

# 3P134 ミオグロビンの振動エネルギー緩和におけるプロピオン酸基の効果

(神戸大院・自然科学<sup>1</sup>, 千葉大院・薬<sup>2</sup>, 神戸大・分子フォト<sup>3</sup>)  
○小山 舞<sup>1</sup>, 根矢 三郎<sup>2</sup>, 水谷 泰久<sup>1,3</sup>

**【序論】** 一酸化炭素(CO)結合形ミオグロビン(Mb)を可視パルスで励起すると、高収率で CO が光解離するが、このときヘムが吸収した光子エネルギーの半分以上が余剰エネルギーとして残る。この余剰エネルギーの散逸過程は、さまざまな分光的手法および分子動力学シミュレーションを使って研究されている。最近、分子動力学シミュレーションの研究から、ヘムのプロピオン酸基は、振動エネルギー緩和の重要な経路になっているというモデルが提案された[1]。そこで本研究では、このモデルを検証するために、プロピオン酸基をもたない非天然ヘム(図1)を含む再構成ミオグロビン(rMb)と天然の Mb について振動エネルギー緩和速度を比較した。

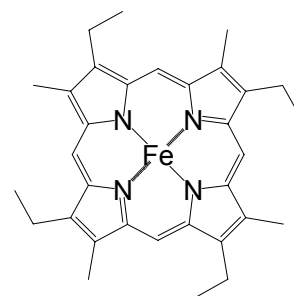


図 1. 本研究で用いた非天然ヘム(エチオヘム)の分子構造

**【実験】** 再構成 Mb の調製には、根矢らの方法を用いた[2]。まず酸性条件下でヘムをはずし、アポ体を調製した。次に pH 6.5±0.2 の条件で、非天然ヘムを再構成し精製した。時間分解共鳴ラマンスペクトル測定は、ポンプ-プローブ法(プローブ光波長: 442 nm、ポンプ光波長: 540 nm)を用いて行った。パルス間の相互相関幅は 2.2 ピコ秒であった。

**【結果と考察】** 図2に CO 結合形 rMb および Mb の光解離に伴うアンチストークス時間分解共鳴ラマンスペクトルを示す。いずれの系についても、光励起直後、強いアンチストークスラマンバンドが観測された。これは CO 解離直後、ヘムが振動励起されていることを意味する。アンチストークスラマンバンド強度は、時間とともに減衰を示した。対応するストークス側のラマンスペクトルでは、このような減衰は観測されなかったことから、これはヘムの振動緩和によるものと帰属した[3]。そこで、アンチストークスバンドの強度減衰をもとに振動緩和の時定数を求めた。図3に強度の強い  $\nu_4$  バンド、 $\nu_7$  バンドについて、遅延時間に対してバンド強度をプロットしたものを示す。rMb、Mb とともに、アンチストークスバンドの強度減衰は、単一の指数関数でうまく表現することができた。求めた時定数を表1にまとめた。 $\nu_4$  バンドについては、rMb と Mb との間に明確な差は認められなかったが、 $\nu_7$  バンドでは、rMb の緩和の方が 2-3 倍遅いという結果が得られた。これは、Mb におけるヘムの振動緩和にプロピオン酸基が関わっていることを示唆している。分子動力学シミュレーションで見積もられたエネルギー緩和の時定数は、Mb で 5.9 ps、プロピオン酸基を水素で置換したヘムを含む再構成 Mb で 8.8 ps であり、本研究と同様に、プロピオン酸基の有無で減衰速度に差がみられる[1]。

rMb と Mb とで緩和速度に差がみられた原因として、(1)Mb では、ヘムのプロピオン酸基は溶媒へ露出しているため、余剰エネルギーがプロピオン酸基を介して直接溶媒へ散逸しているため、(2)プロピオン酸基をなくしたことで、ヘムと周囲のタンパク質との接触面積が小さくなったため、という 2 つが考えられる。ヘムの

表 1. アンチストークスバンド強度減衰の時定数

	$\nu_4$ / ps	$\nu_7$ / ps
rMb	2.1±0.3 ps	6.4±1.2 ps
Mb	1.2±0.6 ps	1.6±0.2 ps

余剰エネルギーは非常に速く溶媒へと伝わる事が報告されており(時定数:  $7.5 \pm 1.5$  ps)、Straubらはこの原因として上記(1)を提案している[1,4]。プロピオン酸基を介した溶媒への直接的なエネルギー散逸がどの程度あるのかを調べるには、溶媒の過渡的な温度上昇を rMb と Mb で比較する必要があると考えられる。

