

(名大院理) 神谷 基司・斉藤 真司・大峯 巖

【序】 Photoactive Yellow Protein(PYP) は紅色光合成細菌 *Halorhodospira halophila* の持つ可溶性の小さなタンパク質 (アミノ酸残基数 125 ) であり、青色光を吸収して光サイクル (図 1) を行うことが知られている。この光サイクルについては実験、理論的に様々な解析が行われており、多くのことがわかってきている。しかしながら、光サイクル中で最も重要であると考えられる中間状態 pB の構造、そこに至る反応の詳細については十分に理解されていない。発色団の異性化という局所的な変化がいかんしてタンパク質全体に渡る構造変化という大域的な変化をもたらしているかは非常に興味深く、原子レベルでその機構を明らかにすることには大きな意味がある。

そこで本研究では (i) 発色団 (*p*-クマル酸; 図 2) の光異性化が周囲のどのような構造変化を誘起するのか、(ii) その構造変化は光サイクルの進行とどのように関わっているのか、(iii) 大域的な構造変化はどのようなメカニズムで行われているのか、に注目し、分子動力学 (MD) 計算と量子化学計算を用いて解析を行った。

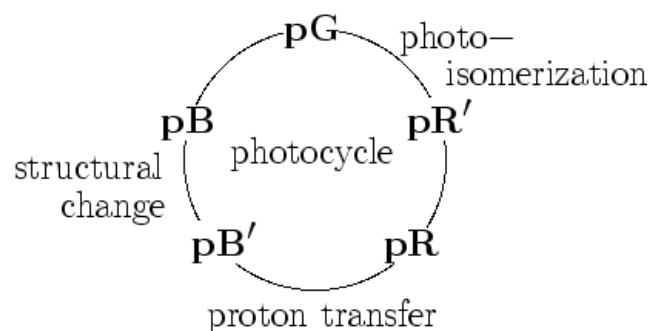


図 1: PYP の光サイクル

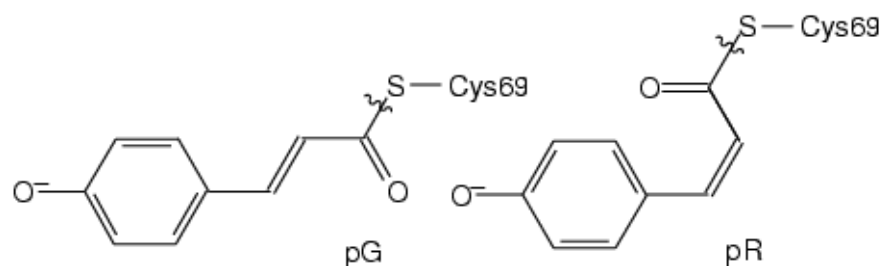


図 2: 発色団の構造

【方法】 PYP の初期構造は Protein Data Bank(PDB) ID 3PYP の構造を用いた。MD 計算の力場については AMBER99 を適用した。発色団の電荷は量子化学計算により求めた Electrostatic

Potential を基に計算した。

### 【結果及び考察】(i) 発色団の光異性化に伴う構造変化

まず、基底状態 pG と pR で MD 計算を行い、その構造を比較した。その結果、実験的な観測と同様に、発色団と直接水素結合している残基については大きな構造変化はみられないものの、近傍にありながら、直接水素結合をしていない Arg52 側鎖や Val66 主鎖周辺に構造変化 (水素結合の切断) が見られた。これらの残基は pR から pB へ至る反応において、発色団とその周辺の構造変化に大きく関わる領域であり、観察された変化は光サイクルの進行となんらかの関わりがあると予想される。しかしながらこれらの構造変化は光サイクルの次の過程 (プロトン移動) に関わる領域からは少し離れている。

### (ii) 発色団の異性化が光サイクルにおいて果たす役割

そこでこれらの変化と光サイクルの次の過程 (pR から pB'; プロトン移動反応) との関わりを調べた。水素結合を部分的に失った Arg52 側鎖は構造的に少し自由になり、基底状態 (pG) に比べて自由な配向をとりうる。その配向変化がタンパク質の構造変化、さらにはプロトン移動反応 (図 3) をもたらすと考え、Arg52 の配向に関する自由エネルギー計算と各配向における構造について解析を行った。その結果、溶媒が Glu46 (発色団と直接水素結合している残基) に近づく動きと Arg52 の配向には何らかの相関がある可能性を見出すことができた。溶媒が Glu46 に接近することは Glu46 から発色団へのプロトン移動を促進する (プロトン移動により生じる Glu46 アニオンを安定化する) ため、pR 状態における Arg52 側鎖の構造 (配向) 変化は光サイクルにおいて何らかの役割があると考えられる。

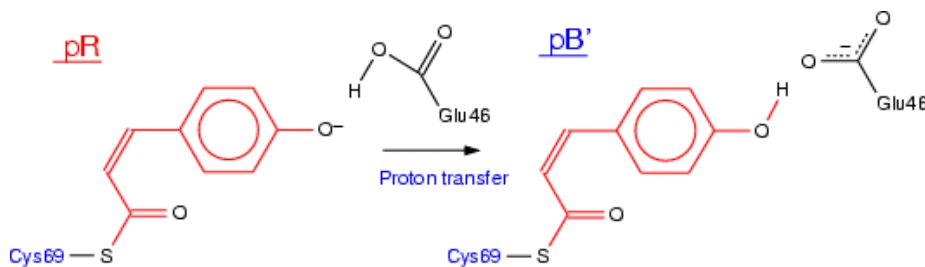


図 3: プロトン移動

### (iii) タンパク質全体に渡る構造変化

さらなる解析としてプロトン移動を行った後の構造を初期構造としてマルチカノニカル MD 法を用いて構造変化の解析を試みた。pB へ至る反応は実験的に ms オーダーのダイナミクスであることがわかっており、通常の MD 計算でこの過程を解析することはできない。しかしながら、マルチカノニカル法を用いた解析により、高いエネルギー障壁を越えたサンプリングを行うことができれば「遅い反応」のダイナミクスについて自由エネルギー等から何らかの情報を得ることが出来ると考えられる。この結果については当日に示す予定である。