

イクオリンの生物発光過程についての理論的研究

(京大院理¹⁾) ○安東 智大¹・林 重彦¹

Theoretical Study on the Bioluminescence Process of Aequorin

(¹ Graduate School of Science, Kyoto University) ○Tomohiro Ando,¹ Shigehiko Hayashi¹

Aequorin is a blue light emitting protein extracted from *Aequorea victoria* and possessed three EF-hands where calcium ions bind. It is experimentally known that the binding of calcium ions to aequorin initiates its structural changes of protein that triggers the chemical reaction of the luminescent substrate, coelenterazine, leading to the luminescent state formation. However, the mechanism of the correlation between the luminescent reaction and the structural change has not yet been elucidated. In this study, we analyzed the luminescent reaction of aequorin by using QM/MM RWFE-SCF method¹⁾. This method can simultaneously achieve both highly accurate description of chemical reactions and ample statistical sampling of long-time dynamics of protein structural changes, and thus enables us to analyze the structural changes of proteins and water molecules in response to changes in the reaction state and the protonation state. The calculations accurately determined interaction between the substrate and the surrounding amino acid side chains that are important for the reaction. The calculations also showed formation of a cavity around the binding site with coordination of water molecules due to protein structural changes upon the changes in the protonation state and the binding of calcium ions, which is expected to affect adduct formation of a molecular oxygen to the substrate and a proton transfer reaction that controls formation of the luminescent state. We will investigate the reaction pathways of the proton transfer, the adduct formulation of a molecular oxygen, and formation of the luminescent precursor, dioxetanone.

Keywords : *Molecular Dynamics; Aequorin; Luminescent Protein*

イクオリンはオワンクラゲから抽出された青色発光タンパク質である。イクオリンは3ヶ所のEF-handをもち、カルシウムイオンの結合によるタンパク質構造変化が、発光基質分子であるセレンテラジンの化学反応を誘起することが実験的に知られている。しかし、その発光反応と構造変化の相関のメカニズムは未だ解明されていない。

本研究ではQM/MM RWFE-SCF法¹⁾を用いてイクオリンの発光反応の解析を行った。本手法は化学反応の高精度な記述とタンパク質構造変化の長時間ダイナミクスの統計的記述の両立が可能であり、反応状態やプロトン化状態の変化に対するタンパク質や水分子の構造変化を解析することができる。計算の結果、基質分子と、反応に重要となる周辺アミノ酸側鎖との相互作用が高精度に解析された。また、プロトン化状態の変化やカルシウムイオンの結合に伴うタンパク質構造変化によって、結合部位周辺にcavityが形成され、水分子が配位する様子が見られた。これらは基質分子への酸素分子の付加反応や発光状態生成を制御すると考えられるプロトン移動反応の反応性に影響すると考えられる。今後、それらのプロトン移動や酸素分子の付加と発光前駆体dioxetanone生成の反応経路について解析を行う予定である。

1) T. Kosugi and S. Hayashi, *J. Chem. Theory. Comput.* **2012**, 8, 322.