

1P136

トリ卵白リゾチームの水和水ダイナミクスの分子動力学シミュレーション
(金沢大院・自然) ○神戸 康行, 新屋 隆士, 宮東 達也, 井田 朋智, 水野 元博

【序】

近年、タンパク質結晶は構造解析のために用いられるだけでなく、新規機能性材料としての利用が提案されている。特に鶏卵白から抽出したトリ卵白リゾチームは、安全性に優れた天然素材として扱われ、細菌の細胞壁を分解する防御機能・免疫機能の特性を医薬品だけではなく食品添加物にまで利用され、様々な分野において有用なタンパク質材料として注目されている。

タンパク質結晶の立体構造形成や機能発現には、含有する水和水の挙動が深く関係しており、タンパク質の物性研究において水和水の局所的な構造やダイナミクスの研究は重要である。これまで、リゾチーム結晶の内部構造については X 線構造解析や分子動力学(MD)法を用いた研究が多く報告されているが、水和水の局所構造を詳細に調べた研究例はほとんどない。

当研究室では、リゾチーム結晶中の水和水を重水置換した試料を用いて、固体重水素 NMR により水和水のダイナミクスについていくつかの知見を得た。リゾチーム結晶内の水和水には等方回転、180° フリップ、揺動運動および水分子の 2 回軸の揺れという運動モードが観測され、かつその運動モードの分布などが NMR スペクトル解析により得られた。しかし、それらの運動モード、その速さ、分布の情報は得られたが、水和水とリゾチーム結晶の内部構造との直接的な相関関係は明らかにできていない。

そこで本研究の目的は、含水トリ卵白リゾチームに対し MD 計算を行い、局所的な水分子のダイナミクスを明らかにし、リゾチーム結晶の機能発現メカニズムを解明する。

【計算方法】

GROMACS ver.4 を用いて MD 計算を行った。リゾチームの構造は Protein Data Bank のものを用いた。4.960 nm×5.725 nm×6.635 nm のボックスに入っているリゾチームのまわりに水分子 5202 個をランダムに配置したもの(密度 1054.7 g/L)を初期配置とし、各原子の初速度は Maxwell 分布で与えた。Force Field は GROMOS96 53a6 ForceField を用いた。温度は Berendsen 法により 250、300、350 K に制御し、運動方程式の数値積分には leap-frog 法を用いた。MD シミュレーションの時間刻みは 2.0 fs とし、100 ns(5×10⁷ step)まで計算した。計算結果より、タンパク質表面付近の比較的フリーな水およびタンパク質内部に存在する水の二種類の水分子に対して、平均二乗変位(MSD)、結合角度分布、揺動運動の分布、2 回軸の揺れの分布を求めた。ここで揺動運動とは水分子の一つの O-H を z 軸に固定し、その軸周りの回転運動であり、2 回軸の揺れとは水分子の結合角を二等分するベクトルの自己相関分布に対応する。

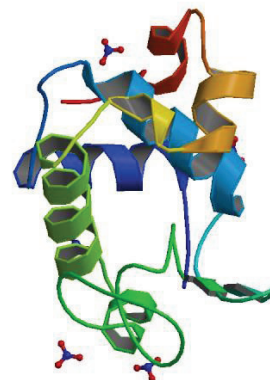


図 1.リゾチームの構造
(Protein Data Bank より)

【結果と考察】

水分子の MSD の時間依存性を図 2 に示す。フリーな水分子の MSD 時間依存性から拡散係数を見積もると $10^{-5} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$ オーダーであった。これは純粋な水の拡散係数のオーダーと同程度であることから、単純な拡散運動をしているとわかる。一方、タンパク質中の水分子の MSD 時間依存性から、この水分子には拡散運動はなく、タンパク質内に束縛されていること確認された。

水分子の結合角度分布を図 3 に示す。フリーな水分子のピーク位置は 104.8° であり、タンパク質内の水分子は 107.2° であった。タンパク質中の水分子の方が平均結合角度が大きくなっており、水分子の分極率が下がっていると考えられる。また、分布の線形が似ていることから類似の変角運動を示していると考えられる。

