

PACS-CSにおける物質・生命科学II： チトクローム酸化酵素における プロトン伝導過程の電子レベルでの検討

筑波大学 数理物質科学研究科

白石賢二、神谷克政、押山淳

概要

計算科学による電子レベルの理論的考察（第一原理計算）により、ある種の条件下では、ペプチド結合を介したプロトン移動は可能であることを発見した。

（ペプチド結合を介してプロトンは移動することはないとこれまで考えられていた。）

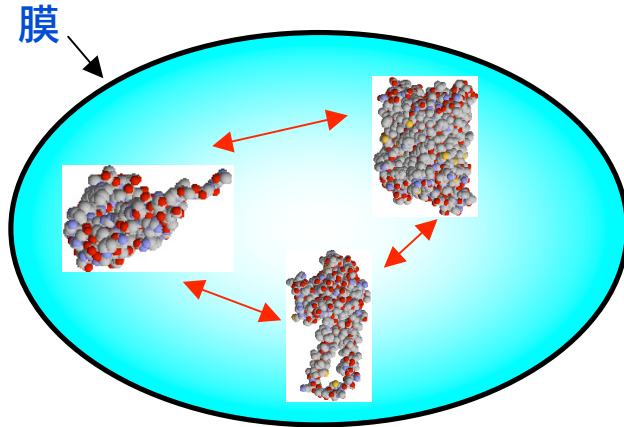
1. 過渡的水素結合形成によるバリアの低いプロトン移動経路

（現実のチトクローム酸化酵素の立体構造に即して発見した経路）

2. trans/cis 異性化を伴う経路（検討中）

（何らかのアシストがあれば可能性あり）

Protein Nano Machine



タンパク質の集団

自発的な制御

生命活動

- 低分子の結合（酵素反応）
⇒ 生成物過剰（フィードバック阻害）
- リン酸化

機能のon / off ⇔ 構造変化

制御機構、動作原理

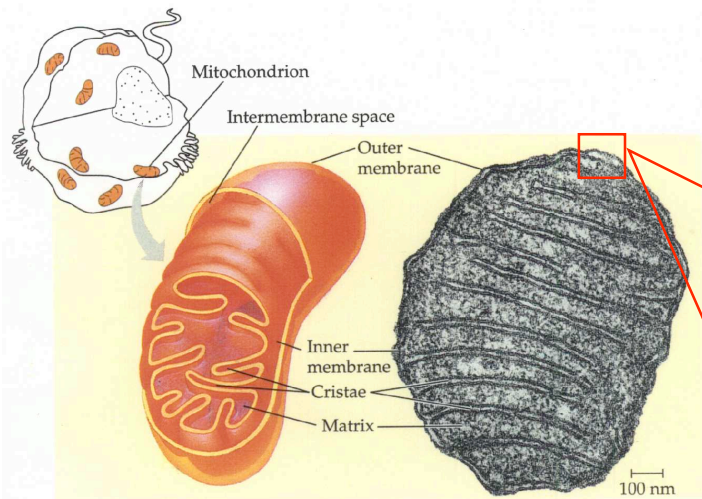
原子レベル（構造解析）

電子レベル（電子状態解析）

PACS-CSで説明を目指す物質生命科学現象

- タンパク質の電子状態、構造変化および機能の間の相関の解明。
- タンパク質・ドラッグデザインにおいて、重要な電子レベルでのプロセスに関する知見。
- 自然が創ったナノマシンであるタンパク質の動作原理、制御機構の電子レベルでの解明。

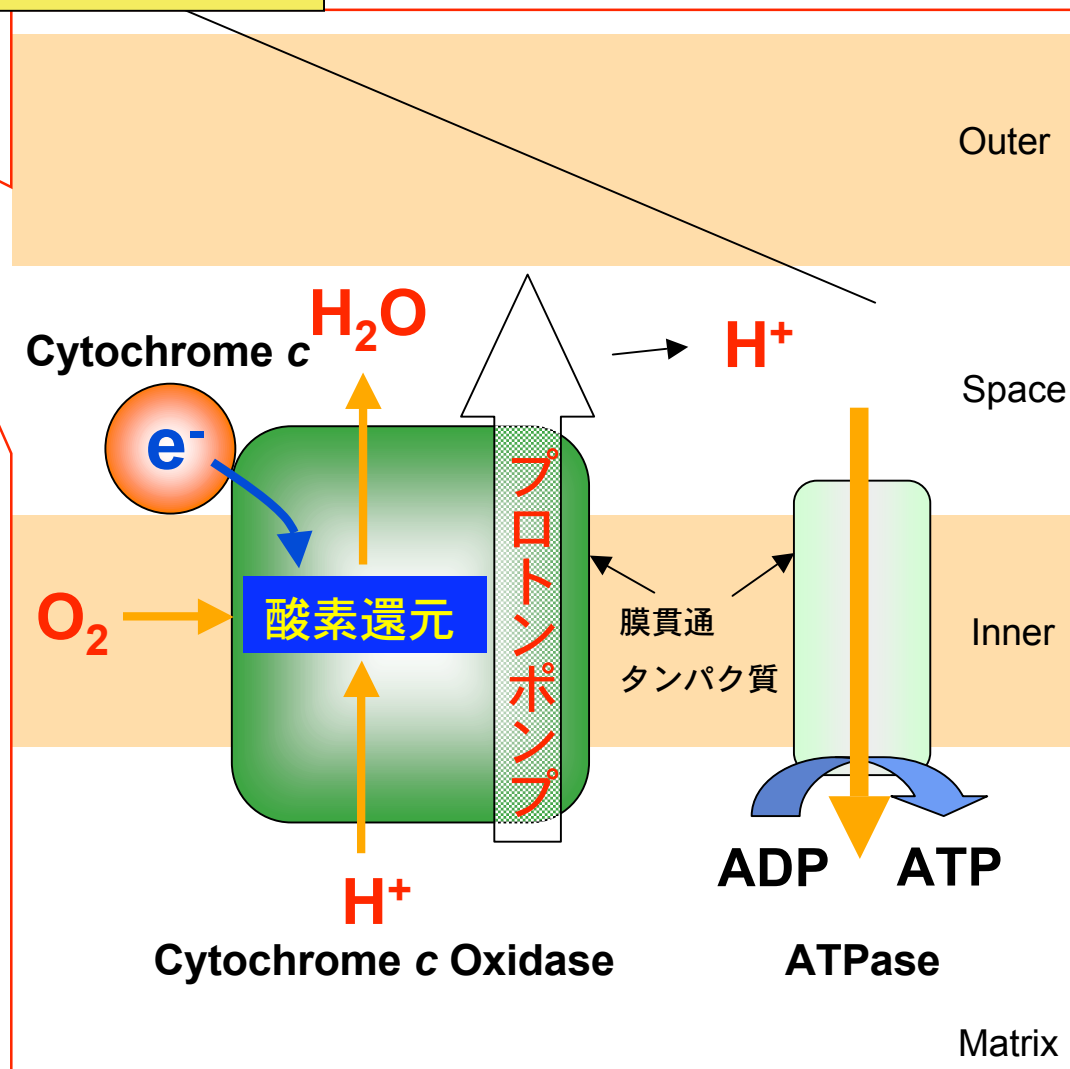
Cytochrome c Oxidase ~ *in vivo* function ~



