

3D-RISM 理論を用いたミオグロビンの構造と機能相関に関する理論的研究

(1総研大, 2分子研) ○清田泰臣¹, 吉田紀生^{1,2}, 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。我々はこの系に対し、分子性液体の統計力学理論である 3D-RISM 理論を用いて、CO 脱離過程の再現、予測を行った¹⁾。その解析では、部分モル体積を指標として用いた。RISM 理論は熱力学極限を正しく取り扱うことができるため、部分モル体積を定量的に再現することが可能である²⁾。本研究では、この部分モル体積を詳細に解析することで、熱力学的側面から見たミオグロビンの構造的な特徴、及びリガンド脱着過程に対する構造の寄与を考察することを目的とした。

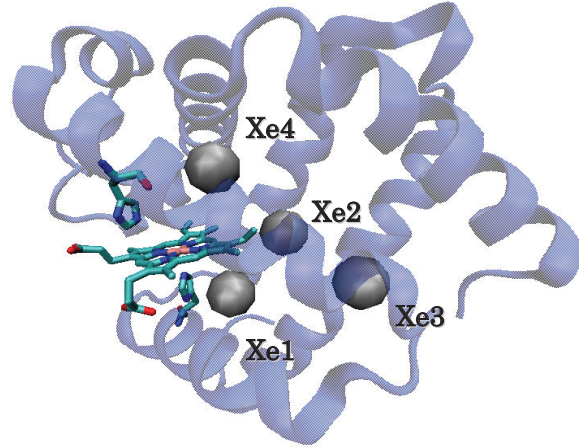


図1：ミオグロビンの立体構造と色素へム周辺の空孔の位置。空孔は X 線構造解析より Xe がトラップされていたため、Xe サイトと呼ばれる。

【理論・計算】

これまでの研究で、3D-RISM/ KH 方程式により(式(1),(2))、ミオグロビンに対する 3次元分布関数を求めている。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。本研究では、今井らによって提案されている部分モル体積の分割法を基に³⁾、ミオグロビンの部分モル体積を解析し、他の球状タンパク質との比較を行った。

$$h_a^s(\mathbf{r}) = \sum_{\substack{s' \in \text{Solvent} \\ \text{species}}} \sum_{\substack{c \in \text{Site} \\ \text{on } s'}} c_c^{s'} * [\varpi_{ca}^s + \rho^{s'} h_{ca}^{s's}] (\mathbf{r}) \quad (1)$$

$$g_a^s(\mathbf{r}) = \begin{cases} \exp(d_a^s(\mathbf{r})) & \text{for } d_a^s(\mathbf{r}) \leq 0 \\ 1 + d_a^s(\mathbf{r}) & \text{for } d_a^s(\mathbf{r}) > 0 \end{cases} \quad (2a)$$

$$d_a^s(\mathbf{r}) = -\beta u_a^s(\mathbf{r}) + h_a^s(\mathbf{r}) - c_a^s(\mathbf{r}) \quad (2b)$$

部分モル体積は、3D-RISM/ KH 方程式より得られた 3次元分布関数を用いて、Kirkwood-Buff の式によって計算した(式(3))。

$$\bar{V} = k_B T_{Zr}^0 \left(1 - \rho \sum_{\gamma} \int_{V_{\text{cell}}} c_{\gamma}(\mathbf{r}) d\tau \right) \quad (3)$$

【結果・考察】

今井らの提案した部分モル体積の解析法は、タンパク質の構造に由来する項 (van der Waals 項 (V_w)、排除体積項 (V_v)) と、電縮や熱揺らぎに由来する項 (熱揺らぎ (V_T)、相互作用項 (V_I)) に分割する手法である。これに基づいてミオグロビンの解析を行った結果を表 1 に示す。

表 1 : ミオグロビンを含む様々な球状タンパク質の部分モル体積の解析.

Proteins	Mol. Wt.	V	V_w	V_v	V_T	V_I	ASA
RNase A	13694	9991	7284	2044	833	-170	6887
Lysozyme	14313	10454	7647	2161	805	-159	6710
Myoglobin	17845	12757	9094	2800	1793	-930	8086
β -lactoglobulin A	18354	14179	10160	3250	1099	-330	8375
α -chymotrypsinogen A	25661	19466	14033	4439	1329	-335	10664

ミオグロビンでは相互作用体積 (溶媒との相互作用により電縮される体積) が、同程度の大きさの球状タンパク質である β -ラクトグロブリンに比べ、大きく減少していることが示された。この現象を考察するため、Kirkwood-Buff の式から相互作用体積に寄与する領域を検証した。相互作用体積は、その定義から顕に展開すると式(4)のようになる。

$$V_I = \bar{V} - V_0$$

$$= -k_B T_{zT}^0 \left(\sum_{\gamma} \int_{V_{cell}} \rho_{\gamma} c_{\gamma}^{\bar{V}}(\mathbf{r}) d\tau - \sum_{\gamma} \int_{V_{cell}} \rho_{\gamma} c_{\gamma}^{V_0}(\mathbf{r}) d\tau \right) \quad (4)$$

ここで、 V_0 は電荷を持たない系の部分モル体積である。 $c_{\gamma}(\mathbf{r})$ は直接相関関数と呼ばれ、3D-RISM/KH 方程式により分布関数と同時に求められる量である。この物理量について、溶媒である水について和をとり、3次元で表示すると図 2 のようになる。図 2 では、相互作用体積の増減に寄与する領域が示されている (赤が減少、青が増加)。 β -ラクトグロブリンのような通常の球状タンパク質では、タンパク質表面に相互作用体積の減少に寄与する赤い領域が集中しているのに対し、ミオグロビンではタンパク質内部にもそのような領域が存在することが分かる。ミオグロビンは 89% が α -ヘリックスで構成されており、その構造ゆえに内部にも水が多く存在し、熱揺らぎに影響していることが考えられる。ポスターでは、熱力学的な実測値との比較も含めて詳細を報告する。

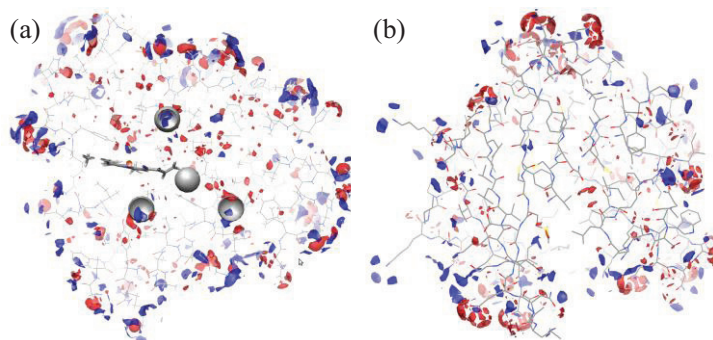


図 2 : 相互作用体積の 3次元表示. (a)ミオグロビンでは内部にも分布が存在するのに対し、(b) β -ラクトグロブリンでは表面のみに分布が存在する.

Refs.

- 1) Y. Kiyota, R. Hiraoka, N. Yoshida, Y. Maruyama, T. Imai, and F. Hirata, J. Am. Chem. Soc., **131**, 3852-3853 (2009)
- 2) T. Imai, M. Kinoshita, F. Hirata, Chem. Phys. Lett. **395**, 1-6 (2004)
- 3) T. Imai, F. Hirata, J. Chem. Phys. B, **109**, 6658-6665 (2005)