反応は金属含有活性部位における電子の授受反応であり、電子移動メカニズムの理解は生物学的、産業的にも近年広く関心を集めている。タンパク質の酸化電位 E^0 を計算に見積もるためには、酸化型-還元型間の自由エネルギー変化 ΔG^0 の理解が重要である。化学反応を伴うタンパク質の自由エネルギー変化は ns- μ s オーダーでの熱揺らぎによる構造変化を伴うために、分子動力学(MD)シミュレーションによる研究が有用である。溶液中の自由エネルギー変化 ΔG^0 は熱力学サイクルモデルに従い、酸化型-還元型間の溶媒和自由エネルギー差 $\Delta(\Delta\mu)$ とイオン化ポテンシャル ΔE の和から計算できる[1]。溶質分子の溶媒和過程には、溶媒として均一な誘電率で満たした分極連続体モデルや、全原子モデルにより反応に関与する部分を量子化学計算(QM)で扱い、それ以外の部分を古典力場(MM)で扱う QM/MM 法が用いられる。また近年発展が著しい QM/MM-MD 法は、時間発展の際に微小時間毎に溶媒配向による溶質の電荷分布の変化をあらわに取り扱いつつ、溶質構造の変化を追跡することが可能である。この手法を用いれば比較的小さな有機分子や水和金属錯体の例では、実験値との誤差にして 7.3-9.6 kcal/mol の精度で ΔG^0 の見積もりが可能である[1,2]。しかしながら QM/MM-MD 法は原子数 20 個程度の小さな系でさえ 50 ps 程度のダイナミクスを追うことが限度である。その点でタンパク質の十分な熱揺らぎをシミュレーションにて反映することは計算コストの観点から事実上不可能に近い。従ってタンパク質の酸化還元電位の計算には、有限温度条件下で明溶媒を取り扱いつつ溶質構造を十分にサンプリングできるような手法の開発が必要になる。

我々はこれまで密度汎関数(DFT)計算によって最適化された有機化合物のアセトンと 3-ペンタノンを対象に、古典力場パラメータの開発と 10 ns の MD 計算を実行し[3]、これら分子間の酸化還元の自由エネルギー変化 $\Delta(\Delta G^0)$ を熱力学サイクルに従い見積もった (図 1)。理論値と実験値の誤差はわずか 4.2 kcal/mol の精度で計算され、これらの結果から古典的な分子シミュレーションと DFT 計算手法が 2 分子間の酸化還元電位の予測に有効であることが示唆された。本研究ではブルー銅タンパク質のアズリン(AZ)とプラストシアニン(PC)間の酸化還元電位 ΔE^0 を計算するために、両分子の酸化型と還元型の力場作成、MD 計算、及び DFT-QM/MM 計算を実行した。本講演ではタンパク質の ΔE^0 を計算するための本計算手法の有用性について議論する。

【方法】計算対象には X 線結晶構造解析により得られた *Pseudomonas aeruginosa* 由来の AZ(酸化型(II): 4AZU、還元型(I): 1E5Y)と *Poplar* 由来の PC(酸化型(II): 1PLC、還元型(I): 5PCY)を用いた (図 2)。これらの結晶構造から切り取られた銅イオンを中心とする活性部位に対し、基底関数 6-31G(d,p)を用いた DFT 構

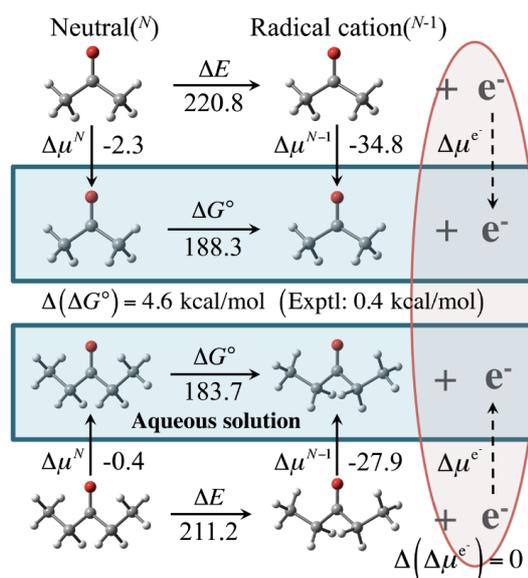


図 1. アセトンと 3-ペンタノン間の自由エネルギー変化。値は全て kcal/mol。

造最適化計算を実行した。また分子内の結合長、結合角パラメータをポテンシャル表面に沿った2次のフィッティング計算、電荷は Merz-Kollman(MK)法による静電ポテンシャル誘導の電荷を RESP 電荷として求めた。各々の結晶構造を中心に溶媒和された系に対し、それぞれ 15 ns の NPT-MD 計算を実行した。熱平衡化した系からサンプリングされた溶質構造について、図 1 に示す熱力学サイクルモデルに従い AZ、PC 両分子の酸化自由エネルギー $-\Delta G^0$ を求めた。このときイオン化ポテンシャル ΔE は活性部位を QM 領域、非活性部位を MM 領域とした QM/MM 計算により酸化型-還元型間の内部エネルギー差として求めた。また溶媒和自由エネルギー $-\Delta\mu$ は京大の松林らが開発したエネルギー表示の理論により評価した。これらの量子化学計算には Gaussian 09、MD 計算には AMBER 11 を用いた。

