

4P080

プラストシアニンとシトクロム*f*の会合-解離過程における
自由エネルギー地形に関する理論的研究

(金沢大院・自然) ○松井貴寛, 中川聖, 川口一朋, 齋藤大明, 長尾秀実

Theoretical study on the free energy landscape in the
association-dissociation process of plastocyanin and cytochrome *f*

(Nat.Sci. Kanazawa Univ.) ○ Takahiro Matsui, Satoshi Nakagawa,

Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, and Hidemi Nagao

【序】 光合成系の中で、プラストシアニンはシトクロム*b6/f*複合体のサブユニットであるシトクロム*f*から電子を受け取り、光化学系 I へと輸送する機能を持つ[1]。プラストシアニンとシトクロム*f*間で電子伝達反応が起こるためには、シトクロム*f*とプラストシアニンが会合する必要がある、また電子を光化学系 I へと輸送するためには解離する必要がある。つまり、シトクロム*f*-プラストシアニン間の会合-解離過程を解析することは、電子輸送反応の解明に必要不可欠である。タンパク質間の会合-解離過程の解析には自由エネルギー地形による解析が有効である。我々はこれまで全原子モデルによる分子動力学(MD)シミュレーションを用いて、タンパク質-リガンド間の会合-解離過程における自由エネルギー地形を算出してきた[2]。本研究では、この手法を用いてタンパク質間の会合-解離過程における自由エネルギー地形を算出し、結合距離、結合親和性を求める。またシトクロム*f*とプラストシアニンの会合-解離過程において適用し、電子伝達反応前後の構造において自由エネルギー地形を算出する。そして、反応前後の自由エネルギー差から構造安定性の違いを評価し、その要因を追求する。

【方法】 計算対象には X 線構造解析により得られた BPTI(5PTD)、プラストシアニン(酸化型(II) : 1PLC、還元型(I) : 5PCY)、シトクロム*f*(還元型(II)、酸化型(III) : 1HCZ)を用いた。プラストシアニン、シトクロム*f*のそれぞれの構造を図 1、図 2 に示す。

計算条件は、温度 $T = 300$ K、時間刻み $dt = 2.0$ fs、カットオフ距離は 12 \AA 、アンサンブルは NPT、圧力制御はアンダーセンの方法、温度制御は Nose-Hoover chain、クーロン力計算は PME 法で行った。溶媒水分子には TIP3P モデルを用い、タンパク質の力場は CHARMM27 を用いて計算を実行した。CHARMM27 に存在しない活性部位付近の力場は量子化学計算により求めたものを用いた。プラストシアニンに関しては我々がこれまで求めてきたものを用いた。シトクロム*f*に関しての電荷分布は Gaussian09 を用いて求めた。基底関数 6-31G(d,p)を用いた DFT 構造最適化計算を実行し、RESP 電荷を求めた。MD 計算には MODYLAS[3]を用いた。

自由エネルギー計算手法には熱力学的積分法を用いた。シミュレーションにより求める平均力を F とし、自由エネルギー変化 ΔG を求める。重心間距離を r とし、系のポテンシャルが距離 r にし $V(r)$ と書けるとすると、

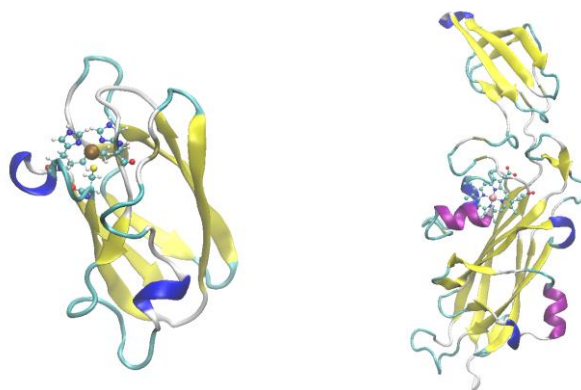


図 1. 酸化型プラストシアニン(II) 図 2. 還元型シトクロム*f*(II)

