JAIST Repository
https://dspace.jaist.ac.jp/

Title	遺伝子転写制御ヘムタンパク質CooAにおける一酸化炭素の光解離と再結合
Author(s)	坂口，貴久
Citation	
Issue Date	2001-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2789
Rights	
Description	Supervisor:白川 英二，材料科学研究科，修士

JAIST
JAPAN
ADVANCED INSTITUTE OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY

Japan Advanced Institute of Science and Technology

C21p11

遺伝子転写制御ヘムタンパク CooA における一酸化炭素の光解離と再結合

坂口貴久　（白川研究室）

【序】ヘムタンパク質は活性中心として鉄－ポルフィリン錯体を有するタンパク質の総称である。
光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* (*R. rubrum*)のヘムタンパク質 CooA は、遺伝子転写制御機能を持つヘムタンパク質としては初めての報告例である。*R. rubrum* に含まれる一酸化炭素（CO）の代謝に関わる酵素系は CO よって誘導される。 CooA のヘムに CO が結合すると CooA が構造変化を起こし、CooA -DNA の相互作用により酵素の遺伝子転写を活性化させる。CO－ヘム配位結合は、ヘムの光励起により解離することができる。その後の CO の再結合のダイナミクスは CO がヘムタンパク内をいかに運動するかを知る上で興味深い。 数十ナノ秒以降の遅い CO 再結合過程については既に測定されている。
本研究の目的は、サブピコ秒 - ピコ秒以下の時間領域でのダイナミクスを明らかにして CO の再結合過程の全貌を理解し、他のヘムタンパクと異なる CooA の特徴を明らかにすることである。

【実験】１）光学系：CO 解離光パルスは 400 nm のフェムト秒パルスを選び、再結合追跡光パルスは 420－500 nm のフェムト秒白色光パルスを用いた。
2）サンプル調整と測定条件：過剰のジチオナイトによりヘムを還元して還元型 CooA を得た。還元型 CooA を CO 雰囲気下に曝して CO 結合型 CooA を得た。2 枚の石英窓でテフロンスペーサーをはさみ、その中にサンプルを充填したセルを過渡吸収測定に用いた。サンプルが酸素によって劣化するために、サンプル調製とセルへの充填作業は、真空ラインと窒素で置換したグローブボックスの中で行った。

【結果と考察】440 nm で過渡吸収変化を測定すると光解離によって生成した 5 配位型ヘムの濃度変化を知ることができる。還元型 CooA（Fig.1）では 5 配位のヘムの 93 % が 6.5 ps の時定数で消失した。還元型の場合、ヘムの 6 配位構造が非常に安定であることがわかる。わずかではあるが 172 ps という遅い成分がある。これは、溶液中などのヘムでは観測されないので、ヘムタンパク特有のダイナミクスである。CO 結合型 CooA（Fig.2）では 5 配位ヘムが 77 ps と 386 ps の 2 つの時定数で消失した。CooA における CO の再結合過程は CO 結合型ミオグロビンのものよりも 3 桁も速い。これは、CooA のヘム近傍が非常に混み合った構造になっており、CO の拡散を妨げていることを示す。 CO の再結合に 2 つの時定数が得られたということは、光解離した CO には 2 つの過渡的状態がある可能性が高い。

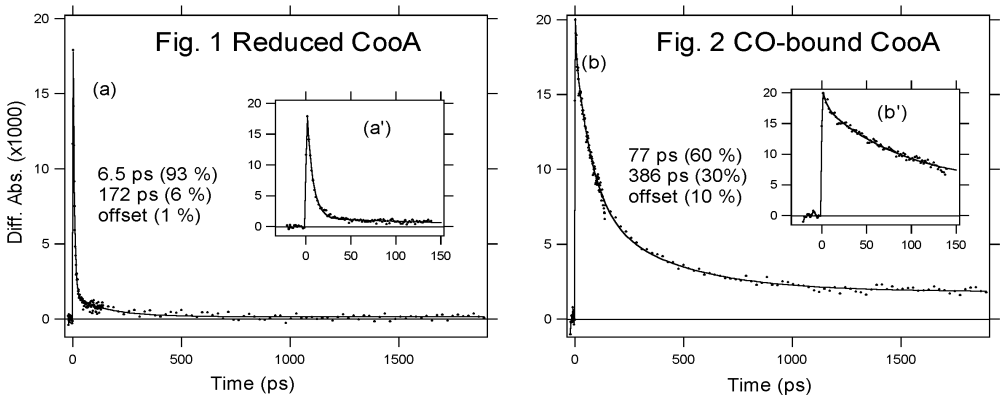

Fig.1　還元型 CooA を 400 nm の光パルスで励起した後の 440 nm における吸収変化

Fig.2　CO 結合型 CooA を 400 nm の光パルスで励起した後の 440 nm における吸収変化

【keyword】ヘムタンパク質 CooA、遺伝子転写因子、サブピコ秒 - ピコ秒時間分解分光

配位子の光解離と再結合

Copyright© 2001 by Takahisa Sakaguchi