

## MbCO リガンド光解離過程に伴うヘム振動緩和経路の理論的研究

(名大院・情報科学) ○高柳 昌芳, 岩橋 知令, 長岡 正隆

**【序】** CO 結合型ミオグロビン (MbCO) は光励起に伴うヘムの電子励起状態への遷移により CO リガンドの解離が生じ、それに伴い余剰エネルギー緩和と構造変化が起こる。この構造変形は Mb に類似した構造のサブユニット 4 つから構成されているヘモグロビンが示すアロステリック効果 (各サブユニットへのリガンド結合状態に応じて酸素分子親和性を調整する) の発現メカニズムと関連していることが考えられ、タンパク質が機能発現を行う際に構造変化が果たす役割を調査する良いモデル系である。またこのリガンド光解離後に生じるヘムから周囲のグロビン部・水溶液への振動エネルギー緩和過程は量子収率がほぼ 100% である等の有利な性質もあり、多数の実験的・理論的研究が行われてきた。そこで本研究では構造変形およびヘムから周囲への余剰振動エネルギー緩和の詳細な過程を調査するために分子動力学 (MD) シミュレーションを実行し解析を行った。なお、この構造変化は 0.1 Å 以下の微小なものであり、また与えられる余剰エネルギーも 300 K における局所温度のゆらぎよりもはるかに小さいものであり、少数の MD 計算では熱ゆらぎの存在のために十分な精度の解析が不可能である。そこで我々は高分解能解析を可能とするアンサンブル摂動法 (Ensemble perturbation (EP) method) による解析[1]を行った。

**【計算方法】** MD シミュレーションには AMBER7 プログラムを用いた。まず、Mb 1 分子周囲に 2801 個の水分子を配置した周期境界ボックス ( $\sim 51 \times 47 \times 47 \text{ \AA}^3$ ) を形成して平衡化を行った。次に常温常圧の NPT 一定条件の MD 計算を 500 ps 実行し、1 ps 毎に各原子の座標・速度を出力して 500 個の初期データを用意した。このサンプリング MD を異なる初期速度から 4 回繰り返し、合計 2000 個の初期データを生成した。最後に各初期データからリガンド光解離を行う摂動 MD (PMD) と行わない非摂動 MD (UMD) の組を NVE 条件下で 2000 組を 20 ps 実行した。ここで光解離は以前の我々の研究[1,2]と同様にヘムの力場を基底状態である CO が結合している 6 配位状態から、CO が解離する電子励起状態を再現するような 5 配位状態へと変更し、同時に余剰エネルギーをヘムの各原子に運動エネルギーとして分配することで再現した。

EP 法では摂動 (ここではリガンド光解離) によって生じる物理量変化を以下の手順により算出する。 $i$  番目の PMD および UMD 計算から得られた物理量の組 ( $A^{\text{PMD},i}$ ,  $A^{\text{UMD},i}$ ) について、その差  $\delta A^i = A^{\text{PMD},i} - A^{\text{UMD},i}$  をとり、さらにアンサンブル平均をとり、

$$\langle \delta A \rangle = \frac{1}{N_{\text{MD}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{MD}}} \delta A^i = \frac{1}{N_{\text{MD}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{MD}}} (A^{\text{PMD},i} - A^{\text{UMD},i}) \quad (1)$$

とする。ここで  $N_{\text{MD}}$  は PMD、UMD のトラジェクトリ数を、 $\langle \rangle$  はアンサンブル平均を表す。

**【結果】** Mb の構造変形を捉えるために、

$$\langle \mathbf{r}_i^{\text{PMD}}(t) \rangle = \frac{1}{N_{\text{traj}}} \sum_{n=1}^{N_{\text{traj}}} \hat{\mathbf{r}}_i^{\text{PMD},n}(t), \quad \langle \mathbf{r}_i^{\text{UMD}}(t) \rangle = \frac{1}{N_{\text{traj}}} \sum_{n=1}^{N_{\text{traj}}} \hat{\mathbf{r}}_i^{\text{UMD},n}(t) \quad (2)$$

