

Selective ion-binding by protein probed with the 3D-RISM theory

(分子研) ○吉田 紀生, Saree Phongphananee, 平田 文男

【はじめに】

蛋白質によるリガンドの認識はその機能発現機構の中で極めて本質的プロセスである。カルシウムイオンチャネルが誤ってナトリウムイオンを取り込んだ場合を想像すれば、このことは容易に理解できよう。また、カルシウムイオンなどが蛋白質の構造自身を安定化させる役割を演じていることも知られている。本研究では人リゾチームの野生型と各種変異型による Na^+ , K^+ , Ca^{2+} の選択的結合を 3次元 RISM 理論によって「検出」した結果を報告する。

人リゾチームの野生型および Q86D 置換体はどのような正イオンも結合しないことが Kuroki-Yutani の X 線回折実験からすでに知られている。彼らは、同時に、A92D 置換体は Na^+ を結合するが K^+ は結合せず、Q86D/A92D 置換体は Ca^{2+} を結合するという報告を行っている。本研究ではこれらの実験結果を理論的に再現できるかどうかを検討した。

【方法】

まず、RISM 理論,

$$h_{ab}^{ss''}(r) = \sum_{c,d \in \text{Site on } a,b} \varpi_{ac}^s * c_{cd}^{ss''}(r) * \varpi_{db}^{s''} + \sum_{s' \in \text{Solvent species}} \rho^{s'} \sum_{c,d \in \text{Site on } s,s'} \varpi_{ac}^s * c_{cd}^{ss'}(r_{cd}) * h_{db}^{s's''}(r_{db}), \quad (1)$$

によって NaCl , KCl , CaCl_2 水溶液の溶媒-溶媒相関関数を求める。

次にこれらの溶媒中で 3D-RISM 理論,

$$h_a^s(\mathbf{r}) = \sum_{s' \in \text{Solvent species}} \rho^{s'} \sum_{c \in \text{Site on } s'} c_c^{s'}(\mathbf{r}_c) * [\varpi_{ca}^s * h_{ca}^{s's}(\mathbf{r}_{ca})] \quad (2)$$

を用いて溶質（人リゾチーム）の溶媒和状態を計算する。

【結果】

図 1 は NaCl 溶液中の野生型であるが、イオン結合サイト内には水の分布しか見えていない。すなわち、この変異体はイオンを結合しないのである。図 2 に A92D 置換体を NaCl 水溶液に入れた場合を示してある。この場合は結合サイト内に Na^+ の強い分布が見られる。また、 CaCl_2 および NaCl 水溶液内に Q86D/A92D 置換体を浸した場合についても計算を行い、apo および holo 異性体による選択的な、 Ca^{2+} の結合を再現した。以上の結果はすべて Kuroki-Yutani の実験結果と整合的であり、3D-RISM 理論が蛋白質による選択的イオン結合を予測する能力を有していることを示している。

本研究で報告した方法は水溶液の中の溶質の分子種を変えるだけで、イオンチャネル、酵素反応、ドラッグデザインなど、分子認識に関わる多くの生理過程に容易に拡張することができる。本研究はその突破口を切開くものである。

【参考文献】

- 1) Hirata, F. *Molecular Theory of Solvation*. Kluwer, Dordrecht, Netherlands. 2003.
- 2) a) Kuroki R., Yutani, K. *J.Biol.Chem.* **1998**, 273, 34310. b) Inaka, K.; Kuroki, R.; Kikuchi, M.; Matsushima, M. *J.Biol.Chem.* **1991**, 266, 20666. c) Kuroki, R.; Kawakita, S.; Nakamura, H.; Yutani, K. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1992**, 89, 6803 d) Kuroki, R.; Taniyama, Y.; Seko, C.; Nakamura, H.; Kikuchi, M.; Ikehara, M. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1989**, 86, 6903.
- 3) Yoshida, N.; Phongphanphane; S., Maruyama; Y., Imai; T., Hirata, F. *J. Am. Chem. Soc.* 投稿中

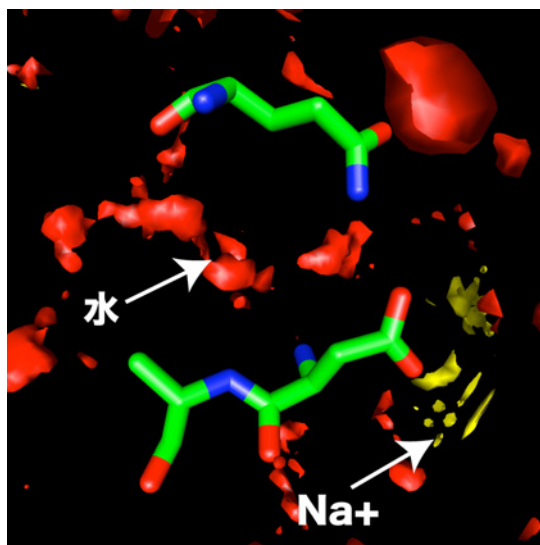


図 1 : NaCl 水溶液中の wild type Human Lysozyme 周りの水（酸素原子）と Na⁺ イオンの分布。図は Glu-86, Asp-91, Ala-92 で作られるイオン結合サイトのみを示した。

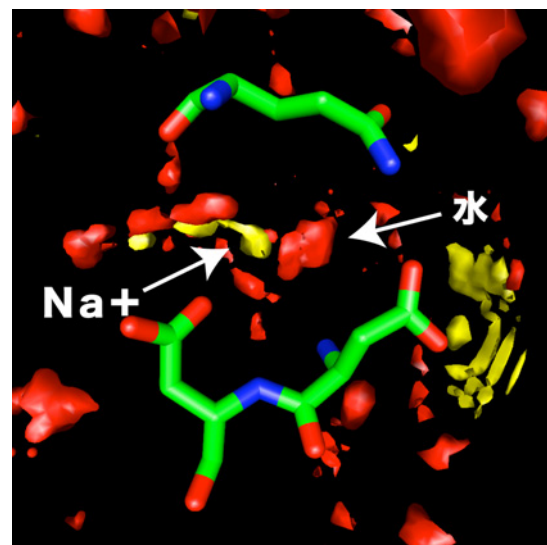


図 2 : NaCl 水溶液中の A92D Human Lysozyme mutant 周りの水（酸素原子）と Na⁺ イオンの分布。図は Glu-86, Asp-91, Asp-92 で作られるイオン結合サイトのみを示した。