

(名大院・情報科学) ○高柳 昌芳 奥村 博人 岩橋 知令 長岡 正隆

【序】 CO 結合型ミオグロビン (Mb) は光励起に伴うヘムの電子励起状態への遷移により CO の解離が生じ、それに伴い余剰エネルギー緩和と構造変化が起こる。この構造変化の初期過程は過渡格子 (TG) 法により測定されており、ヘム平面に垂直な方向へと大きく膨張する非等方的膨張が 500 fs 以内に生じることが示されている[1]。また、近年の実験手法の発達により時間分解 X 線解析が可能となり、100 ピコ秒から数マイクロ秒の時間スケールでの高分解能の時間分解構造解析が Mb 結晶において成されている[2]。この構造変形はヘモグロビンサブユニットにおいても同様に生じ、アロステリック効果発現のトリガーになっていると考えられており、タンパク質の構造ダイナミクスと機能の関連を調査する上で非常に重要なものである。そこで本研究ではこの構造変化を計算科学的手法により調査するために分子動力学 (MD) シミュレーションを実行し解析を行う。なお、この構造変化は 0.1 Å あるいはそれ以下の微小なスケールで進行する現象であり、単独の MD 計算では熱ゆらぎ等の存在のために十分な精度の解析が不可能である。そこで今回我々は高分解能解析を可能とするアンサンブル摂動法 (Ensemble perturbation (EP) method) を提案し、この微小な構造変化を解析することでその有効性を示す。

【計算方法】 MD シミュレーションは AMBER7 プログラムを用いた。Mb 結晶構造 (PDB ID: 2MB5) 周囲に 2986 個の TIP3P 水分子を配置し、平衡化を行った後、常温常圧の NPT 一定条件の MD 計算を 600 ps 行い、1 ps 毎に各原子の座標・速度を出力し 600 個の初期構造を生成した。次に各初期構造からリガンド光解離を行う perturbed MD (PMD) と行わない unperturbed MD (UMD) を NVE 条件下でそれぞれ 600 本ずつ実行する。ここで光解離は、ヘムの力場を基底状態である CO が結合している 6 配位状態から、CO が解離する電子励起状態を再現するような 5 配位状態へと変更し、同時に余剰エネルギーをヘムの各原子に運動エネルギーとして分配することで再現した。

EP 法では摂動 (ここではリガンド光解離) によって生じる物理量変化を以下の手順により算出する。 i 番目の PMD および UMD から得られた物理量の組 ($A^{\text{PMD},i}$, $A^{\text{UMD},i}$) について、その差 $\delta A^i = A^{\text{PMD},i} - A^{\text{UMD},i}$ をとり、さらにアンサンブル平均を

$$\langle \delta A \rangle = \frac{1}{N_{\text{MD}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{MD}}} \delta A^i = \frac{1}{N_{\text{MD}}} \sum_{i=1}^{N_{\text{MD}}} (A^{\text{PMD},i} - A^{\text{UMD},i}) \quad (1)$$

とする。ここで N_{MD} は PMD、UMD のトラジェクトリ数を、 $\langle \rangle$ はアンサンブル平均を表す。

【結果】 Mb 全体の構造変形の指標として回転半径 (R_g) とその x, y, z 成分 (R_{gx} , R_{gy} , R_{gz})

$$R_g(t) = \sqrt{\frac{\sum_i m_i |\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_c(t)|^2}{\sum_i m_i}}, \quad R_{ga}(t) = \sqrt{\frac{\sum_i m_i (a_i(t) - a_c(t))^2}{\sum_i m_i}} \quad (a = x, y, z) \quad (2)$$

を用いる。ここで $\mathbf{r}_i = (x_i, y_i, z_i)$ 、 $\mathbf{r}_c = (x_c, y_c, z_c)$ はそれぞれ原子*i*の座標、ミオグロビンの重心座標を表し、 m_i は原子*i*の質量を表す。なおSagnellaらを用いた座標系[3]、すなわち図1に示したようにヘム平面に平行な平面内にx, y軸を、垂直な方向にz軸を取ったものを用いる。

