

(京大院工*、阪大蛋白研**、京大福セ***) ○平野健司*、横川大輔**、佐藤啓文*、榊茂好*,***

[緒言] たんぱく質の周辺や、その内部に存在する水分子の確率分布を立体的に表す 3次元溶媒和構造は、たんぱく質の機能に重大な役割を果たす水分子を研究する上で、きわめて有用な情報である。しかし理論的に 3次元溶媒和構造を求める方法は限られており、一般にたんぱく質の研究においてよく使われる分子動力学法 (MD 法) では、長大な計算時間を必要とする。一方、液体の積分方程式理論の一つである 3D-RISM 法は、比較的短時間でたんぱく質の 3次元溶媒和構造を求めることに成功し、その有効性を確立した。しかし、この方法は 3次元高速フーリエ変換 (3D-FFT) を必要とし、特に並列化計算が難しいために効率の上で問題となっていた。我々は近年、3D-FFT を必要とせずに、高効率で並列化可能な積分方程式理論を開発した (MC-MOZ 法)。この方法で求めた 3次元溶媒和構造は、3D-RISM 法で得た 3次元溶媒和構造とよく一致した¹。こうした中、次の課題は 3次元溶媒和構造からどのように分子レベルの情報を抽出するかである。特にたんぱく質残基に配位している水分子数や、その配位の強さ、すなわち水素結合の強さを定量化することは、議論を深める上で重要な試みである。今回、我々は 3次元溶媒和構造を分子レベルで定量化し、解析する新たな手法の開発を試みた。この方法では、強く局在化している分布に注目し、その分布に対応する水分子が、調和振動的に揺らいでいると考える。このような分布は 3次元のガウス型関数にフィッティングすることができ、揺らぎの方向を 3つの軸に合わせることで、3軸方向への水分子の揺らぎの大きさを特徴付けることができる。また、残基に配位しているような場合、この 3軸のうちの一つは水素結合の方向と一致しており、この方向の揺らぎの大きさは水素結合の強さに対応すると考えられる。我々はこの方法を、Bacteriorhodopsin の内部に捕りこまれた水分子へ応用することを試みた。Bacteriorhodopsin は光駆動型プロトンポンプの一つで、内部水が残基と水素結合ネットワークを作ることで、プロトンリレーを実現する。この重要な役割を果たす内部水に関する研究が FT-IR 法²、QM-MM 法など実験的、理論的に多数行われており、これらの結果と比較することで我々の方法の有効性を確かめた。

[方法] MC-MOZ 法により、Bacteriorhodopsin の酸素についての 3次元溶媒和構造 G_o を得た。次いでプロトンリレーに関わる Schiff Base 付近の水分子数 N_w を以下の式により求めた。

$$N_w = \rho_w \iiint G_o(x, y, z) dx dy dz \quad (1)$$

V は積分領域を表し、Schiff Base 付近の G_o を含むよう決めた。 ρ_w は水の数密度である。次に調和振動していると考えられる水分子の分布をガウス型関数にフィッティングするために、以下の式で定義される χ の二乗を最小化した。

$$\chi = G_o(x, y, z) - \sum_i^N B_i \exp \left[-\frac{1}{2} \left\{ \left(\frac{x-x_0}{\sigma_{xi}} \right)^2 + \left(\frac{y-y_0}{\sigma_{yi}} \right)^2 + \left(\frac{z-z_0}{\sigma_{zi}} \right)^2 \right\} \right] \quad (2)$$

N はフィッティングに必要なガウス型関数であり、 N_w の結果を用いて決める。 B_i 、 σ_i はガウス型関数のパラメータで、これらをフィッティングによって求める。さらに、揺らぎの方向と 3軸の

