

## DC-DFTB-MD法によるバクテリオロドプシンのプロトンダイナミクスに関する理論的研究

<sup>1</sup>早大先進理工, <sup>2</sup>早大理工研, <sup>3</sup>JST-CREST, <sup>4</sup>京大ESICB

○小野 純一<sup>1</sup>, 今井 みの莉<sup>1</sup>, 西村 好史<sup>2</sup>, 中井 浩巳<sup>1,4</sup>

### Theoretical study on proton dynamics in bacteriorhodopsin using DC-DFTB-MD simulations

○Junichi Ono<sup>1</sup>, Minori Imai<sup>1</sup>, Yoshifumi Nishimura<sup>2</sup>, Hiromi Nakai<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry and Biochemistry, Waseda University

<sup>2</sup>Research Institute for Science and Engineering, Waseda University

<sup>3</sup>JST-CREST

<sup>4</sup>Elements Strategy Initiative for Catalysts and Batteries, Kyoto University

**【Abstract】** Bacteriorhodopsin (BR), which is one of the most famous photoreceptive membrane proteins, can achieve its function of the light-energy conversion as a result of the proton transfers and structural changes starting from the photoisomerization of the chromophore. In the present study, divide-and-conquer density-functional based tight-binding molecular dynamics (DC-DFTB-MD) simulations of BR were performed to elucidate the microscopic mechanism of the proton transfers, in which all of the atoms were treated quantum mechanically. From the metadynamics simulations for several tens of picoseconds starting from one of the latest crystal structures of the intermediate states in the photocycle, it is clarified that the proton transfer from the chromophore to Asp85 occurs on the basis of the Grotthuss mechanism via the internal water and Thr89. In addition, the proton shuttling events between Glu194 and Glu204 frequently take place in proton releasing group (PRG), indicating that the excess proton in PRG is indeed delocalized. The present study demonstrates the usefulness of DC-DFTB-MD as the fundamental framework for clarifying the reaction mechanism in biological systems.

**【序】** 代表的な光駆動プロトンポンプであるバクテリオロドプシン (BR) では、発色団であるレチナールの光異性化を起点とした光反応サイクル上で5回のプロトン移動が連鎖することにより、細胞質側から細胞外側へと正味1個のプロトンが一方向的に能動輸送される[1]. その結果生じる細胞内外のプロトン濃度勾配は、生体中でのエネルギー源となる ATP (アデノシン三リン酸) の合成反応などに利用されるため、BRは光エネルギーを生体エネルギーへと変換する役割を担っているといえる. したがって、BRにおけるプロトン輸送機構を分子・原子レベルで解明することは、光を生体エネルギーへと変換する微視的機構を理解する上で重要である. 本研究では、①レチナールシッフ塩基から Asp85 への1回目のプロトン移動および②2回目のプロトン移動に関与するプロトン放出基 (PRG) 内の余剰プロトンの振る舞いを詳細に解明するため、BR全体を量子的に取り扱う大規模反応シミュレーションを実行した.

**【方法】** 当研究室で開発した分割統治型密度汎関数強束縛 (DC-DFTB) 分子動力学 (MD) 法[2-4]により、BR全体 (約3800原子) を量子的に取り扱う大規模 MD シミュレーションを数十~数百ピコ秒実行した. 光反応サイクル上でのL型中間体に関する最新の結晶構造[5]を初期位置として選択し、all-trans から 13-cis へのレチナール光異性化後の基底状態を計算対象とした.

## 【結果・考察】①レチナールシッフ塩基から Asp85 への1回目のプロトン移動

レチナールとタンパク質との結合部位であるプロトン化シッフ塩基 (PSB) から Asp85 への最初のプロトン移動は, BR の一方向的なプロトン能動輸送を特徴付ける重要な過程とみなされている[1]. しかし, 実験的にも理論的にもプロトン移動の様相は実際に観測されておらず, プロトン移動の詳細な経路は未だ解明されていない. そこで本研究では, DC-DFTB メタダイナミクス (metaD) により, このプロトン移動の直接的観測を試みるとともに, PSB のプロトン化・脱プロトン化状態間の自由エネルギー差から  $pK_a$  を算出して実験結果と比較することにより本計算の妥当性を検証した. 予備計算として複数の L 型結晶構造[5]に対して DC-DFTB-MD を実行したところ, PSB から内部水分子および Thr89 を経て Asp85 へと至る特異的水素結合ネットワークが特定の結晶構造 (PDB ID: 5h2k) において観測された (Fig. 1). この構造を初期条件として, 約 50 ピコ秒の DC-DFTB-metaD を実行したところ, 内部水分子および Thr89 を介した Grotthuss 機構によるプロトン移動が観測された. また, プロトン移動前に Asp85 と水素結合を形成していた水分子がプロトン移動後に Asp85 から離れる現象が観測された. これはプロトン移動の逆流を防ぐための構造変化に内部水分子の移動が関与していることを示唆している. PSB の配位数を集団座標とした自由エネルギー曲線を Fig. 1 に示す. PSB のプロトン化・脱プロトン化状態間の自由エネルギー差は約 18.3 kcal/mol であり,  $pK_a$  は 13.3 と求まった. これは水中での BR の実験結果 (13.3  $\pm$  0.3) [6] とよく一致する.