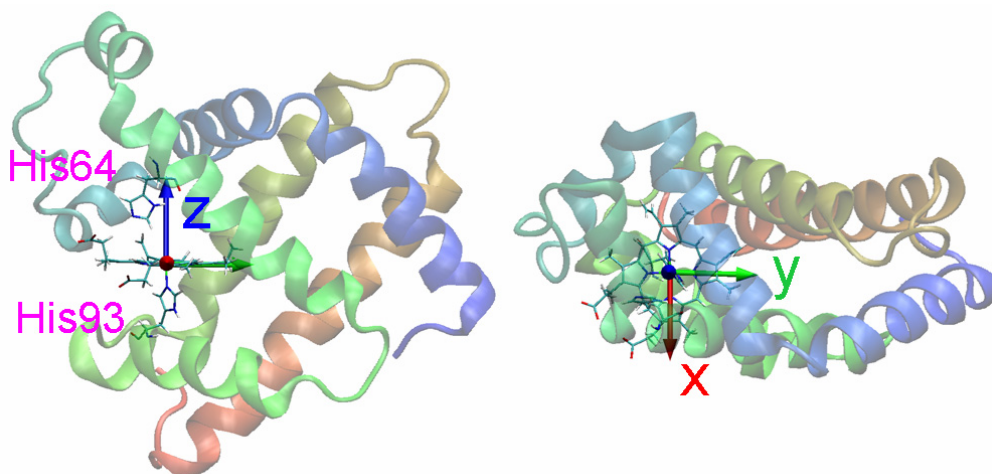


図1. R_g の計算に使用する座標系。

EP法により計算した $\langle \delta R_g(t) - \delta R_g(0) \rangle$ およびそのx, y, z成分を図2に示す。ここで得られた数値の誤差は0.01 Å程度であり、十分な精度が得られている。 R_g は励起直後1 ps以内に0.03 Åの膨張を見せ、その後は0.02 Åまで減少してほぼ一定となる。各成分について比較すると、ヘム平面に垂直なz成分が大きな膨張を見せている一方で、x, y成分は励起直後の小さな膨張の後はやや収縮を見せており、GoodnoらのTG測定[1]で得られている500 fs以内に進行する非等方的構造変形を良く再現している。

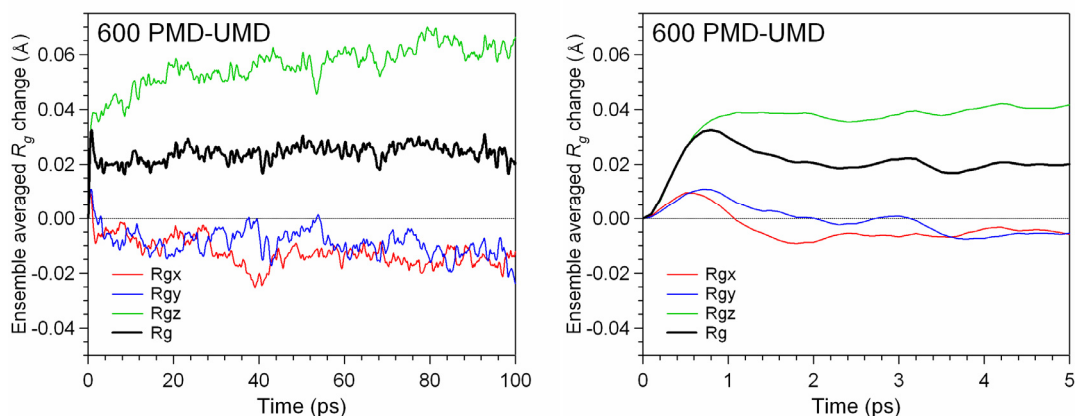


図2. 600本のPMD、UMDからEP法により算出した R_g およびその各成分の時間変化。
(a) 0-100 ps (b) 0-5 ps

【参考文献】

- [1] G. D. Goodno, V. Astinov, R. J. D. Miller, *J. Phys. Chem. A* 103 (1999) 10630-10643
- [2] F. Schotte, J. Soman, J. S. Olson, M. Wulff, P. A. Anfinrud, *J. Struct. Biol.* 147 (2004) 235-246
- [3] D. E. Sagnella, J. E. Straub *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 7057-7063