

## Class II/III CPD光回復酵素の電子移動反応の理論研究

<sup>1</sup>JSTさきがけ, <sup>2</sup>筑波大・計算セ, <sup>3</sup>理研BDR○鬼頭(西岡)宏任<sup>1,2</sup>, 原田隆平<sup>2</sup>, 佐藤竜馬<sup>3</sup>, 重田育照<sup>2</sup>

## Theoretical Study on Electron Transfer Reactions in Class II/III CPD Photolyases

○Hiroataka Kitoh-Nishioka<sup>1,2</sup>, Ryuhei Harada<sup>2</sup>, Ryuma Sato<sup>3</sup>, Yasuteru Shigeta<sup>2</sup><sup>1</sup>Japan Science and Technology Agency (JST)-PRESTO<sup>2</sup>Center for Computational Sciences, University of Tsukuba, Japan<sup>3</sup>RIKEN-BDR, Japan

**【Abstract】** We study the photoactivation process in a “class III CPD” photolyase termed photolyase-related protein A (PhrA) of *Agrobacterium tumefaciens* by using molecular dynamics (MD) simulations. It has been believed that the photoactivation processes in DNA photolyases and cryptochromes involve the electron transfer (ET) reactions through a conserved triad of tryptophan (W) residues between a fully oxidized flavin adenine dinucleotide (FAD) cofactor and protein surface. Recent X-ray crystal structure analysis revealed that PhrA possesses an alternative W triad in addition to the conserved W triad. Our simulation examines how and whether the alternative W triad works as the ET pathways.

**【序】** クリプトクロム・DNA 光回復酵素ファミリー(cryptochrome/photolyase family, CPF)では、補欠分子の FAD が光還元される際、まず FAD と近接するトリプトファン (W)の間でサブピコ秒の電子移動(ET)反応がおこる。次に、最初の電荷分離で生じたホール(正孔)を、遺伝的に高く保存された三つ組トリプトファン(Trp-triad)を使って、蛋白質表面に高速(数百ピコ秒)で移動させ、最終的に細胞液中の還元物質によって還元されると考えられている。一方、Trp-triad を別のアミノ酸に置換した変異株を作成した場合でも、種によっては FAD が光還元され、生体機能も阻害されないことが報告されており、Trp-triad の ET 経路としての役割については未だ不明な部分が多い。

2015 年に X 線結晶構造が報告された[1]アグロバクテリアの photolyase-related protein A (PhrA)は、CPF を大きく 7 つ分類した場合に唯一 X 線結晶構造が解かれていなかった “class III CPD”光回復酵素に属している。PhrA の構造解析から、従来から知られている Trp-triad(W384-W361-W308)とは別の Trp-triad(W384-W318-W367)が、活性中心から蛋白質表面に存在することが分かり、代替の電子移動経路としての役割が注目されている。(図 1 (a)) 本講演では、これら 2 つの Trp-triad が ET 経路としてどのように機能するのか、計算機シミュレーションを用いて解析した結果を報告する。

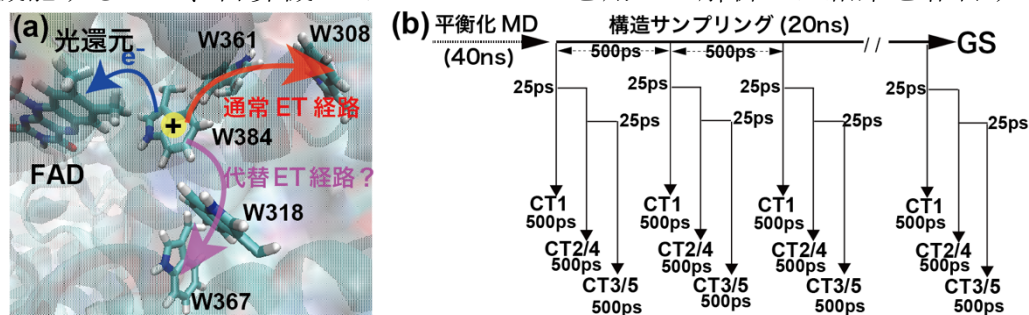


Figure 1 (a) Plausible ETs through two Trp-triads. (b) Simulation protocol for sampling

【方法】 Trp-triad 中の各電子移動(ET)反応を Marcus の速度式(1)を基に解析する。

$$k_{i,j} = \frac{2\pi}{\hbar} \frac{1}{\sqrt{4\pi\lambda k_B T}} |T_{i,j}|^2 \exp \left[ -\frac{(\Delta G + \lambda)^2}{4\lambda k_B T} \right] \quad (1)$$