Mitochondrion

呼吸からATP合成を行う際に重要な役割をする酵素

H⁺濃度大

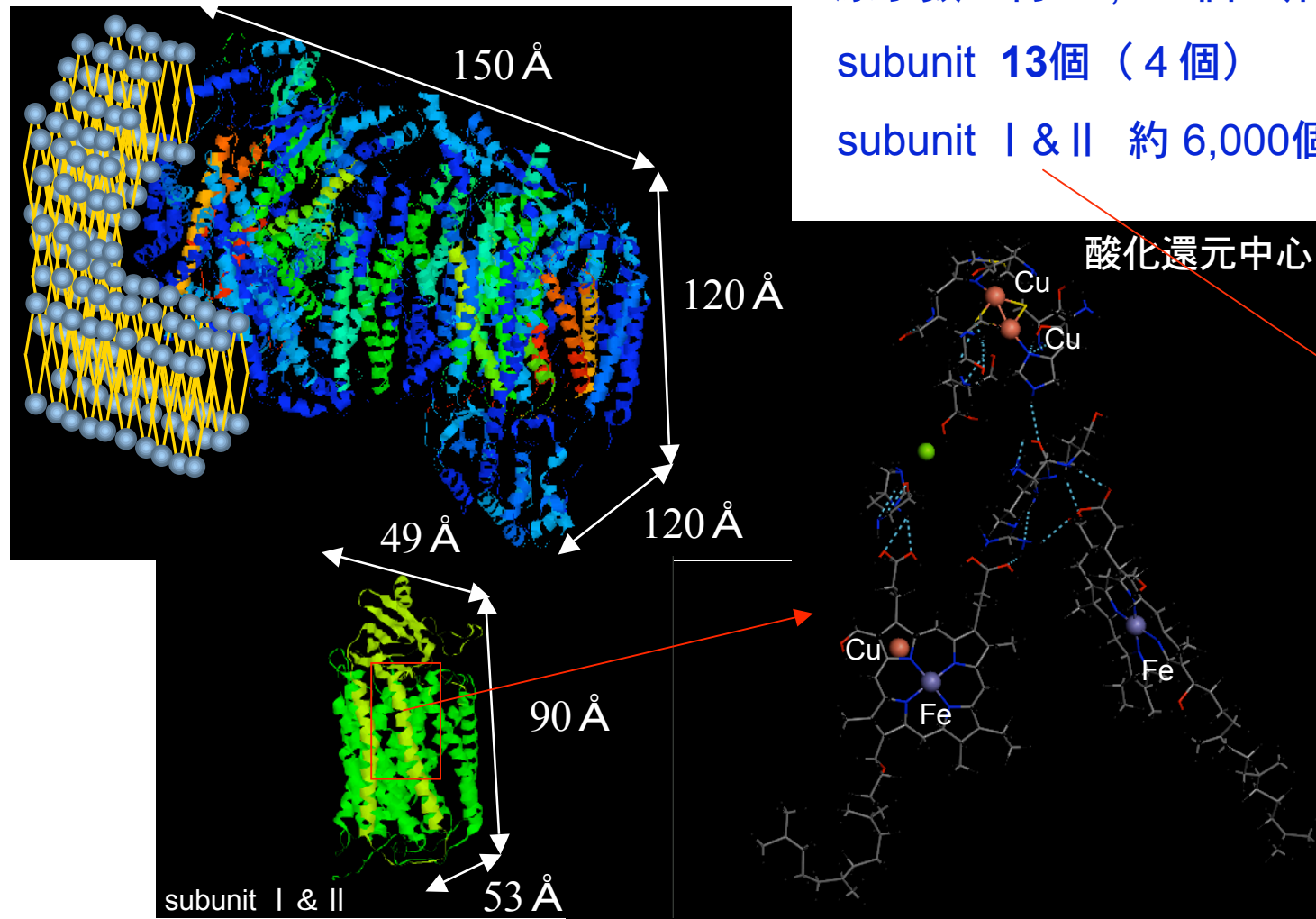


Bovine Cytochrome c Oxidase ~ structure ~

原子数 約 29,000個 (約10,000個)

subunit 13個 (4個)

subunit I & II 約 6,000個 (約6,000個)



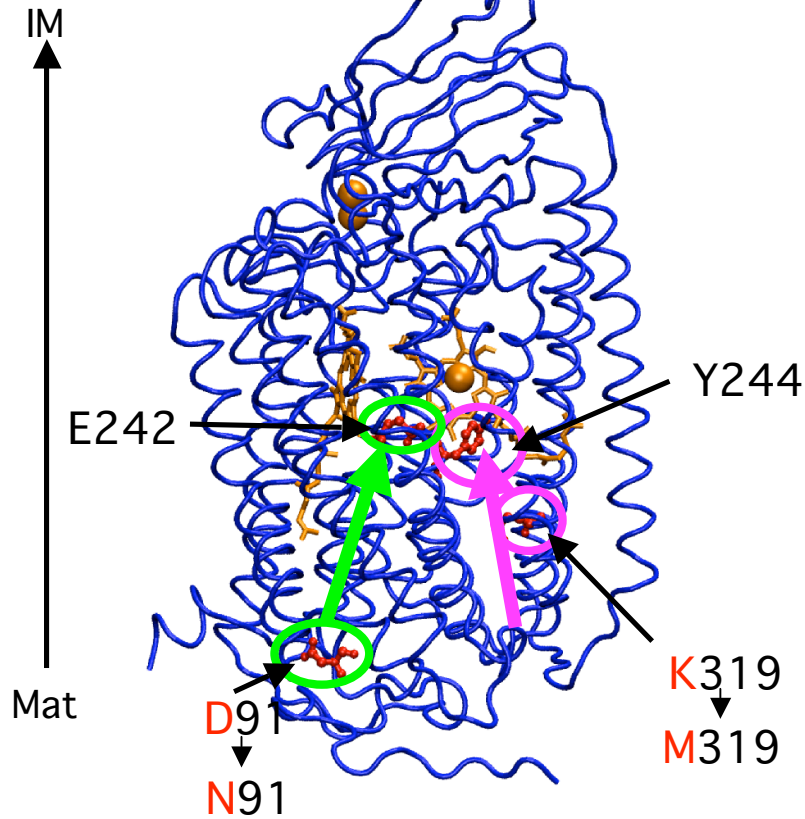
プロトン
移動に関
連する
subunit

吉川月原らによるHチャンネルによるプロトン移動

従来説のプロトン移動経路

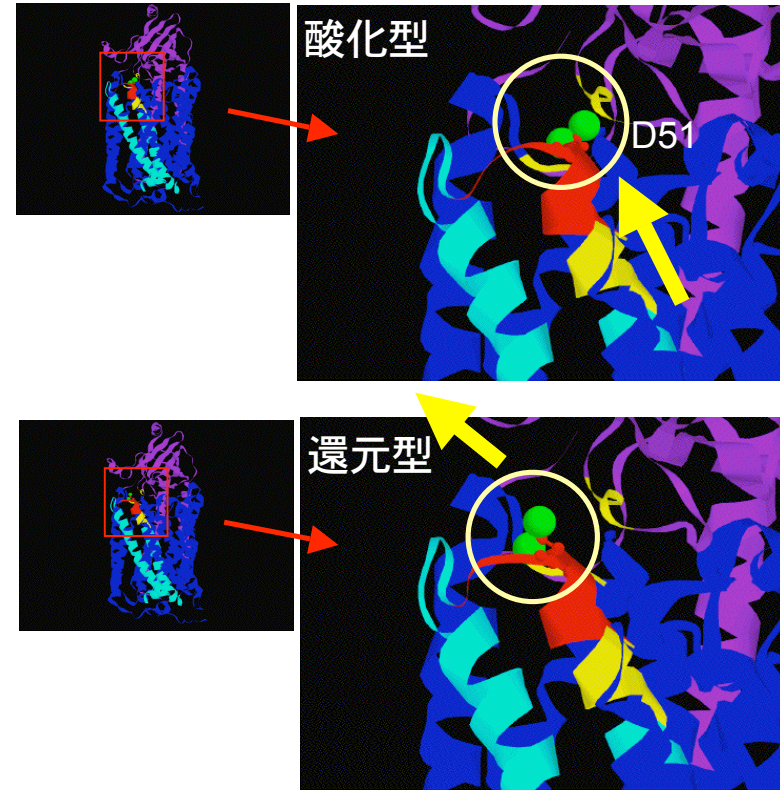
D & K チャンネル

bovine COX (S.1 & S.2)



低い分解能の構造と生化学的実験から推察

吉川月原モデル



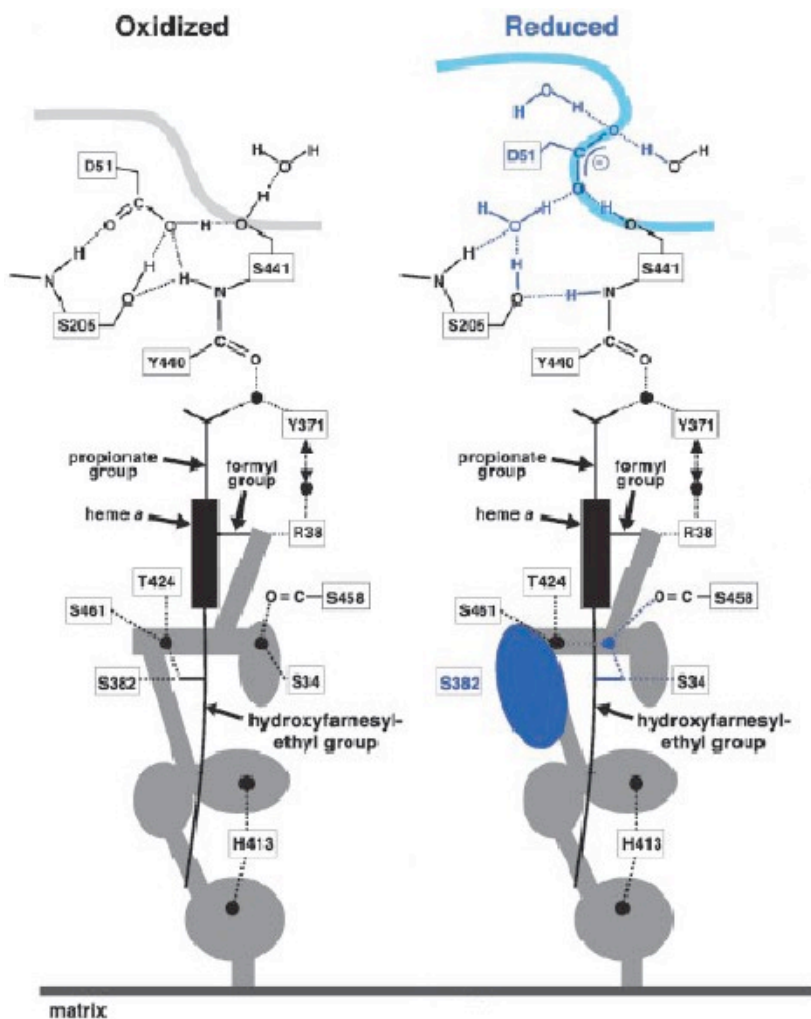
T.Tsukihara et al. PNAS 2003

高い分解能(1.8Å)の実験から提案

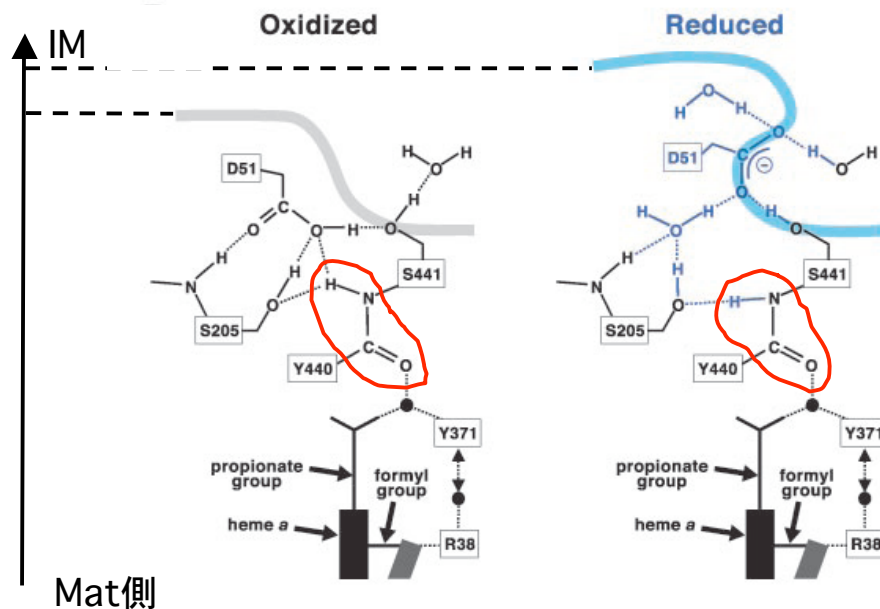
Asp51の構造に大きな変化

Hチャネルによるプロトン移動 (ペプチド結合経由)

