

3D-RISM 理論を用いたミオグロビンにおけるリガンド分子の

脱着過程に関する理論的研究

(1総研大, 2分子研, 3理研) ○清田泰臣¹, 吉田紀生^{1,2}, 今井隆志³, 平田文男^{1,2}

【緒言】

ミオグロビンは多くの生体において酸素の貯蔵、運搬に深く関わる球状タンパク質である(図1)。ミオグロビン内における分子の吸脱着過程は、酸素供給系の複雑な生理作用を解明する上で重要であり、一酸化炭素やキセノン等、多くの無極性なリガンド分子を用いて研究されてきた。いくつかの分光学的実験により、リガンド分子はタンパク質内の空孔を経由し、溶媒から蛋白質内部の色素ヘムに吸脱着を行うことが予測されている^{1,2)}。しかしながら、ミオグロビン中に数多く存在する空孔のうち、どの空孔がリガンド結合サイトとなるか、どのような経路で吸脱着が行われるか等の統一した見解は未だ存在していない。本研究では、分子性液体の統計力学理論である3D-RISM理論を用い、各種リガンド分子の分布を分布関数として直接求めることで、この分子吸脱着過程の再現、予測を行うことを目的とした。また求めた分布関数を用いて、部分モル体積や配位数を算出し、その脱着過程を議論する。

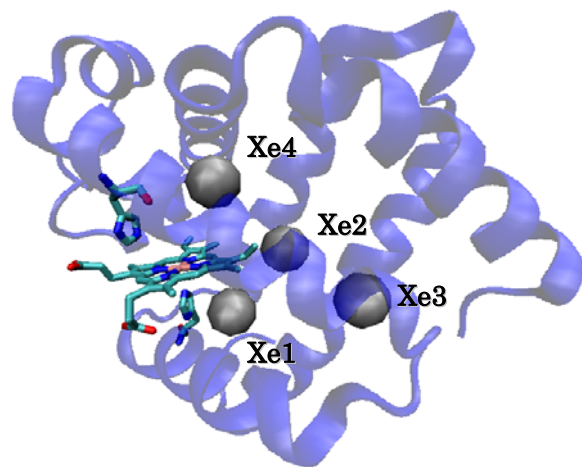


図1：ミオグロビンの立体構造と色素ヘム周辺の空孔の位置。空孔はX線構造解析よりXeがトラップされていたため、Xeサイトと呼ばれる。

【理論・計算】

本研究では、まず3D-RISM/KH方程式を解き(式(1),(2))、溶質であるミオグロビンに対する各種リガンド分子の3次元分布関数を求めた。ミオグロビンの構造はX線構造解析より得られた構造を採用し(PDB:1MBC)、H原子については最適化を行った。リガンド分子としてXe, CO, O₂, NO, CO₂, H₂Sを用い、得られた3次元分布関数より配位数を計算することで、Xeサイトにおけるリガンド分子の分布の相違を検証した。また、RISM理論は熱力学極限を正しく取り扱うことができ、蛋白質の部分モル容積を定量的なレベルで再現することが知られている³⁾。本研究では、COの吸着サイトの違いによる部分モル容積の変化について比較を行った。

【結果・考察】

まず、3D-RISM/ KH 方程式により得られた3次元動径分布関数を図2に示す。図2は一酸化炭素の分布関数であり、各Xeサイトには図右上に示したように一酸化炭素の他、多くのリガンド分子が配位することが確かめられた。得られた分布関数より、各リガンドの配位数を計算したところ、リガンドの分布の様相は、純粋に空孔の大きさに依存することが示唆された。

次に、一酸化炭素をリガンドとした場合の、吸脱着過程の検証を行った。2つのXeサイト、Xe1およびXe4は、分光学的実験より吸脱着過程における経路であると提案されている¹⁾。この実験手法において、脱着過程における体積変化が測定されており²⁾、Xe4およびXe1にCOが存在することを示す中間体が観測されている(式(3))。そこで、脱離するCOをあらわに扱い、色素ヘムの結合サイト、Xe1、Xe4のそれぞれにCOが存在する場合のモデルを構築し、各モデルでの部分モル体積を計算した。計算結果と部分モル体積の変化を表1に示す。表1より、実験において観測された、脱着過程の体積変化の傾向を良く再現していることが分かる。サイト間の移動に関する体積変化 (ΔV_1 、 ΔV_2) に実験値との若干の相違があるのは、計算モデルによるものと考えられる。先にも述べたように、空孔の大きさが分布関数に大きく影響を与えるため、タンパク質の構造揺らぎを考慮した解析が必要であると考えられる。

当日のポスターでは、以上の点も踏まえ、詳細に解説する予定である。

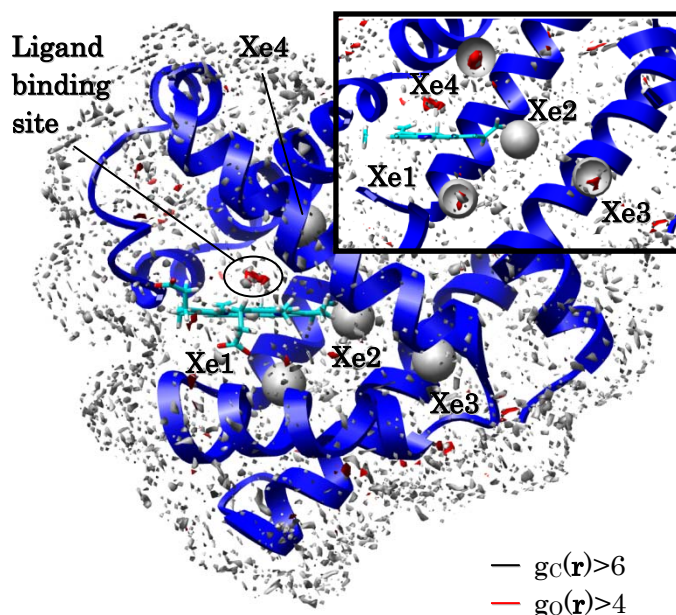


図2：ミオグロビン周辺における一酸化炭素の3次元分布関数。右上はXeサイトの断面図。

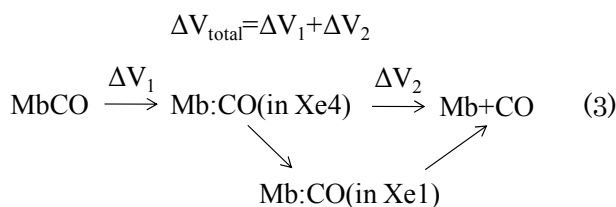


表1：各中間体における部分モル体積とその変化

spices	PMV [cm ³ /mol]	unit: [cm ³ /mol]	
MbCO	9029.0	calc.	exptl. ^{1,2)}
Mb:CO(Xe1)	9030.4	$\Delta V_1 = +3.8$	(+5.2)
Mb:CO(Xe4)	9032.8	$\Delta V_2 = -13.2$	(-14.7)
MB+CO	9019.6	$\Delta V_{\text{total}} = -9.4$	(-9.7)

Refs.

- 1) Y. Nishihara, M. Sakakura, Y. Kimura, and M. Terazima, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 11877-11888 (2004)
- 2) M. Sakakura, S. Yamaguchi, N. Hirota, and M. Terazima, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 4286-4294 (2001)
- 3) T. Imai, M. Kinoshita, F. Hirata, *Chem. Phys. Lett.* **395**, 1-6 (2004)