

(a 金沢大学理・b 金城大学社会福祉)

○珠久智史^a、杉山歩^a、齋藤大明^b、吉本高志^a、長尾秀実^a、西川清^a

【序】

金属タンパク質は生体内の電子移動、酸化還元、酸素輸送および活性化などの機能大きく関与している。銅タンパク質の活性部位における Cu 原子の分光学的性質は、小さい超微細結合定数をもつ 600nm 付近に非常に強い吸収を示すタイプ I 銅と、一般の Cu(II)錯体に近い分子吸光係数と超微細結合定数をもつタイプ II 銅、2 個の Cu が反強磁性的相互作用をし 330nm 付近に強い吸収をもつタイプ III 銅に分類されている。タイプ I 銅のみを含むタンパク質はすべて電子伝達反応のみを行い、595~625nm に非常に強い吸収(分子吸光係数 $\epsilon \sim 3000 \sim 5000 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) と、小さい超微細結合定数もち、一般の銅錯体の酸化還元電位が $\sim 160 \text{mV}$ であるのと比較して、 $200 \sim 700 \text{mV}$ と高い値をもつ。

タイプ I 銅は 2 個の His、1 個の Cys、1 個の Met が正方形から正四面体に歪んだ配位構造をとる。しかし、アズリンの場合は 2 個の His46、His117、1 個の Cys112 により形成される三角形の上下から Met121 とペプチドのカルボニルである Gly45 が弱く配位している。[1],[2]。銅と配位している原子は His では N、Cys と Met では S、Gly では O である。

タンパク質や生体分子などの大きな高分子の構造再現やそのダイナミクスを取り扱う手法として分子動力学法 (MD 法) がある。一般にタンパク質などの MD 法には汎用ポテンシャルなどが用いられており、それは分子内の共有結合を再現する結合・角度・2 面角のポテンシャルと、非共有結合を再現する Van der Waals ポテンシャルで表現される。Van der Waals ポテンシャルはレナードジョーンズ (LJ) ポテンシャルやクーロンポテンシャルで表現され、そのポテンシャルパラメータはタンパク質の構造やダイナミクスを再現する重要なパラメータである。特に本研究でとり扱うアズリンの活性部位は各原子の電荷分布によりその振動特性が大きく変わる [3]、[4] ことから、これらのパラメータをより正確に同定することは非常に重要である。

本研究ではブルー銅タンパク質の一種であるアズリンを取り扱い、またそのアクティブサイトにはタイプ I 銅原子を含むものを計算対象とした。活性中心の銅イオンと 5 つの残基の配置構造や振動特性が上述の汎用ポテンシャルを用いて再現されるためには、銅イオンを含めた各残基の正確な電荷分布や結合情報の導出が必須であると考えられる。そこで、本研究では、アズリンのアクティブサイトの分子軌道計算を行い、タンパク質の MD 計算などに用いられる汎用ポテンシャルのポテンシャルパラメータの同定とその評価を行なう。導出するパラメータは Cu 原子とその周辺残基との結合に関連する共有結合の結合定数やクーロンポテンシャルの電荷とし、またその計算過程における電荷密度、スピン密度等の解析を行なう。また、導出したパラメータを実際のアズリンの MD 計算に適用し、そのパラメータ評価なども行なう。

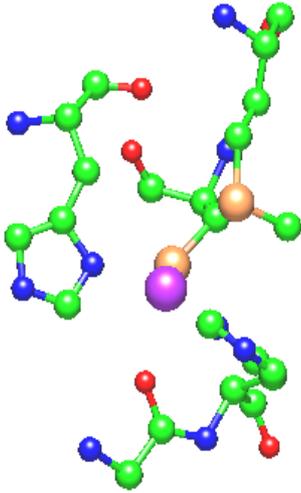


Fig.1 : アズリンの活性部位のモデル分子

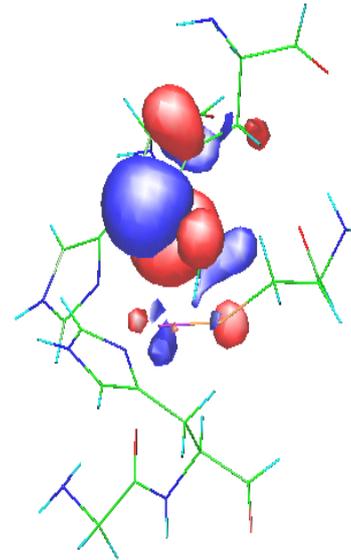


Fig.2 : Fig.1 のモデルにおける HOMO

【計算方法】

今回の計算では、アズリンの活性部位付近のみを考える。Fig.1 に計算に用いるモデル分子を示す。このモデル分子では2個の His と1個の His、Met、Gly が Cu に配位している。それぞれのアミノ酸の座標は、X 線構造解析から得られたデータを用いた。また水素原子配置は半経験的分子軌道計算で構造最適化を行なうことによって決定した。これらのアミノ酸の座標を変化させることで活性部位付近の断熱ポテンシャルを決定する。今回はポテンシャルの関数として、

$$V(\mathbf{r}_i, K, \varepsilon) = K(\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_0)^2 + \frac{Z_{Cu} Z_{Ri}}{\varepsilon |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_0|}$$

を仮定する。ここで、 \mathbf{r}_i はアミノ酸内の原子の座標、 \mathbf{r}_0 は銅原子の座標、 Z_{Cu} 及び Z_{Ri} はそれぞれ Cu、配位原子の電荷を表す。 K 及び ε のパラメータは最小二乗フィッティングにより決定する。それぞれの残基の座標変化のなかで決定する。

また Fig.2 に半経験的分子軌道計算 (AM1) によるモデル分子の HOMO を示す。この分子軌道には、Cu と Cys の S の寄与が含まれている。このことから、アズリンの活性中心の物性に Cu と Cys の S が関与していると考えられる。第一原理計算の結果及び詳細な結果は当日報告する。

【参考文献】

- [1] E.N.Baker, J.Mol.Biol.,203,1071(1988).
- [2] K.Petratos, Z.Dauter, and K.S.Wilson, Acta Crystallogr.,B44,628(1988).
- [3] C.Arcangeli, A.R,Bizzarri, S Cannistraro. Biophysical Chemistry78,247(1999)
- [4] C.Arcangeli, A.R,Bizzarri, S,Cannistraro. Biophysical Chemistry90,45(2001)