

4C06

## 同化型亜硝酸還元酵素における全化学反応の理論的解明

(<sup>1</sup>筑波大、<sup>2</sup>広島大)○庄司光男,<sup>1</sup> 田中弥,<sup>1</sup> 氏家謙,<sup>1</sup> 栢沼愛,<sup>1</sup> 梅田宏明,<sup>1</sup> 重田育照,<sup>1</sup>  
中野祥吾,<sup>2</sup> 片柳克夫<sup>2</sup>

### Theoretical elucidation on the full chemical reactions of assimilatory nitrite reductase

(<sup>1</sup>Univ. Tsukuba, <sup>2</sup>Hiroshima Univ.) ○Mitsuo Shoji,<sup>1</sup> Wataru Tanaka,<sup>1</sup> Yuzuru Ujiie,<sup>1</sup> Megumi Kayanuma,<sup>1</sup>  
Hiroaki Umeda,<sup>1</sup> Yasuteru Shigeta,<sup>1</sup> Shogo Nakano,<sup>2</sup> Katsuo Katayanagi<sup>2</sup>

[序]

同化型亜硝酸還元酵素(aNiR)は NO<sub>2</sub><sup>-</sup>を NH<sub>4</sub><sup>+</sup>に還元する反応を担っている。植物や藻類、シアノバクテリアは環境から窒素源(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)を吸収し、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>に変換することでアミノ酸等の生合成の窒素源にしている。本窒素同化作用は植物の成長に著しく影響を与えているため、aNiR の反応はまさにその鍵となる反応である。

aNiR の反応は 6 電子移動と 8 つのプロトン移動が絡む極めて複雑な反応であり、反応中心にシロヘムと[4Fe-4S]クラスターの補欠分子を持つ特徴的構造を有している。そのため、理論的にも取り扱いが難しく、素反応過程については未だ明らかにされていなかった。

我々は近年片柳グループにより解かれたタバコ由来亜硝酸還元酵素の超高分解能 X 線結晶構造[1,2]をもとに、高精度な量子力学/古典力学混合法 (QM/MM 法) を用いる事で、すべての反応変化について理論的に網羅的解明を試みた。

[方法]

QM/MM モデルには aNiR を水球で覆ったモデル(図 1)を構築した。QM 領域には活性中心近傍の原子を選んだ。計算レベルは(UB3LYP/6-31G\*)/Amber99 を用いた。本モデルは aNiR の反応を記述する為に十分なサイズと計算レベルでの取り扱いである。QM/MM 計算には NWChem プログラムパッケージを用いた。多くの計算資源が必要となるため、国内のスーパーコンピュータ(COMA@Univ.Tsukuba, SystemB@ISSP, Fx10@ Univ.Tokyo)を利用した。

[結果と考察]

プロトン化と還元過程について網羅的に解析する事で、反応過程を検討した。その結果、還元は 1 ステップずつ起こるのが最も容易である事を明らかにした(図 2)。NO 結合乖離と水分子の生成箇所については、反応中間体を検出した X 線結晶構造[2]の結果と良い一致が見られた。活性中心のシロヘム近傍には多くの塩基性アミノ酸残基(Arg, Lys)が存在し、正電荷のチャンネルを形成している。これらは負電荷を持つ基質(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)と電子移動に大きな影響を与えており、反応過程における活性中心の電荷を強く制御していた。

本研究により、aNiRの全反応機構を初めて明らかにした。得られた反応経路、反応エネルギー、活性中心における構造変化について詳しく議論する。

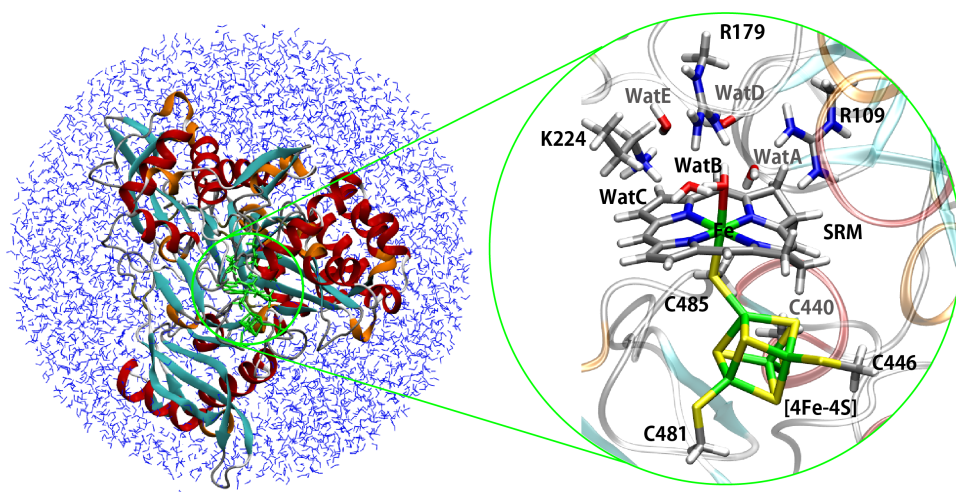


図 1. 同化型亜硝酸還元酵素(aNiR)の QM/MM 全系(左)と QM 領域拡大図(右)。

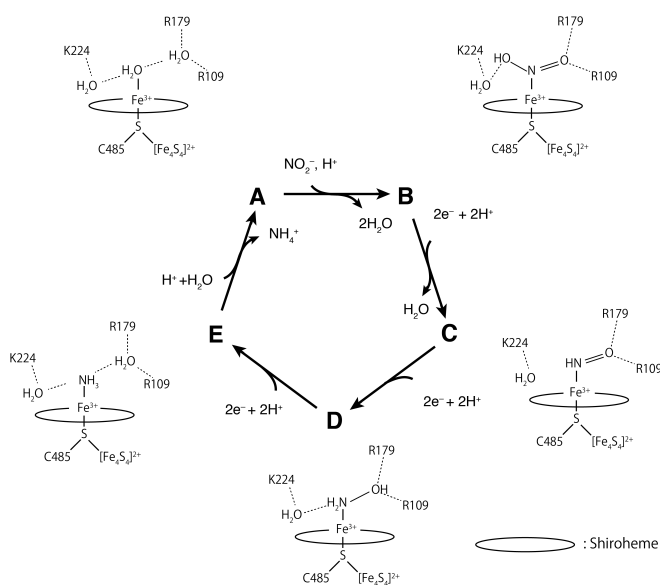


図 2. QM/MM 計算から得られた反応機構 (2 電子還元ごとの構造変化を記載)。

[謝辞]

(1)筑波大学計算科学研究センター・学際共同利用プログラム, (2)東京大学情報基盤センター・共同利用, (3) 東京大学物性研究所・共同利用

[参考文献]

- [1] S. Nakano, et al, protein science, 21, 383-395 (2012).
- [2] S. Nakano, et al, proteins, 80, 2035 (2012).