

ヒトヘモグロビン近傍および内部における 酸素分子挙動の解析

(名大院・情報科学¹, JST-CREST²)

高柳 昌芳^{1,2}、栗崎 以久男^{1,2}、長岡 正隆^{1,2}

Behavior of oxygen molecules inside and in the vicinity of human hemoglobin

(Graduate school of Information Science, Nagoya University¹, JST-CREST²)

Masayoshi Takayanagi^{1,2}, Ikuo Kurisaki^{1,2}, Masataka Nagaoka^{1,2}

【背景】ヒトヘモグロビン (HbA) は4つのサブユニット (α 鎖 β 鎖各2本) で構成される四量体ヘムタンパク質であり、酸素分子を各サブユニットのヘムに結合することで酸素分子を運搬する。ヘムに結合する酸素分子が存在する空洞 (ヘムポケット) はサブユニット内部に埋没しているため、HbA の酸素分子運搬機能を理解する上で、熱揺らぎによって HbA 外部とヘムポケットの間に一時的に形成される動的な酸素分子移動経路が重要な意味を持つ。本解析ではヘムポケットへの酸素分子侵入速度は β 鎖の方が α 鎖よりも早いという測定結果[1]の由来を原子レベルから解明することを目的として、分子動力学 (MD) シミュレーションにより複数の動的な酸素分子移動経路を特定した。なおHbAサブユニットと類似の構造であるミオグロビンにおいて、ヘムに結合した一酸化炭素が解離することで立体構造変化が生じる結果[2,3]からHbA 空洞内の酸素分子の存在は立体構造に影響を与えることが推定されるため、酸素分子をあらわに取り込んだ条件で解析を行った。

【計算手順】TIP3P 水溶媒ボックス内に T 構造四量体 HbA (酸素分子を結合していない HbA、PDB ID: 2DN2 [4]) と 120 分子の酸素分子を配置し初期構造を生成した。そして HbA 構造を拘束したまま高温条件 (750 K、NVE 一定) で 300 ps の MD 計算を実行することでランダムな酸素分子分布を生成し、次いで生体内と同様の条件 (310 K、1 atm、NPT 一定) で 100 ps の平衡化 MD 計算を実行し、最終的に HbA の拘束を解除して 310 K、1 atm、NPT 一定条件で 8 ns の MD 計算を実行した。以上の平衡化を含む MD 計算を異なる初期速度から 128 本実行し、8 ns \times 128 MD の MD トラジェクトリデータを得た。

【結果】8 ns の MD 計算 128 本から、外部からヘムポケットへの酸素分子侵入イベントが α 鎖では 141 回、 β 鎖では 425 回得られた。 β 鎖の方がヘムポケットへの侵入が速い結果は、実験的に報告されているリガンド侵入速度と整合性が取れている[1]。

HbA 各サブユニットにおける外部からヘムポケットへのリガンド侵入経路を特定するために、各 MD トラジェクトリから 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 ns の 7 時間スレ