方向が合うよう座標変換した。このガウス型関数が調和振動子系のボルツマン分布に相当するので、たとえば X 方向に対して、

$$E_{Xi} = \frac{1}{2} k_{Xi} X^2 = \frac{k_B T}{2\sigma_{Xi}^2} X^2 \quad (4)$$

が成り立つ。ここで k_{Xi} は力の定数に相当する値、 σ_{Xi} は変換した座標系 (X, Y, Z) におけるガウス型関数の偏差を表す。この式から力の定数に相当する値が得られる。さらにこの力の定数に相当する振動の波数を求めた。

[結果と考察] Figure 1 に MC-MOZ 法で得られた Bacteriorhodopsin 内部の Schiff Base 付近の水の分布を示した。網掛けが計算で得られた Go で、白丸の領域は X 線結晶構造解析で得られた水の位置を示す。式 (1) を用いて、白い線で囲まれた領域 A、B の分布に相当する水分子数を求めたところ、それぞれ 0.83、2.38 になった。この結果は実験で得られた水の分子数とよく一致しており、本方法から Schiff Base 付近の水の位置、および水の分子数を再現できることが実証された。この結果を用いて、この範囲の Go を 3 つのガウス型関数にフィッティングさせた。Figure 2 に得られた 3 次元ガウス型関数を楕円球で示した (W1、W2、W3)。白い点線は比較的高いと考えられる水素結合を表している。これらの水素結合の振動波数と、比較のため同方法で求められた水中の水分子同士の水素結合 (HBW) の振動波数の結果を Table 1 に載せた。これらの値を比較すると、HB1、HB2 の振動波数は HBW よりも高い値を示し、内部水が比較的高い水素結合を形成していることを示唆している。一方、FT-IR² の結果によると、HB1 の水素結合は、水中で正四面体型の水素結合ネットワークを作っている水同士の水素結合よりも強いことが報告されており、本研究の結果はこの実験の結果と一致している。

[参考文献]

- (1) D. Yokogawa, H. Sato, T. Imai, S. Sakaki, *J. Chem. Phys.* **130** (2009) 064111.
 (2) M. Shibata, T. Tanimoto, H. Kandori, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 13312.

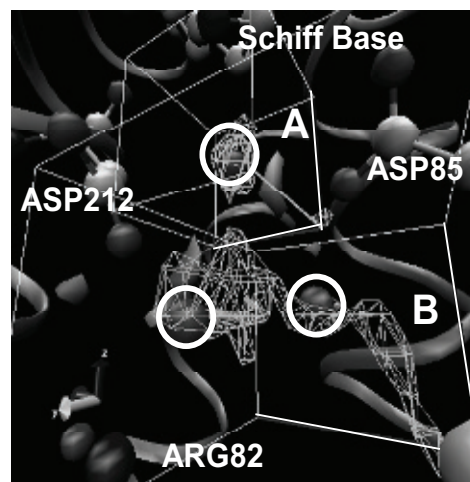


Figure 1: 計算で得られた Schiff Base 付近の水の酸素分布 (網目) と、実験で得られた水の位置 (白丸)

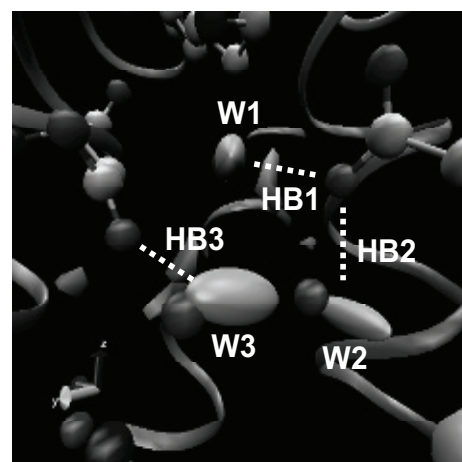


Figure 2: 本方法で得られた Schiff Base 付近の水分子のガウス型モデル (楕円球 W1,W2,W3)

Table 1 各水素結合の振動波数

水素結合	振動波数 (cm ⁻¹)
HB1	84
HB2	69
HB3	37
HBW	39