

平成21年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 特定領域研究 4. 研究期間 平成20年度～平成21年度
5. 課題番号 2 0 0 5 1 0 1 6
6. 研究課題名 ヘモシアニンのアロステリック効果の分光学的研究

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
9 0 2 8 3 4 5 7	フリガナ ヒロタ シュン 廣田 俊	物質創成科学研究科	教授

8. 研究分担者（所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。）

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
:	フリガナ		
:	フリガナ		
:	フリガナ		
:	フリガナ		
:	フリガナ		

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

ヒトでは酸素貯蔵と酸素運搬の役割はそれぞれミオグロビンとヘモグロビンが担っているが、節足動物や軟体動物の酸素貯蔵および運搬はヘモシアニン（Hc）が担っている。Hcはタイプ3銅含有タンパク質の一つであり、本研究で用いる節足動物のHcは類似したサブユニットが6個集まった6量体を構造ユニットとして超分子を形成する。各サブユニットは一对の二原子銅からなる活性部位を1つ有し、各々の活性部位に酸素1分子が結合する。Hcはヘモグロビンと同様、酸素分子脱着において協同効果を示すことが良く知られているが、pHによる酸素結合能の違い（ボーア効果）や協同効果に影響を与える因子の分子機構に関しては依然不明な点も多い。

本研究では、Hcにおける協同効果の分子論的作用機構の理解のため、節足動物由来Hcの酸素結合挙動にpHおよび乳酸が及ぼす影響およびその作用機構の解明を行った。乳酸が及ぼす影響は、紫外可視吸収分光法、等温滴定カロリメトリー(ITC)法、フラッシュフォトリシス法を用いて調べた。乳酸添加により、酸素結合速度定数 k_{obs} は単量体 *CaeSS2* では変化しなかったが、ホモ6量体を形成する *CaeSS3* では大きくなった。Hcと乳酸の相互作用をITCにより調べた結果、単量体 *CaeSS2* は乳酸と結合しなかったが、*CaeSS3* のホモ6量体と結合した。以上の結果および昨年度の結果より、乳酸はHc多量体と結合し四次構造変化を誘起することにより k_{obs} が増加すると推測された。

6量体構造ユニット1つから成る *Panulirus interruptus* Hc、6量体構造ユニットがそれぞれ2つあるいは4つ集まった *Carcinus aestuarii* Hc と *Upogebia pusilla* Hc を比較したところ、酸素結合速度に対する乳酸添加の影響は *Upogebia pusilla* Hc で最も大きく、*Panulirus interruptus* で最も小さかった。

10. キーワード

- | | | |
|-----------|------------|------------|
| (1) 生体超分子 | (2) 酸素運搬 | (3) ヘモシアニン |
| (4) 協同効果 | (5) 銅タンパク質 | (6) ボーア効果 |
| (7) | (8) | (裏面に続く) |

11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（1）件 うち査読付論文 計（1）件

著者名	論文標題				
I. Takahashi, Y. Honda, S. Hirota	Regulating Copper-Binding Affinity with Photoisomerizable Azobenzene Ligand by Construction of a Self-Assembled Monolayer				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Angewandte Chemie International Edition	有	48	2009	6065-6068	

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

〔学会発表〕 計（2）件 うち招待講演 計（0）件

発表者名	発表標題		
廣田俊、田中直輝、長尾聡、北岸宏亮、加納航治、I. Micetic、M. Bertamini、L. Bubacco	節足動物由来ヘモシアニンの酸素結合挙動に対するpHおよび乳酸の影響		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第36回生体分子科学討論会	2009年6月19日	札幌	

発表者名	発表標題		
S. Hirota, T. Kawahara, M. Beltramini, P. Di Muro, R. S. Magliozzo, J. Peisach, L. S. Powers, N. TanaKa, S. Nagao, L. Bubacco	Structural Origin for the Bohr Effect in Arthropod Hemocyanin		
学会等名	発表年月日	発表場所	
14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC14)	2009年7月25-30日	Nagoya	

〔図書〕 計（0）件

著者名	出版社		
書名	発行年	総ページ数	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（0）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取得〕 計（0）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--