

アポミオグロビン部分モル体積のダイナミクスおよび
空間分布に及ぼす高静水圧の影響：
時間分解カークウッド-バッフ積分法による考察

(青山学院化学生命¹, 名大院情報科学², JST-CREST³)

○優 乙石¹, 中田 恭子¹, 長岡 正隆^{2,3}

【概要】

部分モル体積 (Partial Molar Volume: PMV) は、蛋白質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。加圧により PMV は減少するが、微視的描像は不明な点が多い。我々は、アポミオグロビンに 3000 気圧の静水圧を負荷した分子動力学 (MD) シミュレーションを実行し、加圧による水和状態の変化を調査した。時間分解カークウッド-バッフ (Kirkwood-Buff) 積分法を用い、計算で得られた水分子の瞬間的な配置から PMV の動的挙動を再構成した。PMV の減少量および等温圧縮率は実験値と良い一致を示した。さらに、体積減少の内在的要因について、PMV の空間分布を比較することで調査し、高圧下で PMV が減少および増加する領域分布を明らかにした。

【MD シミュレーション】

全ての MD シミュレーションは AMBER10 プログラムを用いて行った。系内の分子力場関数は AMBER ff03 を使用した。モデル蛋白質としてアポミオグロビン (AMb) を用い、TIP4P 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 1 bar において系を十分平衡化した後、②温度 300K、圧力 1 bar の NPT シミュレーションを 5 ns 実行した。③②で行われたシミュレーション中の 3, 4, 5 ns 後における、原子配置と速度分布を初期条件として、系を 3000 bar に加圧した NPT シミュレーションを、それぞれ 5ns 実行した。②の全 MD トrajジェクトリと、③で行われた 3つのシミュレーションの、後半 2 ns における MD トrajジェクトリを、それぞれ常圧状態と高圧状態の解析に用いた。

【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。

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

$k_B T \chi_T^0$ の寄与は小さいので、蛋白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蛋白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[1-3]。 $G_{\alpha s}^S(R)$ の時間平均を MD 法で求めれば、 α の PMV の R 依存性 $V_{\alpha s}(R)$ を次式で計算できる。

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

また、PMV の時間依存性は、 R を無限遠 (計算上は 12 Å) にとることで、次式で計算できる[2]。

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

本研究では、溶質変数 α については、AMb の常圧構造の場合 : L、変性構造の場合 : H 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 減少のダイナミクス

常圧(1 bar)下と高圧(3000 bar)下における PMV の動的挙動 ($V_{Lw}(t), V_{Hw}(t)$)を図 1 (a)に示した。図 1(b)は、 $V_{Lw}(t)$ トラジェクトリに、3つの、 $V_{Hw}(t)$ トラジェクトリの平均値を重ねて表示したものである。

AMb の PMV は、加圧によって素早く減少し、その後、常圧下よりもやや小さく揺らぎながら、ほぼ一定値を示した。PMV の平均値は、常圧下: 21778(\AA^3)、高圧下: 21479(\AA^3)となり、PMV の平均値およびその圧縮率は、高圧 NMR による実験結果[4]と良い対応を示した。

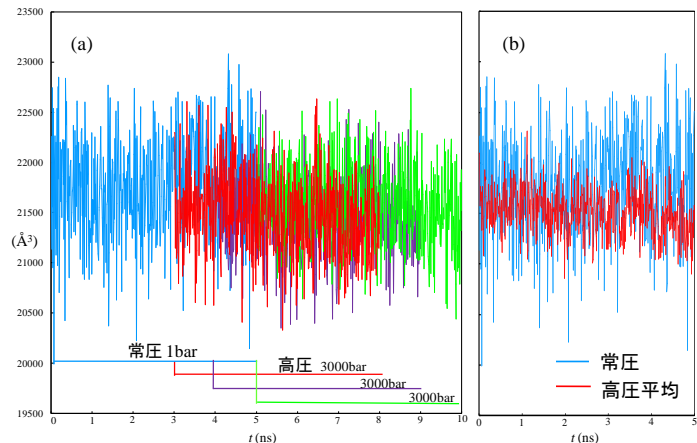


図 1 (a) PMV の時間変化。常圧 (1 bar) (青)および高圧 (3000 bar) (赤, 紫, 緑)。(b) 3つの高圧シミュレーションにおける PMV 時間変化の平均値 (赤)と、常圧における PMV 時間変化(青)。

2. PMV 減少の空間分布

加圧による PMV 減少が、AMb 周囲の、どのような空間領域で生じているかを明らかにするために、PMV 変化量 $\delta V_{as}(R)$ ($V_{as}(R)$ の 0.05 \AA 毎の変化量) の差

$$\Delta V_w^{H-L}(r) = \delta V_{Hw}(r) - \delta V_{Lw}(r). \quad (3)$$

を、蛋白質表面からの距離の関数として比較した(図 2)。蛋白質近傍($r=1\sim 3 \text{\AA}$)で、PMV の大きな減少が見られた。これは、加圧によって、表面近傍の空隙に水分子が侵入したことに起因すると考えられる。一方で、第一水和層の外側($r=3\sim 4.5 \text{\AA}$)では、加圧によって、むしろ PMV が増加している領域が見られた。これは、高圧下において、水和層の第一ミニマム (水分子数密度プロファイルの極小) が、より深くなることに起因している。 $r > 5 \text{\AA}$ では、PMV の増減は徐々に減衰する。このように、高静水圧による PMV の総量変化には、蛋白質近傍のみならず、より遠位の水和状態も重要な寄与を及ぼしていることが示された[5]。

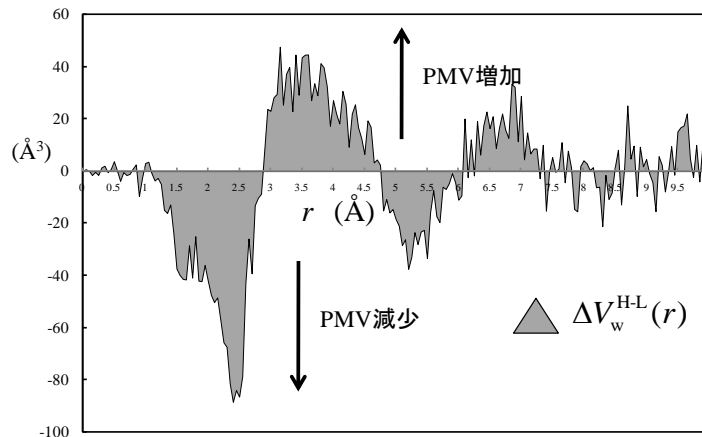


図 2. 加圧による PMV 増減 ($\Delta V_w^{H-L}(r)$)のプロファイル。

【参考文献】

- [1] Yu, I; Jindo, Y.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2007**, 111, 10231-10238.
- [2] Yu, I; Takayanagi, M.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2009**, 113, 3543-3547.
- [3] M. Nagaoka, I. Yu, M. Takayanagi, in D.M. Leitner and J.E. Straub, Eds., "Proteins: Energy, Heat and Signal Flow" (CRC Press, **2009**).
- [4] Kitahara, R.; Yamada, H.; Akasaka K.; and Wright, P. E. *J. Mol. Biol.* **2002**, 320, 311-319.
- [5] Yu, I; Tasaki, T.; Nakada, K.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* (in revision)