

## 業績紹介: リガンド脱離に伴うヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1 複合体の構造変化を観測

水谷泰久 (阪大院理・A03 計画研究代表者)

論文題目: "Protein dynamics of heme-heme oxygenase-1 complex following carbon monoxide dissociation"

著者: Masato Yamaoka, Masakazu Sugishima, Masato Noguchi, Keiichi Fukuyama and Yasuhisa Mizutani

雑誌巻号: *J. Raman Spectrosc.*, **42**, 910-916 (2011)

ヘムタンパク質には、ヘムにおける気体分子の脱着によるタンパク構造変化が機能調節に本質的役割を果たすものがある。ヘモグロビンの協同的酸素結合やガスセンサータンパク質の機能発現はその典型例である。ヘムからポリペプチド鎖へと構造変化が伝播する仕組みを解明することは、これらのタンパク質における機能発現の分子機構に対する理解を深めると期待されるが、その実体は不明である。ヘムからポリペプチド鎖への構造変化の伝播経路として、重要なものの一つにヘム-軸配位子結合がある。事実、ヘモグロビンにおいては、軸配位子であるヒスチジンとヘムとの結合にかかる張力がヘムの酸素親和性に大きな影響を与えていることが知られている。このような背景から、ヒスチジンを軸配位子としてもつヘムタンパク質について、鉄-ヒスチジン伸縮振動 $[v(\text{Fe-His})]$ バンドは、ヘム周辺の構造を反映するマーカーとしてこれまで多くの研究がなされてきた。リガンド脱離に伴うバンドの時間変化もそのひとつである。これまでに報告されたバンドの波数変化は、リガンド脱離に伴い低波数シフトを示すか、もしくは波数が変わらないかのいずれかで、高波数シフトを示すものはなかった。

ヘムオキシゲナーゼ(HO)は、酸素分子を用いてヘムの $\alpha$ 位を特異的に開裂させ、ビリベルジン IX $\alpha$ 、鉄、一酸化炭素(CO)に分解する酵素である。ヘム-HO 複合体は、ミオグロビンやヘモグロビンに比べて、低いCO親和性を示す。これはヘムに結合したCOと周辺のタンパク質との立体障害によって、タンパク質に大きなひずみが生じるからだと考えられている。CO結合形が大きなひずみを持っていれば、リガンド脱離直後には鉄-ヒスチジン結合は弱く、タンパク質の構造緩和とともに結合は強くなっていくこと、したがってリガンド脱離に伴い高波数シフトすることが予想される。そこで我々はCO結合形ヘム-HO複合体を光解離させ、ひずみの大きい構造からのタンパク質の緩和過程を観

測した。

得られた時間分解共鳴ラマンスペクトルには、2つのバンドに変化が観られた。ひとつは $v(\text{Fe-His})$ バンドで、CO解離後、約10  $\mu\text{s}$ までは高波数シフトを示した(図1)。観測された高波数シフトは、CO解離後、時間とともにヘム周辺にあったひずみが解消されたことに対応していると考えられる。ヘムタンパク質について、 $v(\text{Fe-His})$ バンドの高波数シフトが観測されたのはこれが初めての例である。変化の観られたもうひとつのバンドは350  $\text{cm}^{-1}$ 付近にある2本のプロピオン酸基の変角振動 $[\delta(\text{C}_\beta\text{C}_\epsilon\text{C}_\delta)]$ バンドである。この強度比を詳しく調べたところ、CO解離後、比は時間とともに増加し、10  $\mu\text{s}$ 付近から減少に転じることがわかった。

$v(\text{Fe-His})$ バンドの波数、および $\delta(\text{C}_\beta\text{C}_\epsilon\text{C}_\delta)$ バンドの強度比は、ともに10  $\mu\text{s}$ を境にデオキシ形の値に向かった。デオキシ形とCO結合形の結晶構造の比較から、この2状態の間では、ヘムの変位に伴う近位ヒスチジン付近の構造変化や、プロピオン酸基の塩橋の組み換えが起こるといふモデルが提案されている[1]。本研究は、これを時間分解測定でとらえたもので、ヘム-HO複合体がCO解離後、直接デオキシ形へ構造緩和するのではなく、準安定構造を経由して構造緩和することを示している。

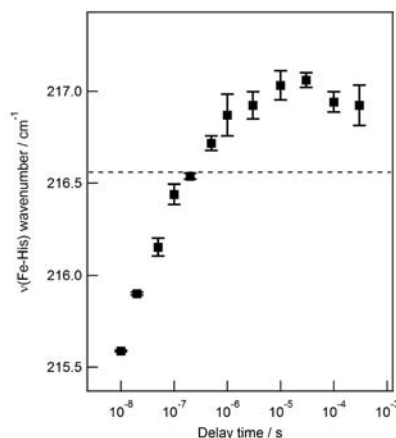


図1 ヘム-HO 複合体の $v(\text{Fe-His})$ バンドの波数変化。破線はデオキシ形の値を示す。

引用文献

[1] Sugishima, M.; Sakamoto, H.; Noguchi, M.; Fukuyama, K. *Biochemistry* **2003**, *42*, 9898-9905.