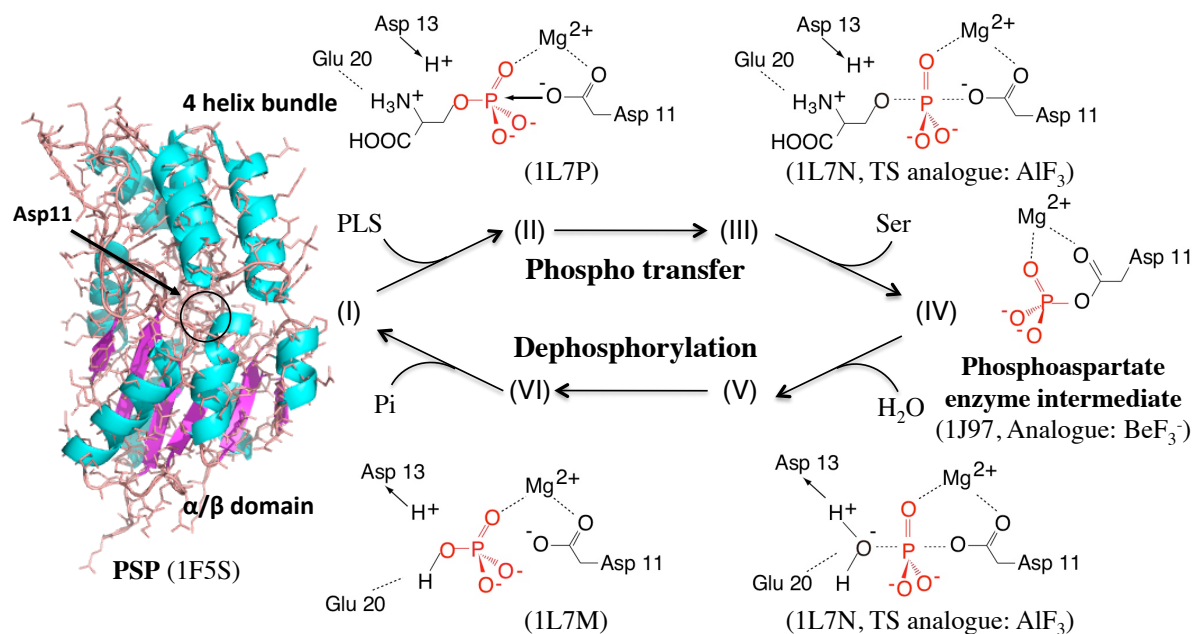


# 1E06

## Mg<sup>2+</sup>依存 PSP 酵素のリン酸転移反応：分子機構とイオンの役割

(理研<sup>a</sup>、名大院情報科学<sup>b</sup>、JST-CREST<sup>c</sup>) ○李秀栄<sup>a</sup>、Jaewoon Jung<sup>b,c</sup>、天能精一郎<sup>b,c</sup>、杉田有治<sup>a,c</sup>

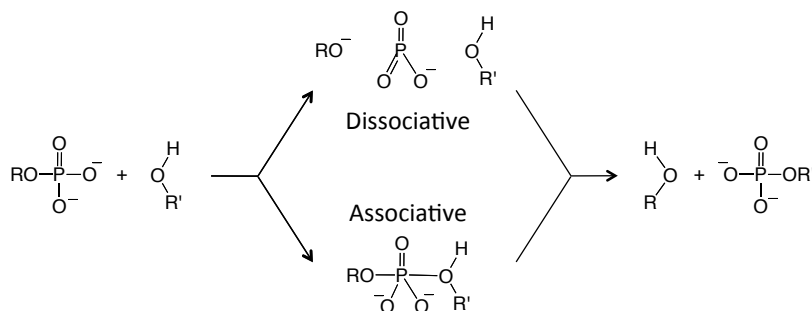
【序】蛋白質のリン酸化・脱リン酸化反応はシグナル伝達等と関連し、細胞内外での蛋白質の機能制御において重要な役割を担う。例えば、膜蛋白質である Ca<sup>2+</sup>ATPase はリン酸化反応で獲得したエネルギーを用いてその立体構造を大きく変化させ、膜内外の濃度勾配に逆らってイオンを輸送する。ポンプの機能におけるリン酸化反応の役割を明らかにするためには、遷移状態の相対的安定化といった化学反応の触媒機構だけではなく、基質の認識 (induced fit) や生成物の放出に伴う蛋白質の立体構造変化を含めた触媒サイクル全体の機構解明が重要である。本研究では、Ca<sup>2+</sup>ATPase のリン酸化(P)ドメインに非常に近い構造をもつ Phosphoserine Phosphatase (PSP)のリン酸化反応に着目した。PSP、Ca<sup>2+</sup>ATPase は共に Haloacid dehalogenase (HAD)という酵素群に属しており、その機構は類似酵素系全体へ応用できる。また PSP は哺乳類の脳内に多く存在し神経細胞における情報伝達と深く関わっており、脳卒中などの脳内疾患の創薬ターゲットとしても注目を集めている。本講演では、リン酸転移反応 (Phospho transfer) について活性サイトモデルの量子化学計算から得られた結果を報告する。