全体像



ペプチド結合を介したプロトン移動経路



これまでの生化学の常識：

プロトン移動は水素結合を通してのみ起こり、ペプチド結合を通してプロトンは移動することはない

本研究で目指すこと

計算科学的アプローチでペプチド結合を通じたプロトン移動が可能か否かを検討する。

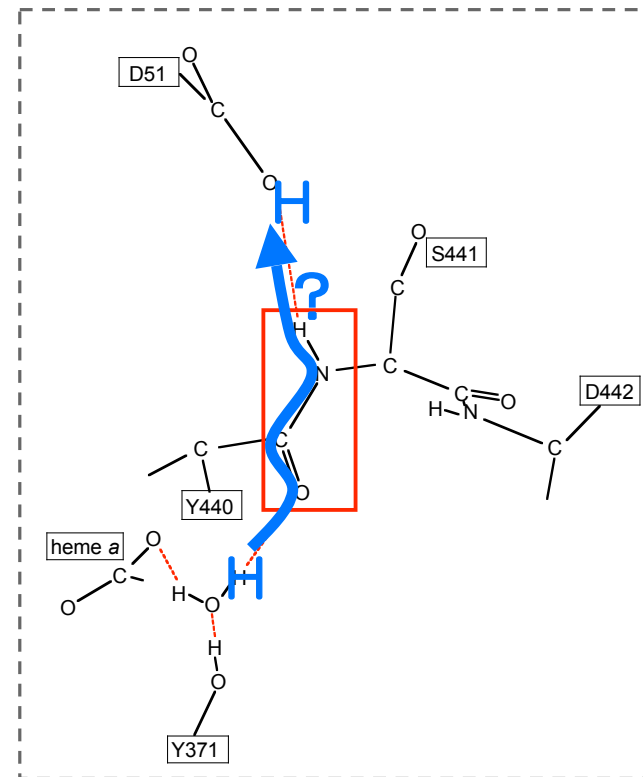
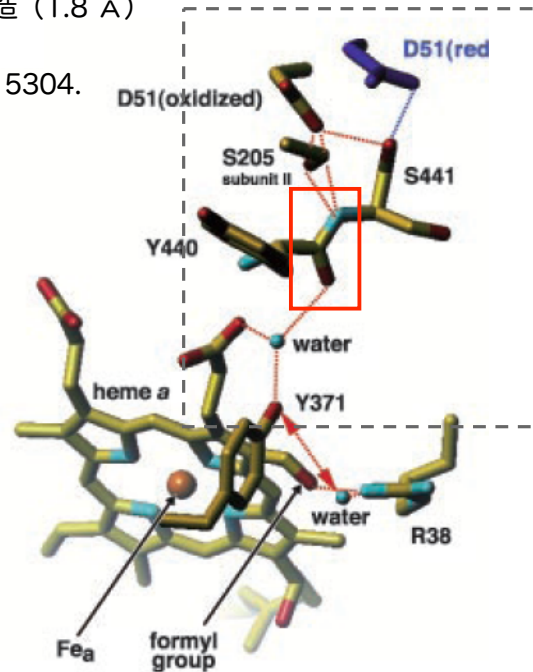
(生化学の教科書の改訂が必要か否かを検討する。)

目的

CcO H-channel上ペプチド結合を介したプロトン移動
が可能かどうかを電子レベルの計算で検討する

酸化型 CCO のX線構造 (1.8 Å)

