

2P088

Photoactive yellow protein の水素結合に関する理論的研究
(京大院・理) ○田村 康一、林 重彦

Theoretical study on the hydrogen bond of photoactive yellow protein
(Grad. Sch. Sci., Kyoto Univ.) OKoichi Tamura, Shigehiko Hayashi

Halorhodospira halophila の photoactive yellow protein (PYP) は 125 残基の水に可溶性光受容蛋白質であり、*H. halophila* の負の光走性に関与していると考えられている。

PYP のクロモフォアは *p*-coumaric acid であり、チオエステル結合によって Cys69 の側鎖と共有結合を形成している。共鳴ラマン分光によると、暗状態においてクロモフォアは脱プロトン化して phenolate anion として存在している。暗状態の X 線結晶構造によると、phenolic oxygen は近傍の Tyr42、Glu46、Thr50 と Arg52 と共に水素結合ネットワークを形成している。

青色光を吸収することで、PYP の光サイクルが駆動される。室温における大雑把な描像は以下ようになる。暗状態 (pG) において青色光を吸収した PYP はナノ秒のオーダーで red-shifted 中間体 (pR) に遷移する。このときクロモフォアの骨格が歪む。次にマイクロ秒からミリ秒のオーダーで最も長寿命な blue-shifted 中間体 (pB) に遷移する。pB はミリ秒から秒のオーダーで pG へ戻る。pR から pB へ遷移する折に、Glu46 からクロモフォアにプロトンが移動すると考えられている。

PYP の光サイクルの性質は蛋白質周囲の環境の影響を受ける。pB 形成には、蛋白質全体の大規模な構造変化が伴うと幾つかの水溶液中の実験は示唆している。一方で、時間分解 X 線結晶学が解いた、PYP の結晶中の構造変化はクロモフォア周辺に限られている。さらに、PYP の周囲の水分子が、pB 形成時の構造変化の大きさや光サイクル中間体の寿命に影響を与えることを示唆する実験も存在する。

本研究では、周囲の水分子が PYP の物理化学的性質に与える影響を分子シミュレーションによって調べた。まず、従来の QM/MM 法によって、周囲の水分子が Glu46 とクロモフォアの間のプロトン移動の energetics に与える影響を調べた。Glu46 とクロモフォアの間の水素結合は、低障壁水素結合 (low-barrier hydrogen bond, LBHB) であることが、結晶に対する中性子散乱実験により示唆されている[1]。同実験は、Arg52 が脱プロトン化していることも示唆している。我々は周囲の水分子の有無と Arg52 のプロトン化状態を変更したモデルを複数

調べ、これらの影響が無視できないことを明らかにした。

さらに、我々は水溶液中における蛋白質内の水分子の挙動を調べた。水溶液中の蛋白質は、結晶中とは異なり複数の conformational substates の間を遷移すると考えられる。従って、蛋白質の構造変化に伴う、蛋白質内の水分子の再配置の可能性を調べなければならない。そのために、QM/MM RWFE-SCF 法[2]によって、蛋白質と周囲の水分子の熱揺らぎと、これに結合した活性部位の電子状態変化を調べた。その結果、我々は2つの異なる conformational substates を発見した。一方は、X線結晶構造のように蛋白質内部の水分子が排除された状態であった。もう一方では、bulkの水分子が蛋白質内部の活性部位にまで到達し、Glu46 とクロモフォア間の水素結合の性質を変化させていた (図 1)。詳細は当日報告する。

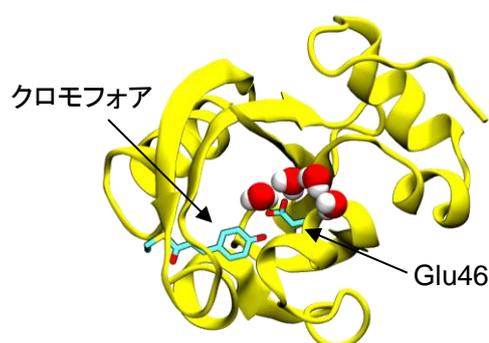


図 1. 蛋白質 (黄色) の内部に水分子が浸入する。

References

[1] Yamaguchi, *et al.* *PNAS* **2009**, *106*, 440–444.

[2] Kosugi, T. and Hayashi, S. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 322–334.