The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	酸化型および還元型P-450のスピン状態に関する分光的および磁気的研究
Author(s)	森, 一彌
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29669
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、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

【37】

氏名・(本籍)	森(もり) 一(かず) 彌(や)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1656 号
学位授与の日付	昭和44年3月28日
学位授与の要件	医学研究科生理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**酸化型および還元型P-450のスピン状態に関する分光的および磁気的研究**
論文審査委員	(主査) 教授 山野 俊雄 (副査) 教授 萩原 文二 教授 坂本 幸哉

論文内容の要旨

〔目　　的〕

ミクロゾームの水酸化反応に含まれるチトクロームP-450のヘムの物理化学的性質については，分光吸収の異常性が知られるだけで不明な点が多い。P-450の配位子を含むヘム鉄のスピン状態，鉄の酸化還元にともなうヘムの状態変化，ヘムをとりまく雰囲気の性質を知ることは，水酸化反応に必要な酸素分子の活性化機作を探求する上においてきわめて重要と思われる。これらの点を明らかにし，P-450の生理機能との関連を知ることを本研究の目的とした。

〔方法ならびに成績〕

ミクロゾームはフェノバルビタールで誘導したウサギの肝臓から調製し，得られたミクロゾームから，三宅らの方法にしたがってP-450標品を，また山野らの方法を少し変更してP-420標品をそれぞれ単離した。phenylisocyanide は Schmidt, Stern の方法で合成した。NO および CO ガスは市販のものを使用した。分光測定は主として Cary 14 型自記分光光度計，磁気的測定には Varian 社製4,500型電子スピン共鳴吸収（ESR）装置に 100KC 磁場変調装置を付加して使用した。

NO, CN および phenylisocyanide の酸化型P-450の吸収スペクトルにおよぼす影響：

酸化型 P-450 にこれらの配位子を加えると，それぞれの配位子に依存した吸収スペクトルを与えた。またそれぞれの吸収スペクトルは典型的な低スピン状態のb型ヘムたんぱくの吸収スペクトルであり，これら配位子とこのヘム鉄との結合が共有結合性であることを示している。またこれら複合体とP-450そのものの吸収スペクトルを比較すると，スピン状態には本質的な差はなく，P-450のヘムの第6配位座がこれら配位子によっておきかえられたことを示している。

CN および NO の酸化型P-450の ESR スペクトルにおよぼす影響：

酸化型P-450は典型的な低スピン型の ESR スペクトルを示すが，その低スピン状態は配位子によ

っていちじるしく影響される。CN はシグナルの broadening を起し，NO を加えるとシグナルはほとんど消失した。CN の場合は，CN とヘム鉄の spin-orbital coupling を考慮して理論的に説明し得た。NO の場合はシグナルの消失が，NO の不対電子によるP-450の還元も考えられたが，同時に現われる g=2 付近の三重超微細構造をもつシグナルから，還元ではなく，不対電子はまだ窒素原子の近傍に存在すると考えられる。

NO, CN および phenylisocyanide の還元型P-450の吸収スペクトルにおよぼす影響：

酸化型P-450の場合と同様に配位子に依存する吸収スペクトルの変化が見られたが，その変化は他の還元型ヘムたんぱくのスペクトルとは CN 複合体をのぞいて異なる。CO 複合体と同様に NO 複合体は明瞭な α, β 帯をもたず，Soret 帯も異常な shift を起すことが判明した。しかし CN 複合体は他のヘムたんぱくのそれと同様なスペクトルであった。これらの事実から，還元型P-450は配位子の種類によって明らかに二つの異なった型にわけ得る。すなわち異常な Soret 帯の shift，明瞭な α, β 帯をもたずこの付近でただ一の吸収をもつものとして特徴づけられるもの（CO 型）と，還元型低スピンヘムたんぱく特有のスペクトルを示すもの（CN 型）である。この両者の間における相互移行性の存在も確認された。還元型で配位子に依存するP-450のヘムの二つの状態はphenylisocyanide 複合体では同時に観察され，その状態は pH 酸性で CN 型に移行することも示された。

配位子のP-420の吸収スペクトルにおよぼす影響：

酸化型P-420に配位子を作用させると，それぞれの配位子による吸収スペクトルを与えたが，いずれも低スピン型ヘムたんぱくの吸収スペクトルを示した。還元型P-420はそれ自体低スピン型の吸収スペクトルを示し，これに配位子を作用させるとやはりそれぞれの配位子による吸収スペクトルを与えたが，還元型P-450の場合のような異常性はみられず，いずれも典型的な低スピン状態の還元型ヘムたんぱくの吸収スペクトル（すなわち CN 型）を示した。

〔総　　括〕

配位子によるP-450の第6配位座の修飾から，酸化型P-450のヘム鉄は低スピン状態，還元型P-450は高スピン状態であることを示す結果を得た。酸化型 P-450 のヘムは，そのスペクトルの性質から典型的なb型ヘムたんぱくとしての性質をもつが，還元型は異常である。その異常性はP-450独特のヘムをとりまく特殊な雰囲気にもとずくことを示唆する結果であり，他のヘムたんぱくに見られない酸化還元によるヘムの変化は，とりもなおさずその雰囲気の変化を反映している。この変化は，P-450 が電子を受けとり，酸素を活性化し，おそらくその近傍に結合する基質に酸素を渡す役割をになっているとして，はじめてその生理機能に対応する可能性が示された。

論文の審査結果の要旨

本論文はチトクロームP-450に対する配位子 (NO, CO, phenylisocyanide, CN) の影響を分光学的にまた電子スピン共鳴の測定によって検討を加えたものである。これらの測定をとおして酸化型P-450 は低スピン，還元型は高スピン状態にあること，酸化型は，配位子結合状態でもb型チトクロー

ムとしての一般的な性質を示したが，一方還元型は配位子によって明らかに異常な性質を示すことが判明した。P-450が他のヘムたんぱくとは異なり，酸素を基質に渡さなければならないこと，またそのために自らが電子供与体から電子を受けねばならないという特殊な条件をみたすことを考えるとき，上記諸性質を見出したことは，分子レベルでのP-450の反応機構の解明に大きく貢献しており，十分学位に値するものであると考えられる。