

3P083

摂動アンサンブル MD 法による一酸化炭素リガンド解離
ミオグロビンに生じる clamshell rotation の高分解能解析

(名大院情報科学¹, JST-CREST²) ○高柳 昌芳^{1,2}, 長岡 正隆^{1,2}

【序】 アミノ酸 153 残基と補欠分子ヘムから構成されるヘムタンパク質であるミオグロビン (Mb) は、O₂, CO, NO 等の小分子がヘム鉄に第六配位子として結合する。ヘムは E ヘリックスと F ヘリックスに挟まれるように Mb に取り込まれており、F ヘリックス上の近位ヒスチジン (His93) と共有結合を有している。第 6 配位子として一酸化炭素を結合した Mb (MbCO) は可視光吸収によって CO リガンド光解離を起こし、リガンド解離とヘムの構造が 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、Mb 全体に渡る微小な構造変形が引き起こされる。このリガンド解離により生じる変形を特徴付けるものとして、E, F ヘリックス両者が EF コーナーを支点として回転するように起こる変形「clamshell rotation」がある (図 1)。

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した。そこで、摂動アンサンブル法の適用により、E、F ヘリックスに生じる局所的な構造変形である clamshell rotation と、それに付随して生じる構造変形に対し、高い空間分解能、時間分解能で解析を行った。

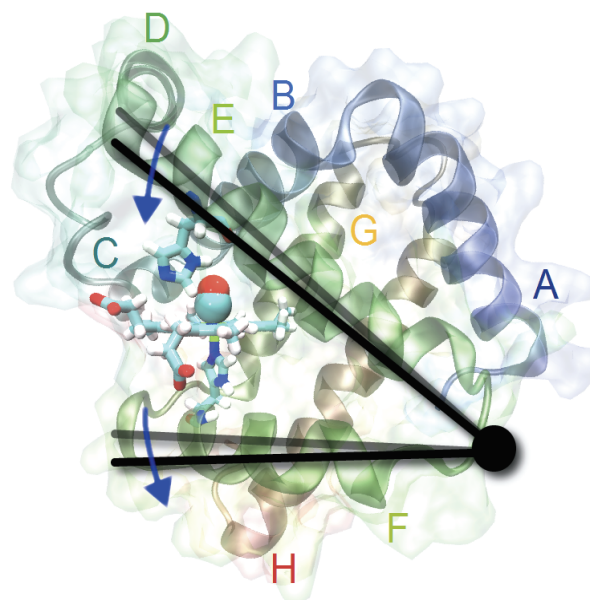


図 1. リガンド解離後に生じる clamshell rotation の模式図。EF コーナー部を支点として、E および F ヘリックス両者が近位側方向 (図中の反時計回り方向) に回転するように変形する。

【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】 結晶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、実験的・理論的にも存在が確認されている 3 種類の配向 (in/N₈配座, in/N₆配座, out 配座) が存在した。結晶構造である in/N₈配座から、1232 本の初期構造では in/N₈配座に、残りの 768 本は out 配座に変化しており、このうち安定構造である 1232 本の in/N₈配座の摂動 MD トラジェクトリの解析を行った。

得られた 1232 組の in/N₈配座の摂動 MD・非摂動 MD トラジェクトリそれぞれで各残基の重心座標の平均を

$$\langle \mathbf{R}_r(t) \rangle_N^P = \frac{\sum_{i \in r} m_i \langle \mathbf{r}_i(t) \rangle_N^P}{\sum_{i \in r} m_i}, \quad \langle \mathbf{R}_r(t) \rangle_N^U = \frac{\sum_{i \in r} m_i \langle \mathbf{r}_i(t) \rangle_N^U}{\sum_{i \in r} m_i}$$

により算出し、各残基の平均重心移動距離を

$$|\langle \delta \mathbf{R}_r(t) \rangle_N| = \left| \langle \mathbf{R}_r(t) \rangle_N^P - \langle \mathbf{R}_r(t) \rangle_N^U \right|$$

により算出した。上式により算出した励起後 20 ps における重心移動距離を図 2 に示す。E ヘリックスから F ヘリックスに渡る V 字型のプロットは EF コーナーを支点とする clamshell rotation が起きていることを示している。

E ヘリックス、F ヘリックスに生じる変形は、時間分解 UV ラマン測定[3]により Tyr、Trp 残基近傍環境の変化として測定されており、本研究で得られた結果と一致している。当日は摂動によって生じる構造変形の時間変化および構造変形の伝達経路の詳細を報告する[4]。

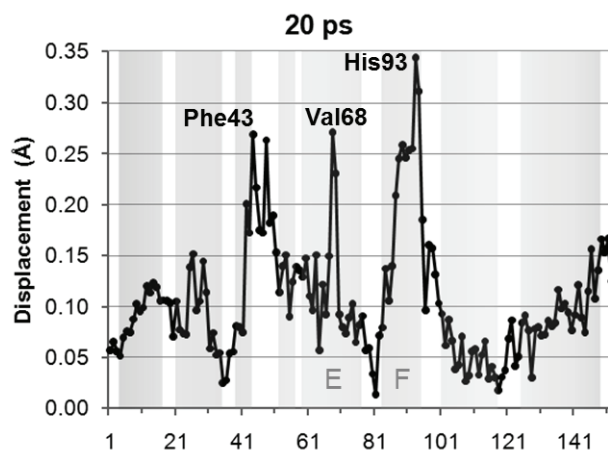


図 2. リガンド解離 20 ps 後に生じる残基毎の重心移動距離。clamshell rotation に相当する変形が E ヘリックスから F ヘリックスに渡る V 字型プロットとして出現している。

【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).

[3] A. Sato, Y. Gao, T. Kitagawa, Y. Mizutani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 10630 (2007).

[4] M. Takayanagi, C. Iwahashi, M. Nagaoka, *J. Phys. Chem. B*, in revision.