

## 4P122

### マシコヒゲムシ巨大ヘモグロビン構造のH<sub>2</sub>S結合サイトに関する研究

○山本 哲徳<sup>1</sup>, 西川 佳吾<sup>1</sup>, 杉山 歩<sup>1</sup>, 杉森 公一<sup>2</sup>, 沼本 修考<sup>1</sup>, 三木 邦夫<sup>3,4</sup>, 福森 義宏<sup>1,5</sup>, 長尾 秀実<sup>1,5</sup>

(金沢大院・自然<sup>1</sup>, 金城大<sup>2</sup>, 京都大院・理<sup>3</sup>, 理研<sup>4</sup>, 金沢大・フロンティア科学<sup>5</sup>)

#### 【序】

有鬚動物マシコヒゲムシ (*Oligobranchia mashikoi*) 巨大分子ヘモグロビンの構造が X 線構造解析により解明された[1]。有鬚動物とは口、肛門、消化管が無く細長い触手を頭部に持つ左右対称の真体腔動物のことである。マシコヒゲムシは体幅 1mm 以下、長さ 10~75cm、前体部に細いひげ状の紅色の触手を持ち、石川県能登半島の九十九湾海底の硫化水素臭のするヘドロの中だけに生息する。ヒトヘモグロビンのように酸素を運ぶだけでなく、有鬚動物が必要な酸素 O<sub>2</sub> と化学合成細菌が必要な硫化水素 H<sub>2</sub>S を同時に運搬する[2]。

マシコヒゲムシ巨大ヘモグロビンは 4 種類の Subunit(A1, A2, B1, B2)を持っており、これらが六つずつ会合して全体で 24 量体を形成している (図 1)。全体として直径約 120Å の球状構造で内部に直径約 50Å の空洞が存在する。また、巨大ヘモグロビンは 24 量体構造が球を半分に分けた 12 量体構造と会合し、12 量体は 4 種類の Subunit が一つずつ集まった 4 量体が三つ会合した構造となっている。その 4 量体構造も、2 量体構造が会合した構造を持つ。それぞれの Subunit 内で一つずつ、また Subunit 間でも多くのジスルフィド結合が形成されており、とくに Subunit 間で形成されたジスルフィド結合は半球状の 12 量体構造の淵に沿うように配置されていて、それらのブロックどうしをしっかりとつなぎ止めるように働くことで、巨大な複合体構造を安定的に保っている。

本研究では、硫化水素 H<sub>2</sub>S を結合するサイト (H<sub>2</sub>S 結合サイト) に H<sub>2</sub>S を付加したモデルと未付加モデルを作成し、分子動力学シミュレーションや量子化学計算の比較から構造安定性の考察を行う。

#### 【計算方法】

本研究で用いたタンパク質構造はマシコヒゲムシ巨大ヘモグロビン 24 量体の結晶構造 (PDB: Oli\_Hb\_24mer[1]) を使用し分子動力学計算の初期構造とした。24 量体構造の分子動力学シミュレーションは AMBER8 プログラムパッケージ (Amberforce field 03) を用いて、周期境界条件の下で NPT アンサンブル、TIP5P 剛体モデルの水分子 65508 個の水溶液中、1MDstep=2fs とした。

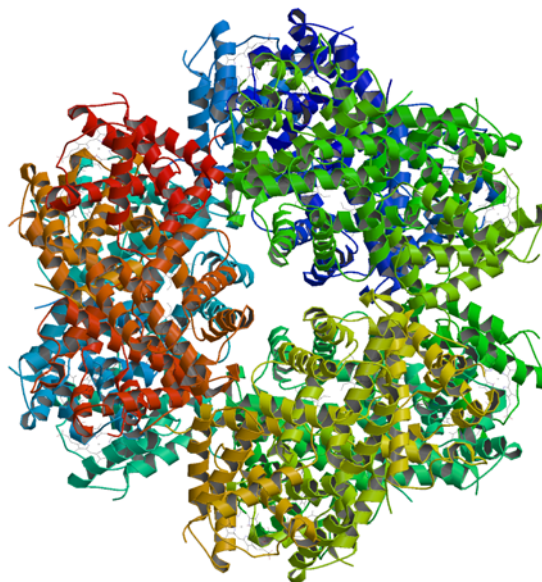


図 1 : マシコヒゲムシ 24 量体の高次構造

また、24 量体構造から Subunit E, F, G, H のみを切り取り、4 量体（総残基数：578，総原子数：8651）の初期座標とした。さらに 4 量体の Subunit E の硫化水素結合部位 (Phe32, Phe36, Phe59, Cys63, His94, HEM) のシステイン残基(Cys63)に、硫化水素  $H_2S$  を付加したクラスタモデル (図 2) に量子化学計算による構造最適化計算を行い、TIP5P 剛体モデルの水分子 8343 個の水溶液中で分子動力学計算を行った。

