

蛋白質活性部位における「低障壁水素結合」の化学

(京大・キャリアパス¹, JST さきがけ²) 石北 央^{1,2}, 齊藤圭亮¹

Chemistry of “low-barrier hydrogen bonds” in protein active sites

(Kyoto Univ.¹, JST PRESTO²) Hiroshi Ishikita^{1,2}, Keisuke Saito¹

【序】反応中間体の安定化には、特に水素結合による相互作用が重要な役割を果たす。水素結合のエネルギーは一般に 1~4 kcal/mol 程度であるが¹、「低障壁水素結合 (low barrier hydrogen bond, LBHB)」という特殊な水素結合のエネルギーは、20 kcal/mol にも及ぶと言われている^{2,3}。一方で、「LBHB」の概念や定義はしばしば曖昧であった^{1,4}。ここでは、LBHB の特徴を改めて整理してみたい。

【計算手法】光合成酸素発生蛋白質 photosystem II (PSII)⁵, 光受容体 photoactive yellow protein (PYP)^{6,7} の X 線・中性子結晶解析構造を利用した. 全蛋白質環境を考慮した QM/MM (quantum mechanical/ molecular mechanical)法を用いて, 構造最適化, 水素結合ポテンシャル, ¹H-NMR chemical shift の計算を行った。

【結果と考察】PSII の活性部位近傍に存在する TyrZ の水素結合. PSII の酸素発生部位 Mn_4CaO_5 上の水分子から電子を引きぬく D1-Tyr161 (TyrZ)は、D1-His190 と水素結合を形成している (proton “rocking” model)。PSII 結晶構造では驚くことに、水素結合距離 $O_{TyrZ}-N_{His190}$ は 2.46 Å である。この長さは、フェノール・イミダゾール化合物の最適化構造で見られる水素結合距離~2.8 Å と比べると、異常に短い。しかし、PSII 蛋白質環境下 QM/MM 構造最適化を行ったところ、 $O_{TyrZ}-N_{His190}$ は 2.47 Å となり、結晶構造の結合長を再現した。その水素結合ポテンシャルを解析したところ、左右対称な形を持つ single-well (ionic) H bond のものであった⁸。これは TyrZ と His が同じ強さで H を引く、すなわち両者の pK_a がほぼ一致するために起こる現象^{1,4}である。

PYP クロモフォアに存在する Glu46-*p*CA の水素結合. PYP のクロモフォアには Glu46 と *p*-coumaric acid (*p*CA)からなる水素結合が存在する。*p*CA はさらに Tyr42 のフェノール基からの水素結合を受け入れており、Glu46 のカルボキシル基-COOH が水素結合

