

アズリンの反応活性部位付近における

ラマンスペクトルの理論計算

○杉山歩^a、齋藤大明^b、吉本高志^a、長尾秀実^a、櫻井武^a、西川清^a

(a 金沢大理、b 金城大社会福祉)

[序]

アズリン[1]は植物及びバクテリアに見られる比較的小さな単核のブルー銅タンパク質であり、電子伝達反応を行う。その活性部位は 45 番残基のグリシン(Gly45)、46 番残基のヒスチジン(His46)、112 番残基のシステイン(Cys112)、117 番残基のヒスチジン(His117)、および 121 番残基のメチオニン(Met121)、銅(Cu)からなっており、各残基はそれぞれ銅と配位結合している。このとき、この反応活性部位付近はひずみ、ゆがんだ三方両錐形となっている。また近年、有機金属の結合系は非常に関心を集めており、アズリンなどの金属タンパク質の機能性との研究は実験、理論の両面から行われている[2]。その中でも我々が今回特に注目しているアズリンの High-resolution resonance Raman(RR)スペクトルはこれまでも *Pseudomonas aeruginosa* アズリンの三つの Cu サイトのミュータントにおいて報告されている[3]。

本研究では分子動力学法 (MD 法) を用いアズリンの活性部位付近の物性を考察する。MD 法はミクロスコピックなダイナミクスを考察するのに有効な手段である。そして真空状態や極低温状態での分子個々のふるまいなど、実験的には観測することが困難となるような系の物理量に関しても評価することができる。MD 計算からスペクトルを得る方法は二つある。一つ目は分子の双極子モーメントの自己相関関数をフーリエ変換する方法である。二つ目はヘッセ行列のようなポテンシャルエネルギー関数の 2 階偏導関数のつくる行列のノーマルモードの抽出である。結晶性ポリマーに対しては MD 法による計算によって RR スペクトルの振動スペクトルは考察されてきた。これまでもアズリンに対する MD 計算は試みられており、アズリンの構造およびその性質は、プラストシアニンの物とよく似たものであることが報告されている[4]。また、プラストシアニンとアズリンのダイナミクスについては ED(essential method)法を用いた研究もされている[5]。本研究では、MD 法を用い、アズリンの反応活性部位の振動を含めた動的構造を調べる。

[計算方法]

MD 計算を行う前の段階として、MOPAC を用いて半経験的電子状態計算 AM1 でアズリンの反応活性部位付近のモデル系の電荷分布を求めた。電荷は以下に示す図 1 のようになる。赤色は正電荷、青色は負電荷を表している。図 1 (b)に示されたように活性中心である Cu(+0.38 クーロン)が正電荷を持っており、配位している Cys112 および Met121 の S(+0.02, +0.01)、His117 および His46 の N(-0.27, -0.23)、及び Gly45 の O(-0.46)は非常に小さな正電荷もしくは負電荷で帯電している。また、アズリンの初期構造は X 線解析のデータを用い、これを AMBER プログラムにより水素原子を適切に配置したものを利用した。

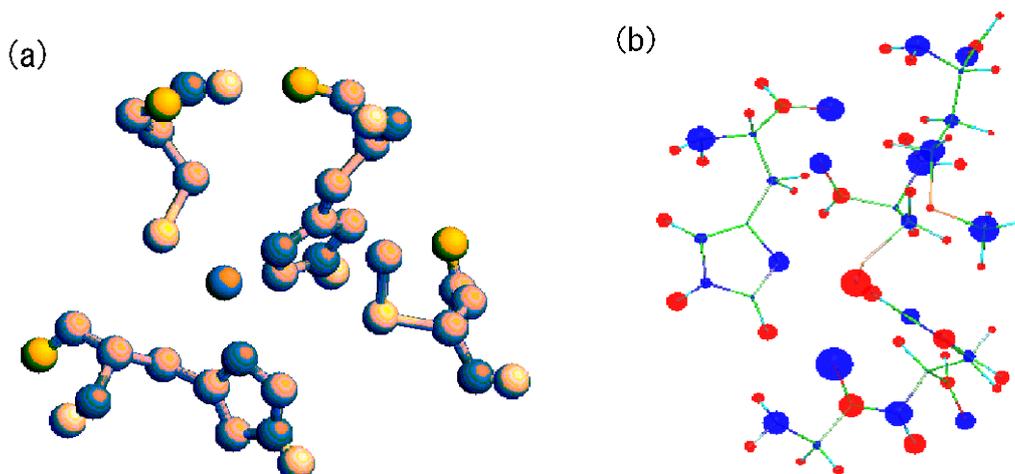


図1 (a) アズリンの反応活性部位付近 (b) その電荷分布

この結果から本研究では、分子動力学法 (MD 法) を用い、アズリンの反応活性部位付近の振動ダイナミクスを調べる。反応活性部位付近ではシステインの S 原子の負電荷が Cu 原子の $d_{x^2-y^2}$ 軌道に電荷移動を起こしており、その結果として Cu の価電子は 1 価～2 価の間であるとされている。また、Cu および S の同位体による電荷の変化が振動特性に影響を与えることが知られている。今回の計算では、10K、 10^4 Step($\Delta t=1$ fs)の NPT アンサンブルで温度を上昇させ、300K での状態を平衡状態とした。このときのセルの長さは(L_x, L_y, L_z) = (61.185,52.094,58.133) Å、水の個数を 3897 個とした。なお、計算は AMBER 力場[6]を用いて TIP3 モデル水分子内で行った。その上で、MD 計算から得えられる RR スペクトルと既に報告されている実験から得られた *Pseudomonas aeruginosa* アズリン(Wild Type) の RR スペクトル[3]と比較することで電荷移動のプロセスに新たな考察を与える。また、反応活性部位における Cu と S の間の平均距離、角度などについて静的または動的な特性についても考察を与える。

詳細は当日報告する。

References

- [1] H.B.Gray, E.I.Solomon, *Copper Proteins*. (John Wiley, New York, 1981) Vol.3, pp1-39.
- [2] A. Nakamura, N. Ueyama, K. Yamaguchi, (Kodansha-Springer, Tokyo, 2002).
- [3] R.S.Czernuszewicz, B.C.Dave, J.P.Germanas,ACS Symposium Series 692 Spectroscopic Methods in Bioinorganic Chemistry (Eds. E.I.Solomon and K.O.Hodgson)(1998) 220.
- [4] C.Arcangeli, et, al. Biophysical Chemistry **78** (1999) 247-257
- [5] C.Arcangeli, et, al. Biophysical Chemistry **90** (2001)45-56
- [6] P.A.Kollman,et,al, J.Am.Chem.Soc **117**(1995) 5179