九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

密度汎関数法による一酸化炭素ミオグロビン,シトクロムｃの電子状態の研究 : アポタンパク質電子構造の役割の解明に向けて

千葉, 貢治

https://doi.org/10.15017/1441056

出版情報：九州大学, 2013, 博士（システム生命科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名　：千葉　貢治

論文題名　：密度汎関数法による一酸化炭素ミオグロビン，シトクロム *c* の電子状態の研究
- アポタンパク質電子構造の役割の解明に向けて -
(Study on Electronic States of Carbonmonoxy Myoglobin and Cytochrome *c* by Density Functional Theory
- Investigations of the Role of Apo-Protein's Electronic Structure -)

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

ヘムタンパク質は、その構成要素として補欠分子ヘムを持ち、生体内で酸素の運搬・貯蔵、酸化還元、電子伝達などの機能を持つ様々なタンパク質が属するタンパク質群の総称である。その中で、ミオグロビンは長年に渡り精力的に研究されている重要なヘムタンパク質であるが、その一酸化炭素錯体には未だに原因が明らかになっていない事象が存在する。一酸化炭素ミオグロビンのラマンおよび赤外吸収スペクトルにおける Fe-C および C-O 伸縮振動モードの分裂がその一つである。振動スペクトルの研究から、遠位 His のイミダゾール環にあるプロトン位置が互いに異なる互変異性体が存在し、その違いに起因するヘムポケット内の静電ポテンシャルの変化が Fe dπから CO π*へのバックドネーションを促進し、分裂の主因となっている、という説が提案されている．計算による研究も盛んであるが、遠位・近位ヒスチジン以外のペプチド鎖について広範に考慮された研究はなされていない。他方、脊椎動物のシトクロム *c* における 59 番目のアミノ酸残基 Trp は高度に保存されており、その存在意義についてはヘムのプロピオン酸基との水素結合ならびにピロール基という大きな芳香族基の存在によるヘム部位の安定化とされているが、その詳細は未だ明らかになっていない。また、ミトコンドリア膜中で電子伝達を担うヘムタンパク質であるシトクロム *c* については、その電子伝達能の評価には電子伝達に関与する分子軌道の精査が不可欠である。

本研究では、ヘムタンパク質においてペプチド鎖がその機能や活性に与える影響を精査する目的で、密度汎関数法を基にした全電子カノニカル分子軌道法を一酸化炭素ミオグロビンおよびシトクロム *c* に適用した。電子状態と物質の特性・機能は密接に結びついていることから、ペプチド鎖の影響を詳細に取り込んだ電子状態を検討することで、従来の方法では捉えきれなかった活性中心が本来機能するための姿が浮かび上がってくることが期待される。特にミオグロビン一酸化炭素錯体の吸着状態の解明には、ヘムポケット内の静電ポテンシャルの精緻な描写が必須であり、本計算の達成成功と、ヘムポケット内の精密な描像を得ることが第一の目的である。

まず、一酸化炭素ミオグロビンにおける遠位 His 側鎖の互変異性体および Gly へのミュータント、合計 3 つのモデルの計算を行い、ヘムポケット内の静電ポテンシャルについて精査した。互変異性体間の静電ポテンシャル差は C-O 結合領域で 0.94、Fe-C 結合領域で 0.79 V に及び、Fe-C 結合性 dπ軌道の準位は 0.4 eV シフトした。その軌道はヘムポケット近傍に局在化しており、Fe $3d_{t2g}$ 軌道からカルボニルπ*軌道へ逆供与の性格を持つことが示された。状態密度の描像や精緻な静電ポテンシャル差マップについては、全電子カノニカル計算により初めて示された。

更に、ペプチド鎖の電子構造の役割の明確化のため、モデルサイズ依存性を調べた。過去に多用されている部分構造モデルでは大きさは不十分であり、部分電荷の収束性から最低でもヘムから300 pm 以内のアミノ酸残基は取り込む必要があることを示すとともに、Phe43、 Phe138 など遠位・近位 His 以外でヘムと相互作用が強い残基を発見した。また、ヘムポケット内の静電ポテンシャルについてもその収束性の検査を実施し、やはり 300 pm での収束を確認した。一酸化炭素ミオグロビンの電子状態の局在性を併せて考慮すると、ヘムタンパク質の量子化学計算におけるモデル構築上の最低基準と考え得る一つのしきい値を明らかにした。

次に、本研究で開発した方法ならびに得られた知見を活用して、応用研究を行った。一つは一酸化炭素ミオグロビンにおける配位子の伸縮振動計算である。モデルサイズは 300 pm という収束の基準を満たせず、絶対値では 30 cm^{-1} 程度のシフトがみられるものの、計算結果からは実験値に近いスペクトル形状を得るとともに、各振動状態に対応する遠位 His の状態をアサインすることができた。もう一つの応用研究はシトクロム *c* の電子状態解析である。Trp59 に対して天然・非天然アミノ酸によるミューテーションを行い、その役割と活性への影響を調べるとともに、Trp59 の保存度が高い理由について調べた。野生種とミュータントで Fe 3dπ軌道主成分のコーン・シャム軌道を比較し、Trp59 の保存度が高い理由として、電荷移動に関与する軌道との相互作用を避けつつもヘムの安定化に寄与するバルキーで塩橋を提供する残基として最適であるため、と帰結した。

以上、本研究において、一酸化炭素ミオグロビンとシトクロム *c* という 2 つのヘムタンパク質についてタンパク質全体の電子状態を求め、ヘムポケットの静電ポテンシャルや電子移動に関与すると考えられる軌道の広がりおよびそのミューテーションによる影響など、これらヘムタンパク質の機能や活性へのペプチド鎖の関与を精査することができた。