のように各原子の座標を PMD、UMD それぞれについてアンサンブル平均することで算出した。励起後 20 ps での平均構造を図 1 に示す。Leu29, Ile107, Leu104 等の残基は上方向へと移動し（赤矢印）、逆に His93 は下方向へと移動している（青矢印）。また His64 は CO リガンドが解離することで生じる空洞を埋めるような方向へと移動する（緑矢印）。これらの構造変化は時間分解 X 線結晶解析によって示された励起後 100 ps での構造変形を良く再現している[3]。

次に余剰振動エネルギーがヘム周囲のどの残基へと伝播しているかを知るために、各残基の温度  $T(r, t)$  を

$$T(r, t) = \frac{2}{3N_r k_B} \sum_{i \in \text{residue } r}^{N_r} \frac{1}{2} m_i v_i^2(t) \quad (3)$$

で定義し、 $T(r, t)$  の PMD と UMD 間での差のアンサンブル平均を以下のように算出した。

$$\begin{aligned} \langle \delta \Delta T(r, t) \rangle &= \frac{1}{N_{\text{traj}}} \sum_{n=1}^{N_{\text{traj}}} \delta \Delta T^n(r, t) \\ &= \frac{1}{N_{\text{traj}}} \sum_{n=1}^{N_{\text{traj}}} \left\{ \left( T^{\text{PMD}, n}(r, t) - T^{\text{PMD}, n}(r, 0) \right) - \left( T^{\text{UMD}, n}(r, t) - T^{\text{UMD}, n}(r, 0) \right) \right\} \end{aligned} \quad (4)$$

この平均温度を 0.1 ps 間隔で算出したものを図 2 に示す。最初の 0.1 ps の間に His64, Val68, His93 の 3 残基の温度が上昇し、次の 0.1 ps で Leu29, Phe43, Ala94 の温度が大きく上昇する。そして時間が経過するに従い他の残基へと温度上昇が広がっていく。これらの温度上昇はヘムと His93 間の Fe-N 結合を介したエネルギー伝達経路（through bond）と、解離した CO リガンドと残基との衝突による伝達経路（through projectile）が主要要因となっている。

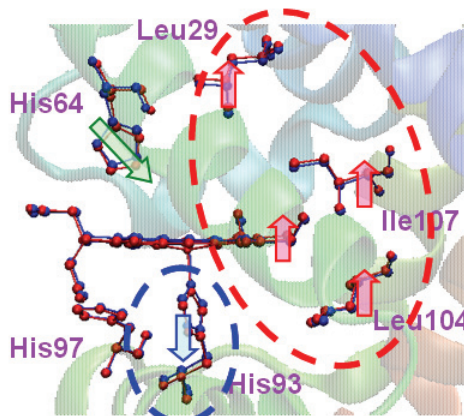


図 1. 2000 本の PMD と UMD から算出した励起後 20 ps での平均構造。赤 : PMD、青 : UMD。

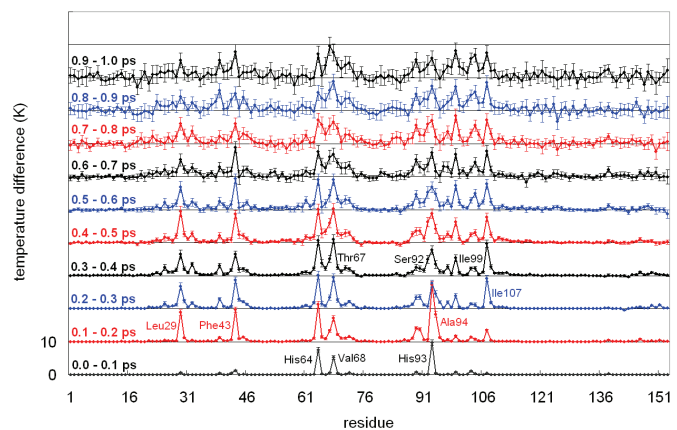


図 2. 2000 本の PMD と UMD から算出した各残基の温度変化を 95%信頼区間と表示。

### 【参考文献】

- [1] M. Takayanagi, H. Okumura, M. Nagaoka, *J. Phys. Chem. B* 111 (2007) 864.
- [2] I. Okazaki, Y. Hara, M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.* 337 (2001) 151.
- [3] F. Schotte, J. Soman, J.S. Olson, M. Wulff, P.A. Anfinrud, *J. Struct. Biol.* 147 (2004) 235.