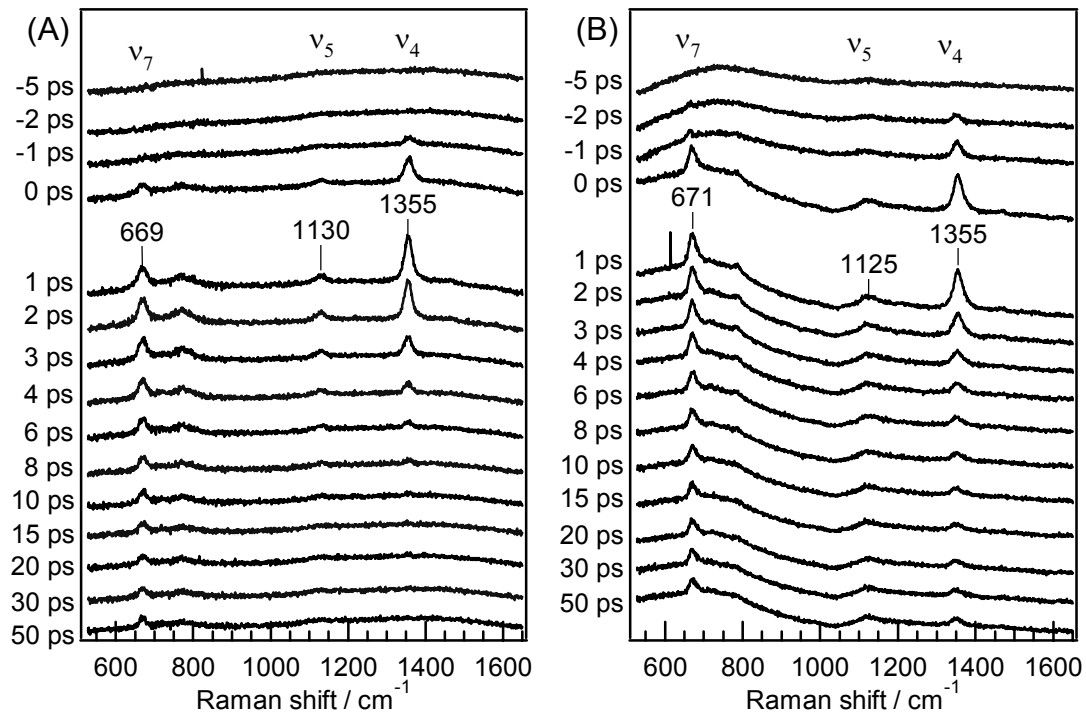


図2. 一酸化炭素結合形 rMb(A)および Mb(B)の光解離に伴うアンチストークス時間分解共鳴ラマンスペクトル

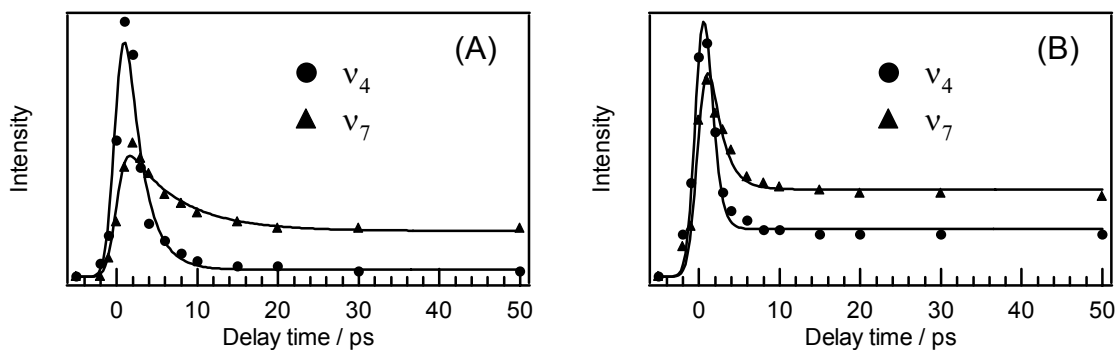


図3. rMb(A)および Mb (B) のアンチストークスラマンバンド強度の時間変化。実線は、指数関数  $A(\exp(-t/\tau_d)+B)$  と装置の応答関数をコンボリューションした関数でフィットしたもの。

### 【文献】

- [1] L. Bu and J. Straub, *J. Phys. Chem. B*, 107, 10634–10639 (2003).
- [2] S. Neya, N. Funasaki and K. Imai, *Biochim. Biophys. Acta*, 996, 226–232 (1989).
- [3] Y. Mizutani and T. Kitagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 75, 623–639 (2002).
- [4] T. Lian, B. Locke, Y. Kholodenko, and R. Hochstrasser, *J. Phys. Chem.* 98, 11648–11656 (1994).