

Tetrahymena pyriformis 由来短縮型ヘモグロビンの構造 機能解析

Structure-function relationship of truncated hemoglobin from *Tetrahymena pyriformis*

五十嵐城太郎^{1,3}、小林一雄²、松岡有樹³、清水透¹

1 東北大・多元研、2 阪大・産研、3 福島医大・医

短縮型ヘモグロビン (trHb) は、哺乳類のヘモグロビンと比較して 20 残基ほど短く、細菌や単細胞真核生物などにおいて広く分布している。原生生物繊毛虫の *Tetrahymena* にもヘモグロビン様タンパク質の存在が古くから知られていたが、その立体構造は未知のままであった。

本研究では *T. pyriformis* trHb を大腸菌で大量発現、精製し、結晶構造解析及び酸素結合の速度論的解析を行った。

得られた結晶は、空間群 $P6_522$ ($a = b = 69.4 \text{ \AA}$, $c = 354 \text{ \AA}$) に属し、非対称単位に 2 分子の trHb が存在した。*T. pyriformis* trHb はヘムを補酵素として含み、酸素結合型の構造が分解能 1.75 \AA で分子置換法によって解かれた。

T. pyriformis trHb の酸素結合・解離速度定数は、それぞれ $5.5 \mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, 0.18 s^{-1} となり、酸素の解離定数は 33 nM と算出された。一方、自動酸化速度定数は $3.8 \times 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ となった。これらの値は、結核菌の trHb と同程度であり、酸素を可逆的に脱着するよりも、他の機能を果たしている可能性がある。

結晶構造解析の結果、*T. pyriformis* trHb は 2/2 グロビンフォールドを取ることが明らかとなった。図 1 に示す酸素結合型 *T. pyriformis* trHb のヘム周辺構造では、酸素分子が Tyr25 と Gln46 からの水素結合によって安定化されている。また、図 2 より、*T. pyriformis* trHb には 380 \AA^3 もの空洞がタンパク質内部に存在する。この空間を利用して、酸素や一酸化窒素との反応を *T. pyriformis* trHb が触媒していると示唆される。

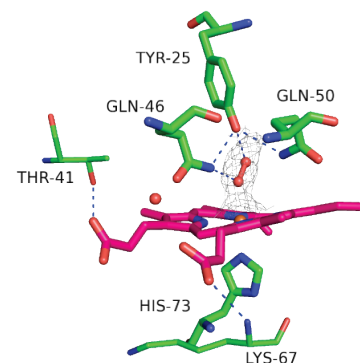


図 1: 酸素結合型 *T. pyriformis* trHb のヘム周辺構造

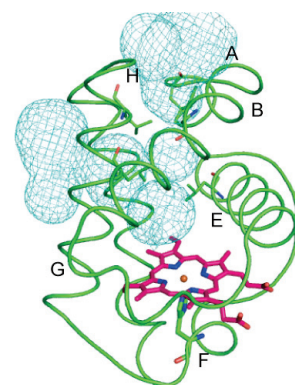


図 2: *T. pyriformis* trHb の全体構造と分子内の空洞

[1] Igarashi J., Kobayashi K., and Matsuoka A. *J. Biol. Inorg. Chem.* (2011) in press DOI: 10.1007/s00775-011-0761-3