

一酸化炭素ミオグロビンの全電子計算

(九大院・シス生*, 東大・生研**) ○千葉 貢治*, 平野 敏行**, 佐藤 文俊**, 岡本 正宏*

【緒言】

ミオグロビンは、脊椎動物の筋肉中で酸素の貯蔵・輸送に携わるタンパク質である。また世界で初めて結晶構造解析が成功裏に行われたタンパク質でもある。構造・機能をはじめ、様々な面で詳細な研究がおこなわれている。一酸化炭素ミオグロビンはミオグロビンの配位子吸着状態の研究に盛んに用いられているが、その詳細な電子状態の解析はこれからの課題である。

また、計算対象としてのミオグロビンは分子サイズが大きく、また遷移金属を含むことから電子状態計算が困難な分子であり、その計算達成は挑戦的な課題といえる。我々は、一酸化炭素結合型ミオグロビンの密度汎関数法による全電子計算を実行している。本発表ではその経過を報告する。

【計算方法】

計算に用いた分子構造モデルは、馬心筋一酸化炭素ミオグロビンの Protein Data Bank のエン트리 1DWR[1] を初期構造とし、以下の手順で構築した。欠損 C 末端残基 (GLY153) を付加後、AMBER8[2] の Leap 機能で水素を付加した。Generalized Born モデルにより溶媒効果を考慮したうえで主鎖ならびにヘム部位に拘束 (力: 10,000 kcal/mol) をかけ、AMBER8 により構造緩和を行ったのち、解離残基に対してカウンターイオン (Na⁺, Cl⁻) を配置し電荷中性とした。原子間力の評価には ff03 力場を用いた。続いてタンパク質を囲むように、タンパク質内で最も遠距離となる原子座標の中点を中心とした半径 33.9 Å の球内に水を配置し、温度 298 K で NVT 一定条件下で 1 ナノ秒の分子動力学計算を実行した。MD 計算中、タンパク質とカウンターイオンは固定した。平衡に達した後の平均ポテンシャルエネルギーに最も近い構造をピックアップし、カウンターイオンの位置を緩和、続いて水全体の構造緩和を行った。配置したカウンターイオンと水分子は、密度汎関数計算では点電荷として取り扱った。水分子の点電荷は TIP3P の値 (O: -0.834, H: 0.417) を採用した。構築した分子構造モデルを図 1 に示す。

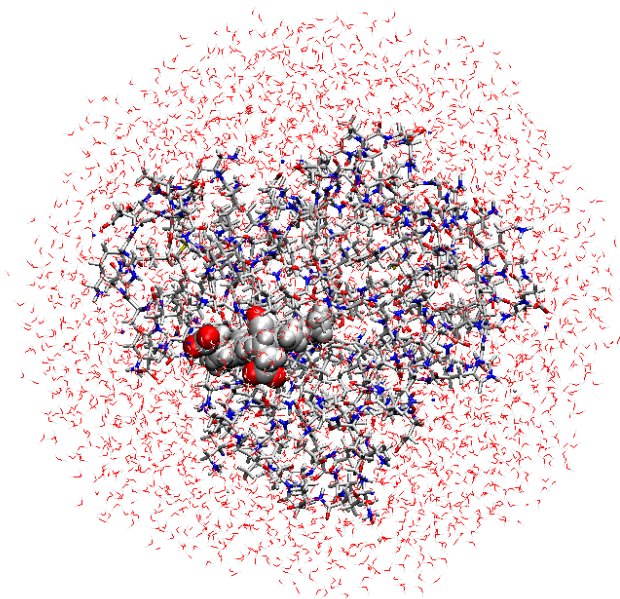


図 1: 一酸化炭素ミオグロビンの計算モデル。
タンパク質部位をスティックモデル、ヘム部位を空間充填モデルモデルで示す。

電子状態計算には RI 法によるガウス型基底密度汎関数計算プログラム ProteinDF/QCLO system[3-4] ver.1.2 を用いた。基底関数は全般にスプリットバレンス基底を採用し、Fe および配位子である CO にはスプリットバレンス+分極関数規模の基底を用いた。計算方法は RKS 法、交換相関汎

関数には svwn[5]を採用した。Fe の電子配置は 3d⁶低スピン状態を指定した。最終的な計算規模は原子数 2494, 電子数 9408, 基底関数の数 13750 である。

