

2P052

銅蛋白アズリンの緩和過程に関する理論的研究

○杉山 歩¹, 珠久智史¹, 齋藤大明², 長尾秀実¹, 西川清¹
(金沢大院自然¹・金城大社会福祉²)

【序】

アズリンはバクテリア内で電子伝達の機能を有する銅一核の金属タンパク質である[1]。アズリンの反応活性部位(Active-site)は中心となる銅イオンと五つの残基からなっており、銅イオンは His46、Cys112、His117 と強い配位結合を持ち、また Gly45 及び Met121 と弱い結合を持つことから、ひずんだ三方両錐形となっている。

金属タンパク質の構造、機能性の理解に関してはこれまでも実験、理論の両面から様々な研究が行われてきた。本研究で考察するアズリンについてもX線構造解析からはその構造が明らかとなり[2]、アズリンと同じ銅一核の金属タンパク質であるプラストシアニンでは電子状態計算から反応活性部位付近での電荷移動のメカニズムが示されてきた[3]。我々もこれまでに、分子動力学(MD)法を用いて溶媒中のアズリンの MD 計算を行い、活性部位付近の分子振動及び主鎖のダイナミクスに関する研究を行ってきた[4,5]。これらの研究では、MD シミュレーションと実験の共鳴ラマン(Resonance-Raman)スペクトルの比較、溶液中でのアズリンの反応活性部位の安定構造の解析などの方法でアズリンの構造、機能性に関する総合的理解を試みてきた。これらの研究から、溶媒中のタンパク質はタンパク質のゆらぎやジャンプ運動と呼ばれる原子同士の協調的な運動と緩和過程もしくは溶媒水分子との関係を示唆してきた。

本研究では MD シミュレーションを行うことでアズリンの緩和過程に関する研究を行う。これまでの研究では 3ns (1MDstep=2fs)時間のMD計算を行ってきたが、より長時間の MD 計算を行うことでタンパク質の緩和過程を調べる。緩和過程は緩和時間の短い方から順に A-peak, B-peak, C-peak, D-peak と呼ばれ、今回は比較的短時間の緩和にあたる A-peak、B-peak と呼ばれるピークに注目し、これらを速度自己相関関数、及び相関変位係数を計算することで考察する。A-peak はアルファモス、ガラスなどにみられるボゾンピークに対応するピークであると考えられており、B-peak はβ緩和と呼ばれる緩和モードのピークとの対応がなされている。さらにβ緩和は実験からタンパク質の側鎖の緩和と考えられている。また、水和化された溶媒水分子の自己拡散係数からもボゾンピークに対応するピークが確認されていることから、これらも関連して、タンパク質の緩和過程と主鎖、側鎖、及び溶媒水分子の関係を議論する。

【計算方法】

本研究で実行したMD計算の方法について説明する。MD 計算を始める初期座標にはX線構造解析によるアズリン(*Pseudomonas aeruginosa* azurin)の P D B ファイル(Protein Data Bank の 4AZU)を用い、力場は AMBER94 force field[6]を使用し計算を実行した。タンパク質の緩和シミュレーションでは溶媒水分子には TIP3P 剛体モデルの水分子を 6075 個使用した。このときの溶媒のボックスサイズは(X, Y, Z)=(60.586, 54.668, 60.787)(Å)である。カットオフ半径は 8 Å とし、静電相互作用の計算では Particle Mesh Ewald 法を用いカットオフ半径 10 Å で計算した。

特に、H 原子の結合部分は SHAKE 法によって固定して計算を行った。また計算は周期境界条件の下、系の平衡化後 NVT アンサンブルで行った。溶媒水分子のボゾンピークの解析には同様の MD 計算を周期境界条件を適用せず、溶媒のボックスモデルを球とし計算を行った。

【解析】

MD 計算から得られたトラジェクトリーから緩和ピークの解析は以下のような方法で行う。A-peak の計算には以下に示す速度の自己相関関数(VAF)及び、自己拡散関数によって行う。

$$VAF(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{v_i(t) \cdot v_i(0)}{v_i(0) \cdot v_i(0)}$$

上式によって求められた速度の自己相関関数の第一回目の緩和(VAF が正の領域)は A-peak の時間帯となる。B-peak は以下に示す相関変位(CM_i)から求める。

$$CM_i(r_c, \delta t) = \frac{1}{N_i} \sum_{j=1}^{N_i} \frac{\Delta r_i(\delta t) \cdot \Delta r_j(\delta t)}{\Delta r^2(\delta t)}$$

ここで $\Delta r_i(\delta t)$ は I 原子の時間 t_0 から t の間 (δt) の変位。また $\Delta r^2(\delta t)$ は同じ時刻における時間 δt の間の平均二乗変位、 N_i は計算に用いる原子数である。本研究では特に、 β -sheet 間、 β -sheet と α -helix 間の相関等のタンパク質の二次構造の相関に注目した解析を行う。

また、溶媒水分子のボゾンピークは自己拡散関数 I とそのフーリエ変換 S から、求めることができる。

$$I_i(q, t) = \frac{1}{3} \langle \exp[iq \cdot (R_i(t) - R_i(0))] \rangle$$

$$S_i(q, v) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} dt \exp(-2i\pi vt) I_i(q, t)$$

ここで i は水和化された溶媒水分子の i 番目の水素原子を指す。

本研究では以上のような解析を 100~300K の間のいくつかの温度で実行した MD 計算に対して行う。上述の緩和ピークを解析、比較することで、温度変化に対する振動ピークのずれ、緩和過程への影響などを考察する。

References

- [1] H.B.Gray, E.I.Solomon, *Copper Proteins*. (John Wiley, New York, 1981) Vol.3, pp1-39.
- [2] H. Nar, A. Messerschmidt, R. Hubewr, *J. Mol. Biol.* **221**, 765 (1991).
- [3] Edward I. Solomon, Robert K. Szilagy, Serena DeBeer George, Lipika Basumallick, *Chem. Rev.* **104**, 419 (2004).
- [4] A.Sugiyama, et al. AIP conference proceeding, **708**, 362 (2004).
- [5] H.Saito, et al. AIP conference proceeding, **708**, 360 (2004).
- [6] D.A.Pearlman, D.A.Case, J.W.Caldwell, W.S.Ross, T.E.Cheatham, III, S. DeBolt, D. Ferguson, G. Seibel & P. Kollman. AMBER, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. *Comp. Phys. Commun.* **91**, 141 (1995).