Osaka University Knowledge Archive

Title	Structural basis for the reaction mechanism and mechanism of escaping from product inhibition in heme oxygenase
Author(s)	杉島, 正一
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1509
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名　杉島正一（すぎしま まさかず）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　18406　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Structural basis for the reaction mechanism and mechanism of escaping from product inhibition in heme oxygenase
（ヘムオキシゲナーゼの反応機構と反応物阻害回避機構に関する構造生物学的研究）

論文審査委員　（主査）
教　授　福山　恵一

（副査）
教　授　金澤　浩　　教　授　長谷　俊治

論文内容の要旨

ヘムオキシゲナーゼ（HO）はヘムの分解において主要な役割を果たす酵素であり、この系は鉄の代謝に非常に重要である。HOは3段階の一酸素添加反応によってヘムのαメソ炭素を特異的に酸化し、ポルフィリン環を開裂する。この反応系でヘムは基質であり酸素を活性化する補酵素でもある。博士前期課程の期間に決定したラット由来酸化型ヘム－HO複合体の立体構造はHOの反応機構解析について重要な基盤を与えたが、活性残基と想定される解離性残基がヘム近傍に存在しない、COはHOの反応を強く阻害するがHOは反応中に生ずるCOをどのように処理しているのか等、いくつかの解明すべき点が残っていた。そこで、アポHO、還元型ヘム－HO複合体、O_2アナログ（N_3^-, NO）結合型ヘム－HO複合体、ビリベルジン－鉄錯体複合体といった反応中間体に相当する構造を決定し、反応機構について考察した。更にCO結合型、CN^-結合型ヘム－HO複合体の立体構造とCO結合型光解離中間体構造を決定し、HOにおけるO_2とCOの識別機構を明らかにした。

1．HOの反応機構：アポHOでは疎水的コアを形成するヘリックスバンドル構造は保存されていたが、ヘムポケットにおいて構造変化や揺らぎが見られた。つまり、HOはヘムに対する親和性を高めるため、アポ状態ではヘムが入りやすいようにポケットを開き、結合後はヘムを解離しないよう構造変化すると考えられる。O_2アナログ結合型の立体構造からO_2はヘム面に対して平行に、ヘムのαメソ炭素方向を向いてヘム鉄に結合することが予想された。ヘム鉄の配位子が一義的な結合方向を持つことはHO反応を部位特異的に行うのに必須で、それを初めて明らかにした。結合方向は主に水素結合による安定化と立体障害によって決定される。また、HOにおけるO_2の活性化にはヘムポケット中で保存された複数の水とGly143が重要と示唆された。さらに、ビリベルジン－鉄錯体複合体中で鉄は5配位型であることをはじめて明らかにした。錯体中の鉄は歪な配位構造をとり、鉄は容易に遊離し得ると示唆された。またヘムポケットはある程度開いた構造であり、ビリベルジンの解離を容易にすると示唆された。

2．O_2とCOの識別機構：HOは反応中にCOを生じるが、COはO_2に比べてヘムに非常に強く結合するため、HO反応を円滑に進行するにはCOとO_2を厳しく識別する必要がある。還元型、CO結合型の構造から、COの結合によりヘムと遠位側ヘリックスが逆方向に並進する事が分かった。構造変化の原因はCOがヘム面に垂直に結合した結果生ずる立体障害を回避する為であり、O_2結合の際には構造変化しないと予想される。ヘムの並進に伴い結合を

安定化していた塩橋の一つが失われ、これはHO特有のO_2とCOの識別機構と考えられた。同時に水素結合様式の違いも識別機構の一つである。また、CO結合型を光解離させるとヘムから10Å離れた疎水的ポケットにCOがトラップされた。このポケットは反応中に生じたCOをトラップし、次の反応を円滑に進めるのに寄与すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ヘムを開裂してビリベルジンへと変換する反応を触媒する酵素、ヘムオキシゲナーゼの立体構造に基づいた反応機構を解析したものである。本酵素は、酸素分子と還元力を用いて、ヘムのα位を特異的に酸化し、ビリベルジンの他に一酸化炭素を生成する特徴を持つ。杉島正一君は、この酵素の反応中間体および様々なリガンドを結合させたヘム複合体の構造を解析し、なぜ本酵素がヘムのα位を特異的に水酸化するのか、どのようにして反応途中で生成する一酸化炭素による阻害を回避しているのかという問題を、明確に解いた。本研究は、ヘムオキシゲナーゼの反応制御機構を世界に先駆けて明らかにし、また広くヘムタンパク質の研究に大きなインパクトを与えた。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。