T. Tsukihara, *et. al.*,
PNAS. 100 (2003) 15304.



(通常の水素結合を介した経路とは異なる) **新規**のプロトン移動経路を探る

計算手法

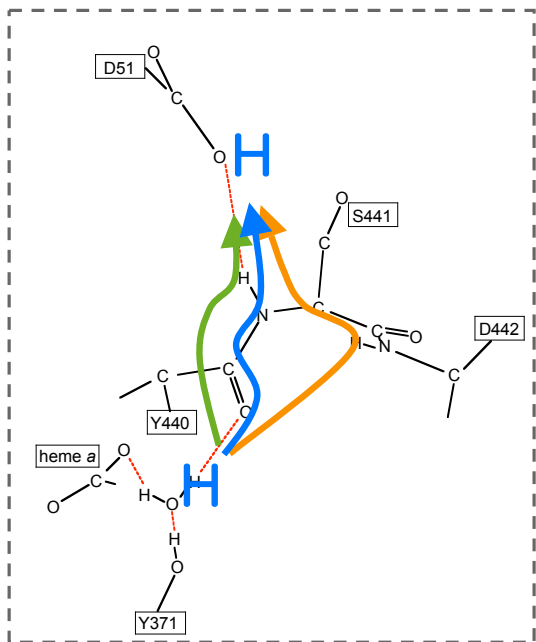
第一原理計算（密度汎関数法）

量子力学のシュレディンガー方程式をある種の近似の下でできるだけ正確に解く計算手法
（電子レベルでの現象の解析が可能）

電子構造、系の全エネルギー計算が可能

ウルトラソフト擬ポテンシャル法
GGA近似

どうアプローチするか（制限付きエネルギー最小化）



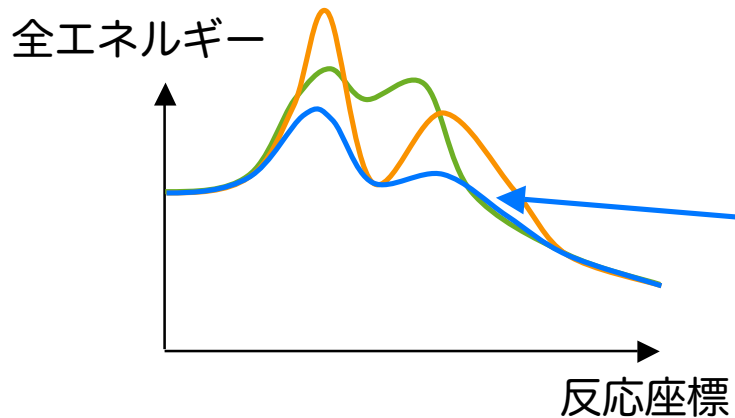
Tool

タンパク質立体構造の全エネルギー計算

Result

プロトン拡散経路における

- 立体構造変化
- 全エネルギー変化

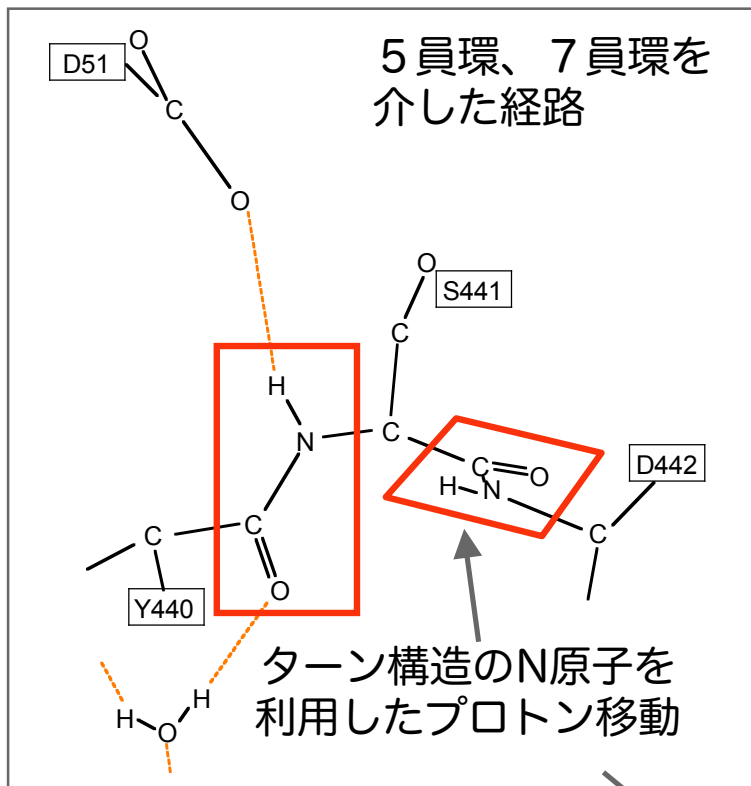


最小エネルギー経路が実現

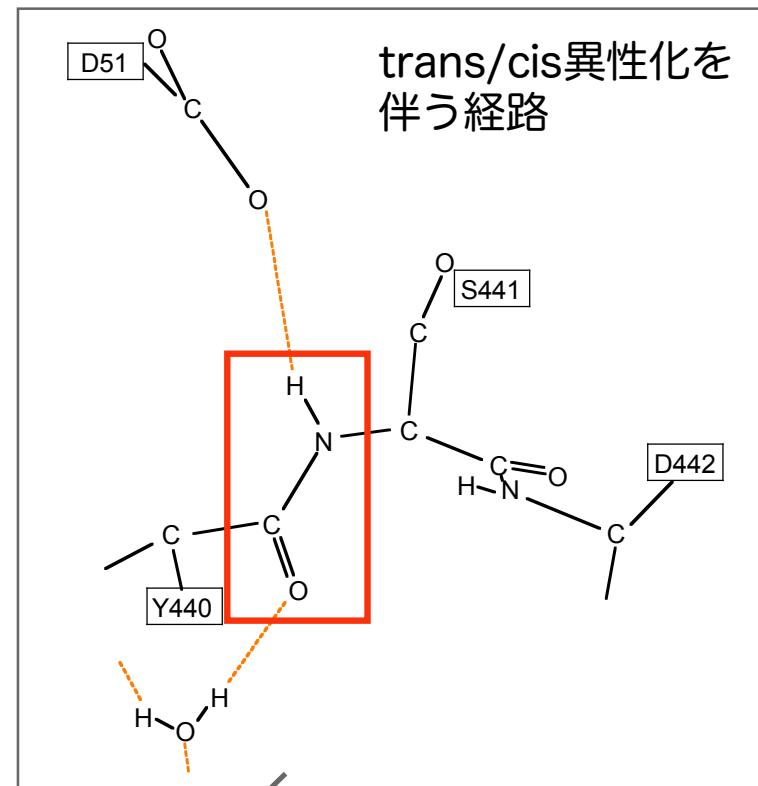
本研究で検討した2つのプロトン移動経路

いずれも大きな生体高分子から切り出した小さな一部分について計算を行った。(Asp51がH⁺を引き抜いたとき何が起こるかを検討)

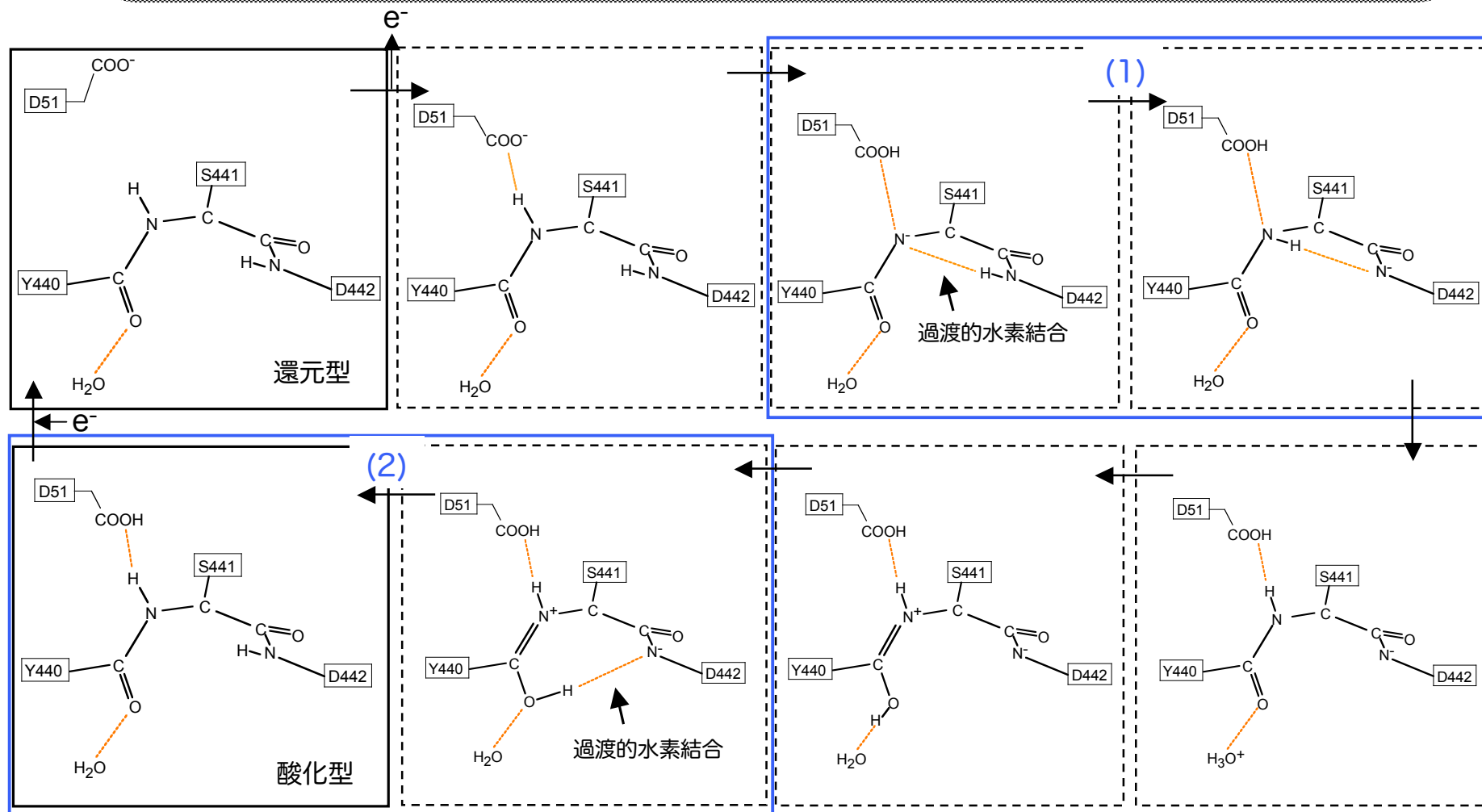
(1) 2つのペプチド結合を経由



(2) 1つのペプチド結合を経由



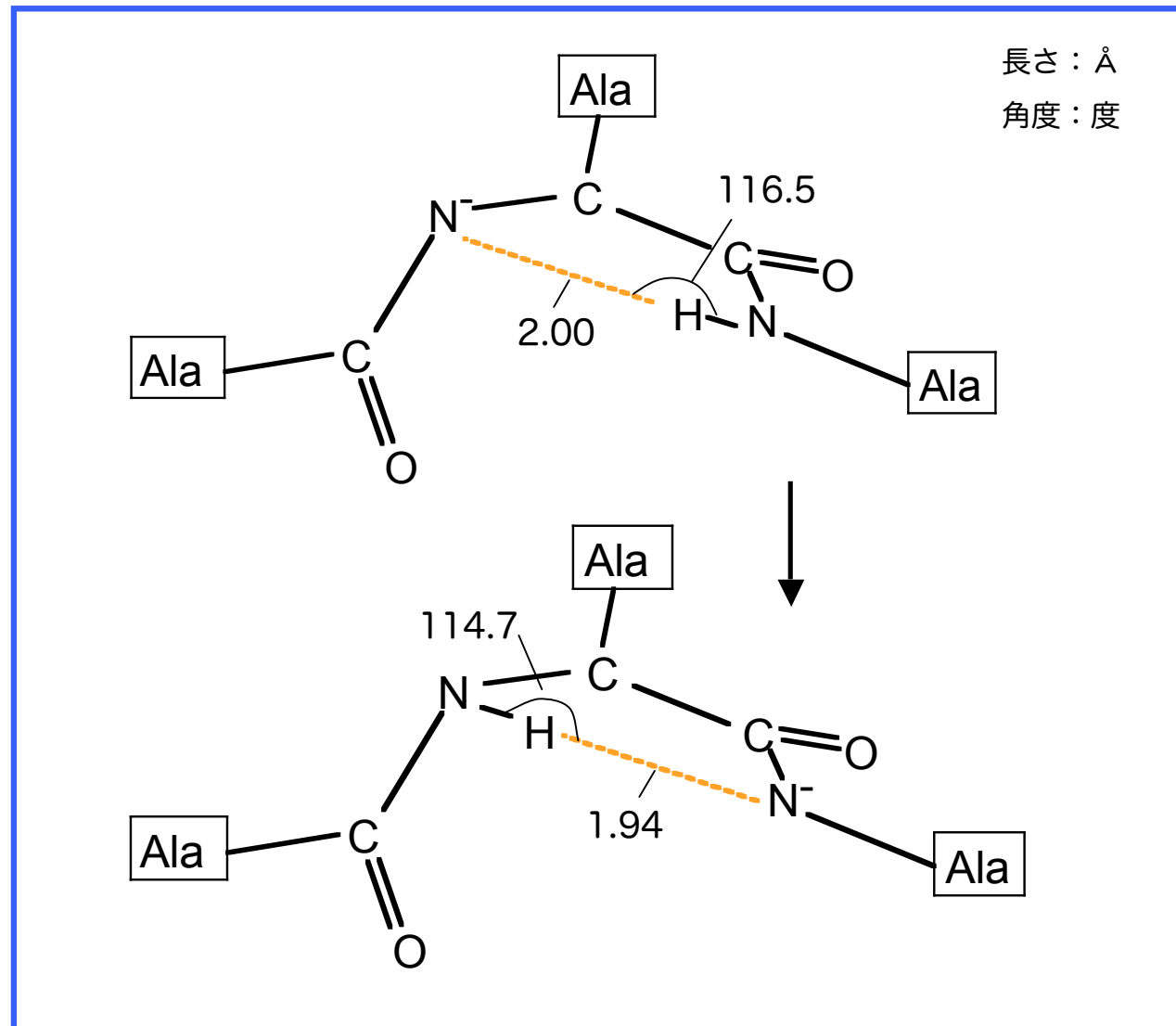
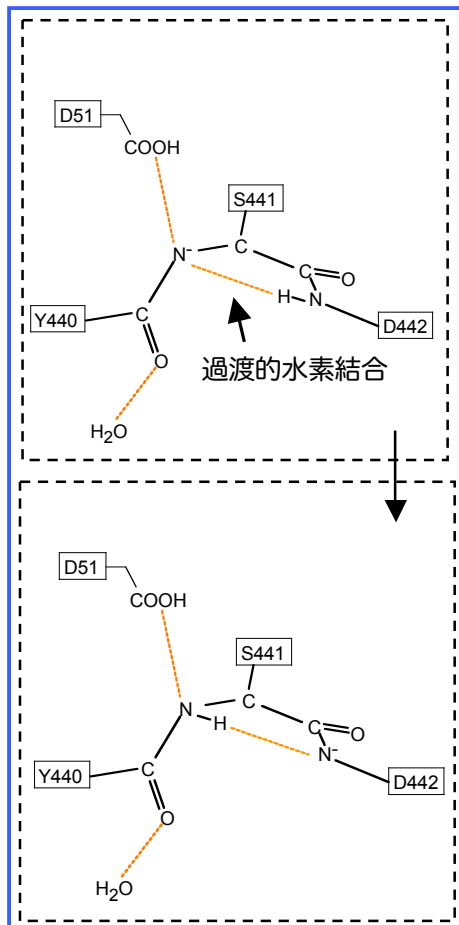
2つのペプチド結合を経由する場合