タンパク質間の会合-解離自由エネルギー $\Delta G(r)$ は以下の式(1)、(2)により求められる。

$$\Delta G(r) = \int_{r_0}^r \left\langle \frac{\partial V(r')}{\partial r'} \right\rangle_{r'} dr' \quad (1)$$

$$= - \int_{r_0}^r \langle F(r') \rangle_{r'} dr' \quad (2)$$

ここで、 r_0 は自由エネルギーの基準点とする。

【結果と考察】まず溶媒中でタンパク質間の自由エネルギー計算手法を確立するために、小型の球状タンパク質であるBPTIに対して平均力、自由エネルギー地形を求めた。それぞれのグラフをそれぞれ図3、4に示す。図4からBPTIの会合-解離過程においては、2つの極小点が存在し、会合状態と解離状態間の状態変化過程が見られる。会合状態の方が解離状態よりも2.65kcal/molだけ安定であることがわかる。

またプラストシアニン-シトクロム*f*間の自由エネルギー計算を行うために酸化型、還元型プラストシアニンそれぞれ単体で平衡化計算を行った結果を図5、6に示す。酸化型、還元型共に1.5nsあたりから値が収束しており、平衡状態であるといえる。単体では電子伝達反応前後において、構造安定性に差はないことがわかる。この構造を用いてBPTIに対して自由エネルギー地形を求めた方法を適用し、プラストシアニン-シトクロム*f*間の反応前後の自由エネルギー差を求めることができる。

【References】

- [1] M. R. Redinbo et al. *J. Bioenergetics & Biomembranes*, **26**, 49(1994).
- [2] K. Kawaguchi et al. *CPL* **588**, 226-230 (2013).
- [3] Y. Andoh, et al., *J. Chem. Theo. Comp.*, **9**, 3201-3209 (2013).

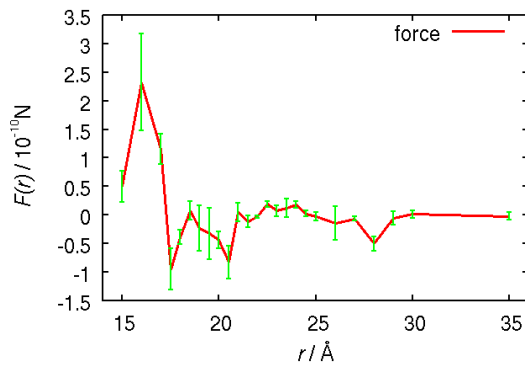


図3. BPTI間の平均力

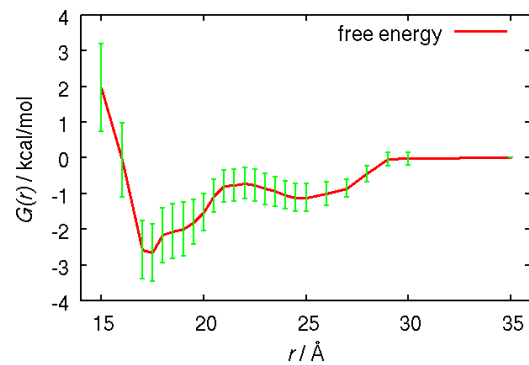


図4. BPTI間の自由エネルギー地形

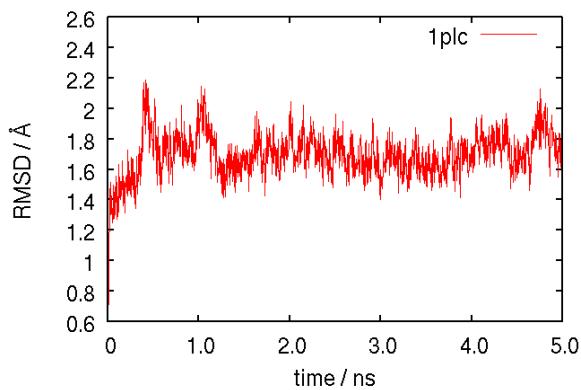


図5. 酸化型プラストシアニン(II)のRMSD

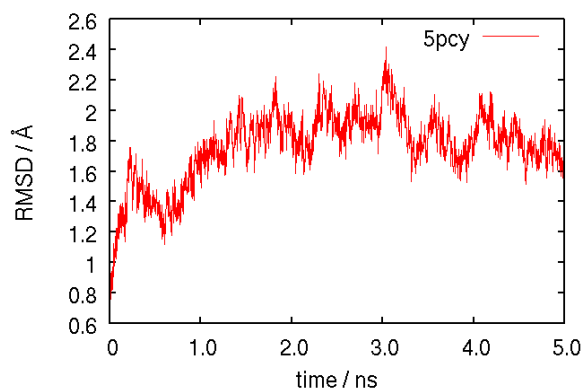


図6. 還元型プラストシアニン(I)のRMSD