

1B10

反応分子動力学計算を用いたタンパク質のプロトン ポンプ機構解析

(東京大学¹, シカゴ大学²) 山下雄史¹, Voth, Gregory A.²

A reactive molecular dynamics study of proton pumping function of a protein

(Univ. Tokyo¹, Univ. of Chicago²)

Takefumi Yamashita, Gregory A. Voth.

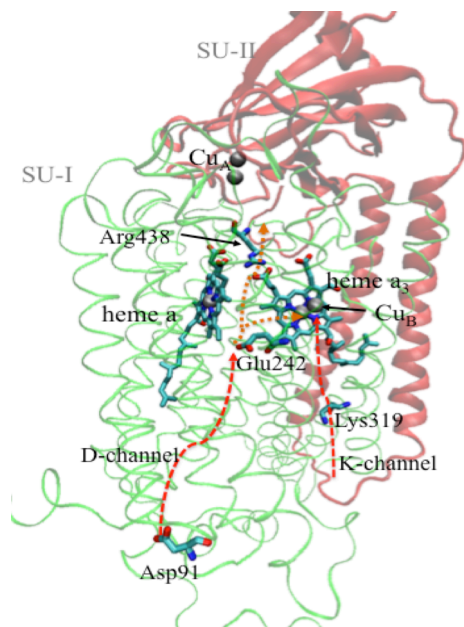
プロトンポンプ機能を持つタンパク質のは、生命活動にとって重要な役割を担っている。例えば、シトクローム c 酸化酵素(cytochrome c oxidase, CcO)は細胞呼吸プロセスにおいて、ATP合成に必要なエネルギーをプロトンの濃度勾配という形で作り出している。CcOはシトクローム c から受け取った電子で二核中心に捕捉した酸素分子を水分子へと還元する。この電子移動によってプロトン輸送が誘起されるのであるが、詳細な原子レベルでのメカニズムは明らかになっていない。本研究では、まず、電子移動によってプロトン輸送の自由エネルギープロファイルがどのように変化するのかを調べる。

CoOの重要な構造をFigure 1に示す。CcOにより能動的に汲み上げられるプロトンはDチャンネルを通っていることが実験によって明らかにされているが、チャンネルの終点であるGlu242のすぐ上には酸化還元中心である2つのhemeに囲まれたNon-polar cavityが存在する。このような構造的特徴を見ても、Non-polar cavityにおけるプロトンの振る舞いがどのように付近の酸化還元状態に影響を受けるかで、プロトン輸送経路の開閉が制御されているのではないかと容易に想像される。しかし、Non-polar cavityでのプロトンの振る舞いを実験的に直接観測するのは非常に困難である。有効な解決策の1つとして、分子動力学シミュレーションが期待されている。

方法論的観点からも、CcOによるプロトンポンプをシミュレーションすることは挑戦的なテーマである。特に、プロトンは水分子の存在下で化学結合の形成・開裂を伴う運動

□

Figure 1: Proton pathways in CcO



を頻繁に行っているため、標準の古典的経験力場を用いることはできない。本研究では multistate empirical valence bond 法 (MS-EVB 法, 多状態原子価結合法) [1]を採用して、プロトンを含む系の分子動力学シミュレーションを可能にしている。MS-EVB 法は化学者の直感に合致するもので、ab initio MD 法に比べ計算コストを大幅に削減できるのが利点である。さらに、ここでは MS-EVB モデルを拡張し heme a₃ の D-propionate (PRDa3) がプロトン化されることを可能にしている。この拡張は非常に本質的であり、もし PRDa3 がプロトン化できないモデルのまま分子動力学計算を実行すれば Non-polar cavity 内の水素結合ネットワークが影響

を受け、結果として自由エネルギープロファイルが正しく計算できなくなる。

本研究の計算結果より、heme aに電子が移動したときに Non-polar cavity でプロトン輸送の自由エネルギー障壁が大きく下がることが分かった。これは Kaila 等[2]によって提案されているメカニズムと良く一致するものである。heme a に電子が移動すると特徴的な水素結合ネットワークの変化が現れるが、このことが自由エネルギー障壁を低下させる本質的な役割を果たしていると考えられる。また、本研究では、MS-EVB 法で CcO のプロトン輸送を研究できることを示したが、方法論に改良を加え、さらに大きな系に組み込まれている化学反応を調べることができる[4]。本発表では、こうした最近の方法論的改良についても議論する予定である。

References:

- [1] G. A. Voth, *Acc. Chem. Res.* **39** 143 (2006), and more references therein
- [2] V. R. I. Kaila *et al*, *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.* **1787** 1205 (2009)
- [3] T. Yamashita and G. A. Voth, *J. Am. Chem. Soc.* **134** 1147 (2012)
- [4] T. Yamashita, Y. Peng, C. Knight, G. A. Voth (in preparation)