

Title	Studies of Conformational Dynamics of Myoglobin by Time-Resolved Hole-Burning Spectroscopy
Author(s)	柴田, 穰
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39980
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	柴 田 穂
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 9 2 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科物理学専攻
学 位 論 文 名	Studies of Conformational Dynamics of Myoglobin by Time-Resolved Hole-Burning Spectroscopy (時間分解ホールバーニングによるミオグロビンの構造揺らぎの研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 櫛田 孝司 (副査) 教 授 松尾 武清 教 授 木下 修一 教 授 木村 正広 助教授 片岡 幹雄

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白質の構造揺らぎのダイナミスクを調べるために、時間分解ホールバーニングという方法を Zn プロトポルフィリンを置換したミオグロビン (ZnPP-Mb) の試料に適用した。この方法では、単色光を試料に照射することによって試料中の色素分子のうち、入射光に共鳴したものだけが選択的に励起される。色素蛋白質の系では、色素の遷移エネルギーは蛋白質のコンフォメーションに依存しており、選択的な励起はあるコンフォメーションを持つ色素蛋白質分子を選択したことになる。励起された分子が三重項状態にとどまっている間、吸収スペクトルの入射光の波長付近に孔が観測され、この現象のことをホールバーニングと呼んでいる。励起されていない色素蛋白質分子の構造が揺らぐことにより、ホールの形状は時間とともに変化する。このホール形状の時間変化を観測することにより、蛋白質の構造揺らぎの様子を実時間で観測できる。本研究では、ホールの寿命は $\sim 10\text{ms}$ でありまたホールは $\sim 7\text{ns}$ の時間幅を持つレーザーでバーニングされるため、 10ns から 10ms の広い時間スケールでの揺らぎが観測された。

まずは、ホールスペクトルの偏光解消の時間依存性から ZnPP-Mb 分子の回転緩和時間が見積もられた。さらにその温度依存性から、ZnPP-Mb 分子の半径が約 $13\text{\AA}$ と見積もられた。ホールスペクトルの偏光依存性より、ZnPP の吸収帯の Q_x , Q_y 成分が分離できることが分かった。また、ホール面積のバーニング光強度依存性より 1 ns がこの方法の時間分解能の限界であることが分かった。

次に、ZnPP-Mb を体積比 1 : 3 の水 : グリセリンに溶かした試料を用いて、ホール形状の時間変化よりこの蛋白質の構造揺らぎを調べた。 180 K 以下では、実験で観測できる時間範囲においてホール形状の時間変化は見られなかった。これは、蛋白質分子の構造揺らぎがこの温度領域では凍結していることを意味している。 200 K 以上の温度では、ホールのピーク位置が時間とともに吸収スペクトルの方向へシフトするのが見られ、それと同時にホールの幅が時間とともに広がるのも観測された。これらの時間変化は配位座標モデルを用いて解析された。このモデルでは、蛋白質の構造揺らぎは二次式で表されるポテンシャル上でのブラウン運動として記述され、規格化された相関関数を用いてホールの時間変化が表される。実験結果は stretched exponential 型 ($\exp [-(t/\tau)^\beta]$) の相関関数を用いてうまくフィットされた。 β の値は 0.22 であった。この解析で見積もられた構造緩和時間 τ の温度依存性は、Vogel-Fulcher 則により再現された。

ZnPP-Mb の結果は、マーブロンという色素を ZnPP-Mb を溶かしたものと同一溶媒に溶かした試料での結果と比べられた。この試料では、溶媒の揺らぎが直接観測される。両者の比較から、常温付近では溶媒の揺らぎは蛋白質の

揺らぎより非常に速いが、180 Kで両者の揺らぎの時間スケールは一致し、それ以下の温度ではどちらの揺らぎも凍結されることが分かった。また、固体のポリマー中に ZnPP-Mb をドープした試料でも実験を行ったが、この場合にはホールの時間変化は見られず固体中に埋め込まれた ZnPP-Mb 分子の構造揺らぎは凍結されていることが分かった。

さらに、ホールの形状を実験で求められているフォノンの有効状態密度を用いてフィットした。計算で得られたスペクトルが、200 K以上では実験を再現しないことからこの温度領域では非調和的な揺らぎが生じていることが示された。

論文審査の結果の要旨

柴田君は、蛋白質の立体構造変化のダイナミクスの研究のために、時間分解過渡的ホールバーニングという新しい方法をミオグロビンに適用し、広い時間領域と温度領域で平衡状態における立体構造の揺らぎを調べた。その結果、それが非平衡状態の揺らぎと比べて相当に遅いこと、単なる指数関数とは大きく異なり拡張指数関数的振舞いをする事、その場合の緩和時定数が Vogel-Fulcher 則に従うことなど多くの新しい事実を明らかにした。本研究は、蛋白質の物性研究に大きな進歩をもたらしたものであり、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。