OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	常磁性共鳴吸収によるヘム蛋白質の研究
Author(s)	堀, 洋
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1758
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	堀(ほり)　洋(ひろし)
学位の種類	工学博士
学位記番号	第4346号
学位授与の日付	昭和53年6月21日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**常磁性共鳴吸収によるヘム蛋白質の研究**
論文審査委員	(主査) 教授 三井　利夫 (副査) 教授 葛西　道生　教授 中村　伝　教授 大塚斉之助 教授 山野　俊雄　助教授 森本　英樹

論文内容の要旨

脊椎動物の赤血球中にあって酸素分子を肺から諸組織に運搬するヘモグロビンや，筋肉中にあって酸素分子の貯蔵にあたるミオグロビン等のヘム蛋白質の活性中心の鉄の電子状態の変化が，ヘム蛋白質の機能にはたしている役割を知る為に，ポルフィリン環の側鎖や蛋白質の構造あるいは配位子等の変化が活性中心の鉄の電子状態に，どの様に影響しているのかを常磁性共鳴吸収という磁気的測定方法を使って研究した。

先づ，ミオグロビンの様な単量体の蛋白質のヘムに種々の配位子を配位させた単結晶を作り，gテンソル主値の方位を決定し，X線結晶解析の結果と比較し，ヘムがどの様に，アポ蛋白と相互作用しているかを論じた。その結果，酸化鉄高スピンと酸化鉄低スピン化合物とでg_zの方向が，約7°程度ズレている事，低スピン・化合物のヘム面内の異方性の方向は，近位ヒスチジンよりも，むしろ配位子の結合方向により強く影響されている事，又，ヘム側鎖のプロピオン酸基とアポ蛋白との塩結合が，蛋白質中でのヘムの安定化に大きく寄与している事を示した。

次に，ヘモグロビンの様に四量体構造をとり，サブユニット間の相互作用で分子全体のコンホーメーションが変化する場合，配位子の結合により，1つのサブユニットに起った変化が，どのようにして他のサブユニットのヘムの電子状態の変化としてとらえられるかを調べた。即ち，アロステリックエフェクターであるイノシトール六りん酸存在下で，一酸化窒素ヘモグロビンの常磁性共鳴，近赤外領域での一般化窒素の光解離実験，及び酸化型ヘモグロビン，バレンシーハイブリッドヘモグロビン，あるいは，異常ヘモグロビンMの液体ヘリウム温度における常磁性共鳴の測定を種々の条件下で精密に行い，ヘムに配位している配位子の動きと，蛋白質の構造変化とを結びつけて議論した。今まで，

一方のサブユニットの配位子を変えると，パートナーのサブユニットのヘムの電子状態が変化することは，むしろ例外的であると考えられていたが，たいていの場合，鉄の電子状態の変化として伝わることが判った。

最後に，生理的に重要である還元型ヘモグロビンのヘムの電子状態を知る為に還元鉄高スピンの常磁性共鳴測定の可能性を追究した。その為に，ヒト・デオキシヘモグロビン（還元鉄高スピン）の単結晶の磁気異方性の測定をやり直し，gテンソル主値の方向，g_zの値を知らなくても，零磁場分離定数Dを決定できる解析法を作り，D～5 cm^{-1}と決定した。この結果を用いて，種々の条件下で，常磁性共鳴測定の可能性を追究したが，吸収は観測されなかった。

論文の審査結果の要旨

本論文は常磁性共鳴吸収（ＥＰＲ）の測定によって，ミオグロビンにおけるヘムとアポ蛋白との相互作用，ヘモグロビンにおけるサブユニット間の相互作用についての基礎データを提供したものである。まずミオグロビンを用いヘムに種々の配位子を配位させ，ヘムの方位や安定性に影響を与える因子について議論した。ついでヘモグロビン中の鉄および鉄に配位した一酸化窒素のＥＰＲを測定し，１つのサブユニット中でのヘム配位子との結合が他のサブユニットのヘムの電子状態をどのように変化させるかについて詳しい実験を行った。特に液体ヘリウム温度で精度のよい測定を行った結果として，１つのサブユニットでの配位子結合が他のサブユニット中の鉄の3d電子の状態に影響を与えることが従来考えられていた程に例外的ではないことを示したのは重要と思われる。本論文はヘモグロビンの機能を理解する上に有用な多くの知見を報じており学位論文として価値あるものと認める。