

(論文内容の要旨)

タンパク質には様々な時間的、空間的スケールの内部運動があり、これがタンパク質の機能の発現に重要な役割を果たしていると考えられている。ミオグロビン(Mb)は、小さな球状タンパク質であり、8つのヘリックスと一つのヘムから構成され、筋肉中で酸素を貯蔵する。Mbの活性部位であるヘムは、表面近くにあり、酸素だけではなくCOやNOといった小分子もリガンドとして結合する。Mbについては、これまでの実験的、理論的研究により、ヘムから光解離したリガンドは、直接溶媒中に放出されるのではなく、タンパク質内の幾つかの空洞(Xe1-4)の間を移動した後、溶媒中へ放出されることが報告されている。しかし、移動の経路やダイナミクスについては未だ良く分かっていない。

申請者は、分子動力学(MD)法を用いて、(1)リガンド移動経路の探索及び(2)リガンド移動経路の形成に対するタンパク質の内部運動の役割について研究を行った。

(1)では、メタダイナミックス MD シミュレーション法を用いて、計算により得られた局所的自由エネルギーの極小点にガウス型ポテンシャルを逐次的に置き、CO分子を効率的に空洞間移動させることによりCOの移動経路の同定を行った。具体的には、3次元自由エネルギー解析を行い、空洞の自由エネルギー及び空洞間の障壁の高さを見積もった。結果、COは結合部位(DP)から遠位のXe4サイトへ移動し、更にXe2を経由して、近位のXe1サイトに至ることを見いだした。特に、Xe4からXe2サイトへの移動の自由エネルギー障壁が約2.6kcal/molと最も高く、DPからXe1に至るCO移動の律速過程であることが明確に示された。更に、DPからタンパク質表面に達する経路の障壁は、約1.9kcal/molと計算された。

(2)では、COの移動経路を形成するために必要なMbの構造変化を、MD計算により得られたMbの原子の平衡揺らぎを用いた線形応答理論を用いて調べた。この方法では、タンパク質の構造変化を基質の結合などの外部からの摂動に対する応答として捉えることができる。計算の結果、DPからXe4サイトへの移動に対して、Leu29残基の移動によりCOの移動経路が形成されるが、その他、移動経路付近の残基(Leu61)や経路から離れた残基(His24)の局所的な動きや、複数のヘリックスからなるグローバルな集団的動きが重要な役割を果たすことが分かった。特にタンパクのグローバルな動きは、CO移動経路を形成するのに必要な近接残基の局所的な動きを可能とする空間を作り出すことが明らかとなった。このグローバルな運動の存在は実験結果と良く対応している。また、以上の計算結果を用いて一般化されたランジェバン方程式を構築し、DPとXe4の間のCO移動とカップルしたMbの構造変化の緩和時間は、約22psとなった。これは、MD計算の結果と良く一致している。他のサイト間の移動についても同様の解析を行った。

(論文審査の結果の要旨)

タンパク質には様々な時間的、空間的スケールの内部運動があり、これがタンパク質の機能の発現に重要な役割を果たしていると考えられている。ミオグロビン(Mb)は、小さな球状タンパク質であり、8つのヘリックスと一つのヘムから構成され、筋肉中で酸素を貯蔵する。Mbの活性部位であるヘムは、表面近くにあり、酸素だけではなく一酸化炭素(CO)や一酸化窒素(NO)といった小分子もリガンドとして結合する。Mbについては、最も簡単なタンパク質の一つであるため、これまで多くの研究が行われている。これまでの実験的、理論的研究により、ヘムから光解離したリガンドは、直接溶媒中に放出されるのではなく、タンパク質内の幾つかの空洞(Xe1-4)の間を移動した後、溶媒中へ放出されることが報告されている。しかし、リガンドのタンパク質内移動過程とタンパク質の構造変化のダイナミックスとの相関については、重要な問題であるにも拘わらず殆ど分かっていない。

申請者は、これらの問題について答えを得るため、分子動力学(MD)法を用いて、(1)リガンド移動経路の探索及び(2)リガンド移動経路の形成に対するタンパク質の内部運動の役割について研究を行った。

(1)では、メタダイナミックス MD シミュレーション法を用いて、計算により得られた局所的自由エネルギーの極小点にガウス型ポテンシャルを逐次的に置き、CO分子を効率的に空洞間移動させることによりCOの移動経路の同定を行った。具体的には、3次元自由エネルギー解析を行い、空洞の自由エネルギー及び空洞間の障壁の高さを見積もった。結果、COは結合部位(DP)から遠位のXe4サイトへ移動し、更にXe2を経由して、近位のXe1サイトに至ることを見いだした。特に、Xe4からXe2サイトへの移動の自由エネルギー障壁が約2.6kcal/molと最も高く、DPからXe1に至るCO移動の律速過程であることが明確に示された。更に、DPからタンパク質表面に達する経路の障壁は、約1.9kcal/molと計算された。

(2)では、COの移動経路を形成するために必要なMbの構造変化を、MD計算により得られたMbの原子の平衡揺らぎを用いた線形応答理論を用いて調べた。この方法では、タンパク質の構造変化を基質の結合などの外部からの摂動に対する応答として捉えることができる。計算の結果、DPからXe4サイトへの移動に対して、Leu29残基の移動によりCOの移動経路が形成されるが、その他、移動経路付近の残基(Leu61)や経路から離れた残基(His24)の局所的な動きや、複数のヘリックスからなるグローバルな集団的動きが重要な役割を果たすことが分かった。特にタンパクのグローバルな動きは、CO移動経路を形成するのに必要な近接残基の局所的な動きを可能とする空間を作り出すことが明らかとなった。このグローバルな運動の存在は実験結果と良く対応している。また、以上の計算結果を用いて一般化されたランジェバン方程式を構築し、DPとXe4の間のCO移動とカップルしたMbの構造変化の緩和時間は、約22psとなった。これは、MD計算の結果と良く一致している。他のサイト間の移動についても同様の解析を行った。

以上の研究成果は、古くから行われてきたMb中のリガンド移動のダイナミックスの解明に重要な寄与をするものと考えられる。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認めることができる。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。