

## ヒトヘモグロビンの非部位特異的アロステリック効果 ータンパク質の機能発現機構の新しい可能性ー

名古屋大学 大学院情報科学研究科 高柳昌芳特任助教、栗崎以久男特別研究員(日本学術振興会)、長岡正隆教授のグループは、高酸素( $O_2$ )分圧下の水溶液中ヒトヘモグロビン(HbA)が、 $O_2$ に対して「非部位特異的な」アロステリック効果を示すことを、初めて明らかにしました。この発見は、大規模分子シミュレーションを通して得られた、純粋に計算科学・情報科学的研究手法に基づく成果です。

タンパク質アロステリーは生命活動にとって不可欠です。これまで、2つの四次構造状態(T状態およびR状態)をもつヒトヘモグロビン(HbA)のアロステリック制御は、タンパク質のアロステリックな構造制御のパラダイムとなってきました(高等学校「生物II」必修事項)。特に、基質分子である酸素分子( $O_2$ )が「部位特異的な」ホモトロピックエフェクターとして振る舞うこと、つまり各サブユニットのヘム鉄に逐次的に結合することで、四次構造制御を引き起こすという考え方が、長い間、広く受け入れられています。しかしながら、本グループは、「部位特異的な」アロステリック効果が必ずしも $O_2$ アロステリーの唯一のメカニズムではないことを示しました。

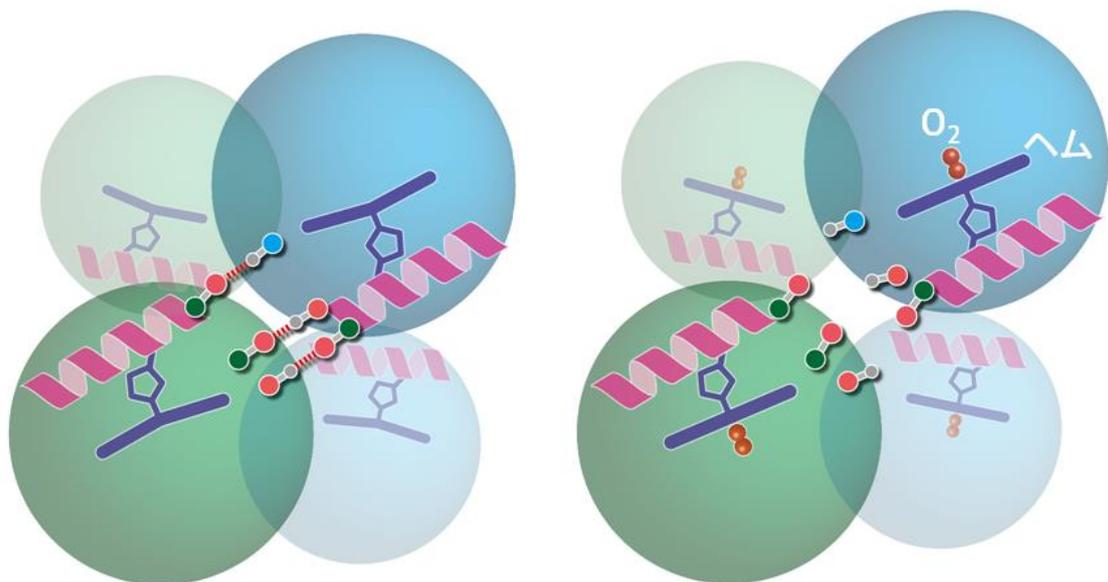
実際、大規模な分子シミュレーションの解析結果から、高い $O_2$ 分圧の水溶液環境では、 $O_2$ が、直接ヘムに結合しなくても、T状態からR状態への四次構造変化を促進することが明らかになりました。これは $O_2$ が、これまで知られていた「部位特異的な」アロステリック効果に加えて、「非部位特異的な」アロステリック効果をもたらすことを示唆しています。この「非部位特異的な」効果は、タンパク質複合体のサブユニット間接触に影響を与え、四次構造変化に対して、従来から受け入れられている「部位特異的な」効果と相補的な役割を果たすはずで、こうした解析は、HbAのアロステリック制御を、分子論的視点から包括的に理解するためのマイルストーンになるに違いありません。