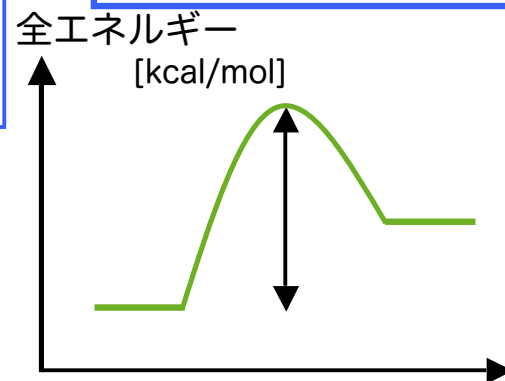
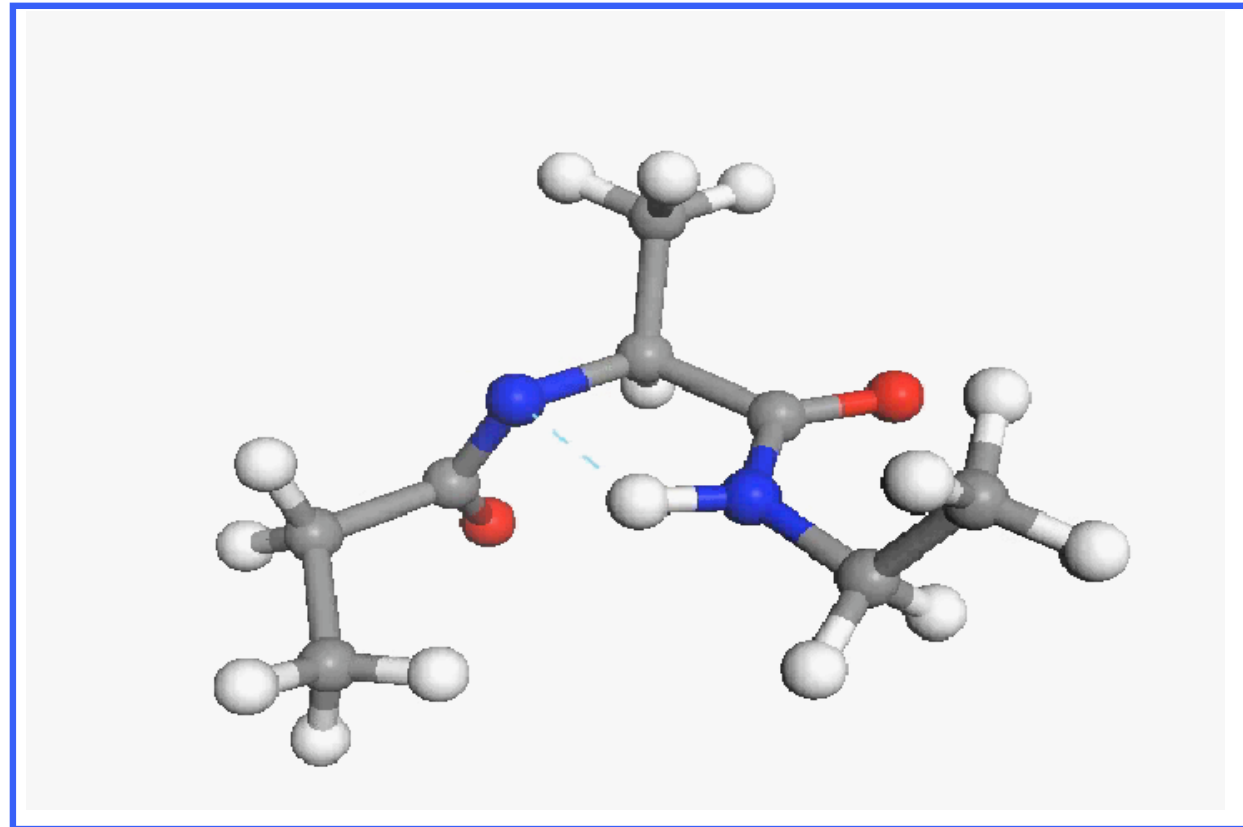
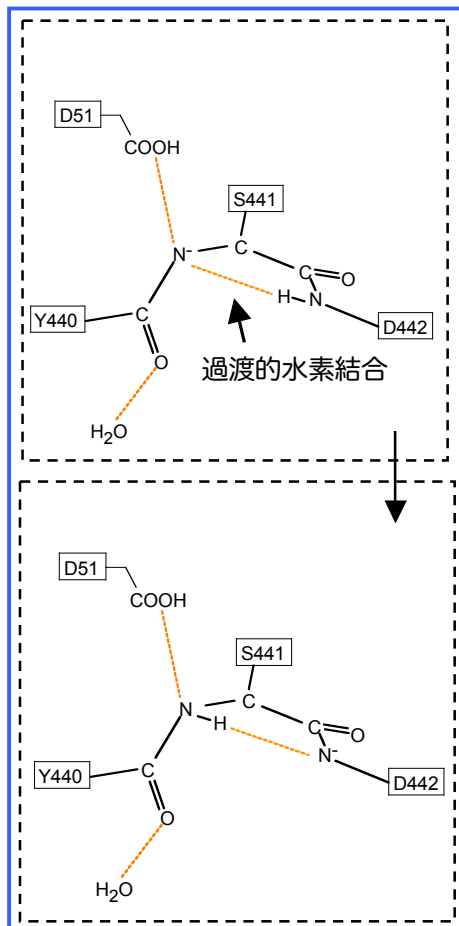
過渡的水素結合形成によるペプチド結合を介したプロトン移動経路 (低いエネルギー障壁)

ターン構造における隣接ペプチド結合が反応を触媒

過渡的水素結合形成の考察 (1)



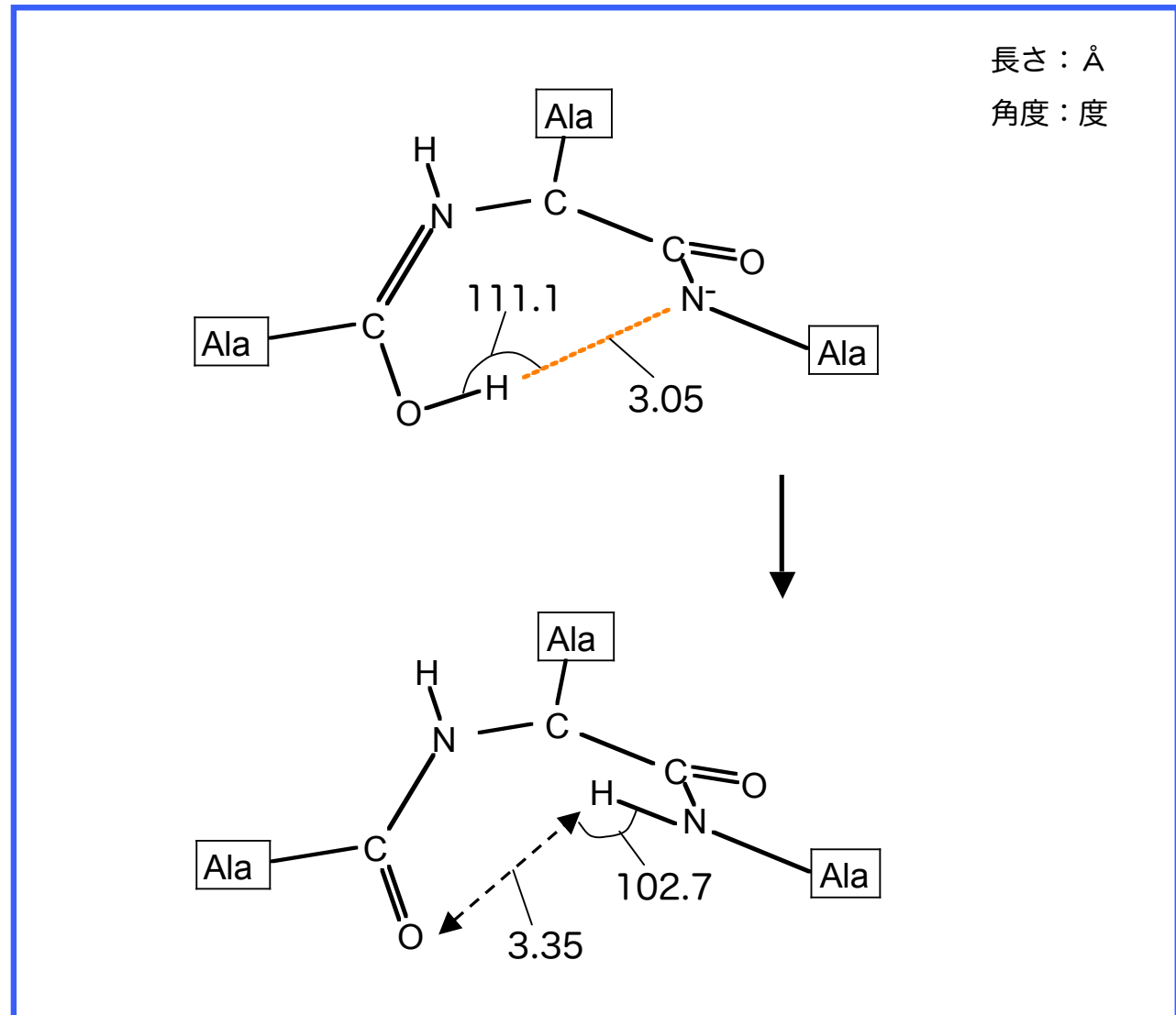
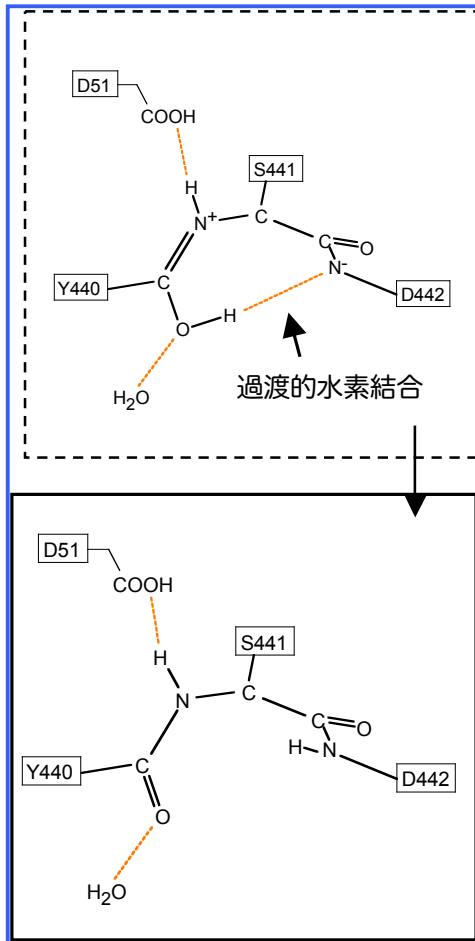
過渡的水素結合形成の考察 (1)