【結果と考察】電子移動反応を引き起こす反応活性部位の電子状態を把握することは、活性部位内の古典力場作成時のモデル判定において極めて重要である。図 3 に両タンパク質の酸化型と還元型構造の活性部位モデルにおける最適化構造、及び最高被占軌道(HOMO)と半占軌道(SOMO)を示した。全モデル((a)-(d))において電子供与が行われているとされる AZ の Cu-Cys112(S)間、PC の Cu-Cys84(S)間に注目すると、銅イオンの $d_{x^2-y^2}$ 軌道と S イオン間の π 結合に大きく電子が分布しており、反応への寄与が高い部位であることが計算結果からも示された。また両タンパク質ともに酸化型モデル((b),(d))については、SOMO の電子分布が活性部位残基の主鎖に至るまで拡がっていることが見られ、PC では特にその傾向が強い。そこで本研究で使用された酸化型 AZ(b)活性部位モデルにおける Cu-Cys112(S)間の平衡結合長は 2.147 Å であり、ポテンシャル表面から見積もられたバネ定数は 129.7 kcal/mol/Å²であった。これらの結果は、従来において使用されてきた銅イオンの周りの側鎖で切り取った簡単な活性部位モデルと比較すると[4]、平衡結合長に差はほとんど見られないが、バネ定数は 0.6 kcal/mol/Å²とわずかに高い値が得られている。これらのバネ定数の違いは 2 原子間の伸縮振動の強さに影響するため、実際には MD 実行中の反応活性部位の構造変化と関連して溶質の内部エネルギーの計算精度に影響を与えると考えられる。作成された古典力場を用いた熱平衡化 MD 計算の実行、酸化自由エネルギーの計算、及びタンパク質系への本計算手法の有用性については当日報告する。

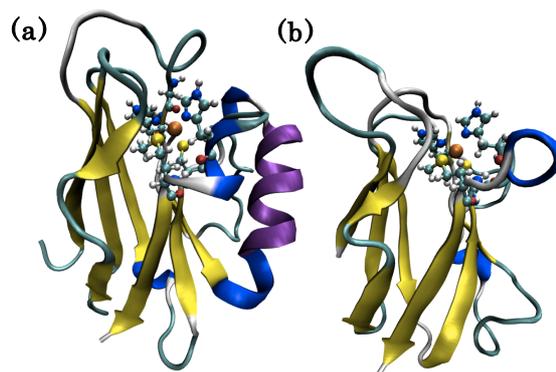


図 2. (a) 酸化型 AZ(II) と (b) 酸化型 PC(II) の高次構造と活性部位

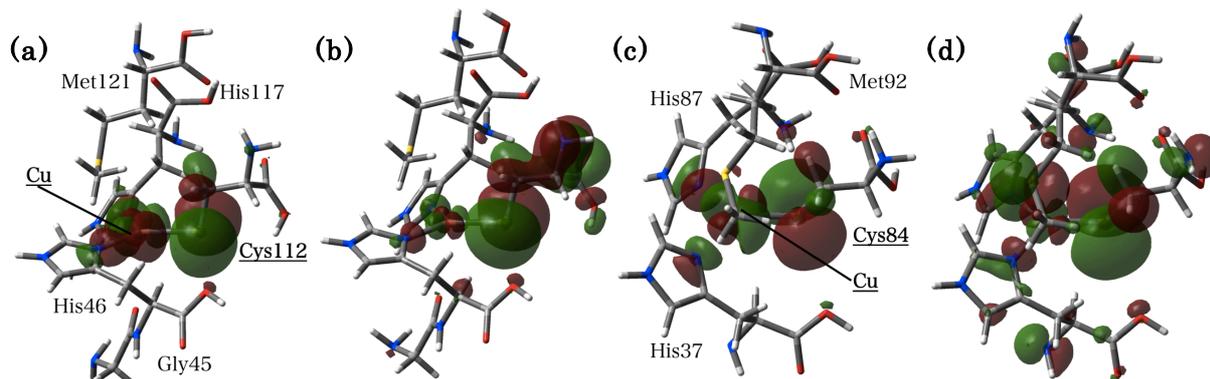


図 3. AZ(I/II)の(a)HOMO/(b)SOMO、及び PC(I/II)の(c)HOMO/(d)SOMO の電子分布(isovalue=0.02 a.u.)

References

- [1] H. Takahashi, *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **129**, 205103 (2008).
- [2] X. Zeng, *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **128**, 124510 (2008).
- [3] M. Iwayama, *et al.*, *Recent Development in Computational Science*, **4**, 59-69 (2013).
- [4] V. Rajapandian, *et al.*, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 8474-8486 (2010).