

共鳴ラマン分光法による祖先型グロビンフォールドタンパク質のヘム-軸配位子構造の解明

(阪大理¹・阪大院理²) ○入谷 悠¹、石川 春人²、水野 操²、水谷 泰久²

Heme-axial ligand structure of ancestral globin-fold protein probed by resonance Raman spectroscopy (¹*School of Science, Osaka University*, ²*Graduate School of Science, Osaka University*) ○Yu Iritani,¹ Haruto Ishikawa,² Misao Mizuno,² Yasuhisa Mizutani²

Hemoglobin (Hb) shows structural changes following ligand dissociation, which are different from myoglobin (Mb), despite structural similarity between the Hb subunit and Mb. Recently, an ancestral globin-fold protein of Mb and Hb (AncMH) was designed by an ancestral sequence reconstruction technique. The vibrational frequencies of $\nu(\text{Fe-His})$, $\nu(\text{Fe-C})$, and $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$ modes, which contain information about the heme coordination structure and the protein environment around the bound CO, were similar between AncMH and Hb, suggesting that AncMH, like Hb, has a smaller heme pocket than Mb.

Keywords : resonance Raman spectroscopy, hemeproteins, ancestral proteins

ミオグロビン (Mb) とヘモグロビン (Hb) サブユニットの立体構造は互いに似ているが、リガンド脱離後の構造変化に違いが報告されている¹。祖先型再構成によって、祖先型グロビンフォールドタンパク質の遺伝子配列が明らかになった²。我々は、Mb と Hb の共通祖先である祖先型グロビンフォールドタンパク質 (AncMH) について、共鳴ラマン分光法を用いて、そのヘム周辺構造を調べ、Mb と Hb と比較した。

AncMH は大腸菌中で発現させた。既報²では、His タグを N 末端に付けていたが、SDS-PAGE により純度を確認したところ、タンパク質試料には不均一性が見られた。一方、His タグを C 末端に付けたタンパク質試料では不均一性は見られなかった。表 1 は、AncMH、Mb、Hb のデオキシ形および一酸化炭素 (CO) 結合形について観測された、軸配位子が関わる伸縮振動振動数をまとめたものである。これらの振動数は、ヘムポケットの環境に敏感であることが知られている。AncMH の振動数はいずれも Mb に比べ Hb に似ており、AncMH は Hb と同様に Mb よりもヘムポケットが小さいと考えられる。ヘム周辺の残基は、AncMH、Hb、Mb で同様であるが、AncMH と Hb は、Mb より E ヘリックスが 1 残基短く、E ヘリックスと F ヘリックスをつなぐターンの長さが 1 残基長い。この違いが、ヘムポケットの大きさに影響を与えている可能性がある。

表 1. 軸配位子の伸縮振動振動数/cm⁻¹

	$\nu(\text{Fe-His})$	$\nu(\text{Fe-C})$	$\nu(\text{C}\equiv\text{O})$
AncMH	216	502	1950
Hb	217	503	1949
Mb	220	508	1943

1) Mizutani, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2017**, 90, 1344–1371.

2) A. Pillai et al., *Nature* **2020**, 581, 480–485.