



Title	Adairの段階的酸素化理論およびMonod, Wyman, Changeuxのアロステリック・モデルによる, 天然および化学修飾成人ヘモグロビンの酸素平衡の解析
Author(s)	今井, 清博
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31738
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)	いま い きよ ひろ 今 井 清 博
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 6 9 2 号
学位授与の日付	昭和 51 年 7 月 28 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	Adair の段階的酸素化理論および Monod, Wyman, Changeux のアロステリック・モデルによる, 天然および化学修飾成人 ヘモグロビンの酸素平衡の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 中馬 一郎 (副査) 教 授 山野 俊雄 教 授 中山 昭雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

Adair によると, ヘモグロビンの酸素平衡曲線 (OEC) は,

$$Y = \frac{k_1 p + 3k_1 k_2 p^2 + 3k_1 k_2 k_3 p^3 + k_1 k_2 k_3 k_4 p^4}{1 + 4k_1 p + 6k_1 k_2 p^2 + 4k_1 k_2 k_3 p^3 + k_1 k_2 k_3 k_4 p^4} \quad (1)$$

なる式で記述される。ここに Y は酸素飽和度, p は酸素分圧, k_i ($i=1$ to 4) は統計係数の補正をした i 段階目の酸素結合定数である。他方, Monod, Wyman, Changeux のモデル (MWC モデル) によると, OEC は

$$Y = \frac{L c \alpha (1 + c \alpha)^3 + \alpha (1 + \alpha)^3}{L (1 + c \alpha)^4 + (1 + \alpha)^4} \quad (2)$$

なる式で記述される。ここに $\alpha = K_R \cdot p$, $c = K_T / K_R$ であり, K_T および K_R はそれぞれデオキシ構造 (T 状態) およびオキシ構造 (R 状態) の酸素結合定数である。また, L は $p=0$ のときの T と R の平衡定数 ($L = [T] / [R]$) である。上の 2 式に含まれるパラメータ値を実験的に求めるには, 極めて精密な OEC を測定することが要求され, 従来その目標に沿った系統的研究はなされていなかった。そこで報告者はアロステリック特性の異なる種々のヘモグロビンの精密な OEC を測定し, 最小二乗法による上の 2 式のパラメータ値の決定およびその他の定量的解析を通じて, ヘモグロビンのアロステリック効果の分子論的機構の解明へのアプローチを行なった。

〔方法ならびに成績〕

材料: (1) 未処理の成人ヘモグロビン (Native Hb), (2) β 鎖 93 番目のシステインの反応性 SH 基をヨ

ードアセトアミドでブロックしたヘモグロビン (IAA-Hb), (3)同じSH基をN-エチルマレイミドでブロックしたヘモグロビン (NEM-Hb), (4) β 鎖C末端の2残基His-TyrをカルボキシペプチダーゼAによる加水分解によって切除したヘモグロビン (CPA-Hb)

測定法: OECは以前に報告者らによって開発された自動記録法, すなわち, 酸素電極によってpを, 分光測光によってYをそれぞれ連続測定する方法によって測定した。とくに, Yの広い範囲にわたって精密なOECが得られるよう種々の改良がなされた。

測定条件: ヘム濃度 $6 \times 10^{-5} \text{M}$, 0.05Mピス・トリス緩衝液, pH 7.4, 25°C。アロステリック・エフェクターの1つである2, 3-ジホスホグリセリン酸 (DPG) (2mM濃度) の存在下および非存在下。

1. DPGはIAA-HbやNEM-Hbに対して, Native Hbに対するのと類似の効果を与えた。すなわち, DPGは P_{50} 値 ($Y=0.5$ を与えるp値) や P_m 値 ($=1/\sqrt[4]{k_1 k_2 k_3 k_4}$, メジアン酸素分圧) を増加, すなわち全酸素親和性を低下させ, また, n_{\max} (Hillプロットの最大勾配) や $\Delta F_1 (=RT \ln(k_4/k_1))$, ヘム間相互作用の自由エネルギー) で表現されるヘム間相互作用の強さを増大させた。

2. 上記1の効果は, 中馬らの報告によるNative Hbの場合と同様に, DPGは k_1 , k_2 および k_3 の値を著明に減少させるが, k_4 値には大きな影響を与えないという事実に起因することが判明した。

3. CPA-HbはDPGの有無にかかわらず, 極めて高い酸素親和性とヘム間相互作用の欠如を示し, ヘモグロビンの生理機能にとって重要なアロステリック特性を失っていた。

4. 化学修飾処理に伴ってL値は著明に減少し, K_T 値は増大して K_R 値に接近したのに対して, K_R 値の大巾な変化はみられなかった。

5. 一般に, DPG添加に際してL値は著明に増加, K_T 値は減少したが, K_R 値は本質的に不変であった。その結果, DPGは酸素化に伴うT状態からR状態への転移を, 酸素結合の後方の段階に遅らせ, かつ, その転移が急激に起る様に作用した。ただし, CPA-Hbではこのような変化はみられなかった。

6. 以上観測されたすべての現象は, 一般に化学修飾処理はT状態を不安定にしてその酸素親和性を高め, DPGはT状態を安定化してその酸素親和性を低下させることを意味する。

7. 本研究によって, DPGはLのみならず K_T をも変化させることが明らかになったが, 本来のMWCモデルではこのような K_T の変化は予期されておらず, この点においてこのモデルは修正が必要であることが示唆された。

〔総括〕

化学修飾処理やDPG添加の効果は, Adair理論の用語では第1, 第2, 第3番目の酸素の親和性を変動させて, 第4番目の酸素の親和性に影響を与えないことであり, MWCモデルの用語ではT状態への酸素の親和性と平衡定数Lを変動させて, R状態への酸素の親和性に影響を与えないことである。これらの現象はオキシ構造 (R状態) の安定性や酸素親和性が, 化学修飾処理やDPGによって影響され難いことの帰結である。

論文の審査結果の要旨

本研究は従来から熱望されていたヘモグロビンの酸素平衡曲線の精密測定を可能にしたうえ, Adairの段階的酸素化理論や Monod, Wyman, Changeuxのアロステリック・モデルに含まれるパラメータの値を決定することに成功したものであり, その結果, ヘモグロビンの酸素結合の分子論的機作に関する重要な知見をもたらした。よって, 本研究は生理学に貢献するところ少なくないものと認める。