

## ミオグロビンのリガンド解離経路の分子動力学法による探索

(京大院・理) ○西原 泰孝、林 重彦、加藤 重樹

蛋白質の構造ダイナミクスと機能という観点で広く研究されているのが、酸素の脱着を生理機能としているミオグロビン(Mb)である。Mb 内のヘムに結合しているリガンドの解離反応では、光による一酸化炭素(CO)の解離反応をモデルとして、さまざまな実験による解離や会合速度の測定により、エネルギー障壁の存在等が明らかにされてきた。また、X 線結晶構造解析による研究では、解離後の CO は、Mb 内部の複数の Xe サイト内で観測されている(図 1)。しかし、さまざまな実験が行われているにもかかわらず、CO の結合部位からこれらのサイトに至る経路は未だ明らかにされていない。これらのサイト間を行き来する際の CO の経路を明らかにするために、分子動力学(MD)計算を用いた研究も多くなされている。しかし、水中で CO が Mb の外へ放出される速度は、サブマイクロ秒のオーダーであることが実験的に観測されており、MD 計算を用いて直接この時間スケールの運動の解析を行うことは困難である。これらのサイトは、高い自由エネルギー障壁で区切られており、より少ない計算量で CO の解離経路を調べるためには、その障壁を効率的に乗り越える方法が必要である。

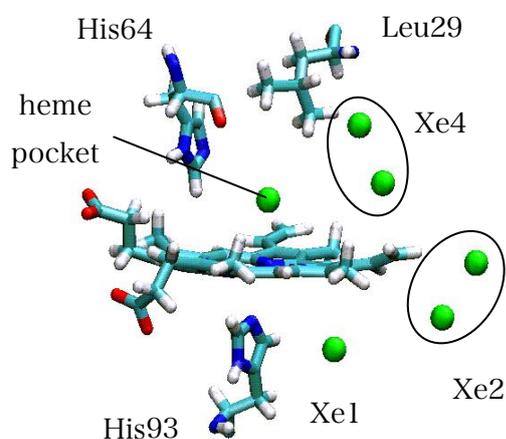


図1 Mb内のXeサイト

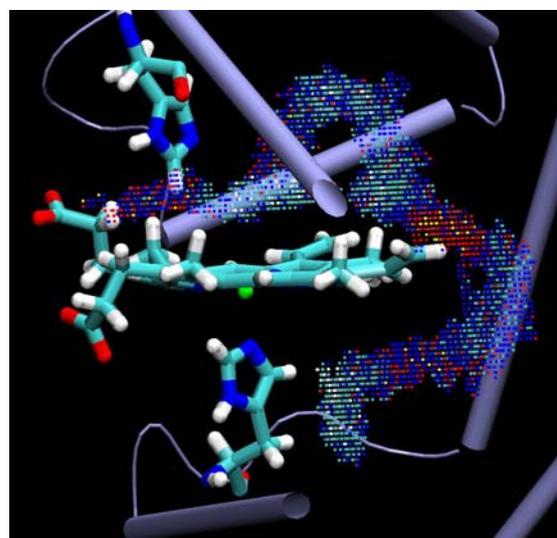


図2 3次元自由エネルギーマップ

○ : 0.0-1.0 kcal/mol      ● : 1.0-2.0 kcal/mol  
 ● : 2.0-3.0 kcal/mol      ● : 3.0-4.0 kcal/mol  
 ● : 4.0-5.0 kcal/mol

本研究では、MD 計算から得た局所的自由エネルギーの極小点に、ガウス型反発ポテンシャルを adaptive に置くことで、効率的に CO を移動させる手法を開発した。それを用いて 3

