

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・和歌山県立医大²・京大院薬³) ○安東 智大¹・林 重彦¹・中津 亨²・船橋 俊也³

Theoretical Study on the Luminescent Reaction Process of Bioluminescent Protein Aequorin (¹Graduate School of Science, Kyoto University, ²Wakayama Medical University, ³Graduate School of Pharmaceutical Science, Kyoto University) ○Tomohiro Ando¹, Shigehiko Hayashi¹, Toru Nakatsu², Toshiya Funahashi³

Aequorin is a blue light emitting protein extracted from jellyfish. It has three EF-hands which are a substructure of calmodulin 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 molecule, coelenterazine-peroxide.

In this study, we analyzed the correlation between the luminescent reaction of coelenterazine and structural changes of the protein through 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 we analyzed reactivity of our model by calculating QM/MM free energies using BAR method²⁾. The calculations accurately determine molecular interaction between the substrate molecule and the surrounding amino acid side chains that are important for the reaction and revealed dynamics of protein structural changes associated with calcium ion binding. And we demonstrated the reorganization of the hydrogen bond network near the active site due to water influx.

We will also discuss our effects to explore the proton transfer pathway leading to the luminescent state and to analyze oxygen addition reaction to form peroxide.

Keywords : *Molecular Dynamics; QM/MM RWFE-SCF method; Aequorin; Coelenterazine*

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。イクオリンへの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⁾を用いたイクオリンの反応状態のモデリングにより、発光反応経路の解析を行った。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²⁾の統計的記述の両立が可能である。また、BAR 法²⁾を用いた QM/MM 自由エネルギー計算によってモデルの反応性を解析した。これらの手法により、基質分子と、反応に重要な周辺アミノ酸側鎖との分子相互作用が高精度に計算され、カルシウムイオンの結合によるタンパク質構造変化のダイナミクスと活性部位近辺への水分子の流入による水素結合ネットワークの再構築が示された。

当日は、発光前駆体 dioxetanone 生成反応経路の探索や、peroxide 状態を生成する酸素分子付加反応解析の取り組みについても議論する予定である。

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

2) Bennett, C. H., *Journal of Computational Physics.* **1976**, 22(2), 245.