

自由エネルギー解析を用いたRuBisCO炭素固定反応の 同位体効果の研究

¹上智大院理工, ²横浜市立大院

○森脇 健太¹, 姜 天龍¹, 小林 理², Danielache Sebastian¹, 南部 伸孝¹

Research on the isotopic effect of the carboxylation by RuBisCO using free energy analysis

○Kenta Moriwaki¹, Tianlong Jiang¹, Osamu Kobayashi², Sebastian O. Danielache¹,
Shinkoh Nanbu¹

¹Department of Materials and Life Sciences, The Sophia University, Japan

²Department of Nanosystem Science, Yokohama City University, Japan

【Abstract】

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (RuBisCO) is an enzyme that catalyzes carbon fixation reaction in the Calvin-Benson cycle. It is well known this carboxylation reaction step has the isotope effect. To describe this reaction, we employed ONIOM-MD simulation. The “FM20” cluster model^[1] was referred to determine our QM part of ONIOM model, which includes Mg²⁺ ion, RuBP, CO₂, Lys175, Lys177, Asp203, Glu204, His294, Lys334 and KCX201. Since the difference between FM20 cluster model and our model is that all interacting part of RuBisCO unit structure is included, we could look for our model to provide us a more quantitatively result. Assuming the reaction path from the inlet of CO₂ to the product through the coordinate-complex by Mg²⁺, the simulations are performed on the several molecular configuration models with fixing the geometries between CO₂ and RuBP. And then, free energies at these models are obtained to determine the reaction rate constant, k , by velocity of all atoms from trajectories. Finally, the isotope effect $\alpha = k_{12\text{CO}_2}/k_{13\text{CO}_2}$ is computed with changing mass of carbon.

リブローース 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, RuBisCO)は、植物の行う光合成のカルビン-ベンソンサイクルにおいて炭素固定反応に関与する唯一の酵素である。この炭素固定反応に

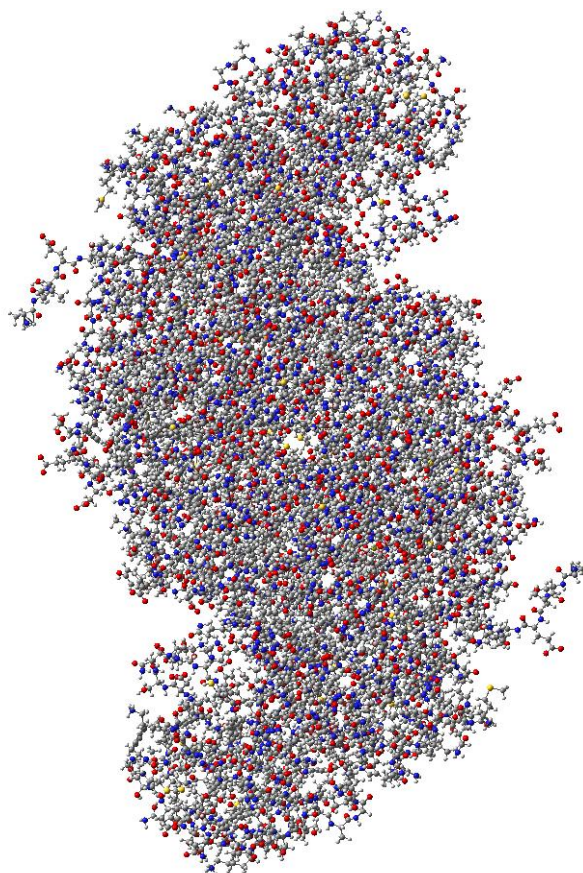


Fig. 1. Rubisco (2 large subunit and 2 small subunit).

は、二酸化炭素の同位体の違いにより選択性が生じることが知られている。

本研究では、同位体効果を定量的に議論するために、クラスターモデルではない反応モデルを用いて分子動力学を行い、自由エネルギーを含めた活性化エネルギーから反応速度定数を導出し、同位体効果を求めた。

ホウレンソウの RuBisCO の X 線結晶構造解析結果(8RUC)の構造全体のうち、隣接する 2 つの大サブユニットと 2 つの小サブユニットからなるモデルを作成した(Fig.1).

量子化学計算を行う領域 (QM 領域) の選択には、"FM20"モデル^[1]を参考に決定し、活性中心である大サブユニットに含まれる RuBP と Mg²⁺、反応する CO₂ および隣接するアミノ酸残基 (Lys175, Lys177, Asp203, Glu204, His294, Lys334) と KCX201 を QM 領域(Fig.2), その他原子を MM 領域に設定した。

このモデルの二酸化炭素と、それが付加する RuBP の炭素の距離を変更することにより、付加反応の反応経路ごとの構造を作成し、その 2 つの炭素を固定した状態で、分子動力学シミュレーションにより 10 ps の時間発展を行った。

この分子動力学シミュレーションにより得られた速度から、自由エネルギーを求めた。自由エネルギーは、各原子の速度の自己相関関数をフーリエ変換することにより得られる状態密度関数とボルツマン分布に従った振動エネルギー分布の積分から求めることが出来る^[2]。

ここで、 $S(\nu)$ は状態密度関数である。

$$F(r) = V_0 + \int_0^{\infty} S(\nu) \ln(h\nu/k_B T) d\nu$$

以上の計算を ¹²CO₂ および ¹³CO₂ の二つの場合で行い、自由エネルギーを含めた活性化エネルギーから反応速度定数を導出した。各同位体ごとの反応速度定数の違いから、同位体効果を見積もる。

ベンチマークシステムであるクロロメタンと塩化物イオンの SN₂ 反応を用い、テスト計算を実施した。得られた活性化エネルギーの値は、過去の理論結果の再現に成功している。RuBisCO 酵素反応への応用結果を、当日議論する予定である。

【参考文献】

[1] J. P. Götze *et al.* *J. Mol. Model.*, **18**, 1877-1883 (2012).

[2] O. Kobayashi, K. Moriwaki, S.O. Danielache, S. Nanbu (*to be submitted*).

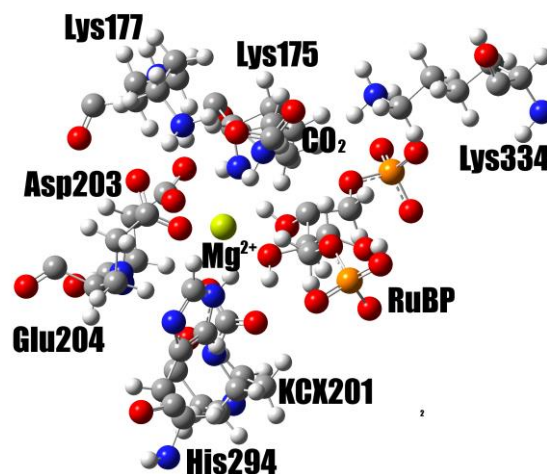


Fig. 2. QM part of Rubisco.