

## 4E07 タンパク質機能の理解に向けた計算化学的アプローチ

(名古屋大学大学院情報科学研究科) 長岡正隆

**【序】** 今日、生体関連高分子の三次元構造の情報が得られるや否や、その量子化学計算や分子動力学(MD)シミュレーションが、直ちに実行されて、原子レベルでの研究報告がなされるようになってきている。こうした状況は近年のコンピュータテクノロジーに負う所が大きいのは勿論であるが、それでも尚 *in vivo* の生命現象をそのまま“非経験的に”理解することは困難である。そうした中で今日実現可能な計算化学的アプローチで、生命現象のメカニズムの一端を窺い知るにはどのような対象や現象に対峙すればよいのであろうか？ 本講演では、( ) CO結合型ミオグロビン(MbCO)水溶液のCO光解離後の余剰振動エネルギーの緩和過程の解析、( ) apo-Mbの共翻訳的フォールディングのダイナミクスの解析、及び、( )キモトリプシンインヒビタ2(CI2)水溶液における補償溶質エクトイン(EC)の添加効果という、三つの研究例を通して、計算化学的アプローチによりタンパク質の機能を理解しようとする取り組みを議論する。特に、( )では、緩和初期過程におけるヘム側鎖の役割を、( )では、発生期のMb部分鎖の三次構造の安定性を、( )では、ECがCI2周りの水の拡散を低下させるという物理化学的な事実を示すことから、タンパク質機能との関連を考察する。

**【方法】** MbCO水溶液におけるCO光解離後の余剰振動エネルギーの緩和過程のMDシミュレーションにはCerius<sup>2</sup>OFF(力場:Henryらの値[1]、Dreiding、特にCO解離直後のヘム-CO間相互作用はCASSCF計算[2]にフィットして調製)を用い、apo-Mbの部分鎖ダイナミクスとCI2水溶液におけるEC添加効果のMDシミュレーションにはAMBER7(力場:parm99)を用いた。

**【結果と考察】** ( ) MbCO水溶液のCO光解離後の振動エネルギー緩和過程 MbCO水溶液においてMbCOのヘム-CO結合の光解離後に生じるヘムの振動エネルギーは実験的には2つの時定数で緩和することが知られている[3]。これらの緩和時間が原子レベルでのどのようなダイナミクスに対応しているのかはアロステリック効果という酵素機能の理解に直結した問題である。現在、速いエネルギー流が、グロビン部を經由して溶媒水に向かうという見解[4]と、ヘム側鎖の二つのイソプロピオン酸残基から直接溶媒水に向かうという見解[5, 6]との二つがあるが、我々はMDシミュレーションを利用したピコ秒スケールで時間分解した基準振動解析から、光解離直後の非常に早い段階ではイソプロピオン酸残基から直接溶媒水にエネルギー緩和する可能性を指摘した[5]。

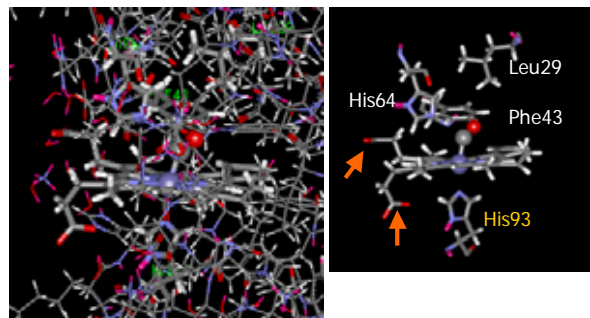


図1 Mbのヘム周辺部分(左)と二つのイソプロピオン酸残基(右)(オレンジ色矢印)

光解離直後の非常に早い段階ではイソプロピオン酸残基から直接溶媒水にエネルギー緩和する可能性を指摘した[5]。

( ) apo-Mbの共翻訳的フォールディングダイナミクスの解析 名付けられたポリペプチドをタンパク質と呼ぶならば、その特有の機能は対応する特徴的三次構造にその起源がある。この事実が、アミノ酸残基の一次配列から、その三次構造を予測しようとするフォールディング研究の重要な意義である。しかし、リボソームで翻訳途上にあるMb類似タンパク質であるグロビン部分鎖が共翻訳的にフォールディングを行い、完全長Mbでヘムに結合するHis93