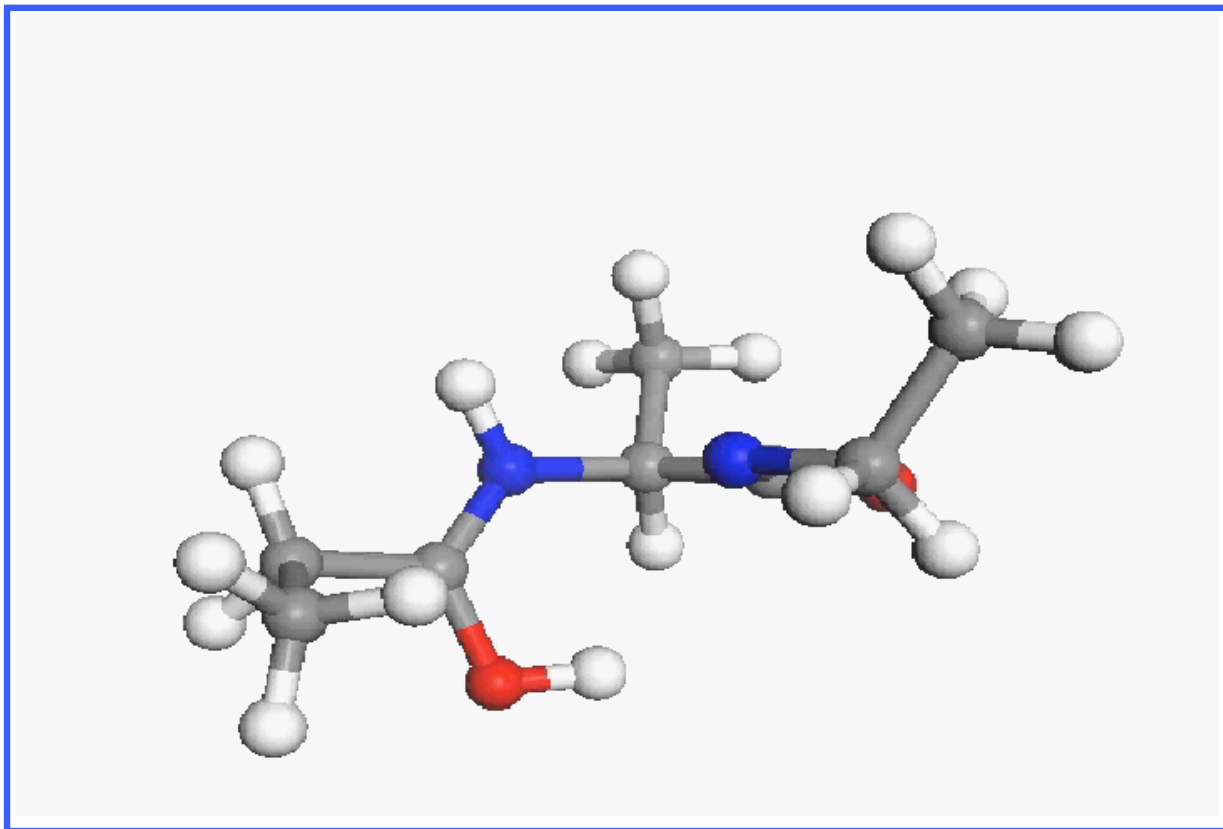
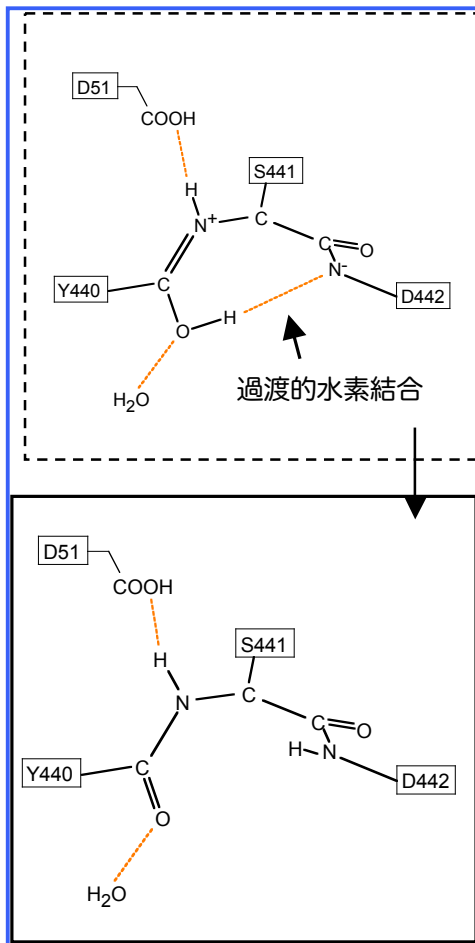
活性化エネルギー ~ 5.9 kcal/mol

→ H-bondを介した
H⁺移動の典型的な値！！

過渡的水素結合形成の考察 (2)



過渡的水素結合形成の考察 (2)