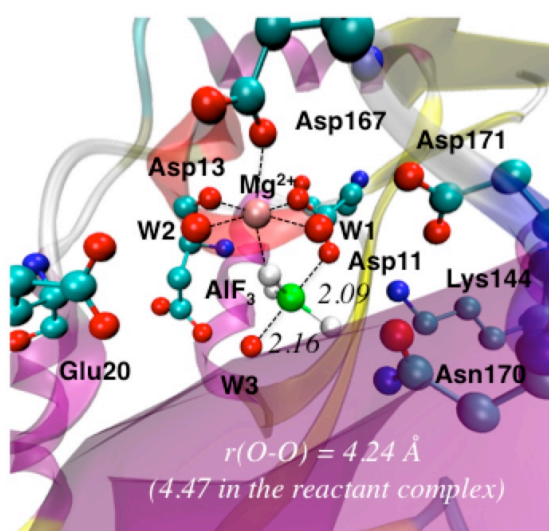
【計算方法】 PSP のリン酸化に対しては、反応サイクルの各ステップで結晶構造が得られている。<sup>1</sup>これらのうち、リン酸化サイトについては 1F5S を、基質分子 (Phospho-L-Serine) については 1L7P を用いて初期構造を構築した。活性サイトモデルには、Mg<sup>2+</sup>及びリン酸基近傍の電荷移動の効果を取り込むために、反応物 (Phospho-L-Serine、Asp11)、6つのアミノ酸 (Asp13, Glu20, Lys144, Asp167, Asn170, Asp171)、そして2つの水分子を含めた。O<sub>p</sub>-O<sub>Asp11</sub>

結合距離を反応座標とした反応のポテンシャル曲線を計算し、反応前錯体及び遷移状態近傍の構造を求めた。

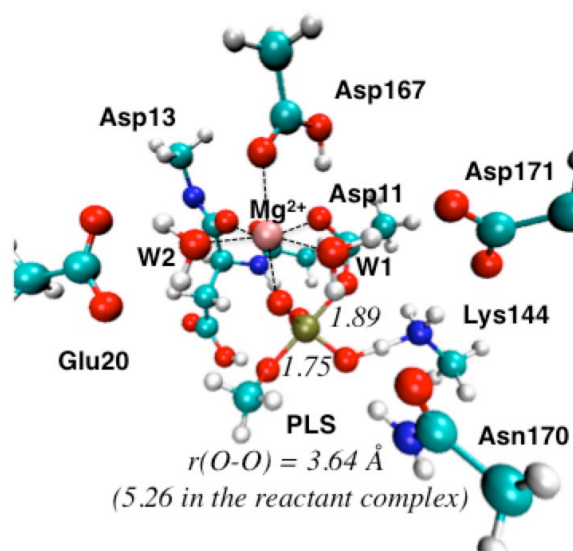
【結果と考察】リン酸転移反応では、Dissociative と Associative な機構が考えられる。ミュレーション実験<sup>2</sup>や  $\text{AlF}_3$  遷移状態類似体を用いた PSP の結晶構造



造 (1L7N)<sup>1</sup> は Associative な機構を示唆する。HF/6-31G(d) で求めた遷移状態近傍の構造では、リン酸エステルと Asp11 の O-O 間距離 (3.6Å) が反応前錯体 (5.3Å) と比べて短くなっており、計算結果は Associative な機構を支持する。反応前錯体と遷移状態近傍では  $\text{Mg}^{2+}$  や周辺アミノ酸の配向に大きな変化は見られない。 $\text{Mg}^{2+}$  の電荷分布は、イオン近傍で顕著な電荷移動が起こっていることを示す。しかし、反応前錯体電荷 ( $q_{\text{mulliken}}=1.3$ ) と遷移状態 ( $q_{\text{mulliken}}=1.3$ ) で電荷移動量に大きな変化はない。PSP のリン酸化反応では  $\text{Mg}^{2+}$  が不可欠であることが知られているが、 $\text{Mg}^{2+}$  は遷移状態の特異的な安定化というよりも、反応に有利な配向状態を作り出す上で重要な役割を果たしているものと考えられる。これらの結果は、基質が活性部位に結合した時点で、遷移状態の安定化に適した構造へと変化が起きていることを示唆する。GHO 法<sup>3</sup>を用いた QM/MM 計算の結果についても当日発表する予定である。



結晶構造 (1L7N)



活性サイトモデル (HF/6-31G(d))

#### 【参考文献】

<sup>1</sup>Wang et al. *J. Mol. Biol.* **2002**, *319*, 421. <sup>2</sup>Collet et al. *J Biol. Chem.* **1999**, *274*, 33985. <sup>3</sup>Jung et al. *J. Chem. Phys.* **2007**, *127*, 204102.