がリボソーム外へ伸長する以前から、ヘムと結合することが実験で確認されている[7]。我々は、こうした実験結果を念頭に、N末端から各々36, 77, 92, 119 残基長のMb部分鎖の水溶液に対して 10nsのMDシミュレーションを実行し、36 残基長のMb部分鎖は不安定であるものの、77 残基以上のMb部分鎖は一部のヘリックスを除いて安定であることを示した。この事実は発生期MbはHis93 合成以前に共翻訳的にフォールドし得ることを示唆する[8]。

\_\_ ) CI2 水溶液における補償溶質エクトインの果たす役割 エクトインECは、好塩性細菌が外部浸透圧に対抗(補償)するために細胞内に産生する溶質、即ち補償溶質として機能する代表的な環状アミノ酸として知られ、タン

パク質には直接作用せずに、タンパク質周辺の水の性質を改変することで、熱や塩からタンパク質の立体構造を保持し本来の機能を維持させると考えられている[9,10]。そこで、我々は EC添加CI2 溶液(表

シミュレーションタイプ	(構成分子数比)	$D_{\text{wat}}$ ( $10^{-5}$ cm <sup>2</sup> /s)
MD1	( CI2 1: W 4002: EC 119 )	9.62
MD2	( CI2 1: W 5783 )	11.93
MD3	( W 982: EC 64 )	6.96
MD4	( W 1009: EC 1 )	12.79
MD5	( W 4002: EC(電荷なし) 64 )	9.73

1 中MD1)と CI2 水溶液そのもの(表 1 中MD2)、とを含めた五種類の参照タイプのMDシミュレーションを実行した。CI2 周囲の水の性質やEC分布を解析した結果、ECを添加したMD1の場合に水の拡散係数が低下することを見出し、この水拡散の低下がCI2 の立体構造維持即ち安定化に大きく影響を与えていることを示した[11-13]。

当日は以上の結果を可能な限り紹介する。尚、本研究は、岡崎功博士(現弘前大)、原雄介氏(現㈱ライオン)、末信克浩博士(現㈱住友化学工業)、優乙石博士(PD)、高柳昌芳君(D1)、神藤洋一君(M2)らの協力の下に推進された。また、本研究の一部は科学技術振興機構の計算科学技術活用型特定研究開発推進事業『凝集反応系の非平衡非定常ダイナミクスの研究』及び『配列から機能への蛋白質ダイナミカルモデリング』に基づいて遂行された。

#### 【参考文献】

- [1] E. R. Henry, W. A. Eaton and R. M. Hochstrasser, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83** 8982 (1986).
- [2] K. Chiba, F. Sato and H. Kashiwagi, *private communication*.
- [3] (a) Y. Mizutani and T. Kitagawa, *Science*, **278**, 443 (1997); (b) Y. Mizutani and T. Kitagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **75**, 623 (2002).
- [4] (a) M. Terazima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **74**, 595 (2003); (b) R. Miyata and M. Terazima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 1707 (2003).
- [5] I. Okazaki, Y. Hara and M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.*, **337**, 151 (2001).
- [6] L. Bu and J. E. Straub, *J. Phys. Chem. B*, **107**, 10634 (2003).
- [7] A. A. Komar, A. Kommer, I. A. Krashennikov and A. S. Spirin, *J. Bio. Chem.*, **272**, 10646 (1997).
- [8] M. Takayanagi and M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.*, *submitted for publication*.
- [9] P. H. Yancey, M. E. Clark, S. C. Hand, R. D. Bowlus and G. N. Somero, *Science*, **217** 1214 (1982).
- [10] S. Knapp, R. Ladenstein and E. A. Galinski, *Extremophiles*, **3**, 191 (1999).
- [11] K. Suenobu, M. Nagaoka, T. Yamabe and S. Nagata, *J. Phys. Chem. A*, **102** 7505 (1998).
- [12] I. Yu and M. Nagaoka, *Chem. Phys. Lett.*, **388**, 316 (2004).
- [13] (a) I. Yu and M. Nagaoka, *in preparation*; (b) 優・長岡、2004 分子構造総合討論会、2C10.