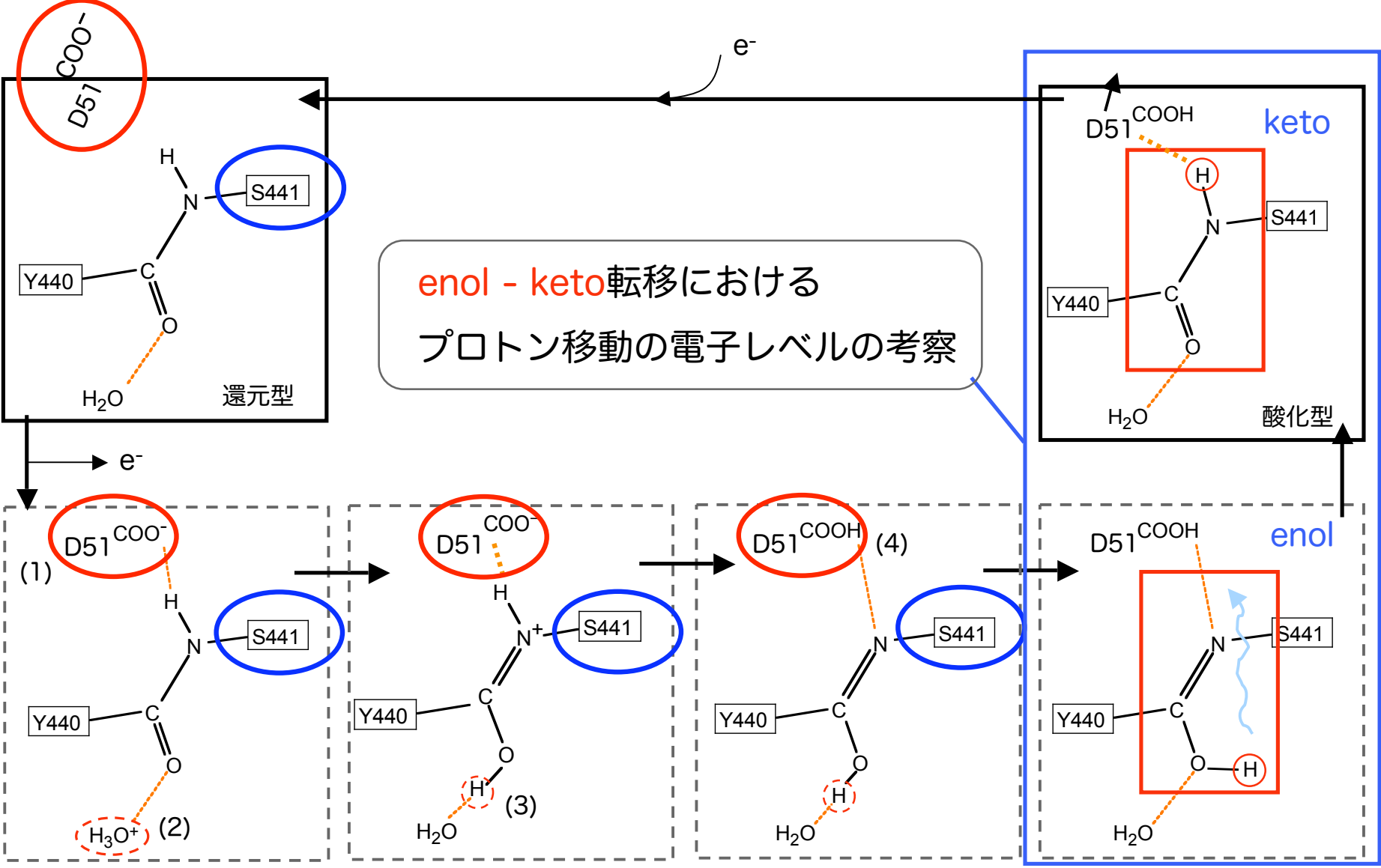


全エネルギー
[kcal/mol]

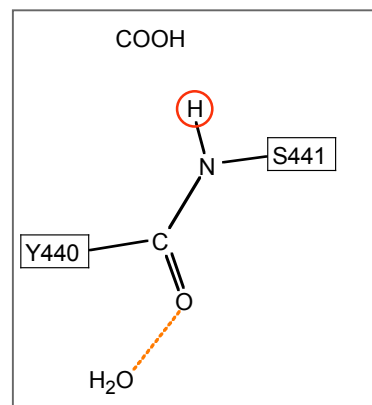
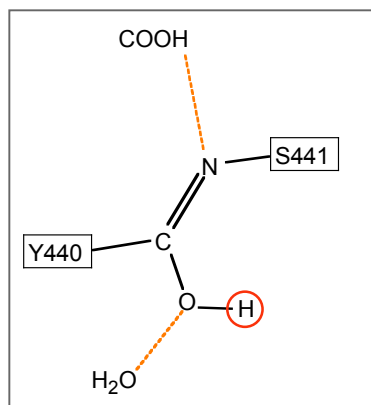
エネルギー利得 **47 kcal/mol**

- バリアのないプロトン移動
- プロトンの逆流防止

1つのペプチド結合を経由する場合



計算モデル：enol & keto型ポリグリシン

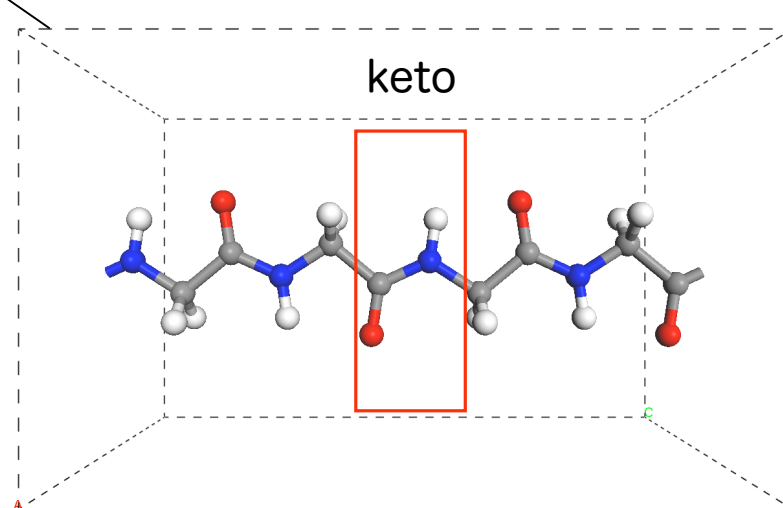
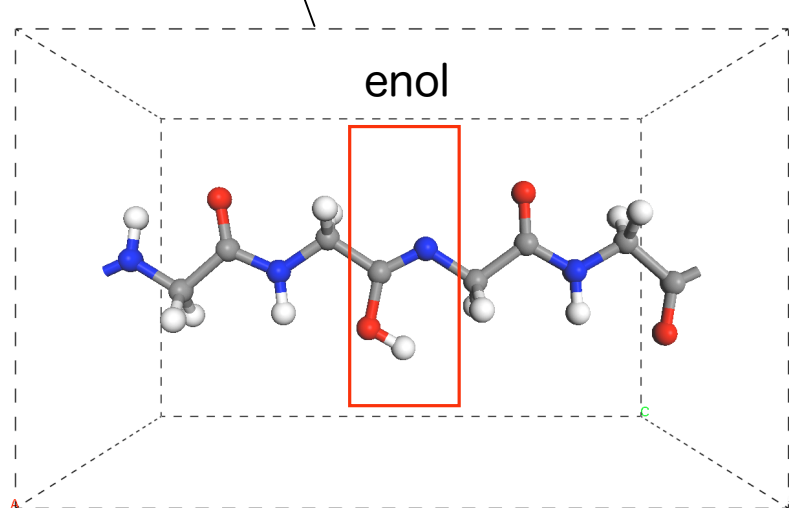


enol & keto ポリグリシン

(単純な構造で計算が容易)

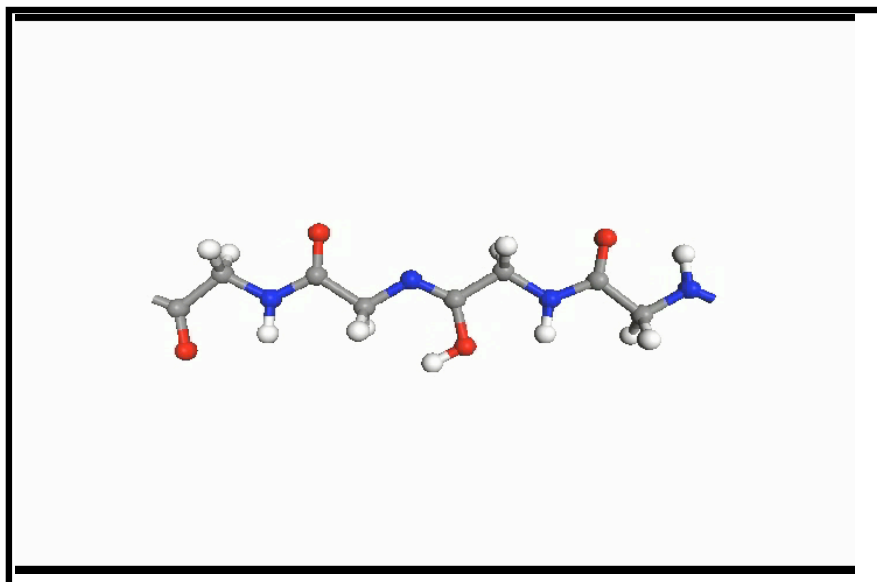
制限付き構造最適化

最小エネルギー経路の探索

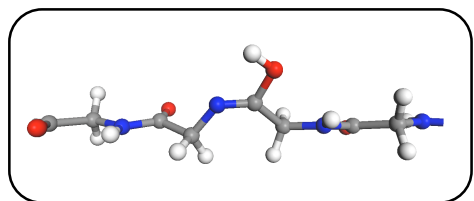
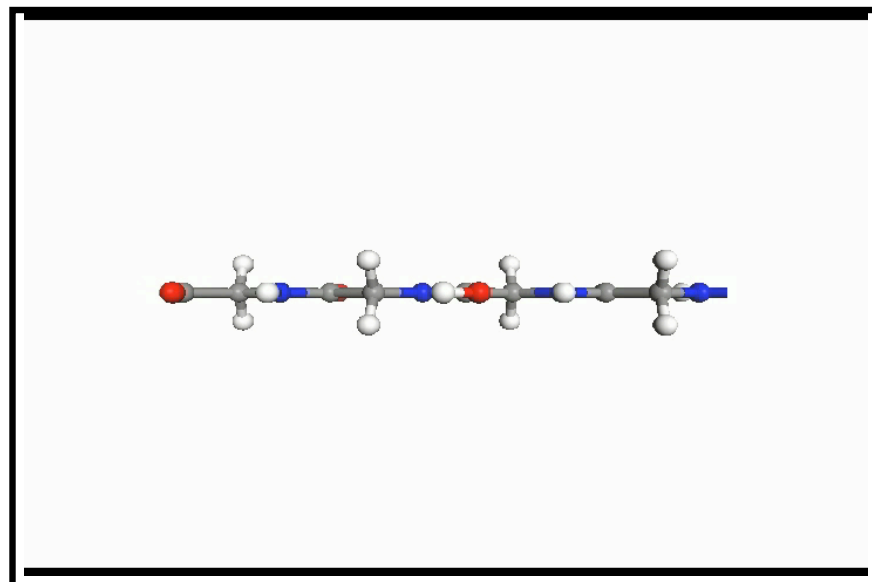


