

【序】

銅蛋白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に関与している。これまでも銅一核蛋白質であるプラストシアニンに関しては様々な研究が行われており、その活性部位における詳細な電子状態計算はすでに報告されている[1]。アズリンの活性部位は Cu を中心に His46, His117, Cys112 が三角錐型に配位し, Met121 と Gly45 のアミノ酸ペプチドカルボニルが三角錐の上下から弱く配位した構造となっている。アズリンは電子伝達機能を持ち, それは活性部位が電子貯蔵の役割を持つためと考えられている。

本研究では残基の配置変化によるエネルギー変化を考察することによってアズリンの結合パラメータの決定を行なう。これまでアズリンに対する活性部位の結合パラメータに関する研究は残基の側鎖のみで行われてきた[2]。今回我々は, Fig. 1 のような主鎖まで含めたより大きなモデルでの距離, 角度, 二面角に対する力場パラメータを求める。

【計算方法】

アズリン活性部位の構造は X 線構造解析によるアズリン(*Pseudomonas aeruginosa* azurin)の PDB ファイル(Protein Data Bank の 4AZU)から活性部位付近を切り出したものを使用した。含まれていない水素原子については Gaussian98 を用いて ROHF/3-21G* で構造最適化を行なうことにより決定した。

Cu は Cys112 の S(黄), Met121 の S(黄), His46 の N(青), Gly45 の O(赤), そして His117 の N(青)と配位結合しており、それぞれの結合距離, 角度, 二面角の微小変化によるエネルギー変化を関数,

$$\Delta V(\vec{r}, K) = K(\vec{r} - \vec{r}_e)^2, \quad \Delta V(\theta, K) = K(\theta - \theta_e)^2,$$

$$\Delta V(\phi, K) = K(\phi - \phi_e)^2$$

と調和振動子近似することにより力場のパラメータ K の値を求める。 ΔV はエネルギー変化, \vec{r}_e , θ_e , ϕ_e はそれぞれ結合距離, 角度, 二面角の平衡核配置での値である。これらの電子状態計算は Gaussian98 を用いて B3LYP/6-31G** で計算した。

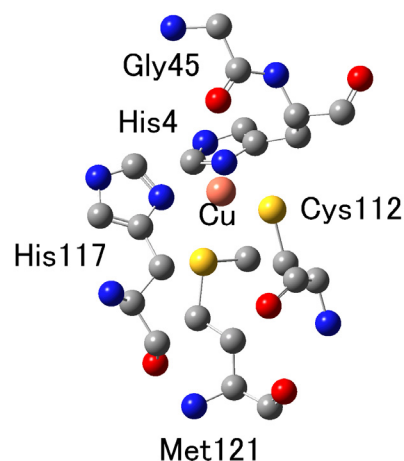


Fig.1:アズリンの活性部位
(水素原子は省略)

【結果】

上述の計算方法により距離の微小変化(0.02Å)に対する電子状態計算を行なった。例として、Cu(I)(還元型)と Cys112, Cu(II)(酸化型)と Cys112, His117, Met121 それぞれの距離の微小変化に関するエネルギー変化から計算された Potential Surface を Fig.2 に示した。また、この時の平衡距離付近での 0.1Å 幅における結合パラメータを Table.1. に示す。アズリンの特徴的機能である電子伝達機構に深く関与した電子供与が行なわれている Cu—Cys112 間に注目すると、Cu(II)—Cys112 と Cu(I)—Cys112 の結合エネルギーの差は約 42kcal/mol/Å² となり、電荷の依存があると考えられる。より深い議論のため Fig. 3 に示す SOMO の電子状態計算を行なった。その関連性は当日報告する。また他の残基の距離の結合パラメータ、角度と二面角の結合パラメータの評価についての詳細も当日報告する。

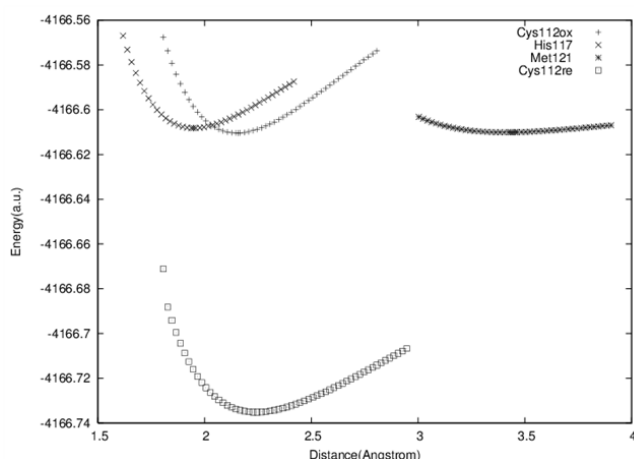


Fig.2:残基の結合に関する Potential Surface (Cys112ox は酸化型, Cys112re は還元型)

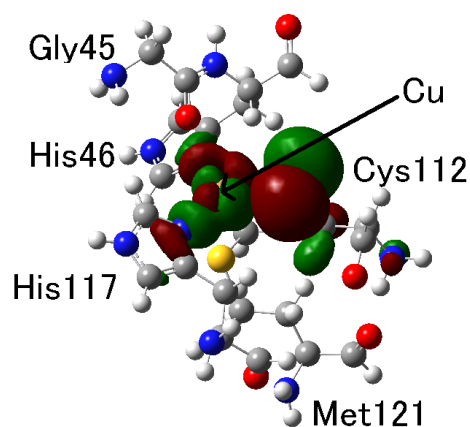


Fig.3:SOMO167 の分子軌道

Table.1: Cu—残基間の平衡結合距離 r_e と結合エネルギーのパラメータ

	残基	r_e (Å)	K(eV/Å ²)	K(kcal/mol/Å ²)
酸化型	Cys112	2.1568	0.2087	130.9475
	His117	1.9479	0.2047	128.4488
	Met121	3.4239	0.0465	29.1601
還元型	Cys112	2.2468	0.1410	88.4839

【参考文献】

- [1] A. Koji, J. Phys. Chem. B, 108, 3940(2000).
- [2] M. Swart, Density functional theory applied to copper proteins., PhD thesis, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen(2002).