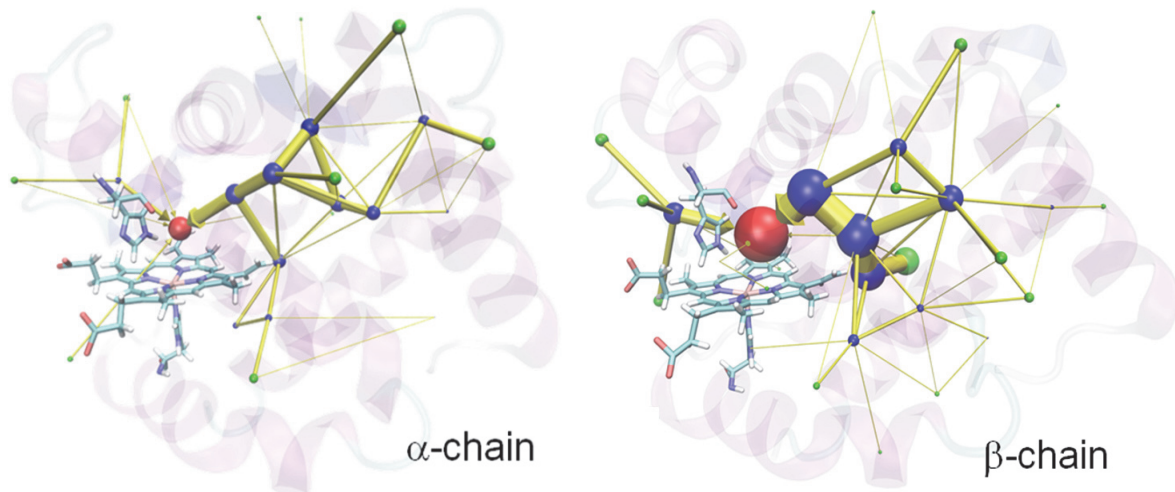


図1. MD計算で得られた酸素分子分布をクラスタリング解析することによって得られた各HbAサブユニット内ヘムポケットへの酸素分子移動経路。(左) α 鎖(右) β 鎖。赤色球はヘムポケットに対応するクラスタ重心、青色球はサブユニット内部のクラスタ重心、緑色球はサブユニット表面のクラスタ重心であり、ヘムポケットに到達した酸素分子が通過した頻度に対応して球の大きさを描画。同様にクラスタ間移動頻度に対応して黄色の円筒を描画。

ップにおいてHbA各サブユニット近傍4.0 Åに位置する酸素分子の重心座標を抽出しWard法による階層的クラスタリングを実行した。ヘムポケットに到達した酸素分子の各クラスタ通過頻度を球で、クラスタ間通過頻度を円筒で描画することでヘムポケットへのリガンド移動経路を可視化した(図1)。

両サブユニットに共通して、侵入する酸素分子の7割強は(α 鎖73.1%、 β 鎖72.2%)ヘムポケットに隣接する大きな空洞(図1のヘムポケットに対応する赤色球の右側)を経由してヘムポケットに侵入している。それに次いでCDコーナー付近から侵入する経路(図1のヘムポケット左側からの侵入)は2割強(α 鎖22.0%、 β 鎖27.5%)を占める。なお、遠位ヒスチジン近傍を通り外部溶媒から直接ヘムポケットへと侵入するHis-gateと呼ばれる経路は α 鎖5.0%、 β 鎖0.2%であり、主要な経路ではない。

α 鎖では主要な酸素分子侵入ポータル(出入り口)はヘムから離れたA, G, Hヘリックス付近に2箇所(侵入頻度23.4%, 19.9%)と、AEヘリックス間に1箇所(14.9%)存在する。それに対し β 鎖では主要な侵入ポータルはGHヘリックス間を通過するものが1箇所(43.1%)存在する。 α 鎖主要ポータルから侵入した酸素分子はヘムポケットに隣接する空洞に到達するまでに複数の空洞を経由する必要があるのに対し、 β 鎖の主要ポータル経路ではヘムポケットに隣接する空洞に直接侵入する。これが β 鎖の方が速いヘムポケットへの侵入が起こる[1]原因であると結論できる。

【参考文献】 [1] Birukou, I., Maillett, D. H., Birukova, A., & Olson, J. S. (2011) *Biochemistry*, 50, 7361. [2] Takayanagi, M., Iwahashi, C., & Nagaoka, M. (2010) *The journal of physical chemistry. B*, 114(38), 12340-8. [3] Takayanagi, M., & Nagaoka, M. (2011) *Theoretical Chemistry Accounts*, 130(4-6), 1115-1129. [4] Park, S.-Y., Yokoyama, T., Shibayama, N., Shiro, Y., & Tame, J. R. H. (2006) *Journal of molecular biology*, 360(3), 690.