この研究成果は、2014年4月8日(英国時間)に発行された、ネイチャー・パブリッシング・グループ(NPG)のオープンアクセス電子ジャーナル『Scientific Reports』誌に掲載されました。

タンパク質において、基質が結合する活性部位の構造は巧妙に設計されており、効率的な酵素反応が実現されている。この活性部位から離れた異なるアロステリック部位に分子が結合することで、活性部位が影響を受け、酵素活性がコントロールされる現象はアロステリーと呼ばれており、生体内における反応系のフィードバック調節に重要である。

アロステリーの典型例として、ヒトヘモグロビン(HbA)の効率的な酸素分子(O<sub>2</sub>)脱着過程が研究されている。赤血球中に存在するHbAは4つのサブユニットで構成されており、O<sub>2</sub>を放出しやすいT状態と、O<sub>2</sub>を結合しやすいR状態の2つの四次構造が存在する(下図参照)。高O<sub>2</sub>濃度環境である肺中においてはR状態を、低O<sub>2</sub>濃度環境である末梢組織中ではT状態を取ることは、高効率のO<sub>2</sub>輸送を実現する上で必要不可欠である。

一般にO<sub>2</sub>は「部位特異的な」ホモロピックエフェクターとして振る舞うとされている。つまり、各サブユニットのヘムにO<sub>2</sub>が1つ1つ結合する毎に、O<sub>2</sub>が結合しやすいR状態をますます取りやすくなるという考え方である。具体的には、O<sub>2</sub>結合によるR構造への誘導は以下のような手順で生じると考えられている。1. ヘムの構造がO<sub>2</sub>結合によりドーム型から平面型に変形。2. ヘム変形が、ヘムに結合しているヘリックスの変形へと伝播。3. サブユニット全体の三次構造変形。4. T構造を安定化させるサブユニット間結合(水素結合、塩橋)が切断。



T状態 サブユニット間に結合が存在

R状態 サブユニット間結合は解離

分子シミュレーションを利用して、部位特異的効果とは異なるアロステリック機構を調査するために、高  $O_2$  分圧の水溶液環境下に T 状態の HbA を配置し、8ナノ秒(ナノ秒は 10 億分の 1 秒)間の分子シミュレーション計算を 128 回実行した。なお、部位特異的効果の影響を除くために、 $O_2$  が接近してもヘムへの  $O_2$  結合は生じないとした。また対照計算として  $O_2$  を含まない水溶液中 HbA についても同様の計算を実行した。その結果、高  $O_2$  分圧環境では T から R への四次構造変化がより高い頻度で生じることが明らかになった。

$O_2$  結合によるヘム変形がなくても四次構造変化が促進される機構として、2つの仮説が考えられる。1つ目は、 $O_2$  がサブユニット内部に多数存在する空洞に侵入することでサブユニット構造変化が生じ、それが T 構造のサブユニット間結合の切断を補助するという仮説である。2 つ目は、 $O_2$  が接近することにより周囲の水分子ネットワークが擾乱され、サブユニット間結合が弱められるとする仮説である。実際にサブユニット近傍および内部には  $O_2$  が高濃度で分布している箇所が多数存在する。



サブユニット近傍、内部の $O_2$ 分布

いずれの仮説も、 $O_2$  が特定の位置に結合することでアロステリーを發揮する「部位特異的な」機構でなく、HbA 近傍あるいは HbA 内部の不特定な位置でアロステリーを發揮する「非部位特異的な」機構である。これは従来からの定説であった部位特異的な機構とは相補的な役割を果たしていると考えられ、今後、HbA アロステリック制御が分子論に立脚して包括的に理解されていくものと期待される。また本研究で提唱した「非部位特異的な」アロステリック機構は、他のアロステリックタンパク質、特に基質結

合部位とアロステリック部位が遠く離れている本来の意味でのアロステリックタンパク質においても、相補的な機構として重要な役割を果たしていると予想できるため、更なる展開が期待される。