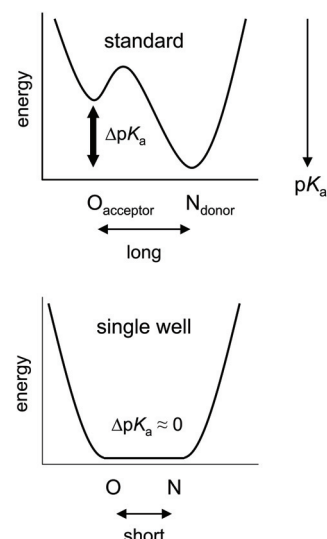


図 1. 典型的な水素結合のポテンシャル

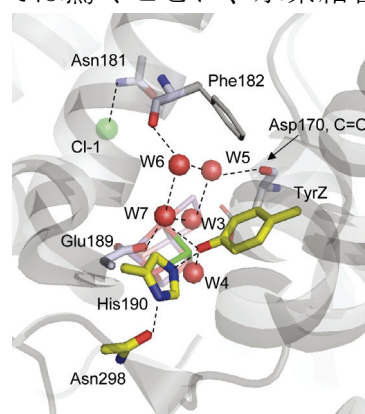


図 2. TyrZ と D1-His190 の環境

ドナー(PYP 中では $pK_a \approx 9$)、*pCA* のフェノール基-OH がアクセプター(PYP 中では $pK_a \approx 6$)となり、 $-\text{COOH} \dots \text{O}^-$ と水素結合を形成している⁹。フーリエ変換赤外分光 (FTIR) 測定の 1740 cm^{-1} 近傍の特徴的なピークから、Glu46 は protonation していることが以前より知られている¹⁰。一方、近年の中性子構造解析では、Glu46 と *pCA* 間の H 原子が結合の真ん中に近い位置に観測されたことから、低障壁水素結合 LBHB であると結論づけられた⁷。しかし、H 原子が結合中央付近に存在するためには (例えばマレイン酸分子内水素結合に見られるように) pK_a がほぼ一致しない限り化学としてありえず^{1,4}、既存の pK_a 、FTIR の測定結果¹⁰ と矛盾する。X 線結晶構造座標を用いて QM/MM 計算により構造最適化を行ったところ、 $\text{O}_{\text{Glu46}}-\text{O}_{\text{pCA}}$ の距離は正しく再現できた。しかし、その構造で水素結合ポテンシャルを描いたところ、水素原子が Glu46 に存在している非対称な形 (asymmetric double-well potential) であった¹¹。少なくとも結晶においては、 $\text{O}_{\text{Glu46}}-\text{O}_{\text{pCA}}$ は通常の水素結合であると考えるのが自然な解釈である。

【結論】多くの実験測定結果と今回の結果を考慮すると、PSII の $\text{O}_{\text{TyrZ}}-\text{N}_{\text{His190}}$ は single-well 水素結合、PYP の $\text{O}_{\text{Glu46}}-\text{O}_{\text{pCA}}$ は通常の水素結合である。

References:

1. Perrin, Nielson. B. *Annu Rev Phys Chem* **1997**, 48, 511-544.
2. Cleland, Kreevoy. *Science* **1994**, 264, 1887-1890.
3. Frey, Whitt, Tobin. *Science* **1994**, 264, 1927-30.
4. Schutz, Warshel. *Proteins* **2004**, 55, 711-723.
5. Umena, Kawakami, Shen, Kamiya. *Nature* **2011**, 473, 55-60.
6. Anderson, Crosson, Moffat. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **2004**, 60, 1008-1016.
7. Yamaguchi, Kamikubo, Kurihara, Kuroki, Niimura, Shimizu, Yamazaki, Kataoka. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2009**, 106, 440-444.
8. Saito, Shen, Ishida, Ishikita. *Biochemistry* **2011**, 50, 9836-9844.
9. Demchuk, Genick, Woo, Getzoff, Bashford. *Biochemistry* **2000**, 39, 1100-13.
10. Kandori, Iwata, Hendriks, Maeda, Hellingwerf. *Biochemistry* **2000**, 39, 7902-9.
11. Saito, Ishikita. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2012**, 109, 167-172.

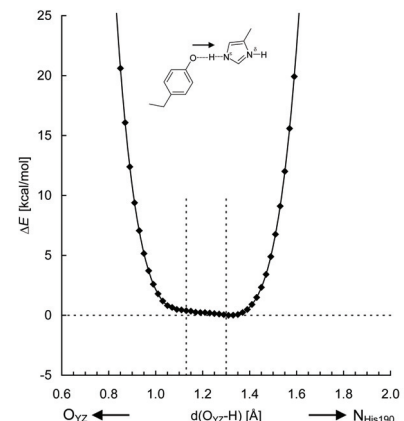


図 3. TyrZ · D1-His190 間の水素結合ポテンシャル

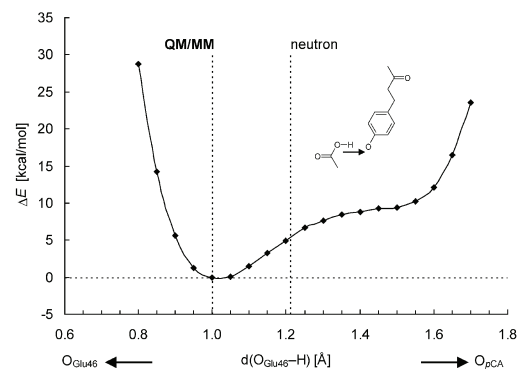


図 4. Glu46 · *pCA* 間の水素結合ポテンシャル