【結果】

図 2 に, 現在 QCLO 法による計算過程で得られているヘム部位, 一酸化炭素ならびにヘム鉄に配位した近位ヒスチジンを含む計 26 残基からなる計算モデルにおけるフェルミ準位近傍の軌道準位ならびに最高被占, 最低非占有コーン・シャム軌道を示す。-5 eV 付近の長い実線は最高被占準位を表す。最高被占軌道は主にヘム鉄の 3d 軌道からなる局在化した軌道である。最低非占有軌道は ASN140-ILE142 残基群のペプチド結合とその末端の原子軌道から構成されている。LDA 近似を用いた計算では, d 軌道のように局在した軌道の準位が HOMO/LUMO ギャップを狭める主要な要因とされている。本計算で得られたヘム鉄の 3d 空軌道からなる非占有軌道はより高い準位にあり, 分子の大半がペプチド鎖から形成されるミオグロビンでは空軌道準位の様相が異なることが分かった。

タンパク質全体の計算に関する詳細, 進捗については当日発表する。

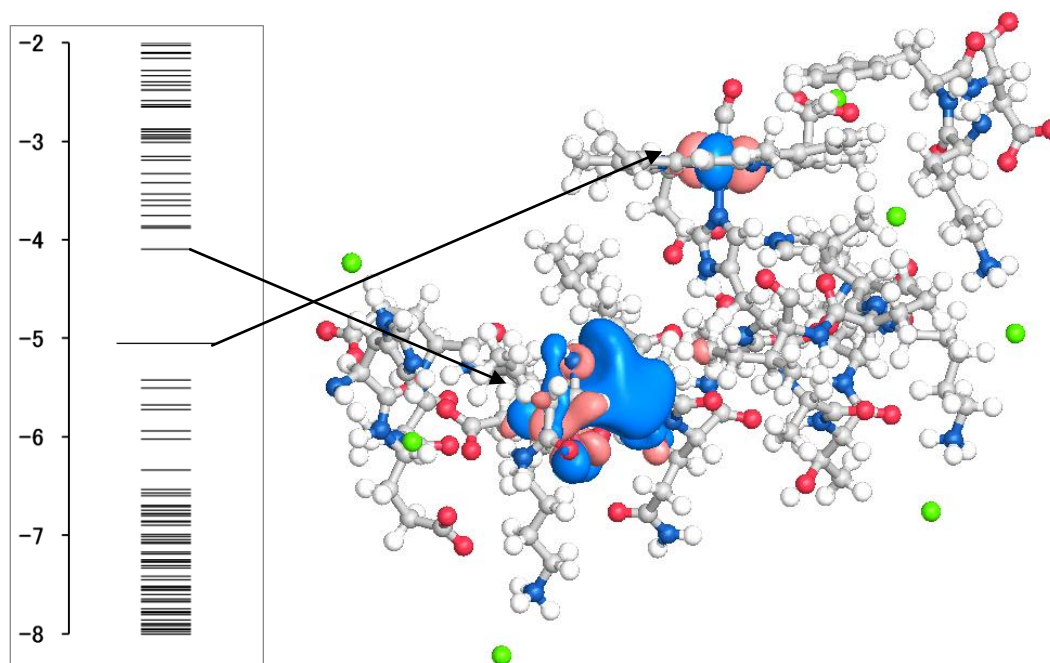


図 2 : ヘム + CO + 26 残基モデルにおける軌道準位と最高被占, 最低非占有コーン・シャム軌道。

【参考文献】

- [1] K. Chu, J. Vojtchovsky, B.H. McMahon, R.M. Sweet, J. Berendzen and I. Schlichting *Nature*, **403**, 921 (2000).
- [2] D.A. Case, T.A. Darden, T.E. Cheatham, III, C.L. Simmerling, J. Wang, R.E. Duke, R. Luo, K.M. Merz, B. Wang, D.A. Pearlman, M. Crowley, S. Brozell, V. Tsui, H. Gohlke, J. Mongan, V. Hornak, G. Cui, P. Beroza, C. Schafmeister, J.W. Caldwell, W.S. Ross and P.A. Kollman, AMBER 8, University of California, San Francisco (2004).
- [3] F.Sato, T.Yoshihiro, M.Era, H.Kashiwagi, *Chem. Phys. Lett.*, **341**, 645 (2001).
- [4] H. Kashiwagi, H. Iwai, K. Tokieda, M. Era, T. Sumita, T. Yoshihiro, F. Sato, *Mol. Phys.*, **101**, 81 (2003).
- [5] S. Vosko, L. Wilk and M. Nusair, *Can. J. Phys.* **58**, 1200 (1980).