

(名大院情報科学) ○高柳 昌芳, 大槻 進, 長岡 正隆

**【序】** ミオグロビン (Mb) は 153 残基のアミノ酸と補欠分子であるヘムから構成されるヘムタンパク質であり、O<sub>2</sub>, CO, NO 等の小分子がヘム鉄に第六配位子として結合する。リガンドが結合したヘムは可視光吸収によってリガンド解離を起こすが、このうち CO 結合型 Mb (MbCO) が実験研究の対象として頻繁に使用されている。これは O<sub>2</sub>,あるいは NO 結合型 Mb のリガンド光解離過程の量子収率が 0.3~0.5 程度であるのに対して、CO 結合型では量子収率がほぼ 1 になるため、純粋なリガンド解離状態のデータを測定可能であることに由来する。ゆえに MbCO 光解離過程に関しては歴史的に多種多様な実験データが蓄積されており、理論的研究により得られた結果を様々な面から検証することが可能であることから、この過程を生体高分子における非平衡緩和過程のモデル系として理論的解析を行った。

MbCO リガンド光解離の直後に生じる変化を非平衡過程として捉えると、大きく 2 つの現象を伴っていると考えられることができる。まず 1 つ目の変化は第 6 配位子である CO 分子の解離によってヘムの構造が 6 配位平面型から 5 配位ドーム型へと変化することをきっかけにして生じる Mb 全体の構造変形である。この構造変形は Mb とよく似たサブユニット 4 つから構成されるヘモグロビン (Hb) におけるアロステリック効果発現機構のモデル系とみなすことが可能であり、タンパク質における機能発現と構造変形の関連を調査する上でも重要な現象である。2 つ目の変化はヘムに吸収された光エネルギーの一部が振動 (熱) エネルギーとしてヘムから周囲へと伝播する余剰振動エネルギー緩和過程である。これはタンパク質と水溶媒の両者を含む不均一な環境中におけるエネルギー緩和過程のモデル系として数多くの実験・理論研究がなされている。

我々が以前に行った研究[1]では、熱揺らぎを相殺し高分解能解析を可能とする摂動アンサンブル法 (Perturbation Ensemble (PE) method) [2]を適用することで、実験的に確認されている Mb 全体に生じる非等方的膨張を統計的に優位な精度で明らかにできた。そこで本討論会では、摂動アンサンブル法の適用により、各残基単位の局所的な構造変形と、余剰振動エネルギー緩和経路について統計的に有意な精度で解析を行った。

**【シミュレーション手法】** AMBER9 pmemd プログラムを用いて MD シミュレーションを実行した。マッコウクジラ Mb の中性子散乱構造 (PDB ID: 2MB5) 周囲に水溶媒を配置することで初期構造を生成した。平衡化後に 20 本のサンプリング MD 計算 500 ps を 5 ps 毎に座標・速度を出力しつつ実行し、計 2000 個の平衡初期構造を生成した。そして各々の平衡初期構造

に対し、摂動としてリガンド光解離を行う摂動 MD (perturbed MD, PMD) 計算 20 ps と、摂動を与えずに行う非摂動 MD (unperturbed MD, UMD) 計算 20 ps の組を実行し、2000 組の摂動・非摂動 MD 計算を実行した。リガンド光解離は、ヘムの力場を 6 配位平面型から 5 配位ドーム型へと変更し、ヘムに余剰エネルギーを振動エネルギーとして与えることで再現した。

**【結果と考察】** タンパク質には非常に多数のエネルギー局所構造が存在しており、MD 計算を行う際にどのような初期構造をとっているのかを把握することは重要である。実験構造を元に生成した 2000 個の平衡初期構造アンサンブルを調査したところ、遠位ヒスチジン (His64) には、実験的・理論的にも存在が確認されている 3 種類の配向が存在した (図 1)。

得られた 2000 組の摂動・非摂動 MD トrajекトリーそれぞれで残基温度を

$$T_r(t) = \frac{2}{3N_r k_B} \sum_{i \in \text{residue } r} \frac{1}{2} m_i v_i^2(t)$$

と定義し、PE 法の式[1,2]

$$\langle \delta \Delta T_r(t) \rangle_N = \langle \Delta T_r(t) \rangle_N^P - \langle \Delta T_r(t) \rangle_N^U$$

により算出した。その結果、励起後 0.6 ps までの時間領域では非常に高い精度で残基温度を得ることができ、振動エネルギー緩和の初期経路が明らかになった (図 2)。例えば、CO リガンドとの衝突によって Leu29, Phe43, His64, Val68 が、またヘムのドーム型への変形により His93 の温度が素早く上昇した。

当日は摂動によって生じる各残基の温度変化、構造変位の特徴を His64 の初期配位との関連を含めて解説する。また、ミオグロビン近傍の水溶媒へのエネルギー伝達の解析結果についても報告する。

**【参考文献】** [1] M. Takayanagi, H. Okumura, M. Nagaoka, *J. Phys. Chem. B*, **111**, 864 (2007).  
[2] M. Nagaoka, I. Yu, M. Takayanagi, in D.M. Leitner and J.E. Straub, Eds., "Proteins: Energy, Heat and Signal Flow" (CRC Press, 2009).

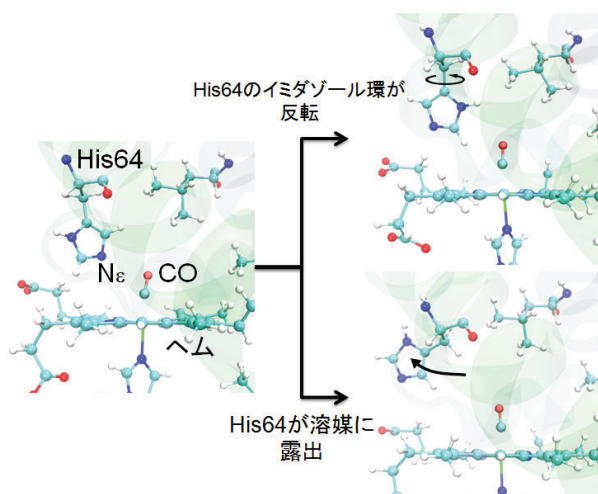


図 1. 遠位ヒスチジン (His64) の 3 つの配向。

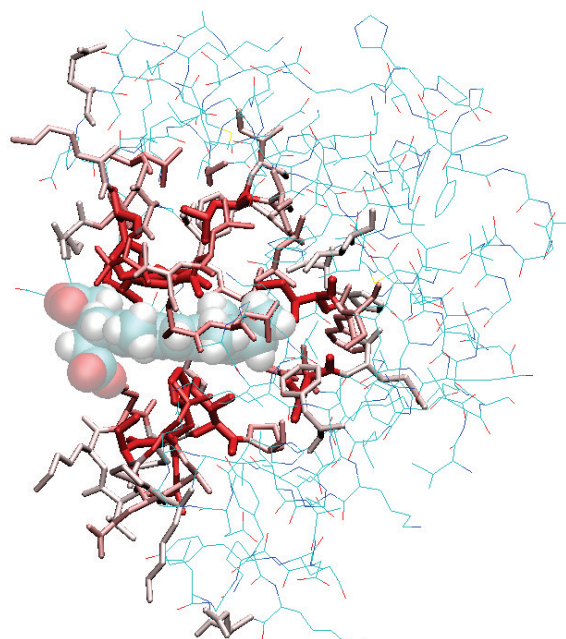


図 2. リガンド光解離後 0.6 ps でのヘム近傍残基の温度上昇。