

## 共鳴ラマンスペクトルによる HbV と HbA、Mb のタンパク質内 ヘム周辺構造の比較

(阪大理<sup>1</sup>・阪大院理<sup>2</sup>) ○田中 さわ<sup>1</sup>・石川 春人<sup>2</sup>・入谷 悠<sup>2</sup>・潤井 泰斗<sup>2</sup>・水谷 泰久<sup>2</sup>  
Comparison of Heme Pocket Structures of Hemoglobin V and Those of Oxygen-Binding Heme  
Proteins based on Resonance Raman Spectra (<sup>1</sup>*School of Science, Osaka University*, <sup>2</sup>*Graduate  
School of Science, Osaka University*) ○Sawa Tanaka,<sup>1</sup> Haruto Ishikawa,<sup>2</sup> Yu Iritani,<sup>2</sup> Taito  
Urui,<sup>2</sup> Yasuhisa Mizutani<sup>2</sup>

The structure of the heme pocket in hemoglobin V (HbV), which is involved in blood of sea lamprey, was studied by measuring resonance Raman spectra of the heme group in the ligand-unbound and CO-bound forms. The Fe–CO stretching and Fe–proximal histidine stretching frequencies of HbV were observed at 495 and 213 cm<sup>-1</sup>, respectively, both of which were lower than those of human hemoglobin (HbA) and horse myoglobin (Mb). These frequencies are known to be sensitive to the structure of heme pockets in heme proteins. The observed lower frequencies indicate that the heme pocket of HbV is more crowded both in the proximal and distal sides than those of HbA and Mb.

*Keywords: Resonance Raman spectroscopy; Heme protein*

HbV はヤツメウナギがもつ複数のヘモグロビンのなかで主となるタンパク質成分である。タンパク質中のヘムポケットの構造は、ヘムへのガス分子の親和性を決定する重要な因子である。そこで我々は、リガンド非結合形（デオキシ形）、一酸化炭素（CO）結合形のヘム周辺構造を、共鳴ラマン分光法を用いて調べた。そしてその結果をヒトヘモグロビン（HbA）やウマミオグロビン（Mb）と比較した。

HbV の CO 結合形について、Fe–CO 伸縮振動 [ $\nu(\text{Fe–CO})$ ] バンドは 495 cm<sup>-1</sup> に観測された。この値は、HbA (505 cm<sup>-1</sup>)、Mb (511 cm<sup>-1</sup>) に比べて低かった。低い振動数は Fe–CO 結合軸がヘム平面の法線方向からずれていることを示しており、ずれは遠位側のヘムポケットが狭いためであると考えられる。遠位側ヘムポケットが狭いことで知られているヘムオキシゲナーゼ–ヘム複合体では、 $\nu(\text{Fe–CO})$  振動数は 503 cm<sup>-1</sup> であるので<sup>1)</sup>、HbV の遠位側ヘムポケットはさらに狭いことを示している。デオキシ形について、ヘム鉄とそれに配位したヒスチジン残基との間の伸縮振動 [ $\nu(\text{Fe–His})$ ] は 213 cm<sup>-1</sup> に観測された。これは Mb (220 cm<sup>-1</sup>) より低く、HbA (215 cm<sup>-1</sup>) と同程度である。低い振動数は Fe–His 結合が弱いことを示しており、HbV のヘムポケットが近位側に歪みを持っていることを示唆している。以上の実験事実から、HbV のヘムポケットは他のガス分子結合ヘムタンパク質に比べて狭いという特徴を持つことが明らかになった。

1) Heme-Heme Oxygenase Complex: Structure and Properties of the Catalytic Site from Resonance Raman Scattering. S. Takahashi, J. Wang, D. L. Rousseau, K. Ishikawa, T. Yoshida, N. Takeuchi, M. Ikeda-Saito, *Biochemistry* **1994**, 33, 5531–5538.