

4P082

## 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

<sup>1</sup>上智大院理工, <sup>2</sup>横浜市立大院

○姜 天龍<sup>1</sup>, 森脇 健太<sup>1</sup>, 小林 理<sup>2</sup>, ダニエラチェ セバスチャン<sup>1</sup>, 南部 伸孝<sup>1</sup>

### Research on the Isotopic Effect of the Carboxylation by RuBisCO

#### Using Free Energy Analysis

○Tianlong Jiang<sup>1</sup>, Kenta Moriwaki<sup>1</sup>, Osamu Kobayashi<sup>2</sup>,  
Sebastian O. Danielache<sup>1</sup>, Shinkoh Nanbu<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Materials and Life Sciences, Sophia University, Japan

<sup>2</sup> Department of Nanosystem Science, Yokohama City University, Japan

**【Abstract】** Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, commonly known by the abbreviations “RuBisCO”, is an enzyme involved in the first major step of carbon fixation, a process by which atmospheric carbon dioxide is converted by plants and other photosynthetic organisms to energy-rich molecules such as glucose. It is well known that a kinetic isotope effect occurs in the carboxylation process. To describe the reaction, ONIOM-MD simulation has been employed. QM part of ONIOM model was determined as a region which contains Mg<sup>2+</sup> ion, RuBP (Ribulose-1,5-bisphosphate), CO<sub>2</sub>, Lys175, Lys177, Asp203, Glu204, His294, Lys334 and KCX201, refer to the “FM20” cluster model <sup>[1]</sup>. A tunnel for CO<sub>2</sub> has been observed in MD simulation and assuming the reaction path from the inlet of CO<sub>2</sub> to the product through the coordinate complex by Mg<sup>2+</sup>, the simulations have been performed on the several molecular configuration models with fixing the geometries between CO<sub>2</sub> and RuBP along the tunnel. Thus free energy for these models could be obtained to determine the reaction rate constant,  $k$ , from the velocity of the whole atoms from trajectories. Then the isotope effect  $\alpha = k_{12\text{CO}_2}/k_{13\text{CO}_2}$  could be estimated by changing mass of carbon.

**【序】** リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(RuBisCO)は、カルビン - ベンソンサイクルにおいて炭酸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おいて、同位体効果が生じることがよく知られている。同位体効果を定量的に議論するために、ONIOM-MDシミュレーションを行い、自由エネルギーを含めた活性化エネルギーを求めた。

**【方法・理論】** 本研究では、ほうれん草のRuBisCOの結晶構造(8RUC)のうち、大サブユニットと小サブユニット二個ずつからなるモデルを作成した。ONIOM-

MDシミュレーションを行う時に、クラスターモデル“FM20”<sup>[1]</sup>を参考に、反応中心に位置するRuBP、KCX201、Mg<sup>2+</sup>と反応物であるCO<sub>2</sub>、及び近隣するアミノ酸残基（Lys175, Lys177, Asp203, Glu204, His294, Lys334）をQM領域とし、そのほかの部分にMM領域に設定した(Fig. 1)。構造解析の結果から、CO<sub>2</sub>が通過できるトンネルを発見し(Fig. 2)、炭素固定反応の律速段階は二箇所が存在する可能性があるとして提唱した。トンネルに沿ってRuBPとCO<sub>2</sub>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、分子動力学シミュレーションで10 ps時間発展させた。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、自由エネルギーを見積もった。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<sup>[2]</sup>。C<sup>12</sup>O<sub>2</sub>およびC<sup>13</sup>O<sub>2</sub>における活性化エネルギーを導出し、同位体効果の議論を行った。

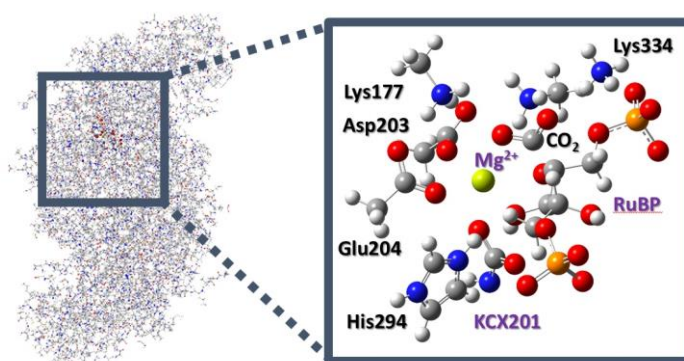


Fig. 1. ONIOM model for RuBisCO (8RUC)

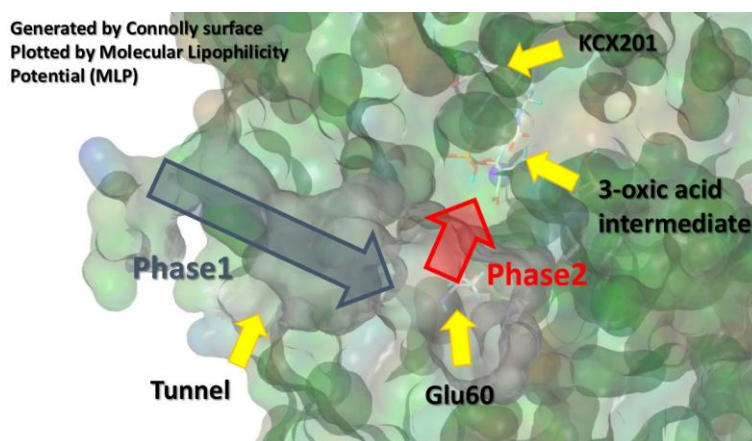


Fig. 2. Model of dynamical pathway for CO<sub>2</sub>

#### 【参考文献】

- [1] Götze JP, Saalfrank P. (2012) Quantum chemical modeling of the kinetic isotope effect of the carboxylation step in RuBisCO. *J Mol Model*.  
 [2] Shiang-Tai Lin *et al.* (2010) Two-phase thermodynamic method for accurate free energies for liquids directly from molecular dynamics simulations. *J. Phys. Chem. B*.