次元自由エネルギー解析を行い、CO の解離経路を同定した。その結果、CO は結合部位(heme pocket)から遠位のサイト(Xe4)を通過して、近隣のサイト(Xe2)を経由し、近位のサイト(Xe1)に至ることを見出した。図2に3次元自由エネルギーマップを示す。この自由エネルギープロファイルにより、Xe4サイトとXe2サイトの間に高い自由エネルギー障壁が存在し、解離の律速過程となっていることが明瞭に示される。次に、各サイト間での反応座標を図3のようにとり、各サイト間の自由エネルギー曲線を求め、サイト間の遷移の自由エネルギー障壁を見積もった。図4に heme pocket と Xe4 サイト間、及び、Xe4 と Xe2 サイト間の1次元自由エネルギー曲線を示す。サイト間の自由エネルギーの高さは 1-3 kcal/mol であり、特に、解離移動の律速となる Xe4 -Xe2 間の自由エネルギー障壁は約 3 kcal/mol であった。

得られた自由エネルギーの値から、単純な遷移状態理論を用いて反応速度の時定数を見積もると約 30 ps となる。この値は、分光実験から得られている値(数百 ns)と比べてかなり小さい。これは、遷移に伴う単純な遷移状態理論からの偏差を表す透過係数の値が非常に小さいことを示している。実際に、蛋白質内での CO の拡散係数を計算すると、水中での拡散係数より2桁値が小さいことが見出された。このことから、蛋白質内での CO の移動には、蛋白質との相互作用による CO の運動への摩擦効果が大きく関っており、通常の遷移状態理論が成り立っていないということが示唆される。当日は、場としての蛋白質が、速度定数に与える影響を議論する予定である。

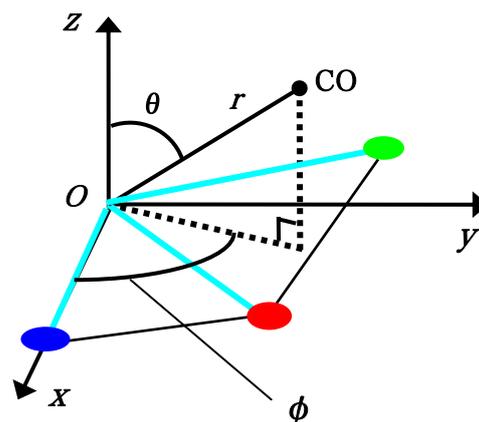


図3 反応座標

- : initial site
- : top of the barrier
- : final site
- : equal distance

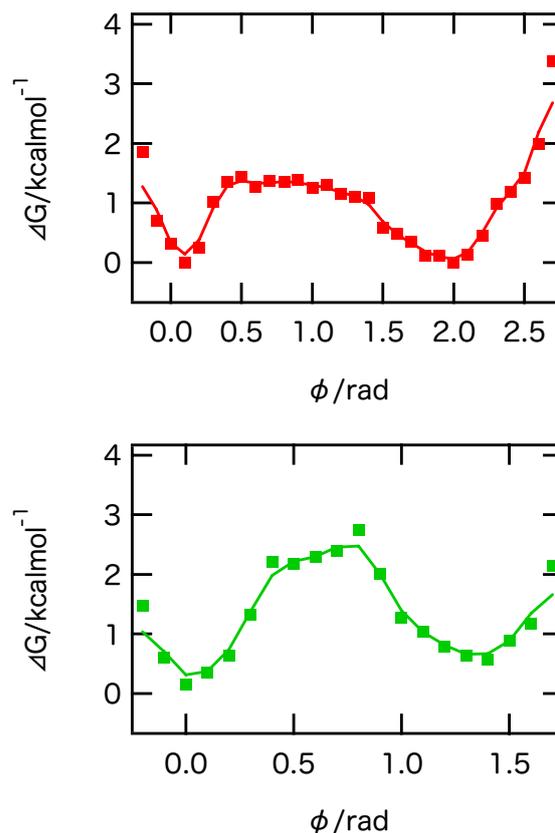


図4 1次元自由エネルギーマップ  
 上図 heme pocket - Xe4 site  
 下図 Xe4 site - Xe2 site