trans/cis 異性化を伴う経路：立体構造変化

Top View



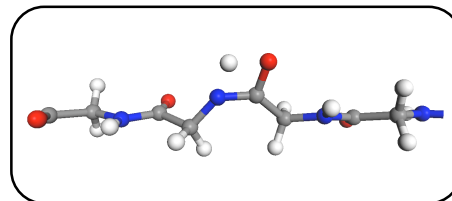
Side View



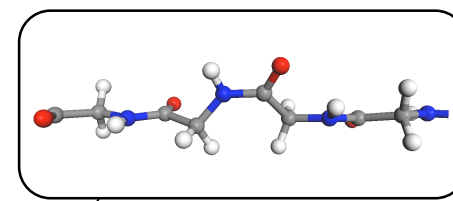
enol trans形



enol cis形



cis形遷移状態

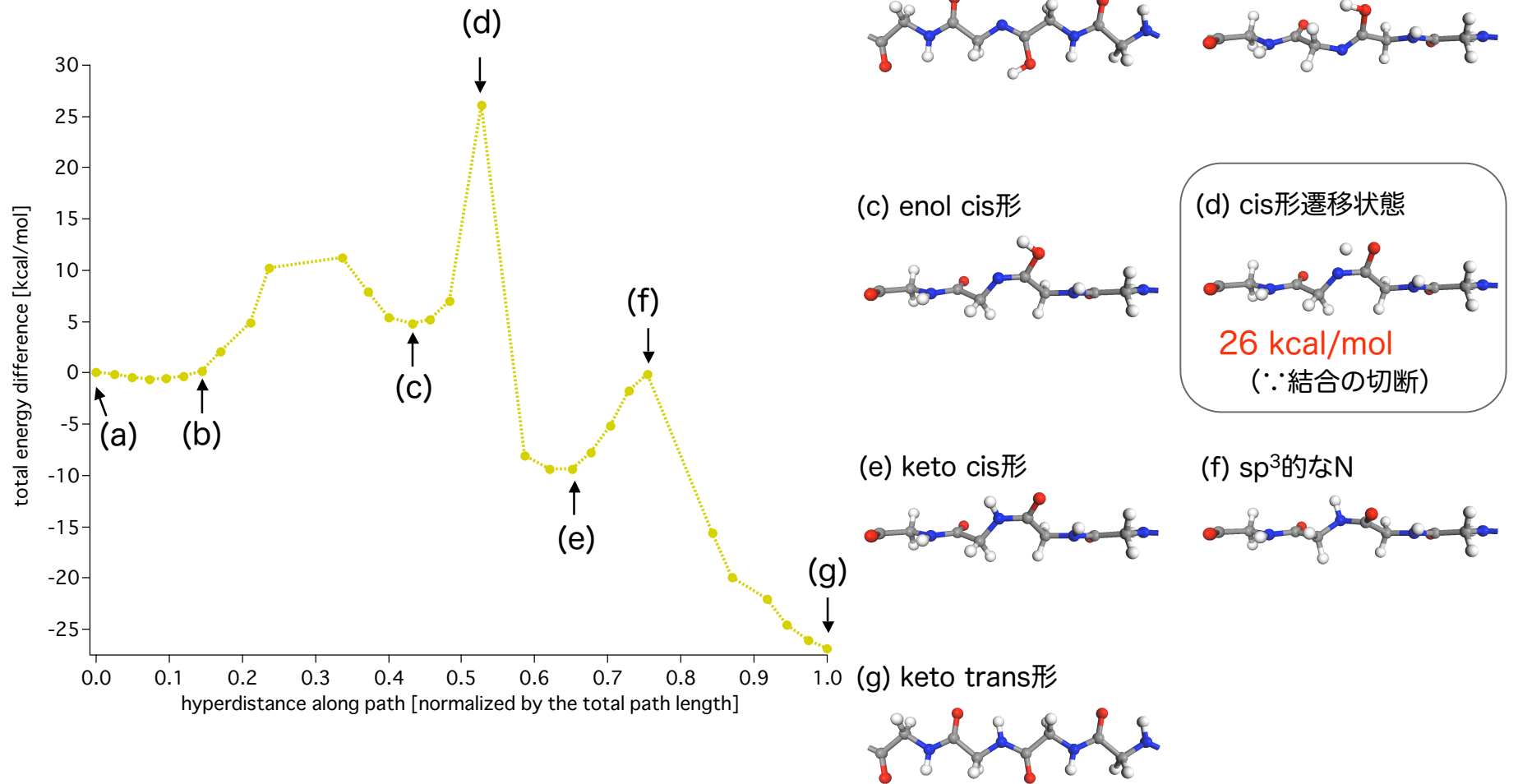


keto cis形



keto trans形

trans/cis 異性化を伴う経路：全エネルギー変化



一つのペプチド結合を介したプロトン移動

- trans/cis 異性を伴う構造変化
- 結合切断を伴うO→Nへのプロトンの直接移動（孤立ペプチドでは高いエネルギー障壁：26 kcal/mol）



現実のタンパク質：遷移状態のエネルギーを下げる因子が存在する可能性あり

例) 移動経路周辺のアミノ酸残基、水

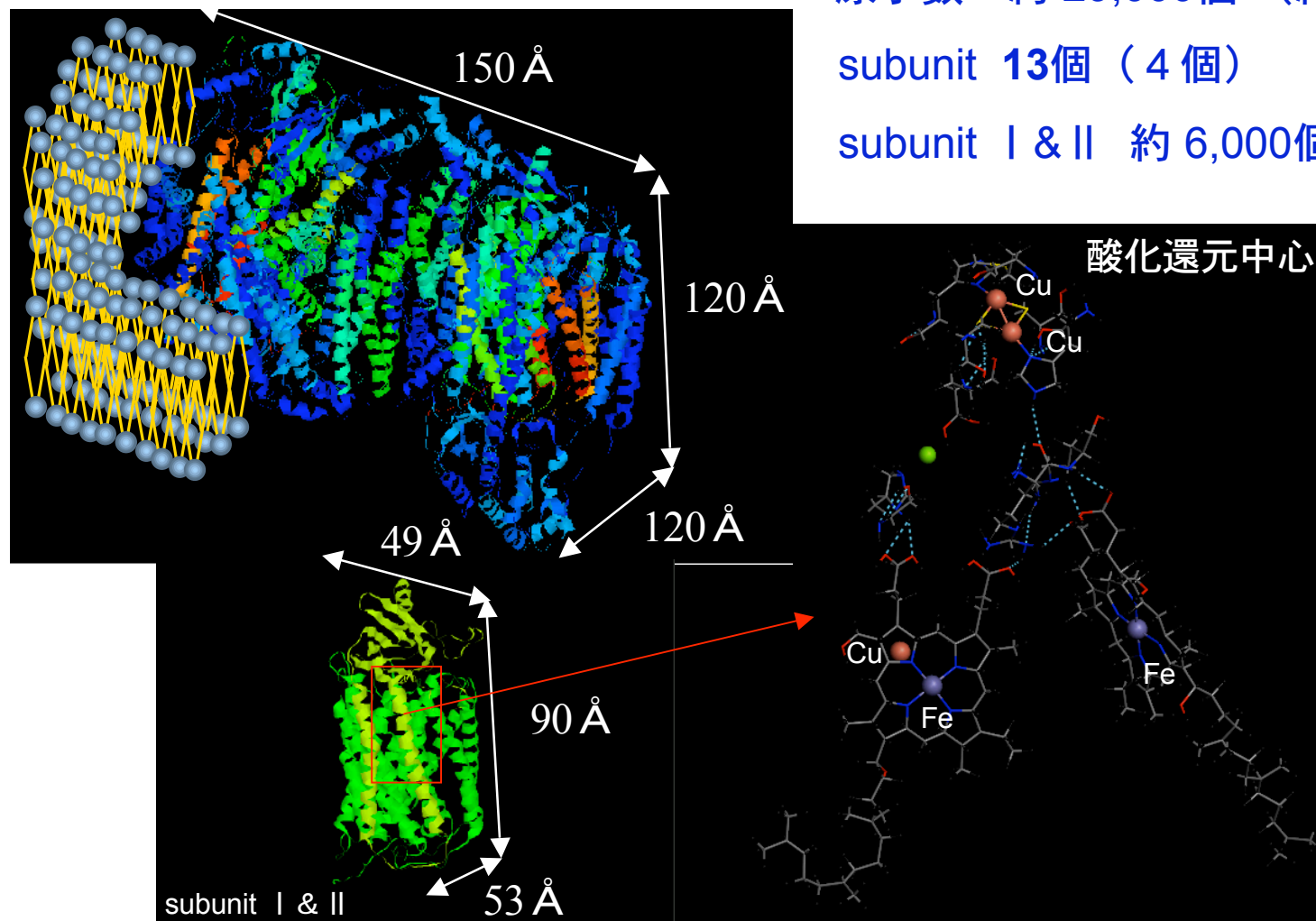
CcOに対して現在検討中

PACS-CSによる物質生命科学

原子数 約 29,000個 (約10,000個)

subunit 13個 (4個)

subunit I & II 約 6,000個 (約6,000個)



PACS-CS
Project
物質生命

10000原子
の第一原理
計算を目指
す。

プロトン移動に関与するsubunit I & II 全体をPACS-CSで扱って生命現象の根源に迫ることを今後の目標とする。(チトクローム酸化酵素に関して)

まとめ

電子レベルの理論計算（第一原理計算）により、ペプチド結合を介したプロトン移動は可能であることを発見した

1. **過渡的水素結合形成**による5員環、7員環を介した経路

→現実のCcO構造においてはこの経路に沿ったプロトン移動は可能（ただし、一方向的）

2. trans/cis 異性化を伴う経路 (assist する要素がないかCcOで検討中)

→エネルギー障壁は比較的高い (26 kcal/mol)



プロトン移動をアシスト（過渡的水素結合形成等）するユニットが存在する構造では、ペプチド結合を介したプロトン移動は無理なく起こることを示唆。

PACS-CSによる大規模計算で呼吸現象の電子レベルの理解を今後目指す予定