

(青山学院化学生命¹, 名大院情報科学², JST-CREST³) ○優 乙石¹, 長岡 正隆^{2,3}

【背景・目的】

タンパク質の部分モル体積 (PMV) は、溶液全体に及ぼすタンパク質の体積的寄与であり、立体構造の圧力依存性を決定する重要な熱力学量である。一般的に、タンパク質の立体構造変性は溶媒露出表面積の増加を伴うために水和量が増加する。さらに、天然構造の内部に生じる空洞が消失することも考慮して、タンパク質の変性構造は、天然構造よりも遥かに小さな PMV を持つと考えられていた。しかし、近年の精密な測定によって、PMV の変化は、予想よりも遥かに小さく、タンパク質の種類や変性させる条件によっては、変性構造の PMV のほうが大きい場合もある事が明らかになった。この謎はタンパク質体積パラドックス (Protein Volume Paradox, PVP) と呼ばれている[1]。PVP の分子的な描像を得ることを目的に、分子動力学 (MD) シミュレーション法と、表面カークウッド - バフ (Kirkwood-Buff) 積分法[2-4] を用い、タンパク質の PMV の空間分布を解析した[5]。

【MD シミュレーション】

全ての MD シミュレーションは AMBER9 プログラムを用いて行った。系内の分子力場関数は AMBER Parm99 を使用した。モデルタンパク質としてキモトリプシンインヒビター2 (CI2) を用い、TIP3P 水溶媒モデル中の MD 計算を以下の手順で行った。①温度 300K、圧力 1atm において系を十分平衡化した後、②温度 300K のカノニカル MD シミュレーションを 2 ns 実行した。③系を 800K に加熱し、1 ns のカノニカル MD シミュレーションによって CI2 の変性構造を得た。④系の温度を 300K に戻し、カノニカル MD シミュレーションを 2 ns 実行した。②の後半 1 ns と④の後半 1 ns のシミュレーション結果をそれぞれ天然構造と変性構造の解析に用いた。

【解析方法】

Kirkwood-Buff パラメータ G_{ks} は、溶質 α の任意の原子サイト k 周囲における溶媒原子 s の数密度揺らぎ ($g_{ks}(\mathbf{r}) - 1$) を、全空間で積分したものである。

$$G_{ks} = \int [g_{ks}(\mathbf{r}) - 1] d\mathbf{r}. \quad (1)$$

このとき、PMV は、等温圧縮率 χ_T^0 と、 G_{ks} を用いて、式(2)で計算できる。

$$V_{\alpha s}^P = k_B T \chi_T^0 - G_{ks}. \quad (2)$$

$k_B T \chi_T^0$ の寄与は小さいので、タンパク質のような巨大分子を扱う場合は一般的に無視される。

G_{ks} の空間分布は、 k の位置に依存するためタンパク質のような複雑な形状の解析には適さない。この問題を回避するため、 s の密度揺らぎを、溶質表面からの距離 (最近接溶質原子の中心からの距離) R の関数として積分したものが表面 Kirkwood-Buff パラメータ $G_{\alpha s}^S(R)$ である[2-3]。 $G_{\alpha s}^S(R)$ の時間平均を MD 法で求めれば、 α の PMV の R 依存性 $V_{\alpha s}^P(R)$ を次式で計算できる。

$$V_{\alpha s}^P(R) = \langle V_{\alpha s}^P(R, t) \rangle_T = \langle -G_{\alpha s}^S(R, t) \rangle_T. \quad (3)$$

また、PMV の時間依存性は、 R を無限遠 (計算上は 10 Å) にとることで、次式で計算できる。

$$V_{\alpha s}^P(t) = V_{\alpha s}^P(\infty, t) = -G_{\alpha s}^S(\infty, t). \quad (4)$$