## ② 2 回目のプロトン移動に関与する PRG 内の余剰プロトンの振る舞い

初期時刻において PRG の余剰プロトンが Glu194 に存在すると仮定した DC-DFTB-MD を約 250 ピコ秒実行したところ, 余剰プロトンが Glu194 と Glu204 の間を頻繁に往復する現象 (proton shuttling) が観測された. 余剰プロトンと 2 つのグルタミン酸側鎖 (酸素原子) との間の距離の差を反応座標とした自由エネルギー曲線を Fig. 2 に示す. Proton shuttling の自由エネルギー障壁の高さは約 1.5 kcal/mol であり, これは余剰プロトンが事実上 2 つのグルタミン酸の間で非局在化していることを示している. 赤外分光法の実験結果より, この余剰プロトンに由来する特異的な continuum band が 1800-2000  $\text{cm}^{-1}$  の振動数領域に観測されている[1]. 発表では, proton shuttling と continuum band との対応関係についても議論する.

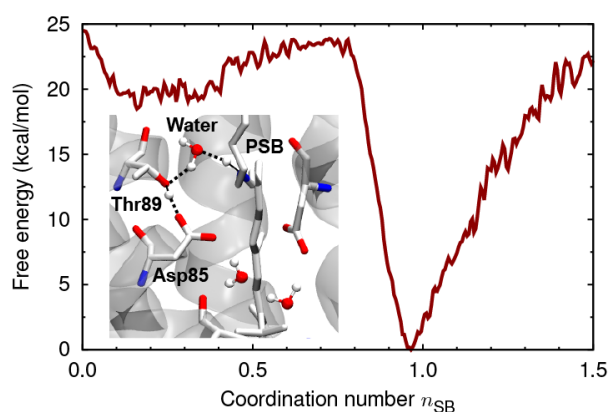


Fig. 1. Free energy profile for the deprotonation of the Schiff base as a function of the coordination number,  $n_{SB}$ .

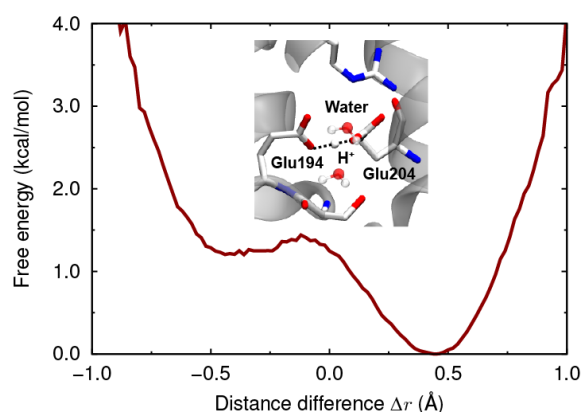


Fig. 2. Free energy profile for the proton shuttling in proton releasing group.

## 【参考文献】

- [1] O. P. Ernst, D. T. Lodowski, M. Elstner, P. Hegemann, L. S. Brown, and H. Kandori, *Chem. Rev.*, **114**, 126 (2014).
- [2] H. Nakai, A. W. Sakti, and Y. Nishimura, *J. Phys. Chem. B*, **120**, 217 (2016).
- [3] H. Nakai, Y. Nishimura, T. Kaiho, T. Kubota, and H. Sato, *Chem. Phys. Lett.*, **647**, 127 (2016).
- [4] A. W. Sakti, Y. Nishimura, and H. Nakai, *J. Phys. Chem. B*, **121**, 1362 (2017).
- [5] E. Nango *et al.*, *Science*, **354**, 1552 (2016).
- [6] S. Druckmann *et al.*, *Biochemistry*, **34**, 12066 (1995).