



Title	SPECTROSCOPIC STUDIES ON THE NATURE OF THE METAL=AXIAL LIGAND BOND IN HEMOPROTEINS AND THEIR MODEL COMPOUNDS
Author(s)	Ozaki, Yukihiro
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27744
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 1 】

氏 名 ・ (本籍)	尾 崎 幸 洋
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	第 4 3 3 0 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 6 月 13 日
学位授与の要件	理学研究科 無機及び物理化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	ヘム蛋白質及びそのモデル化合物における金属—配位子間結合 の分光学的研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 京 極 好 正

教 授 池 田 重 良 教 授 新 村 陽 一 教 授 堀 尾 武 一

論 文 内 容 の 要 旨

生体内で数々の重要な役割を演じているヘム蛋白質の構造と機能との関係を物理化学的な立場から明らかにするためには、ヘムグループもしくは、そのモデルであるポルフィリンの金属と配位子との結合の様子、あるいは金属の電子状態等について調べることが最も肝要である。筆者は最近特に注目を集めている新しい分光学的手法である共鳴ラマン散乱 (RRS) と ^{15}N の核磁気共鳴法 (^{15}N -NMR) を用いてこの研究を行なった。RRSでは生理的条件に近い環境でしかも比較的希薄な濃度 ($10^{-4}\sim 10^{-6}\text{M}$) でヘム蛋白質の活性部位であるヘムグループの分子振動のみをもつばら選択的に研究できるという特色を持っている。また、 ^{15}N -NMRはポルフィリンの4つのピロール環の窒素原子が中心金属に直接配位していることから、中心金属の電子状態や金属と配位子間の結合の研究にはきわめて有利である。本論文の第一部ではRRSの測定結果について、第二部では ^{15}N -NMRの測定結果について議論した。

ヘム蛋白質のRRSの測定においては、oxidation-state-markerと呼ばれるラマン線 (Band IV)、ヘム鉄のスピン状態に敏感なラマン線 (Band I)、及び配位子の性質に敏感なラマン線 (Band II) に特に着目して研究を行なった。その結果チトクローム P-450の還元型ではBand IVの振動数に異常性が見い出され、第5配位子が強い π 電子供与性を持ち、 p_y (配位子5) 軌道からヘム鉄の d_{π} 軌道を経てポルフィリンの π^* 軌道に π 電子の非局在化が存在することが明らかになった。またBand Iの振動数及び他のspin状態に敏感なラマン線の振動数から酸化型のミオグロ빈はアルカリ領域においてhigh spinとlow spinの2種類の分子種で存在すること、アルカリ領域におけるhigh spin型は中性領域におけるhigh spin型とは異なった構造を持つことを明らかにした。さらに、Band Iの振動

数からチトクロム c' の酸化型にはヘム鉄と配位子との間の結合距離の違いにより、2種類の high spin 型が存在することを見出した。また種々の c 型チトクロムの pH によるスペクトル変化を測定し、Band II の振動数シフトから第 6 配位子の交代を議論した。

第二部では種々の金属ポルフィリン M (OEP) について ^{15}N -NMR の測定を行なった。その結果軸配位子を持たない M (OEP) の中では Ni (OEP) の ^{15}N のシグナルが異常に高磁場側に観測された。この結果は Ni-N の結合が他の M-N の結合に比べて特に強いと考えることにより容易に説明できた。またクロロフォルム溶媒中にとかした Ni (OEP) にピリジンのようなアミン類を加えるとアミン類が Ni (OEP) の上下から配位した常磁性分子種が生じる。その結果 ^{15}N のシグナルは大きく低磁場にシフトし、また線巾は顕著に広がった。これらの常磁性分子種の存在は、UV スペクトル、RRS, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR では検知できないような微量のものでも ^{15}N -NMR でははっきりと確認できた。Fe $^{2+}$ (OEP) や Co $^{3+}$ (OEP) では軸配位子の影響が ^{15}N ケミカルシフトの位置に観測された。特に、Fe $^{2+}$ (OEP) の ^{15}N ケミカルシフトは第 6 配位子の結合性の違い (π もしくは σ 型) によりいちじるしく異なった。しかしながら Fe $^{2+}$ (OEP) においても Co $^{3+}$ (OEP) においても第 6 配位子の塩基性を大きく変化させてもあまり ^{15}N ケミカルシフトには影響を及ぼさなかった。

論文の審査結果の要旨

尾崎君の論文はヘム蛋白質およびポルフィリン誘導体について中心金属と第 5, 6 配位子との結合の様式を共鳴ラマンスペクトルおよび ^{15}N 核磁気共鳴を用いて解明した。本論文は次の 2 部よりなる。

第 1 部では共鳴ラマン分光法を種々のヘム蛋白質に適用した結果について述べられている。ヘムの可視吸収帯に近い波長のレーザー光を照射した際、発色団の振動に由来するラマン線のみが選択的に強くなる現象を共鳴ラマン効果というが、この現象をいろいろな状態のミオグロビン、チトクロム c について観測した。その結果 1370cm^{-1} 付近のラマン線 (バンド IV と称する) は中心鉄の酸化、還元状態に鋭敏であるが、また第 5, 6 配位子と中心鉄の結合が σ 結合的か π 結合的かによって大きく移動することが認められた。特に紫外外部吸収の特異性と特徴的な生理活性を示すことによって注目されているチトクロム P-450 についてそのラマン線が異常に低く出ることを発見し、その原因が第 5 配位子に S $^{-}$ がくることで解釈されることを示した。

第 2 部では ^{15}N 核磁気共鳴法をヘムのモデル化合物であるオクタエチルポルフィリン誘導体について適用した結果が述べられている。この場合、中心金属に直接結合する N 核の核磁気共鳴周波数は、やはり、中心鉄と配位子間の結合に敏感で、それが π 結合的であると高磁場シフトすることが認められた。この現象はポルフィリン環から π 電子が減少して化学シフトの常磁性項へ影響するとして説明された。その他可視吸収、共鳴ラマン分光で検出されない微量の常磁性種が ^{15}N 核磁気共鳴で検出されることが Ni 誘導体で示された。

以上、尾崎君の論文は共鳴ラマン分光法と ^{15}N 核磁気共鳴法がヘム蛋白において鉄—配位子間の結

合の性質を調べるのに有力な方法であり，それを用いた結果，ヘム近傍の構造が未知であったヘム蛋白質においてその構造を明らかにしたことは，単に錯塩化学的のみならず，生化学的にも重要な結果であり，理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。