

2E08

Photoactive Yellow Protein に現れる H/D 同位体効果の理論的解析

(1 広市大院・情報, 2 横市大院・生命ナノ)

○ 兼松 佑典,^{1,2} 鷹野 優,¹ 立川 仁典²

Theoretical analysis of H/D isotope effects on Photoactive Yellow Protein

(1 Grad. Sch. Info., HCU, 2 Grad. Sch. Nanobio., YCU)

○ Y. Kanematsu,^{1,2} Y. Takano,¹ and M. Tachikawa²

【序】 Photoactive Yellow Protein (PYP)は近年最も注目を集めている光センサータンパク質の一つである。活性サイト内に存在する発色団の *p*-coumaric acid (pCA)と Glu46, Tyr42 が水素結合を形成しており、これらの水素結合が PYP の機能発現に際して重要な役割を担うと考えられている。これまでに結晶構造と NMR 化学シフトについて実験・理論両面から解析されており[1-4]、それらの結果を基に、i) 近傍の Arg52 が脱プロトン化していれば Glu46 は pCA と低障壁水素結合を形成し、OH 結合長の特異的な伸長をもたらすこと、そして ii) 水溶液中では Arg52 は自発的にプロトン化し、Glu46 と pCA の間には (特異的でない) 一般的な水素結合が形成されることが提唱されている[4]。本研究ではいくつかのモデル系について、NMR 化学シフトと UV/Vis スペクトルに現れる H/D 同位体効果を計算し、得られた値を実験値と比較することで上記提唱内容の妥当性を検証した。

【計算方法】 従来の計算手法では原子核の量子効果の取り込みに膨大な計算コストを要するため、タンパク質の様な大規模系の NMR 等の分光物性値に現れる H/D 同位体効果を求めることは実質的に不可能である。そこで本研究では原子核の量子効果を効率的に取り込むことのできる量子化学計算手法である多成分系密度汎関数法[5,6]を、大規模系の計算効率化の手段である ONIOM 法と組み合わせ、ONIOM(MC_QM:MM)を開発し、これを用いた理論解析を行った。汎関数として CAM-B3LYP を、電子の基底関数系として 6-31+G(d,p)を採用した。水素結合内の水素原子核には先行研究[7]で軌道指数を最適化した 1s-ガウス型基底関数を割り当て、量子的に取り扱った。また、計算効率化のために ONIOM 法を採用し、活性サイト周辺

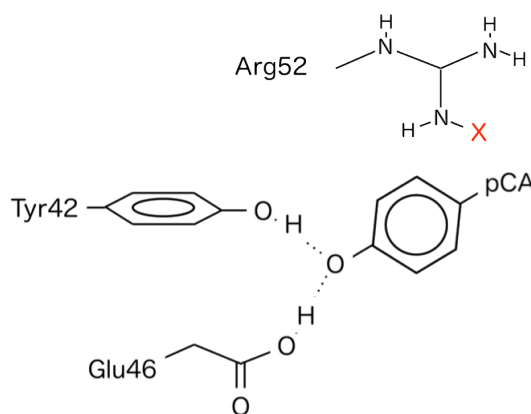


図 1. PYP 活性サイト内の水素結合。本研究では図中 X で示した部位にプロトンが付いているモデル(p)と付いていないモデル(dp)をそれぞれ検討した。

の残基 (Ile31, Tyr42, Glu46, Thr50, Arg52, Cys69, pCA) のみを量子化学レベルで取り扱ひ、その他の残基は Amber 力場で取り扱った。さらに溶媒水は分極連続体モデル (PCM) で取り扱った。核磁気遮蔽定数の計算のために Gauge-Independent Atomic Orbital (GIAO)法を、UV/Vis スペクトル計算のために時間依存密度汎関数法 (TDDFT) をそれぞれ採用した。核磁気遮蔽定数計算は野生型 (WT) の PYP のみを対象とし、UV/Vis 計算では野生型に加え Glu46 を Gln に変えた変異型 (E46Q) の計算も行った。

【結果と考察】 表 1 に重水素置換していない PYP の 2 つの水素結合中水素の重水素化による同位体シフト (Δ Glu46, Δ Tyr42) の計算値と実験値を示す。ここで計算値は Arg52 を脱プロトン化したモデル(dp)とプロトン化したモデル(p)についての結果をそれぞれ示している。表より、Arg52 のプロトン化の有無によって同位体シフトの値は大きく異なることが分かる。

また実験値と計算値との比較により、Arg52 がプロトン化しているモデルの方が実験値により近い値を与えていることが分かる。すなわち本計算によって、溶液 NMR の実験環境下において PYP の活性部位にある Arg52 がプロトン化していることを支持する結果が得られた。

表 2 に野生型と変位型の PYP の UV/Vis スペクトルに対する H/D 同位体効果の計算値と実験値を示す。表より、相対誤差が 50%を下回る範囲で実験値と計算値が一致しており、これまで理論解析事例がほとんどない UV/Vis の H/D 同位体効果も NMR 同位体シフトと同様に、同位体置換による水素結合周りの微小な構造変化によって説明

付けられ得ることが示された。また 2 種のモデル計算値を比較すると、Arg52 がプロトン化しているモデルの方が実験値により近い値を与えることが確認された。

発表当日は構造パラメータの実験値と各モデルについての計算値との比較検討結果についても併せて報告するとともに、低障壁水素結合の存立する条件に関して議論する。

表 1. PYP 活性サイト内の水素結合に関連する NMR の H/D 同位体シフト (Δ Tyr42, Δ Glu46) の計算値 (Arg52 が脱プロトン化したモデル(dp)とプロトン化したモデル(p)) と実験値 [ppm]

		Δ Tyr42	Δ Glu46
計算値	dp	-0.28	-0.27
	p	-0.18	-0.17
実験値[2]		-0.21	-0.19

表 2. 野生型(WT)および変位型 (E46Q) PYP の UV/Vis スペクトルに現れる H/D 同位体効果の計算値と実験値 [nm]

		WT	E46Q
計算値	dp	1.03	1.24
	p	1.51	1.15
実験値[7]		1.8	1.0

[1] Yamaguchi et al., PNAS 106, 440 (2009) [2] Sigala et al., PNAS 106, 9232 (2009) [3] Saito et al., PNAS 109, 167 (2012) [4] Nadal-Ferret et al., JACS 136, 3542 (2014) [5] M. Tachikawa et al., Chem. Phys. Lett. 290, 437 (1998) [6] Y. Kanematsu et al., J. Chem. Phys. 141, 185101 (2014)[7] S. Kaledhonkar et al., Biophys. J. 105, 2577 (2013)