水分子の揺動運動の分布を図 4 に示す。揺動運動に関してフリーな水分子とタンパク質中の水分子は類似した挙動を示しているが、この二種類の水分子において $\cos\theta \geq 0.9$ での存在比を比較すると、フリーな水分子対しタンパク質中では 1.6倍多く存在していることが分かった。これはタンパク質中の水分子はフリーな水分子に比べ、タンパク質内部での束縛が強く揺動運動の振幅が小さくなると考えられる。

水分子の 2 回軸の揺れの分布を図 5 に示す。フリーな水分子では 2 回軸の揺れの振幅が幅広く分布していることから、等方回転運動をしていると考えられる。一方、タンパク質内の水分子は、 $\theta = 0^\circ$ 付近に鋭いピークが見られ、2 回軸の揺れの振幅が小さいことを示している。そのため、この水分子の配向はある程度決まっており、その配向方向周りで 2 回軸が振動していることが分かった。

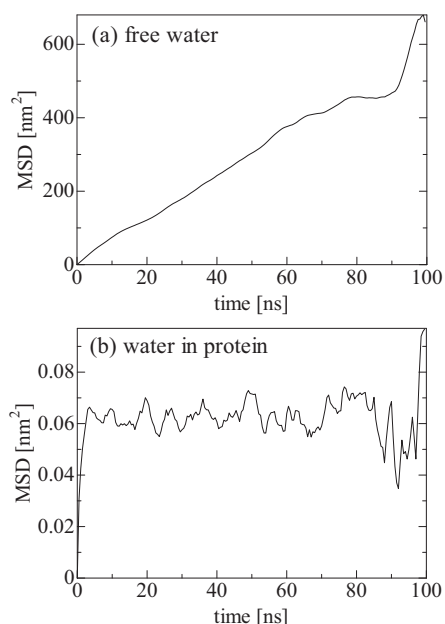


図 2. 水分子の MSD の時間依存性

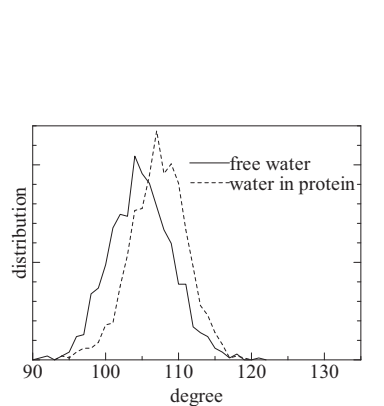


図 3. 水分子の結合角度分布

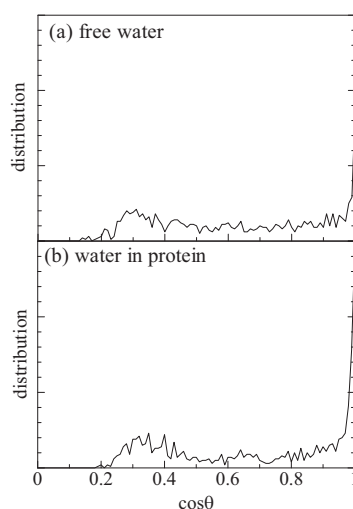


図 4. 水分子の揺動運動

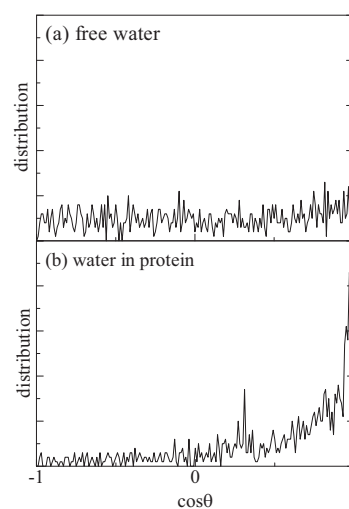


図 5. 水分子の 2 回軸の揺れ