

2P083

分子動力学シミュレーションによるトリ卵白リゾチームの水和水ダイナミクス

(金沢大院・自然) ○神戸 康行, 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に対して、 ^2H NMR による測定を行い、水分子の 2 回軸まわりの振動運動や等方回転運動といった異なる運動モードの存在を確認した。最近では、タンパク質と水和水の位置と運動性の関係を探るため、タンパク質のプロトンと水和水の重水素の間の磁化移動を利用した測定(VACP 法)を行い、タンパク質内部において、2 回軸まわりの振動運動をするものと強く束縛されているものの二種類の水分子の存在を確認した。しかし、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を実験的に解明するのは困難である。

MD シミュレーションは生体分子と溶媒分子の運動をフェムト秒時間分解能で追跡可能とする手段であり、様々な生体分子のダイナミクスの研究で用いられている。また、MD 法の利点として、個々の水分子の運動に注目することで、タンパク質内部の動的な局所構造に関する知見が得られる。そこで本研究では、含水トリ卵白リゾチームに対し MD 計算を行い、水分子の局所的なダイナミクスの解明を目的とする。

【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 200 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 1.0 fs とし、500 ns (5×10^8 step)まで計算した。計算結

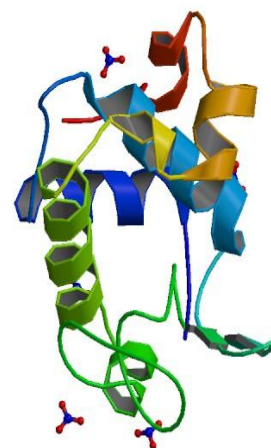


図 1.リゾチームの構造
(Protein Data Bank より)

果より、水分子の 2 回軸まわりの振動運動の角度相関分布、2 回軸の揺動運動の角度相関分布を求めた。

水分子の解析は、タンパク質内部にある水分子(water 1、water 2)と、タンパク質から離れた位置にある比較的 free な水分子について行った。

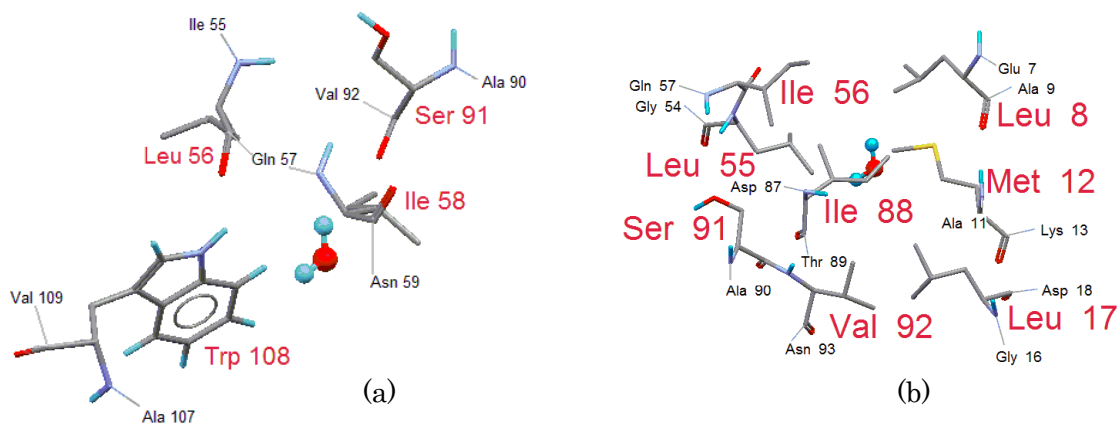


図 2. タンパク質内の水分子 (a) water 1、(b) water 2

【結果と考察】

時間刻み 400 ps における水分子の 2 回軸まわりの振動運動の角度相関分布、2 回軸の揺動運動の角度相関分布をそれぞれ図 3、図 4 に示した。water 1 は、 10° 付近に鋭いピークがあり、2 回軸まわりに振幅の小さい振動をしていることが分かった。water 2 と free な水分子は、分布が全角度領域に広がっていることから、相関時間が共に 10^{-9} s 以下の 2 回軸まわりの速い回転運動をしていることが分かった。

図 4 の water 1 は、 10° 付近に鋭いピークが見られ、振幅の小さい振動運動であることが分かった。water 2 と free な水分子に関して、共に広い分布が見られたが、water 2 は、free な水分子に比べピークが先鋭化していることから弱い束縛状態にあると考えられる。

以上より、water 1 は隣接する残基との相関が強く、強く束縛されている。一方、water 2 はリゾチーム内に取り込まれているにもかかわらず free な水分子に似た振動運動を示すことから、隣接する残基との相互作用が弱いと考えられる。

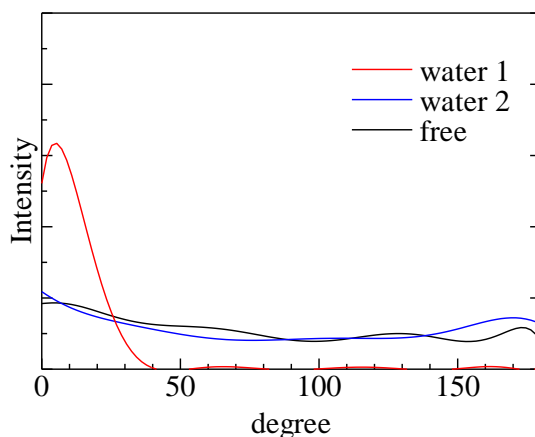


図 3. 2 回軸まわりの振動運動の角度相関分布

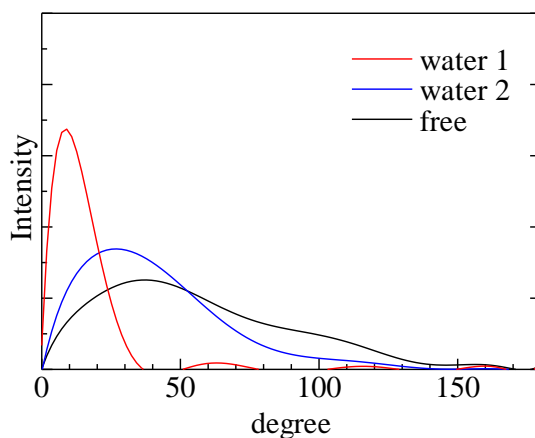


図 4. 2 回軸の揺動運動の角度相関分布