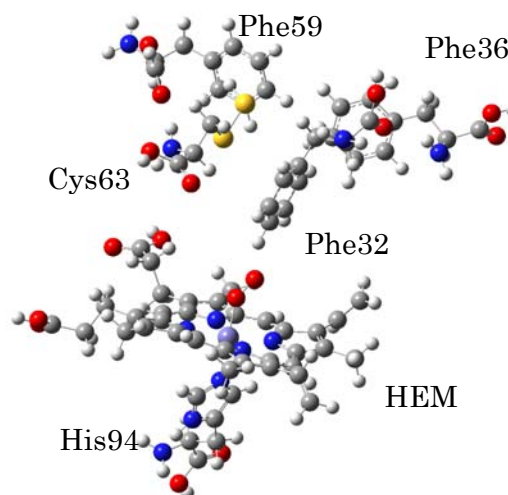


図 2 : Cys63に-SHを付加した $H_2S$ 結合サイト

### 【結果】

#### ・分子動力学計算

4 量体構造の MD シミュレーションから、Subunit E のクラスタモデルの残基、Phe32, Phe36, Phe59, Cys63, His94, HEM の RMSD(Root Mean Square Deviation)を計算した (図 3)。図から  $H_2S$  を付加したモデルの Cys63(桃色線)はジャンプ運動をしていることがわかる。これより 2 つの安定構造を発見した。

#### ・量子化学計算

Cys63 の RMSD が高い値を示したとき (500ps-550ps) の平均構造から活性部位クラスタモデルを作成し、HOMO(Highest Occupied Molecular Orbital)を計算した (図 4)。硫化水素が付加された Cys63 まわりの HOMO の分布が無いことがわかる。一方、図 5 に示す PDB 構造より作成した活性部位クラスタモデルの HOMO 分布は全体に広がっている。これらの結果から、HOMO はシステイン残基が硫化水素が結合する化学反応によって非局在すると示唆される。

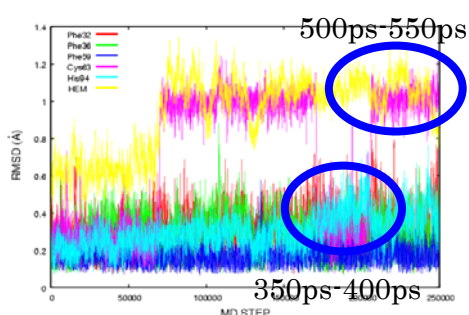


図 3 :  $H_2S$ 結合サイトの各残基のRMSD

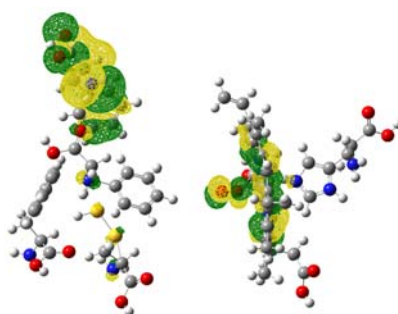


図 4 : クラスタモデルの平均構造 (500ps-550ps)の HOMO分布

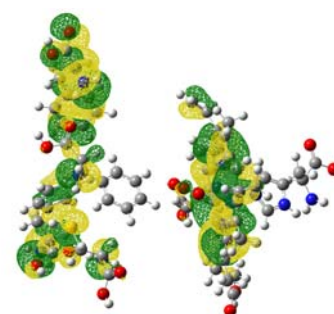


図 5 : PDB構造の HOMO 分布

尚、24 量体構造に  $H_2S$  を付加したモデルの考察は当日に発表する。

### References

- [1] N. Numoto, T. Nakagawa, A. Kita, Y. Sasayama, Y. Fukumori, K. Miki, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1750**, 173-176, 2005.
- [2] N. Numoto, T. Nakagawa, A. Kita, Y. Sasayama, Y. Fukumori, K. Miki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 14521-14526, 2005.