酸化還元中心の電荷状態が、FAD-W neutral、FAD<sup>-</sup>·-W384<sup>+</sup>、FAD<sup>-</sup>·-W361<sup>+</sup>、FAD<sup>-</sup>·-W308<sup>+</sup>、FAD<sup>-</sup>·-W318<sup>+</sup>、FAD<sup>-</sup>·-W367<sup>+</sup>の場合をそれぞれ、GS、CT1、CT2、CT3、CT4、CT5 と呼ぶ。また、W384-W361 間、W361-W308 間、W384-W318 間、W318-W367 間の電子移動を ET12, ET23, ET14, ET45 と名付ける。

式(1)中の自由エネルギーギャップ( $\Delta G$ )と再配置エネルギー( $\lambda$ )は、電子移動による分極変化に対する線形応答を仮定すると、分子動力学(MD)シミュレーションから得られるエネルギーギャップの揺らぎのアンサンブルから以下の式(2)(3)を使って評価することができる。[2,3]

$$\Delta G = \frac{1}{2} (\langle \Delta E \rangle_i + \langle \Delta E \rangle_j) \quad (2),$$

$$\lambda = \frac{1}{2} (\langle \Delta E \rangle_i - \langle \Delta E \rangle_j) \quad (3)$$

ここで  $\langle \Delta E \rangle_x = \langle E_j - E_i \rangle_x$  で、 $\langle \rangle_x$  は電荷状態  $x$  での MD トラジェクトリー上のアンサンブル平均を意味する。 $E_i$  は電荷状態  $i$  での系のポテンシャルエネルギーである。

PhrA 結晶構造を一辺 105 Å の TIP3P water cubic box に配置し、T=300K の NPT アンサンブルで、東工大スパコン TUBAME3.0 上の GPU 版 NAMD プログラムによる MD シミュレーションを実行した。蛋白質には CHARMM36 力場を、FAD の力定数、平衡長パラメータは過去の文献[4]のものを採用し、酸化/還元型 FAD と W カチオンラジカルの電荷は B3LYP/cc-pVDZ 計算から得られた RESP 電荷により決定した。

Trp-triad 中の ET 反応は数百ピコ秒と高速であるため、一部の遅い蛋白質の振動モードは、反応の終了までに緩和しきることができず、光誘起電荷分離直後から凍結されていると考えられる。そのような効果を有効的に取り込むため、文献[3]を参考にし、式(2)(3)で用いる電荷状態(CT1~CT5)のサンプリング構造を図 1(b)で示したように作成した[3]。光誘起電荷分離はサブピコ秒と非常に高速なため、GS の MD トラジェクトリーで代用し、500ps 間隔の 41 点で位置と速度はそのままに、電荷のみを GS から CT1 へと切り替えた。そのため、五つの各電荷状態で  $41 \times 500$  ps の NPT アンサンブル MD シミュレーションを行ったことになる。

## 【結果・考察】

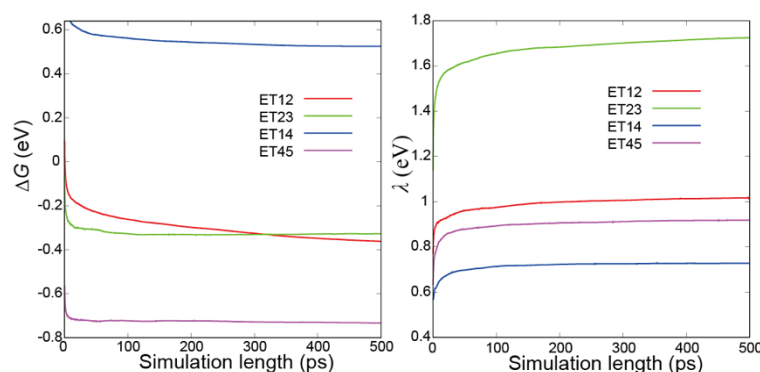


Figure 2 ET parameters of  $\Delta G$  and  $\lambda$  as a function of simulation length.

シミュレーション時間長に対して  $\Delta G$  と  $\lambda$  を式(2)(3)を用いて計算し、41 個のトラジェクトリーで平均したものを図(2)にプロットしている。ET12、E23、ET45 では  $\Delta G$  が負の値を持つ発熱反応になるが、ET14 は  $\Delta G$  が正の値を持つ吸熱反応になり、代替経路の入り口の ET 反応は起きづらくなっている。両経路とも蛋白質表面に近い ET 反応が、極性の高い水分子から影響を受け大きな  $\lambda$  値を持つ。また、従来の Trp-triad ET 経路と比べ、代替 Trp-triad ET 経路では  $\lambda$  が小さくなっていることが分かった。

【参考文献】 [1] P. Scheerer *et al.* *J. Biol. Chem.* **290**, 11514 (2015).

[2] G. King and A. Warshel *J. Chem. Phys.* **93**, 8682 (1990).

[3] F. Cailliez *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 1904 (2016).

[4] P. L. Freddolino *et al.* *Photochem. Photobiol. Sci.* **12**, 1158 (2013).