



Title	ヘモグロビンの酸素平衡曲線とプロトン解離曲線の同時測定によるBohr効果とHaldane効果の解析
Author(s)	上田, 至宏
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31704
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 <a> 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 ・ (本籍)	上 ^{うえ} 田 ^た 至 ^{よし} 宏 ^{ひろ}
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 6 7 8 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 6 月 30 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	ヘモグロビンの酸素平衡曲線とプロトン解離曲線の同時測定 による Bohr 効果と Haldane 効果の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中馬 一郎 (副査) 教 授 山野 俊雄 教 授 恩地 裕

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

生理的 pH でヘモグロビンに酸素が結合するとプロトン (H⁺) が解離し (Haldane 効果), 逆に pH が低下するとヘモグロビンから酸素が離脱する (Bohr 効果)。Wyman の連係原理によれば, 両効果の関係は酸素飽和度を Y_{O₂}, 酸素分圧を P とすると,

$$\left(\frac{\delta H^+}{\delta \log P} \right)_{pH} = \left(\frac{\delta Y_{O_2}}{\delta pH} \right) \quad (1)$$

またな

$$\left(\frac{\delta H^+}{\delta Y_{O_2}} \right)_{pH} = - \left(\frac{\delta \log P}{\delta pH} \right)_{Y_{O_2}} \quad (2)$$

で与えられる。この式の左辺は Haldane 係数, 右辺は Bohr 係数と呼ばれている。ただし, 熱力学的に導かれた上 2 式はいまだ実験的に検証されていない。一方酸素平衡 (Y_{O₂} vs. log P) 曲線の形が pH によって変化しないと仮定し, Y_{O₂} = 0.5 に対応する P の値を P₅₀, デオキシとオキシヘモグロビンの結合プロトン数の差を ΔH_t⁺ とすると, 式(2)は

$$\Delta H_t^+ = - \frac{\Delta \log P_{50}}{\Delta pH} \quad (3)$$

となり, かつプロトンの解離度 (Y_{H⁺}) は Y_{O₂} と直線関係になることが示される。式(3)は Bohr および Haldane 効果の大きさを示す簡便な指標として広く用いられてきたが, 近年その妥当性について疑義がいだかれるようになった。報告者は式(1)~(3)および Y_{H⁺} と Y_{O₂} との直線関係を実験的に検証するた

めには、同一ヘモグロビン試料を用いて精密な酸素平衡曲線とプロトン解離曲線を同時測定することが必須であると考え、そのための装置を試作し、以下の研究を行なった。

〔方法ならびに成績〕

実験条件：2.2～2.5 mM等イオン成人ヘモグロビン，0.5 M NaCl， $30 \pm 0.02^\circ\text{C}$ ，pH 6.86～9.26。

実験装置：Radiometer社DCA—1型酸素平衡曲線自記装置に同社TTT—2型自動滴定装置を組合せ、酸素化に伴うペロトンの放出を0.1 N NaOH (200 μl 以下)で滴定し、pHを ± 0.001 の範囲で一定値に維持することによって酸素平衡、プロトン解離両曲線を同時記録した。

1. 試作した装置の信頼性は、a) 酸素平衡曲線については現在最も精度が高いと考えられているRoughtonとLysterのデータとの良好な一致、b) 酸素親和性の非常に高いミオグロビンについてのHillプロットが正確に $n=1$ の直線になること、c) 11回繰り返し測定 of 標準偏差の大きさ、などから判断して満足すべきものであった。また、プロトン解離曲線については、再現性、可逆性とも良好であったが、標準偏差は前者よりも大きかった。

2. 同一条件での酸素平衡曲線とプロトン解離度 ($Y_H + \text{vs. } \log P$) 曲線とは完全には一致せず、アルカリ側ではプロトン解離が酸素結合よりも先行し、逆に酸性側では前者が後者よりも遅れる傾向にある。したがって、 $Y_H + \text{vs. } Y_{O_2}$ 曲線は厳密には直線ではなく、アルカリ側では上方に凸となる。この関係は、酸素平衡曲線をAdairの説に従って解析した結果から推測される値と良く一致する。

3. Haldane係数の Y_{O_2} についての平均値である式(3)の左辺と、 $Y_{O_2}=0.5$ におけるBohr係数である式(3)の右辺とは一般には等しくなく、pH 7.5よりアルカリ側では左辺の方が大きい。しかし、 $H^+ \text{ vs. } Y_{O_2}$ 曲線の $Y_{O_2}=0.5$ における勾配の値は式(3)の右辺と良く一致する。

4. また、式(3)の基礎となっている式(1)および(2)は Y_{O_2} の広い範囲について実験的に成立することが保証される。すなわち、Bohr係数とHaldane係数は実験誤差の範囲で一致する。

5. Bohr及びHaldane係数の値は Y_{O_2} に依存し、とくに Y_{O_2} の上、下限の領域で平均値からの偏倚が大きい。

6. 以上の結果から、プロトン解離について、ヘモグロビン4量体を構成する α , β 鎖が等価でないか、あるいは酸素化に伴う4次構造変化が寄与していることが推測される

〔総括〕

ヘモグロビンの酸素化とそれに伴うプロトンの解離は直線関係になく、したがって従来用いられてきた式(3)は厳密には成立しない。しかし、熱力学的に導かれた式(1)と(2)は実験的にも妥当なことが保証される。

論文の審査結果の要旨

本研究では、ヘモグロビンに酸素が結合する際プロトンを解離する現象に注目し、プロトン解離曲線と酸素平衡曲線を同一ヘモグロビン試料について直接求めている。即ちBohr効果とHaldane効果

を同一条件下で検討することを可能にし、Wymanの連係原理から導びかれる2つの関係式及びそれから、酸素平衡曲線の形はpHによって変化しないという仮定のもとに変型された慣用式の妥当性が検討されている。

その結果、酸素飽和度 (Y_{O_2}) とプロトン解離度 (Y_H^+) の非直線性を実験的に示し、上の仮定は否定されることを立証している。しかし、仮定の含まれないものの2つの関係式は実験的にも妥当なものであることを証明し、かつ Y_{O_2} と Y_H^+ の非直線性から、プロトン解離についてヘモグロビン4量体を構成する α , β 鎖が等価でないか、あるいは酸素化に伴う4次構造変化が寄与するのではないかと推測している。

以上の知見は、ヘモグロビンの酸素化とプロトン解離との定量的関係を現象論的に明確にし得た点において、医学及び分子生物学の進歩に寄与するところが少なくないものと認める。