本研究では、溶質変数 α については、CI2 の天然構造の場合 : N、変性構造の場合 : D を用い、溶媒変数 s については水分子を表す w を用いる。

【結果と考察】

1. PMV の時間分解

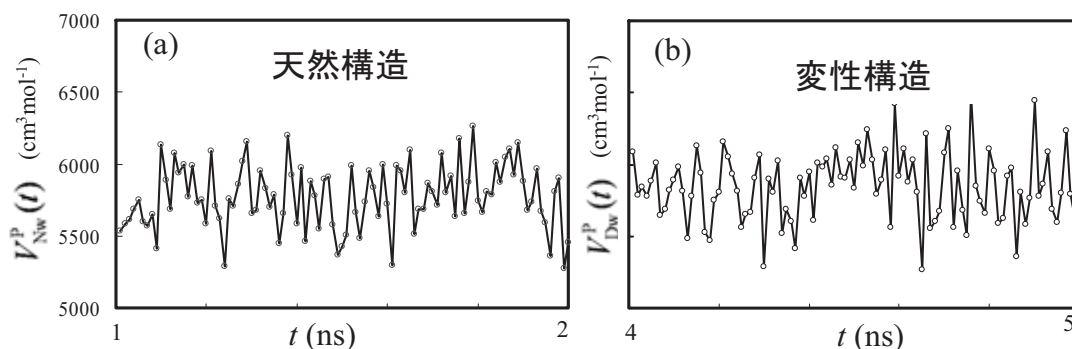


図1 (a)天然構造と(b)変性構造における PMV の時間変化

天然構造と変性構造における PMV の時間変化を図1に示した。変性構造の PMV は、天然構造と比較して、やや大きな揺らぎを示した。PMV の平均値は、天然構造： $5771(\text{cm}^3\text{mol}^{-1})$ 、変性構造： $5845(\text{cm}^3\text{mol}^{-1})$ となり、CI2 をモデルタンパク質とした MD シミュレーションにおいても PVP が発現した[5]。

2. PMV の空間分解

部分モル体積の差分 $\delta V_{as}^P(R)$ ($V_{as}^P(R)$ の 0.05 \AA 毎の変化量) の空間分布 (図2) を比較した結果、変性構造は水分子に対する排除体積の増加 ($r=2.0 \text{ \AA}$ 付近) を、水和量の増加による体積減少 ($r=2.7 \text{ \AA}$ 付近) で相殺していることが示された。また、 $r=4.5 \text{ \AA}$ 付近において、水分子の密度揺らぎによる変性構造の体積増加領域が新たに発見された。これらの結果は、PVP に分子レベルの直接的な描像を与えた[5]。

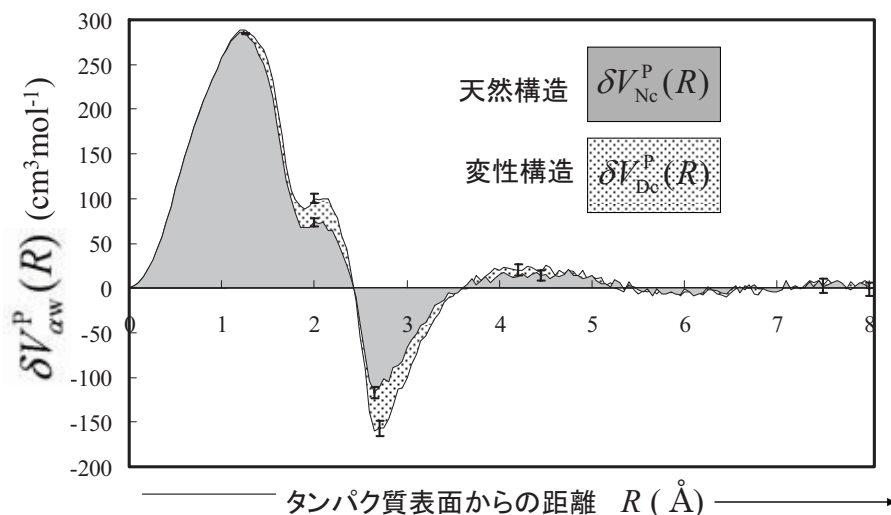


図2 PMV の差分。灰色：天然構造 $\delta V_{Nc}^P(R)$ 、メッシュ：変性構造 $\delta V_{Dc}^P(R)$

【参考文献】

- [1] Chalikian, T. V.; Breslauer, K. J. *Biopolymers* **1996**, 39, 619-626.
- [2] Yu, I; Jindo, Y.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 10231-10238.
- [3] Yu, I; Nagaoka, M. *Proceedings of International Symposium on Frontiers of Computational Science* **2008**, 9-14.
- [4] M. Nagaoka, I. Yu, M. Takayanagi, in D.M. Leitner and J.E. Straub, Eds., "Proteins: Energy, Heat and Signal Flow" (CRC Press, **2009**).
- [5] Yu, I; Takayanagi, M.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2009**, 113, 3543-3547.