

ヘモグロビンへの基質酸素分子侵入経路探索と非部位特異的アロステリック効果

○高柳 昌芳^{1,2}, 栗崎 以久男¹, 長岡 正隆^{1,2} (名大院情報科学¹、CREST-JST²)

機能発現中のタンパク質が示す非平衡ダイナミクスを原子レベルからシミュレート可能な MD 計算は、タンパク質機能発現機構を理解する上で極めて有用な手法である。計算コストの制約のため通常は1本~数本の MD トラジェクトリが解析されるのに対し、本発表では多数の MD 計算を実行することで初めて得られる統計的な機能発現機構の解析例を示す。

ヒトヘモグロビン (HbA) はサブユニット4つ (α ・ β 鎖各2本) で構成され、酸素分子 (O_2) をへむに結合し O_2 運搬機能を発揮している。 O_2 結合部位の空洞であるへむポケット (HP) はサブユニット内部に埋没しており、HP と溶媒間を繋ぐ経路は未だ確定しておらず議論の途上にある。また HbA は O_2 濃度に依存して2つの四次構造状態 (O_2 親和性が高い R 状態、 O_2 親和性が低い T 状態) の平衡を変化させることによるアロステリック制御を示す。これら O_2 侵入経路、アロステリック構造制御の理解は HbA の機能発現機構を分子レベルから理解する上で重要な知見となる。

HbA への O_2 侵入過程を再現するために、高 O_2 分圧の水溶媒中に T 構造 HbA を配置し、MD 計算 8 ns を 128 本実行し統計的な解析を行った。なおへむへの O_2 結合は人工的に無視した。

O_2 は溶媒から HP へと自発的に侵入し、8 ns 128 本の MD トラジェクトリにおいて α 鎖では 141 回、 β 鎖では 425 回の HP への侵入が生じた。サブユニット近傍および内部における O_2 分布をクラスタリングにより分類し、HP に侵入した O_2 が各クラスタを通過した頻度をカウントする IPIC 法により O_2 侵入経路を得た (図1) [1]。いずれのサブユニットとも多数の入口から内部空洞への O_2 侵入が生じ、 α 鎖では HP から離れた空洞を経由する Pathway-F が 60%と多数を示すのに対し、 β 鎖では HP 近傍の空洞を経由する Pathway-N が 44%と多い結果となった。さらに O_2 侵入時定数を見積もったところ、 α 鎖で $45 (\mu\text{mol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$ 、 β 鎖で $99 (\mu\text{mol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$ が得られ、実験測定結果と α/β 比も含めてよく一致した。このように多数回の MD 計算による多数回のレアイベント (ここでは O_2 侵入) に対する統計的解析を行うことで、多様な侵入経路の解析が可能となる。

さらに、この MD 計算ではへむへの O_2 結合を無視しているにもかかわらず、HbA 四次構造分布が T から R 構造へと偏る結果が得られた。これは「非部位特異的」アロステリック効果の存在を示唆するものであり[2]、多数回の MD 計算の分布を解析することの有用性を示すものである。

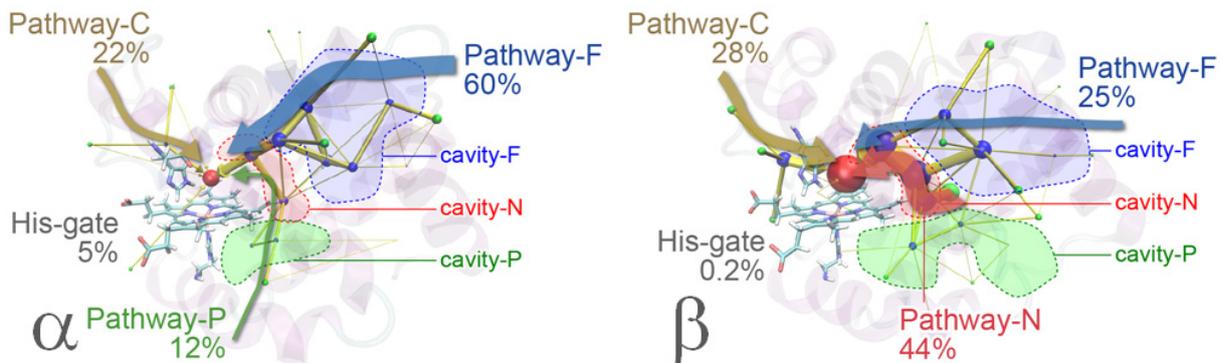


図1. O_2 分布のクラスタリング解析により得られた HbA サブユニット内へむポケットへの O_2 侵入経路。(左) α 鎖 (右) β 鎖。赤色球はへむポケットに対応するクラスタ重心、青色球はサブユニット内部のクラスタ重心、緑色球はサブユニット表面のクラスタ重心であり、へむポケットに到達した O_2 が通過した頻度に対応して球の大きさを描画。同様にクラスタ間移動頻度に対応して黄色の円筒を描画。

[1] Takayanagi M., Kurisaki I., Nagaoka M. *J. Phys. Chem. B*, 117, 6082 (2013).

[2] Takayanagi M., Kurisaki I., Nagaoka M., *Sci. Rep.*, 4, 4601 (2014).