

高静水圧が及ぼすアポミオグロビンの遠位水和体積変化： 分子動力学法と連携するカークウッド - バ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^{1,3}, 中田 恭子¹, 長岡 正隆^{2,3}

【概要】

水和体積は、溶質の部分モル体積(partial molar volume: PMV)のうち、溶質が水分子を凝集、または排除することによる体積的寄与である。高静水圧条件下では、タンパク質の空洞に水分子が侵入することで水和体積が減少する事が推定されるが、より遠位の水和層における加圧の影響は不明な点が多い。我々は、アポミオグロビン(AMb)に 3000 bar 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、加圧による水和体積の変化を調査した。時間分解カークウッド - バフ(KB)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水和体積総量とその揺らぎを再構成した。さらに、水和体積の空間分布から、高圧下にもかかわらず、むしろ水和体積が増加する領域を明らかにした。

【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。モデルタンパク質としてアポミオグロビンを用い、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 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、5 ns 実行した。

【解析方法】

KB 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} はタンパク質のように立体構造が柔軟に変化する溶質周囲の溶媒分布を比較する目的には適さない。この問題を回避するため、時刻 t における 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 KB パラメータ $G_{\alpha s}^S(R, t)$ である[1-3]。 $G_{\alpha s}^S(R, t)$ を MD 法で求めれば、PMV の R , t 依存性は次式で計算できる。

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

また、タンパク質表面から任意の 2 距離に挟まれた水和層の PMV、つまり水和体積 $V_{\alpha s}^h(R_1, R_2)$ は、次式で計算できる。

$$V_{\alpha s}^h(R_1, R_2) = \langle -G_{\alpha s}^S(R_2, t) + G_{\alpha s}^S(R_1, t) \rangle_T. \quad (4)$$

本研究では、溶質変数 α については、AMb の常圧構造を明示する場合は L、高圧下の構造を明示する場合は 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。なお、距離単位はすべて Å である。

【結果と考察】

1. 水和体積のダイナミクス

式(3)において $R=12$ とした場合の PMV を、AMb の (トータルの) PMV とした。その結果、加圧による PMV 減少は 299 \AA^3 となり、その圧縮率は実験値を良く再現していた[4]。

図 1 は、式(4)によって計算した水和層全体の水和体積 $V_{\alpha w}^h$ (2,8) (以降 $V_{\alpha w}^{ht}$) と第一水和層の水和体積 $V_{\alpha w}^h$ (2,3) (以降 $V_{\alpha w}^{hf}$) の時間変化である。 $V_{\alpha w}^{ht}$ の揺らぎは加圧によって減少し、水和層が強固になっていることを示したが、時間平均値に大きな差は見られなかった。一方で、 $V_{\alpha w}^{hf}$ は、高圧下で大きく減少しており、水分子がタンパク質内部により深く浸透していることを示していた。これらの事実は、高圧によって減少した第一水和層の水和体積が、より遠位における水和体積の増加によって相殺されていることを示唆している。

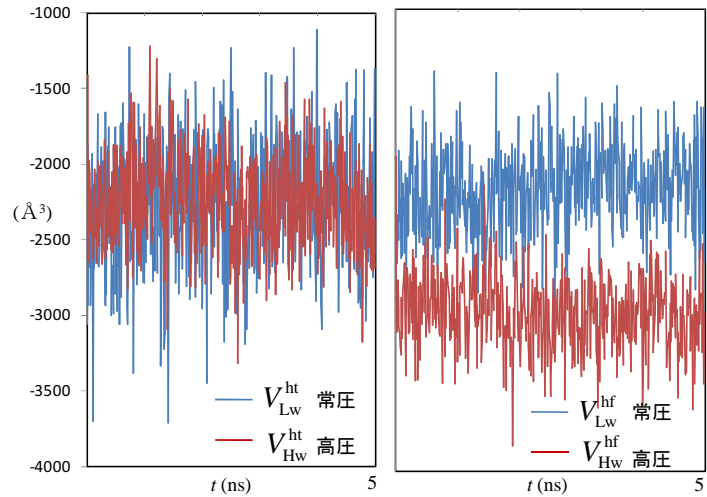


図 1 水和体積の時間変化。(青)：常圧 (1 bar) および(赤)：高圧 (3000 bar)。(a)：水和層全体の PMV, $V_{\alpha w}^{ht}$ 。(b)：第一水和層の PMV, $V_{\alpha w}^{hf}$ 。

2. 水和体積の空間分布

加圧による水和体積の増減が、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、AMb 周囲の水原子数密度分布を 3 次元的に解析した。前節で示唆した通り、高圧下で水和体積が減少する溶質近傍に加えて、加圧によって逆に水和体積が増加する領域が第一水和層の外側に点在する事も明らかになった (図 2)。高静水圧による PMV の総量変化には、タンパク質近傍のみならず、より遠位の水和状態変化も重要な寄与を及ぼしていることが示された[4]。

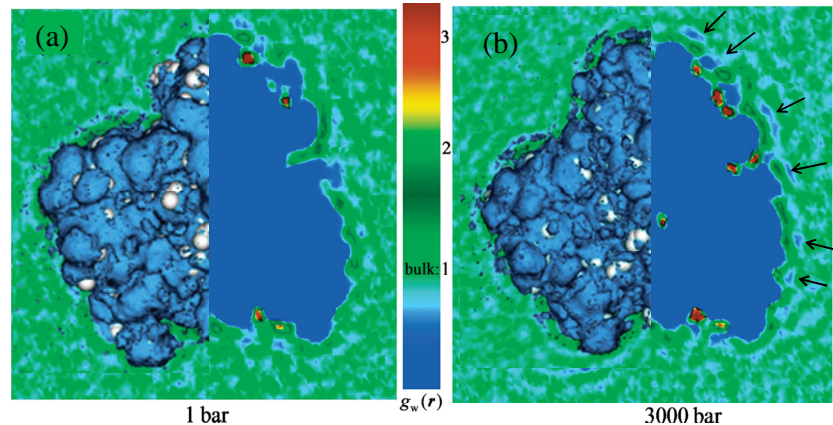


図 2 AMb 周囲の水原子数密度分布 (バルク層における数密度を 1 として規格化した)。(a)：常圧、(b)：高圧。左側：数密度がバルク相の 70%以下である領域の立体分布。右側：数密度分布の断面図。赤い部分は水分子が侵入することによって水和体積が減少している領域。青い部分は水分子が排除されることで、水和体積が増加する領域。第一水和層の外側に点在する水和体積増加領域 (図中矢印) は、加圧によってさらに先鋭化していた。

【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] Yu, I; Tasaki, T.; Nakada, K.; Nagaoka, M. *J. Phys. Chem. B* **2010**, 114, 12392-12397.